

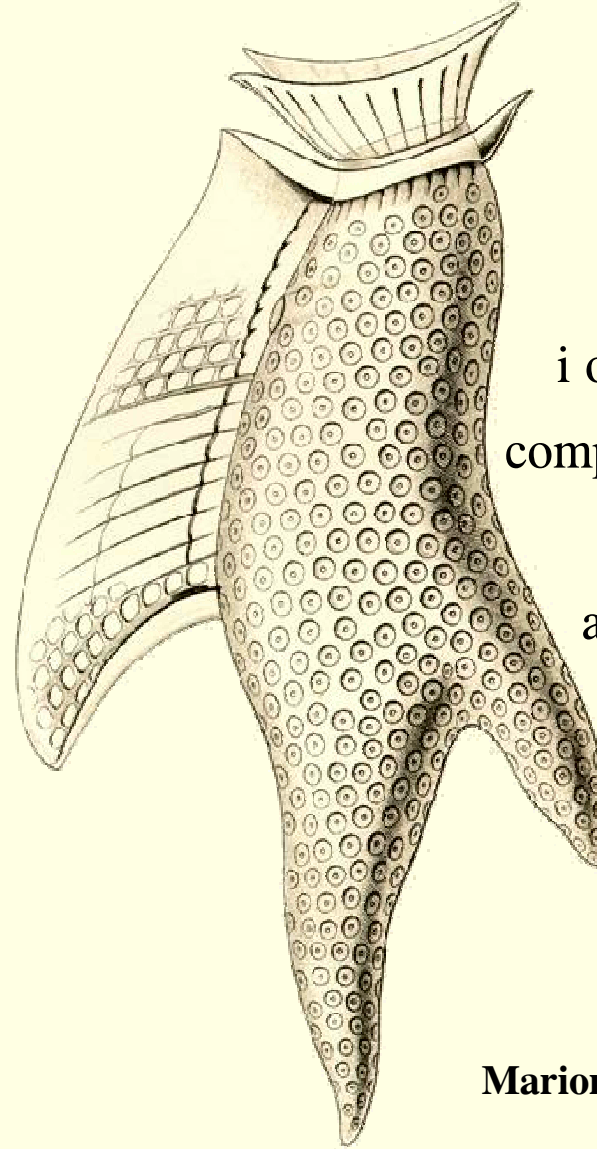
Institut de Ciències del Mar
Barcelona



Relació entre la distribució de nutrients i oxigen dissolt
i la composició elemental del fitoplàncton a la Mar Catalana

Mariona Segura i Noguera

2007



Relació entre la
distribució
de nutrients
i oxigen dissolt i la
composició elemental
del fitoplàncton
a la Mar Catalana
(N – O Mar
Mediterrània)

Mariona Segura i Noguera
2007



Relació entre la distribució de nutrients i oxigen dissolt i la composició elemental del fitoplàncton a la Mar Catalana (N – O Mar Mediterrània)

Memòria presentada per optar al grau de Doctora en Ciències del Mar
per la Universitat Politècnica de Catalunya per

Mariona Segura i Noguera

Vist - i - plau de la directora de tesi

Dra. Dolors Blasco Font de Rubinat
Investigadora Científica, CSIC

Il·lustracions : Ernst Haeckel “Kunstformen der Natur” (1899-1904)

Disseny de la coberta i portades dels capítols : Esteve Riu i Mariona Segura

Al pare i a la mare,
a la Judith i la Laia,
i a l'Òscar.

"It is now well recognized that the growth of plankton in the surface layers of the sea is limited in part by the quantities of phosphate and nitrate available for their use and that the changes in the relative quantities of certain substances in sea water are determined in their relative proportions by biological activity. When it is considered that the synthetic processes leading to the development of organic matter are limited to the surface layers of the sea in which photosynthesis can take place, it becomes evident that the chemical changes which occur in the water below this zone must arise chiefly from the disintegration of organic matter. In so far as this disintegration goes to completion, the changes in the derived inorganic constituents of sea water must depend strictly upon the quantity and composition of the organic matter which is being decomposed. (...) Thus, in the decomposition of a given quantity of organic matter, the quantity of oxygen consumed must be determined by the quantity of carbon, nitrogen, hydrogen, sulphur, and phosphorus to be oxidized, and the relative changes in the quantity of oxygen, nitrate, phosphate, carbonate, and sulfate must depend exactly on the elementary composition of the plankton"

Alfred C. Redfield, 1934

CONTINGUT

Llista d'abreviatures	1
Introducció i objectiu de la tesi	3
Estequiometria i Relació de Redfield	5
La composició elemental del plàncton	7
Microanàlisi de raigs - X	9
Fitoplàncton i hidrodinàmica a la Mar Catalana	11
Objectiu general i desenvolupament de la tesi	14
Capítol 1. Metodologies d'anàlisi i control de qualitat de dades oceanogràfiques de la Mar Catalana	17
1.1 Dades oceanogràfiques de la Mar Catalana	19
1.2 Les variables físiques : temperatura, salinitat i pressió	24
1.3 Metodologia utilitzada en l'anàlisi de nutrients en aigua de mar	31
1.4 Preservació de les mostres de nutrients	33
1.4.1 Validesa de la congelació en mostres costaneres de la Mar Catalana	34
1.4.2 Validesa de la congelació en les campanyes d'estudi	38
1.5 Metodologia utilitzada en l'anàlisi d'oxigen dissolt	41
1.6 Metodologia utilitzada en l'anàlisi de clorofil·la <i>a</i>	41
1.7 Precisió dels anàlisis i errors sistemàtics en les diferents campanyes	42
1.8 Control de Qualitat de les dades de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la <i>a</i>	46
1.9 Conclusions i resum del capítol	50
Capítol 2. Rangs de concentració de nutrients inorgànics, oxigen dissolt i clorofil·la <i>a</i> a la Mar Catalana. Caracterització de les masses d'aigua i estequiometria	53
2.1 Rangs de concentració	55
2.1.1 Fosfat	55
2.1.2 Nitrat	57
2.1.3 Nitrit	60
2.1.4 Amoni	63
2.1.5 Silicat	66
2.1.6 Oxigen dissolt	69

2.1.7	Clorofil·la <i>a</i>	72
2.2	Característiques físico – químiques de les masses d'aigua de la Mar Catalana	75
2.3	Estequiometria de les sals nutrients a la Mar Catalana	76
2.4	Discussió dels resultats	81
2.4.1	Perfils de concentració i masses d'aigua	81
2.4.2	Estequiometria	86
2.5	Conclusions i resum del capítol	89
Capítol 3.	Variacions en les distribucions de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la <i>a</i> a la Mar Catalana	91
3.1	Variacions espacials : la plataforma continental i el mar obert	93
3.2	Variacions anuals : estacionalitat	97
3.2.1	Perfils estacionals de concentració	97
3.2.2	Estequiometria	101
3.2.3	Estudi de l'estacionalitat en les diferents masses d'aigua	103
3.3	Variacions interanuals : tendències	109
3.3.1	Introducció	109
3.3.2	Metodologia per l'estudi de les tendències en les masses d'aigua	110
3.3.3	Resultats	111
3.3.4	Discussió de les tendències trobades a la Mar Catalana	116
3.4	Conclusions i resum del capítol	117
Capítol 4.	Metodologia per a analitzar la composició elemental en cèl·lules individuals del fitoplàncton mitjançant microanàlisi de raigs - X	119
4.1	Fonament teòric del mètode	121
4.2	Instrumentació d'anàlisi i adaptació per a SEM	124
4.3	Preparació de les mostres per analitzar fitoplàncton marí i condicions d'anàlisi	127
4.4	Quimiometria i quantificació	131
4.5	Comparació entre microanàlisi de raig - X amb SEM - EDS i STEM - EDS	135
4.6	Conclusions i resum del capítol	139
Capítol 5.	Quotes elementals i concentracions cel·lulars d'elements essencials en el fitoplàncton de la Mar Catalana, obtingudes mitjançant microanàlisi de raigs - X	141
5.1	Procedència de les mostres i característiques els anàlisis	143

5.2	Quotes elementals i concentracions d'elements essencials en relació amb el volum cel·lular	146
5.3	Estequiometria	154
5.4	Discussió dels resultats	158
5.4.1	Obtenció i processament dels espectres	158
5.4.2	Comparació entre la composició elemental de diatomees i de dinoflagel·lades	161
5.5	Conclusions i resum del capítol	164
Capítol 6.	Relació entre la distribució de nutrients i oxigen dissolt i la composició elemental del fitoplàncton a la Mar Catalana (N – O Mar Mediterrània)	167
6.1	Relació entre la composició química i en espècies del fitoplàncton i l'estacionalitat de les concentracions de nutrients i oxigen dissolt a la capa intermèdia (200 – 600 m) de la Mar Catalana	169
6.1.1	Composició química del fitoplàncton	170
6.1.2	Relació entre la remineralització de biomolècules a la capa intermèdia i la composició química del fitoplàncton	174
6.1.3	Relació entre la estacionalitat de les concentracions de nutrients remineralitzats i la composició en espècies del fitoplàncton	175
6.2	Relació entre la composició elemental del fitoplàncton i l'estequiometria en aigües profundes de la Mar Catalana	177
6.3	Conclusions i resum del capítol	181
	Principals resultats i conclusions de la tesi	183
	Resum de la tesi	187
	Bibliografia citada	189
Apèndix A.	Posicions de les estacions de les campanyes oceanogràfiques del CSIC. Posicions de les estacions de les campanyes oceanogràfiques de les bases de dades MEDATLAS utilitzades en l'estudi de tendències anuals	217
Apèndix B.	Campanyes i variables oceanogràfiques extretes de les bases de dades MEDATLAS i MATER	225
Apèndix C.	Taules de freqüència de concentracions de nutrients inorgànics, oxigen dissolt, AOU i clorofil·la <i>a</i>, en funció de la profunditat	229

Apèndix D. Taules i Figures de perfils de concentració segons el grau d'estratificació de la columna d'aigua i la profunditat de : nutrients inorgànics, oxigen dissolt, AOU, clorofil·la <i>a</i>, salinitat, temperatura, densitat, N/P, NT/P, Si/N, Si/P, AOU/P, AOU/N	243
Agraïments	281
Fonts de finançament	287
Clàusula de bon ús	287

Lista d'abreviatures

Variabls Oceanogràfiques

z	Profunditat (m)
T	Temperatura (° C)
S	Salinitat
θ	Temperatura potencial (° C)
ρ	Densitat (Kg/m ³)
σ – θ	Densitat o anomalia de densitat (Kg/m ³)
PO₄	Fosfat (μM)
NO₂₊₃	Nitrat + nitrit, Nitrat (μM)
NO₂	Nitrit (μM)
NH₄	Amoni (μM)
Si(OH)₄	Silicat (μM)
AOU	Utilització aparent d'oxigen (Apparent Oxygen Utilization, ml/l)
TN, TP	Nitrogen total (Total Nitrogen), fósfor total (Total Phosphorus)
POM	Matèria orgànica particulada (Particulate Organic Matter)
DIN	Nitrogen inorgànic dissolt (Dissolved Inorganic Nitrogen)
DON, DOP, DOC	Nitrogen, fósfor, carboni orgànic dissolt (Dissolved Organic Nitrogen, Phosphorus, Carbon)

Elements químics

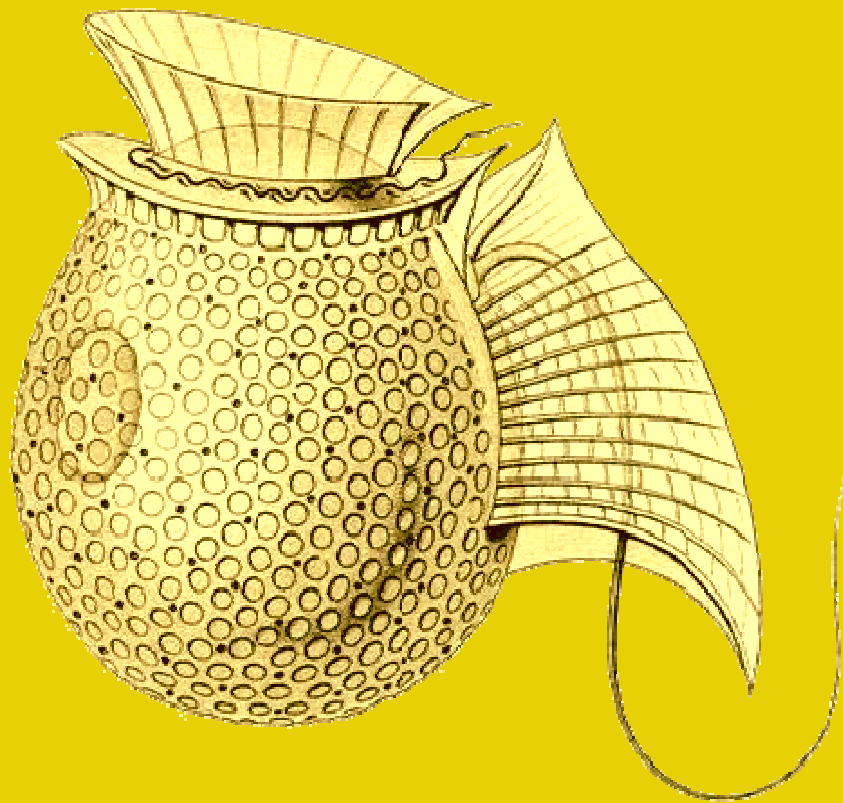
B	Bor	P	Fósfor	Cu	Coure
H	Hidrogen	S	Sofre	Zn	Zinc
C	Carboni	Cl	Clor	Mo	Molibdè
N	Nitrogen	K	Potassi	I	Iode
O	Oxigen	Ca	Calci	Rb	Rubidi
Na	Sodi	Mn	Manganès	Sr	Estronci
Mg	Magnesi	Fe	Ferro	Pd	Paladi
Al	Alumini	Co	Cobalt	Au	Or
Si	Silici	Ni	Níquel	Li	Liti

Masses d'aigua

SW	Aigua Superficial (Surface Water)
AW	Aigua d'origen Atlàntic (Atlantic Water)
CW	Aigua amb influència continental (Continental Water)
RW	Aigua resident o Aigua Mediterrània (Resident Water)
WIW	Aigua intermèdia hivernal (Winter Intermediate Water)
LIW	Aigua intermèdia Llevantina (Levantine Intermediate Water)
WMDW	Aigua profunda de la Mediterrània Occidental (Western Mediterranean Deep Water)

Altres abreviatures

ADP	Difosfat d'adenosina
ASW	Aigua de mar artificial (Artificial Sea Water)
ATP	Trifosfat d'adenosina
CO₂	Diòxid de carboni
CCQ	Cartes de Control de Qualitat
CQ	Control de Qualitat
CV	Coefficient de Variació
EDS	Espectròmetre de dispersió d'energia (Energy Dispersive Spectrometer)
EPA	Agència de Protecció del Medi Ambient (Environmental Protection Agency)
LNSW	Aigua de mar baixa en nutrients (Low Nutrient Sea Water)
MLD	Profunditat de la capa de barreja (Mixed Layer Depth)
MPC	Màxim Profund de Clorofil·la
N²	Freqüència de Brunt-Vaisälä
N₂	Nitrogen gasós
NAO	Oscil·lació de l'Atlàntic nord (North Atlantic Oscillation)
O₂	Oxigen dissolt
SEM	Microscopi electrònic de rastreig (Scanning Electron Microscope)
STEM	Microscopi electrònic de transmissió - rastreig (Scanning - Transmission Electron Microscope)
SL	Nivell estàndard (Standard Level)
SLD	Profunditat del nivell estàndard (Standard Level Depth)
TEM	Microscopi electrònic de transmissió (Transmission Electron Microscope)
TEP	Partícules transparents exopolimèriques (Transparent Exopolymeric Particles)
VDSI 100	Índex d'estratificació vertical de densitat fins a 100 m de profunditat (Vertical Density Stratification Index)
WDS	Espectròmetre de dispersió de longitud d'ona (Wavelength Dispersive Spectrophotometer)
Z	Número atòmic



Introducció i objectiu de la tesi

Introducció i objectius de la tesi

El present treball es planteja l'estudi de les relacions que s'estableixen entre els elements químics essencials des d'un punt de vista biològic, tant a l'interior de les cèl·lules del fitoplàncton, com a l'exterior, és a dir a la mar. Els elements essencials són el carboni (C), l'hidrogen (H), el nitrogen (N), l'oxigen (O), el fòsfor (P) i el sofre (S) (Reynolds, 1997). L'interès en l'estudi d'aquests elements rau en que permeten moure'ns entre diferents nivells d'organització biològica, mitjançant l'estudi de les relacions entre els elements (estequiometria), i mitjançant l'estima de fluxos i balanços de massa entre i des d'una gran varietat d'entitats biològiques, des d'orgànuls i cèl·lules fins a conques senceres o fins tota la biosfera (Sterner i Elser, 2002).

Aquest treball està inspirat en el treball d'A. C. Redfield de 1934, que ha esdevingut fonamental en biogeoquímica marina. De manera breu, en el treball de Redfield (1934) es relaciona l'increment de la concentració de nitrat i fosfat i la disminució de l'oxigen dissolt en capes profundes de la mar amb la remineralització de la matèria orgànica que sedimenta des de capes superiors il·luminades (capa fòtica), bàsicament del plàncton. A. C. Redfield deduí que les proporcions entre els nutrients remineralitzats havien de correspondre's amb les proporcions en les què aquests elements (N i P) es trobaven, com a mitjana, a l'interior de les cèl·lules del plàncton.

L'estequiometria entre els nutrients a les capes profundes és relativament fàcil de determinar, puig que l'anàlisi de nitrat i fosfat actualment és senzill de fer a partir de mostres d'aigua de mar, però determinar l'estequiometria a l'interior de les cèl·lules individuals no s'ha començat a fer fins fa pocs anys, gràcies al desenvolupament del microanàlisi de raigs - X. En aquest treball s'ha determinat, mitjançant l'ús d'aquesta metodologia per primera vegada, l'estequiometria en cèl·lules individuals del fitoplàncton provinents del mar, incloent elements lleugers (C, N i O). D'aquesta manera es pot comparar l'estequiometria dels organismes del fitoplàncton amb l'estequiometria obtinguda entre els nutrients que hi ha a les capes profundes de la Mar Catalana, tal com proposa Redfield (1934).

A continuació es descriuen més extensament els conceptes clau d'aquest treball de tesi : la Relació de Redfield, la composició elemental dels organismes i el microanàlisi de raigs - X, així com les característiques hidrodinàmiques més importants de la zona d'estudi que afecten a les distribucions dels nutrients i del plàncton. Es posa èmfasi en aquelles mancances de coneixement que actualment encara en tenim i que s'han hagut de resoldre per a poder acomplir el nostre principal objectiu : relacionar l'estequiometria dels organismes amb l'estequiometria dels nutrients a la Mar Catalana.

Estequiometria i la Relació de Redfield

A. C. Redfield, en un important treball de 1934 considerat com un treball fonamental en biogeoquímica marina, demostrà que existia una relació constant entre els àtoms de C, N, P i O en aigües profundes dels oceans. Aquesta relació estequiomètrica va ser obtinguda a partir de les variacions en profunditat de les concentracions d'aquests elements en forma inorgànica (nitrat i fosfat) o gasosa (diòxid de carboni (CO₂) i altres carbonats, i oxigen dissolt (O₂)). Redfield deduí que aquesta relació era conseqüència de la remineralització de la matèria orgànica que sedimentava des de la capa fòtica, principalment del plàncton, de manera que qualsevol variació en la composició del plàncton havia de veure's reflectida en canvis en la concentració d'aquestes substàncies en capes profundes dels oceans. Posteriors estudis sobre la composició elemental en mostres de plàncton (Fleming, 1940; Redfield *et al.*, 1963), així com altres estudis sobre la remineralització de fitoplàncton (Grill i Richards, 1964), van confirmar aquesta hipòtesi i, juntament amb una

correcció per sal de les dades del treball de Redfield de 1934 (Cooper, 1938), s'acceptà que la composició mitjana del plàncton, així com l'oxigen necessari per a la seva remineralització, era : oxigen consumit ($- O_2$) : C : N : P = 138 : 106 : 16 : 1 (Redfield, 1958; Sverdrup *et al.*, 1942; Gilson, 1937).

Aquesta relació ha variat lleugerament en posterior estudis, especialment en el que fa referència a la quantitat d'oxigen necessari per remineralitzar organismes amb aquesta composició elemental. Takahashi *et al.* (1985) proposen una relació $- O_2 : P = 172$, basant-se en correlacions en superfícies de densitat a la termoclina, i estimen una relació C : P = 140 assumint N : P = 16. Broecker *et al.* (1985) i Peng i Broecker (1987) estenen la relació més enllà de la termoclina i defineixen la relació $- O_2 : P = 175$. Boulaïdid i Minster (1989) troben que aquesta relació no és constant amb la profunditat, disminuint des de 172 a la termoclina fins a 115 a més profunditat. Anderson i Sarmiento (1994), aplicant un model no lineal invers en dades de nutrients en superfícies de densitat constant, defineixen una relació $- O_2 : C : N : P = 170 : 117 : 16 : 1$.

Incorporant o no aquestes variacions, l'estequiometria del plàncton i la Relació de Redfield s'apliquen en l'estudi de la fisiologia del plàncton, en la formulació de models de balanços de massa i de conversions químiques (cicles de nutrients en el mar), en paleoclimatologia, en evolució i en estudis sobre el canvi climàtic global (Sterner i Elser, 2002; Kay *et al.*, 2005). A més, l'estequiometria permet calcular a partir de l'observació d'un element biològicament actiu, canvis en els altres elements (Ketchum, 1947).

En aigües profundes de la Mar Mediterrània, el valor de la relació entre N i P no és el mateix que el definit per als oceans. Diversos estudis sobre l'estequiometria de la Mar Mediterrània descriuen una relació N : P superior a la de Redfield, amb un valor al voltant de 22 a la conca occidental, i encara més elevat a la conca oriental (Copin – Montégut i Copin – Montégut, 1983; Béthoux i Copin – Montégut, 1986; Béthoux *et al.*, 1998, 2002a; Moutin i Raimbault, 2002; Ribera d'Alcalà *et al.*, 2003). Un valor elevat de la relació N : P pot ser conseqüència d'un excés de N, per exemple per una alta activitat fixadora de N en superfície (Béthoux i Copin – Montégut, 1988; Ribera d'Alcalà *et al.*, 2003), o be d'un dèficit de P, i per tant, parlem sobre la limitació de la producció per P. La majoria de treballs sobre limitació de nutrients apunten a que a la Mar Mediterrània el principal element limitant és el P i no el N (Minas *et al.*, 1988; Thingstad i Rassoulzadegan, 1995; Margalef, 1998; Thingstad *et al.*, 1998; Estrada, 1999; Sala *et al.*, 2002), tot i que també es poden donar casos en què ambdós nutrients es trobin limitant alhora. A vegades també es parla de limitació per silici (Si) (Olivos *et al.*, 2002), però només pot ser per al creixement d'aquelles espècies que en depenen, com diatomees, silicoflagel·lades i radiolaris. De totes maneres, alguns estudis indiquen que la relació N : P que marca el pas de limitació per N a limitació per P es troba entre 20 i 50, un valor per tant que pot arribar a ser bastant en excés del de Redfield (Guildford i Hecky, 2000, amb dades de N total (TN) i P total (TP) procedents de llacs i oceans; Geider i La Roche, 2002, establert amb dades recopilades de fitoplàncton marí).

El valor N : P de la Mar Mediterrània occidental i de la Mar Catalana sembla ser doncs conegut, però les relacions entre altres nutrients i l'O mesurat en capes profundes (Si : N; Si : P; $- O_2 : P$; $- O_2 : N$) només apareixen en pocs treballs (Béthoux *et al.*, 2002a; Dafner *et al.*, 2003; Ribera d'Alcalà *et al.*, 2003). L'estudi d'aquestes relacions també ens podrien ajudar a entendre si és l'excés de N o el dèficit de P el que domina l'estequiometria N : P de la Mar Catalana.

Conèixer la distribució, quantitats i relacions entre els nutrients a la Mar Mediterrània és fonamental a l'hora d'interpretar fenòmens i processos que sovint s'observen, per exemple, la "paradoxa de la Mediterrània" (Sournia, 1973), que es refereix a que tot i sent oligotròfic, la producció primària a la Mediterrània arriba a valors bastant elevats a alguns llocs, principalment a la conca occidental. La no uniformitat de la oligotrofia, la presència d'estructures hidrogràfiques de mesoescala (fronts, remolins,

descàrregues puntuals d'aigües continentals i tempestes), les aportacions atmosfèriques, i la possibilitat que els sistemes oligotròfics funcionin de manera més eficient que els eutròfics, s'utilitzen per explicar aquesta paradoxa (Cushing, 1975; Alcaraz *et al.*, 1985; Migon *et al.*, 1989; Estrada, 1999).

Per l'estudi de l'estequiometria, així com de la distribució dels nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a* a la Mar Catalana és bàsic disposar de bones dades. Actualment no existeix cap estudi sobre els rangs de concentracions de nutrients en aquesta zona, de manera que només podem fer-nos una idea de les concentracions existents amb referències puntuals que trobem en articles científics. Existeixen al menys dues bases de dades de campanyes oceanogràfiques realitzades a la Mar Mediterrània, que indiquen rangs de concentracions d'O₂, temperatura (T) i salinitat (S) per la nostra zona d'estudi, però no hi ha informació sobre quins rangs de nutrients es poden trobar a la Mar Catalana, o com varien en profunditat o al llarg de l'any.

Disposar de dades que hagin superat un control de qualitat especialment dissenyat per la zona d'estudi, permetrà caracteritzar totes les relacions entre les diferents variables que ens expliquin el comportament del sistema i les característiques dels organismes que hi viuen, així com distingir àrees d'interès especial on les variables es comporten de manera anòmala (estuàries, zones de formació d'aigua profunda, ...) o diferenciar i caracteritzar regions més àmplies (zona de mar obert i zona de plataforma continental).

Però la importància de la caracterització d'aquest sistema, mitjançant l'estudi de la distribució dels nutrients, l'oxigen dissolt i la clorofil·la *a*, així com l'estudi de les variacions estacionals i interanuals, va més enllà de l'objectiu principal d'aquest treball, ja que permet assentar una base sòlida de coneixement, a partir de la qual es pot reconèixer la trajectòria de l'impacte del canvi global en els cicles biogeoquímics a la Mar Catalana, permetent identificar alguns processos rellevants d'aquest canvi en el present i en el futur.

La composició elemental del plàncton

Segons Redfield (1934), l'estequiometria a l'aigua profunda és el reflex de la composició elemental del plàncton a l'aigua superficial. És a dir, la remineralització completa del plàncton un cop surt de la zona fòtica (il·luminada), per exemple per sedimentació, definirà la relació entre els elements en forma de nutrients.

La composició elemental dels organismes del plàncton és el resultat de la suma dels àtoms de cada element que participen en les diferents biomolècules. Però el plàncton està compost per una gran varietat d'organismes, amb estratègies tròfiques, mides i cicles de vida diversos. En general, plàncton és el nom que es dona a tots aquells organismes que viuen suspesos a l'aigua la totalitat del seu cicle de vida, o en estats vegetatius, a la zona pelàgica del mar (o de llacs, estanys o rius). A la Mar Mediterrània existeix una elevada diversitat en els organismes del fitoplàncton (Margalef, 1995). A la Mar Mediterrània Occidental existeixen 1425 espècies només de nano- i fitoplàncton (Velásquez, 1997) com a mínim, doncs el desenvolupament de noves tècniques d'identificació, com les moleculars, ja estan proporcionant noves espècies (Estrada, 1999). Cada espècie té una composició elemental pròpia, més o menys semblant a altres espècies, i que pot variar segons les característiques ambientals (disponibilitat de nutrients i llum per créixer) (Geider i La Roche, 2002), de manera que condicions desfavorables per al creixement d'un grup del plàncton en particular poden ser bones per un altre grup del plàncton, i si aquests grups que es succeeixen tenen diferents estequiometries, la sedimentació d'un grup o un altre podria fer variar l'estequiometria dels nutrients derivats de la seva sedimentació en aigües profundes (Redfield, 1934).

Els principals elements (anomenats elements essencials) que constitueixen la biomassa dels organismes del fitoplàncton són el C, l'hidrogen (H), l'O, el N, el P i el sofre (S). Els tres primers elements

es poden trobar en tots els tipus de molècules cel·lulars: carbohidrats, proteïnes, àcids nucleics i greixos; el N és un component majoritari de proteïnes, àcids nucleics i clorofil·la; el P es troba en la molècula d'emmagatzematge d'energia trifosfat d'adenosina (ATP), en àcids nucleics i en fosfolípids de membrana; i el S es troba bàsicament en proteïnes (deAngelis, 1992; Reynolds, 1997; Harrison i de Mora, 2001; Geider i La Roche, 2002).

La Figura 1 mostra un esquema simplificat de l'organització d'una cèl·lula fitoplanctònica amb les relacions funcionals entre les seves estructures internes (Reynolds, 1997). En aquesta figura es fa notar la importància de l'aparell fotosintètic per a fabricar energia, la manera de captar i distribuir carboni cap a el sistema anabòlic i l'habilitat de captar nutrients clau des del medi extern (Reynolds, 1997).

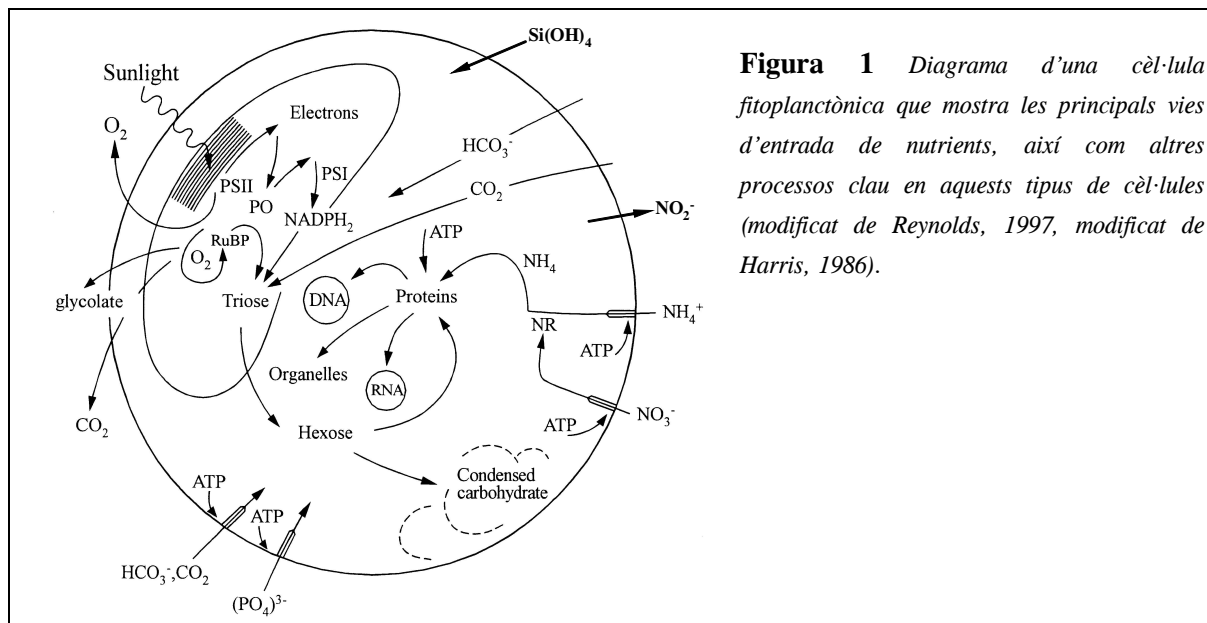


Figura 1 Diagrama d'una cèl·lula fitoplanctònica que mostra les principals vies d'entrada de nutrients, així com altres processos clau en aquests tipus de cèl·lules (modificat de Reynolds, 1997, modificat de Harris, 1986).

Els organismes del fitoplàncton necessiten, juntament amb el C i la llum per fer la fotosíntesi, aquests elements per a créixer i reproduir-se, i els obtenen mitjançant la incorporació de nutrients (compostos químics que contenen algun dels elements essencials P, N i Si) des de l'aigua que els envolta, a través d'unes proteïnes de membrana anomenades permeases. Els nutrients es troben a l'aigua de mar en forma de sals dissoltes: ortofosfat (HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}), ortosilicat (SiO_4^{4-}), i diverses formes de N: nitrat (NO_3^-), nitrit (NO_2^-) i amoni (NH_4^+). Els organismes del fitoplàncton obtenen el C a partir de CO_2 dissolt a l'aigua de mar i altres formes de carbonats. A més, algunes espècies com els cianobacteris també poden incorporar el N gasós (N_2) dissolt (Reynolds, 1997). A l'aigua de mar, aquests elements nutrients es consideren minoritaris, ja que si bé existeixen en concentracions relativament elevades, no afecten gaire les característiques físico-químiques de l'aigua de mar (Cruzado, 1985).

A part dels elements essencials, altres elements atòmics són constituents vitals per a l'estructura i/o funció dels organismes. De tots els elements i compostos presents en l'aigua de mar, n'hi ha almenys una vintena que també es poden anomenar nutrients, tot i que poden estar presents a les cèl·lules en una proporció relativament baixa: són el sodi (Na), clor (Cl), ferro (Fe), manganès (Mn), zinc (Zn), iode (I), bor (B), coure (Cu), molibdè (Mo), potassi (K), magnesi (Mg) i cobalt (Co). El calci (Ca) i el Si també pertanyen a aquest grup, tot i que alguns grups d'algues (cocolitoforals i diatomees principalment) els utilitzen en grans quantitats per formar elements estructurals, trobant-se en aquests casos en una proporció alta (deAngelis, 1992; Reynolds, 1997; Bearman, 1997). Els ions monovalents (K, Na, Cl) i divalents (Ca i Mg) participen en varies

funcions : mantenen el balanç iònic entre l'interior i l'exterior cel·lular, actuen com a cofactors o activadors enzimàtics, i el Mg, a més, forma part de la clorofil·la (Harrison i de Mora, 2001).

La majoria dels estudis sobre la composició elemental del plàncton es duen a terme mitjançant filtracions d'aigua (de cultius o del mar). El material retintut en filtres és analitzat amb un analitzador elemental per a l'obtenció de les quantitats de C i de N de la fracció particulada tant orgànica com total, i amb una digestió àcida per determinar el P particulat (Ambdues metodologies poden trobar-se detalladament a Grasshoff *et al.*, 1999). Per a la determinació d'altres elements, s'analitza el material acumulat en filtres per espectrometria de massa (Ho *et al.*, 2003). La principal limitació d'aquestes metodologies, especialment en mostres provinents del mar, és que no són capaces de discriminar quina part prové del plàncton i quina part prové d'altres partícules presents a la mostra, com cèl·lules mortes en descomposició o detritus (Banse, 1974). Aquestes tècniques tampoc permeten discriminar entre diferents grups del plàncton en la mateixa mostra. Actualment, la única tècnica que permet analitzar la composició elemental (excepte l'H) en cèl·lules individuals provinents tant de cultius com del mar és el microanàlisi de raigs - X.

Microanàlisi de raigs - X

Microanàlisi es refereix a la identificació i anàlisi químic de volums petits de matèria (Heath, 2005). Amb l'ús del microanàlisi de raigs - X és possible obtenir el contingut químic qualitativament (elements atòmics presents a la mostra) i quantitativament (en massa), utilitzant tant microscopis electrònics de rastreig (SEM, Scanning Electron Microscope) com de transmissió (TEM, Transmission Electron Microscope i STEM, Scanning - Transmission Electron Microscope).

El microanàlisi de raigs - X és una tècnica amb varies dècades d'existència. En els inicis, el microanàlisi s'aplicava a l'anàlisi de material d'origen geològic, i va començar a utilitzar-se en biologia a la dècada dels 70 en mostres de cèl·lules en cultiu. El canvi de tipus de mostra, de geològic a biològic, no és trivial en microanàlisi, ja que generalment en geologia es fan anàlisis de minerals, amb un número atòmic (Z) elevat i alta densitat, mentre que les mostres biològiques es caracteritzen per ser poc denses i tenir baixos Z (com ja s'ha explicat, estan formades principalment per C, H, O, N, P i S; Reynolds, 1997). El Z i la densitat de la mostra afecten tant l'anàlisi com la forma de l'espectre de microanàlisi resultant. A més, la rugositat de la superfície en mostres biològiques també complica l'anàlisi i la quantificació a partir dels espectres. El fonament teòric del mètode està descrit amb més detall al Capítol 4.

A partir de 1985 comencen a aparèixer els primers resultats sobre la composició elemental del fitoplàncton i del bacterioplàncton, utilitzant STEM (bacteris : Heldal *et al.*, 1985) i SEM (fitoplàncton : Lehman, 1985; bacteris : Booth *et al.*, 1987; cianobacteris : Clay *et al.*, 1991), però sense incloure elements lleugers (C, N i O), degut a limitacions instrumentals que actualment ja estan superades gràcies a la millora dels detectors. A mitjans dels 90 apareix la composició elemental de bacterioplàncton marí i cianobacteris, incloent elements lleugers, usant STEM (Norland *et al.*, 1995), mentre que el microanàlisi de fitoplàncton amb SEM fins a l'actualitat encara no inclou la quantificació d'elements lleugers.

En biologia marina també s'ha utilitzat el microanàlisi per estudiar la composició de matèria orgànica particulada (POM) marina (Mostajir *et al.*, 1998; Brandes *et al.*, 2004), la composició de cocòlits (Fagerbakke *et al.*, 1994), la identificació i la localització de metalls pesats (algues d'aigua dolça : Sylverberg, 1975; Bistricki i Munawar, 1982; Jensen *et al.*, 1982; cnidaris : Marshall, 2002), els cossos de polifosfat en macroalgues (Sicko - Goad *et al.*, 1975; Chopin *et al.*, 1997; Talarico, 2002), en diversos aspectes relacionats amb l'ecologia bacteriana (Tuomi *et al.*, 1995; Fagerbakke *et al.*, 1996; Heldal *et al.*, 1996 a i b; Gundersen

et al., 2002; Oren *et al.*, 2002; Vrede *et al.*, 2002; Heldal *et al.*, 2003), les característiques de varies espècies de fitoplàncton d'aigua dolça (El - Bestawy *et al.*, 1996; Sigee i Holland, 1997; Sigee *et al.*, 1998, 1999; Sigee i Levado, 2000; Krivtsov *et al.*, 2000, 2002, 2003), i les diferències entre cèl·lules vegetatives, viables i no viables (Mulyukin *et al.*, 2002).

La metodologia que s'ha utilitzat fins l'actualitat per analitzar cèl·lules de fitoplàncton (amb instruments que no poden detectar els elements lleugers) no és vàlida quan es fan servir els nous detectors, com el que s'ha utilitzat en aquest treball a l'Institut de Ciències del Mar (Fig. 2). Com que els suports on es col·loquen les cèl·lules (filtres compostats per C, O i / o Si) són molt més gruixuts que la cèl·lula que tenen a sobre, la participació del filtre en l'espectre de raigs - X obtingut és molt més gran que la participació de la cèl·lula. Per tant, fins que no s'adapta una nova metodologia de preparació del material per a l'anàlisi elemental amb microanàlisi de raigs - X no es podrà estudiar la composició elemental incloent C, N i O en organismes individuals.

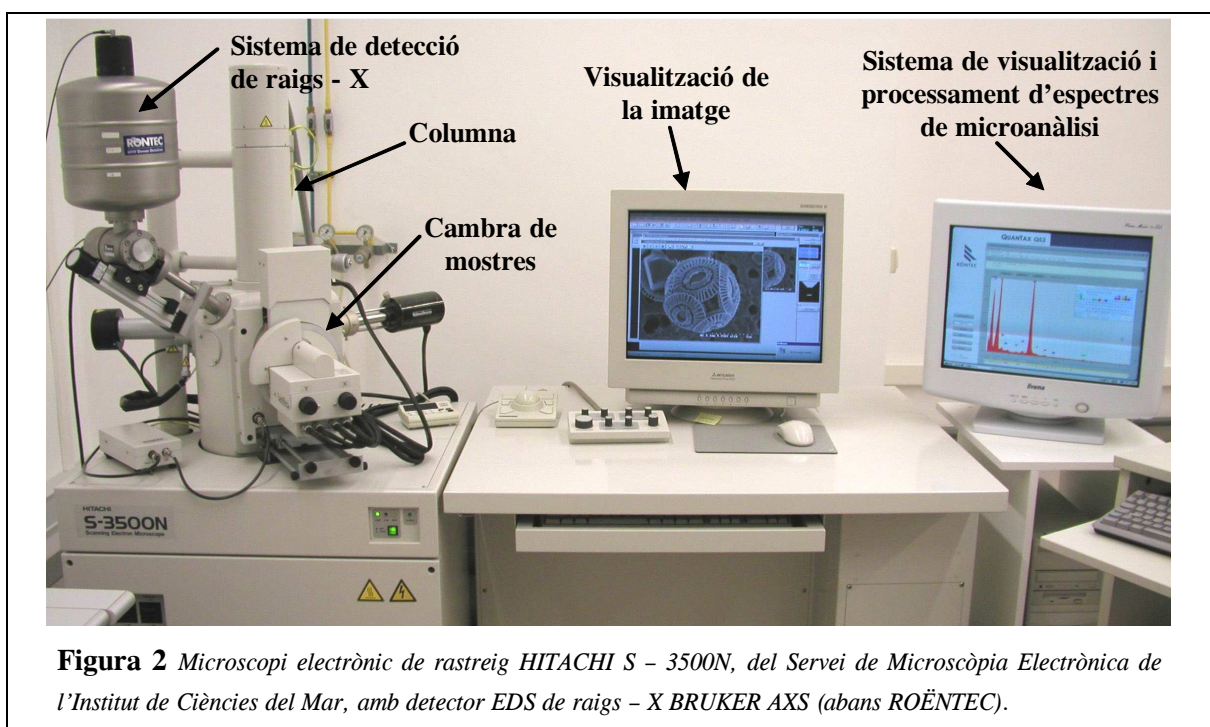


Figura 2 Microscopi electrònic de rastreig HITACHI S - 3500N, del Servei de Microscòpia Electrònica de l'Institut de Ciències del Mar, amb detector EDS de raigs - X BRUKER AXS (abans ROËNTEC).

Actualment només es coneixen les composicions elementals d'organismes que han pogut ser cultivats, i que ja apunten a diferències entre grups del plàncton (per exemple, Ho *et al.*, 2003), però es poden extrapolar a la natura les composicions químiques d'organismes cultivats, on la disponibilitat de nutrients i les condicions d'il·luminació estan acuradament estudiades per a ser òptimes per al seu creixement? En el medi natural, quina és la composició elemental de cada grup dels organismes més abundants? Es pot generalitzar una estequiometria per tot el fitoplàncton? O és diferent segons el grup (per exemple entre dinoflagel·lades i diatomees)? O fins i tot existeixen variacions interespecífiques tan importants que hauríem d'arribar al nivell d'espècie? I per últim, com poden afectar les diferents composicions i abundàncies d'organismes a la distribució dels nutrients a la Mar Catalana?

Fitoplàncton i hidrodinàmica a la Mar Catalana

A la Mar Catalana, la distribució de les poblacions naturals de plàncton està en part controlada per l'ambient físic : amb estructures mòbils de les masses d'aigua, cèl·lules de circulació i remolins de totes les mides. Segons Margalef (1978) "la successió de les poblacions està bàsicament controlada per l'ambient físic, per advecció i turbulència", més que no pas altres factors com la depredació o les interaccions bioquímiques.

Margalef (1978) proposa una relació entre les espècies del fitoplàncton, la concentració de nutrients i l'energia externa (representada com a turbulència) present en el medi. Segons el model proposat (mandala de Margalef, Fig. 3), en condicions d'alta energia externa i alta disponibilitat de nutrients (corresponents a l'hivern on l'aigua superficial on viu el plàncton es troba totalment barrejada amb aigües més profundes), els organismes que dominen són les diatomees, mentre que en condicions de baixa energia externa i poca disponibilitat de nutrients (a l'estiu, quan l'estratificació és més pronunciada), els organismes més abundants són les dinoflagel·lades. Per tant, a la capa fòtica de la Mar Catalana existeixen composicions i abundàncies d'organismes diferents en també diferents èpoques de l'any.

El fitoplàncton i la hidrodinàmica del sistema condicionen la distribució dels nutrients. En general, degut al consum que en fa el fitoplàncton, la concentració de nutrients en superfície és baixa, i a partir d'una certa profunditat on ja no hi ha prou llum per poder fer la fotosíntesi, les concentracions dels nutrients augmenten com a conseqüència de la remineralització duta a terme principalment per bacteris i protozous (Millero, 1996; Bearman, 1997). L'existència d'una barrera física, com pot ser la picnoclina, fa més lenta la difusió dels nutrients cap a la superfície. Altres fenòmens hidrodinàmics de mesoescala poden alterar aquest perfil típic dels nutrients en la columna d'aigua. Per exemple, els afloraments i les tempestes afavoreixen la barreja de la columna d'aigua fent que les concentracions dels nutrients en superfície augmentin.

Les principals característiques ambientals i hidrodinàmiques de la Mar Mediterrània i la Mar Catalana que afecten a la distribució dels nutrients i del plàncton es descriuen a continuació.

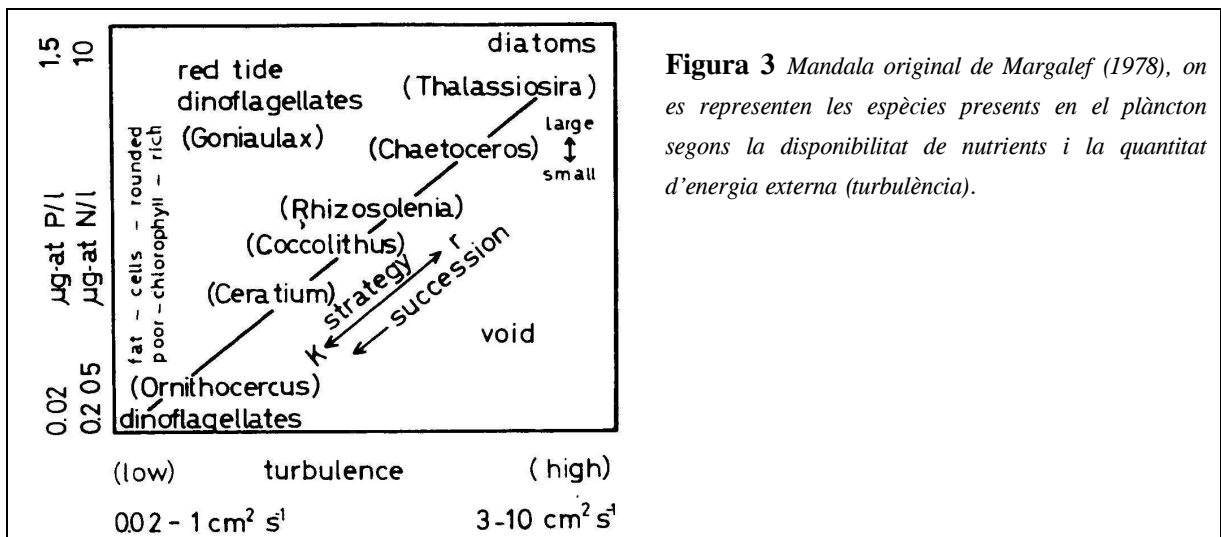


Figura 3 Mandala original de Margalef (1978), on es representen les espècies presents en el plàncton segons la disponibilitat de nutrients i la quantitat d'energia externa (turbulència).

La Mar Mediterrània

La Mar Mediterrània és una mar semitancada i relativament petita que es caracteritza per tenir una costa accidentada amb golfs, mars regionals, estrets, canals i illes que el divideixen en dues subconques i que

alhora li donen una climatologia i una dinàmica molt variada (Font, 1986). S'estén entre Europa i Àfrica (entre els 32 i 45° nord), i mesura uns 3800 km d'oest a est i 800 km de nord a sud. Té una superfície aproximada de $2,5 \cdot 10^6$ km², i una profunditat mitjana de 1500 m (Tixeront, 1970). En general també presenta plataformes continentals estretes, excepte la conca de l'Adriàtic, les costes argelines i les desembocadures dels rius Ebre i Roine (Rodríguez, 1984; Cruzado, 1985).

Les dues subconques (conegudes com occidental i oriental) estan unides per l'estret de Sicília. La conca occidental està unida a l'oceà Atlàntic per l'estret de Gibraltar, on aigua superficial atlàntica entra cap a la conca Mediterrània, mentre que aigua profunda Mediterrània (rica en nutrients remineralitzats i més rica que la superficial atlàntica que entra) surt cap a l'oceà Atlàntic (Cruzado, 1985).

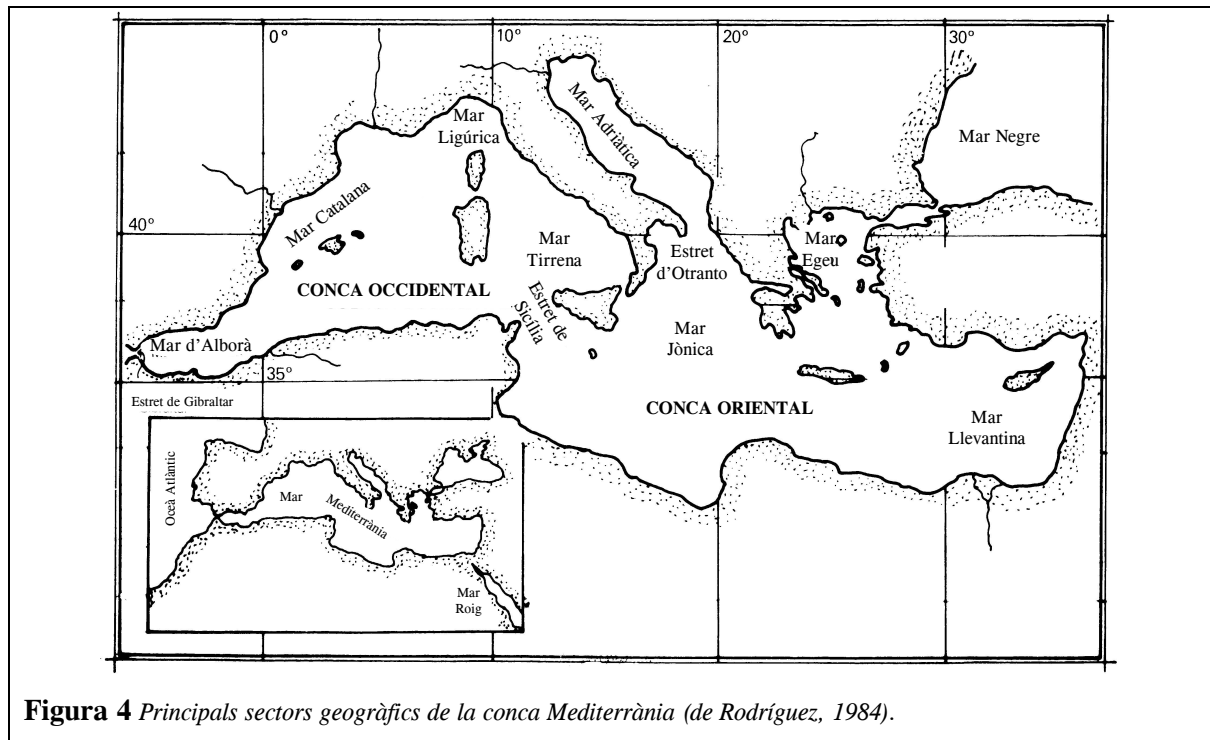


Figura 4 Principals sectors geogràfics de la conca Mediterrània (de Rodríguez, 1984).

La Mar Mediterrània és una conca de concentració, ja que l'aportació anual de rius i pluges és menor que la taxa anual d'evaporació. El dèficit es compensa amb l'entrada d'aigua a través de l'Estret de Gibraltar, motiu pel qual la salinitat incrementa conforme ens desplaçem cap a l'est. L'enriquiment en nutrients de l'aigua Mediterrània profunda que surt cap a l'Atlàntic és d'aproximadament un 4,7%, després d'estar entre 75 i 100 anys a la Mar Mediterrània (Cruzado, 1985).

Hi ha la tendència a definir la Mar Mediterrània com una mar oligotròfica, és a dir, "pobre en nutrients". Aquesta oligotrofia es deu a que la concentració de nutrients és baixa en superfície ja que la mar es troba estratificada, en major o menor grau, gran part de l'any. Aquesta pobresa incrementa com més ens desplaçem cap a l'est de l'Estret de Gibraltar (Fig. 5), puig que a l'Estret de Sicília es repeteix l'esquema d'intercanvi d'aigües descrit per a l'Estret de Gibraltar. Es pot afirmar que la Mar Mediterrània exporta nutrients cap a l'Oceà Atlàntic, procés reforçat per l'escassa descàrrega d'aigües continentals i residuals, que tot i que poden donar lloc a fenòmens importants d'enriquiment local, no poden compensar les pèrdues netes de nutrients (Rodríguez, 1984; Cruzado, 1985). Com a conseqüència, la concentració de nutrients en aigües profundes també és menor que a la mateixa profunditat a l'oceà Atlàntic (Fig. 5) i en general a altres oceans.

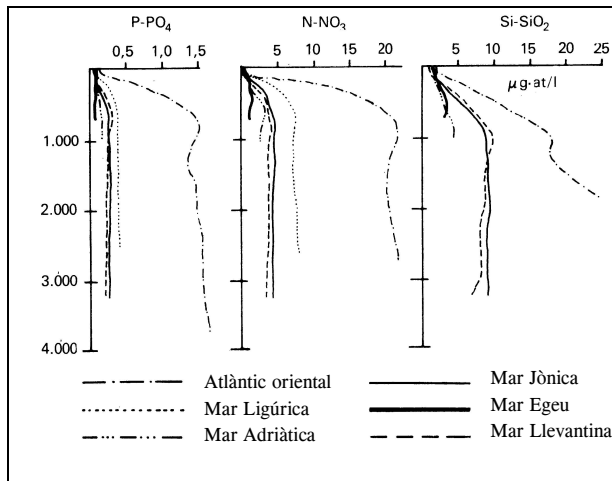


Figura 5 Concentració, en relació a la profunditat, d'alguns nutrients inorgànics a l'Atlàntic Oriental i en diferents mars de la Mar Mediterrània (de Rodríguez, 1984, modificada de Sournia, 1973).

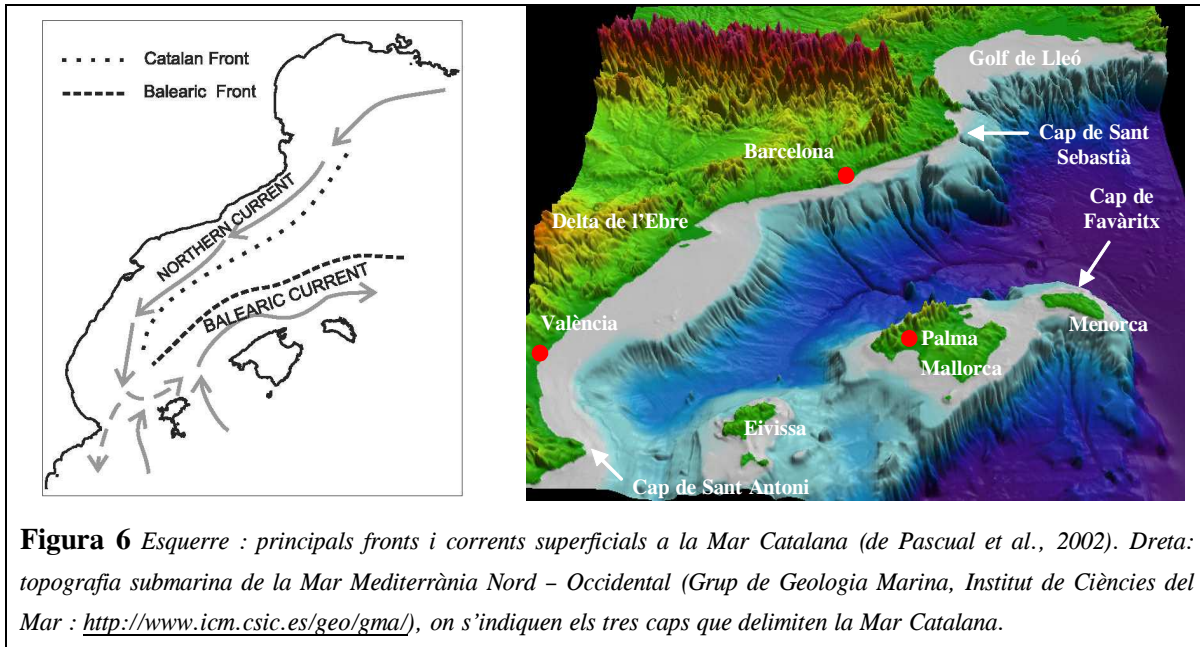
La Mar Catalana

La Mar Catalana és l'àrea de la Mar Mediterrània occidental situada entre la costa est de la Península Ibèrica i l'arxipèlag Balear. Té una superfície aproximada de 74000 km², un volum d'uns 61000 km³ i una profunditat màxima de 2500 metres. El seu límit nord està delimitat per la línia que va del Cap de Sant Sebastià, a la costa de Catalunya, i el Cap de Favàritx a la costa de Menorca. El límit sud - est està delimitat per la línia que va del Cap de Favàritx al Cap de Sant Antoni al País Valencià, incloent les costes de les Illes Balears i els canals d'Eivissa, Mallorca i Menorca (Fig. 6) (Font, 1986; M. Farran i M. Belzunces, Departament de Geologia Marina, ICM - CSIC, comunicació personal).

A la conca de la Mar Catalana es troben dos fronts de plataforma permanents, localitzats sobre el talús continental del marge peninsular i de les illes, anomenats fronts Català i Balear (Fig. 6). El front Català és un front causat per la diferència de S entre aigües continentals i aigües més salades del centre de la conca, mentre que el front Balear està causat per la diferència de T i S entre les aigües Atlàntiques i les del centre de la conca (Font *et al.*, 1988). Associada al front Català hi ha la corrent Catalana (15 - 30 cm/s), que en realitat és una extensió de la corrent Lliguro - Provençal (també coneguda com "Northern Current"). Aquesta corrent comença al Golf de Gènova i s'estén fins al Golf de València, dirigint-se cap al sud, paral·lela a la isòbata de 1000 m. Un cop arribada al Golf de València una part d'aquesta corrent inicia un gir ciclònic davant del canal d'Eivissa i es desvia cap al nord - oest al llarg del talús Balear. Aquest flux (corrent Balear), contrari a l'inicial, incorpora aigües atlàntiques que entren pels canals de Mallorca i Eivissa. (Millot, 1987; Font *et al.*, 1988; Salat, 1995). La corrent Catalana té una variació estacional marcada, incrementant d'intensitat a la tardor i disminuint des de l'hivern fins a un mínim a l'estiu (Font *et al.*, 1995). La circulació general a la Mar Catalana és de caràcter ciclònic, consistent en una massa d'aigua central densa rodejada per aigües més lleugeres continentals i Atlàntiques (Font *et al.*, 1988).

La corrent Catalana entra a la Mar Catalana provinent del Golf de Lleó, ocupant els primers 300 - 400 m de profunditat. La plataforma continental a l'alçada del Golf de Lleó és estreta (menys de 25 km d'amplada) i discontinua degut a l'existència de varis canyons submarins (Canals *et al.*, 1982). Estructures relacionades amb canvis en la topografia del fons i amb la morfologia de la costa provoquen la desviació del flux, la formació de remolins i la intrusió d'aigua salada a la plataforma continental (Font *et al.*, 1988; Masó *et al.*, 1990; Tintoré *et al.*, 1990; Masó i Tintoré, 1991; Granata *et al.*, 2004). Aquestes estructures es caracteritzen per forts gradients de densitat que poden provocar corrents transitoris en els primers 100 m, que poden arribar a 100 cm/s, mentre que el promig de velocitat per la corrent del talús és de 20 - 30 cm/s (Send

et al., 1999). Els fronts, remolins, filaments i altres estructures hidrogràfiques de mesoescala afavoreixen l'entrada de nutrients a la zona superficial, i per tant afavoreixen un augment de producció primària superficial (Priour i Tiberti, 1984; Estrada i Margalef, 1988; Salat, 1995; Estrada, 1999; Granata *et al.*, 2004). A més, la circulació de les dues corrents crea a la zona central una divergència caracteritzada per una elevació de les isopícnies cap a la superfície, on aigües intermèdies més riques en nutrients que les superficials estaran més a prop de la zona fòtica, afavorint un augment de producció primària (Estrada i Margalef, 1988; Estrada, 1999).



També a través de canyons submarins en determinades condicions es poden produir cascades d'aigua densa, principalment a l'hivern. Aquestes cascades transporten material particulat poc degradat des de la plataforma del Golf de Lleó directament cap a profunditats entre 500 m i el fons del canyó (més de 1000 m), segons la densitat de l'aigua de la cascada (Canals *et al.*, 2006; Palanques *et al.*, 2006).

La plataforma continental associada al Delta de l'Ebre és la més ampla de tota la Mar Catalana (fins aproximadament 70 km davant de Vinaròs). Aquest eixamplament de la plataforma (Fig. 6) també provoca una desviació de la Corrent Catalana, que afavoreix un aflorament i la formació de filaments d'aigua continental dins de l'aigua de mar obert, ambdós processos associats a un augment de la producció primària (La Violette *et al.*, 1990; Estrada, 1999).

Objectius generals i desenvolupament del treball de tesi

L'objectiu principal d'aquesta tesi és trobar una relació entre la distribució dels nutrients i de l'oxigen dissolt amb la composició elemental del fitoplàncton a la Mar Catalana. Per tal d'assolir aquest objectiu general cal, per una part, descriure l'estequiometria dels nutrients a les capes profundes de la Mar Catalana mitjançant els següents passos :

- Establiment dels rangs de concentració de nutrients inorgànics, oxigen dissolt i clorofil·la *a* a la Mar Catalana. Per això és indispensable construir un protocol de Control de Qualitat per a totes aquestes variables oceanogràfiques de la Mar Catalana.

- Determinar l'estequiometria entre els nutrients inorgànics i l'oxigen dissolt a la Mar Catalana a partir de dades que han superat el control de qualitat establert.
- Estudiar la distribució i les variacions anuals i interanuals, de les concentracions de nutrients inorgànics, oxigen dissolt i clorofil·la *a* i de les relacions estequiomètriques entre aquestes variables.

A continuació, per a descriure l'estequiometria a l'interior de les cèl·lules del fitoplàncton és necessari :

- Preparar un nou protocol de preparació de mostres per a estudiar la composició elemental del fitoplàncton mitjançant microanàlisi de raigs - X amb un microscopi electrònic de rastreig.
- Estudiar la composició elemental de cèl·lules individuals del fitoplàncton de la Mar Catalana mitjançant microanàlisi de raigs - X.

L'estructuració de la tesi és la següent :

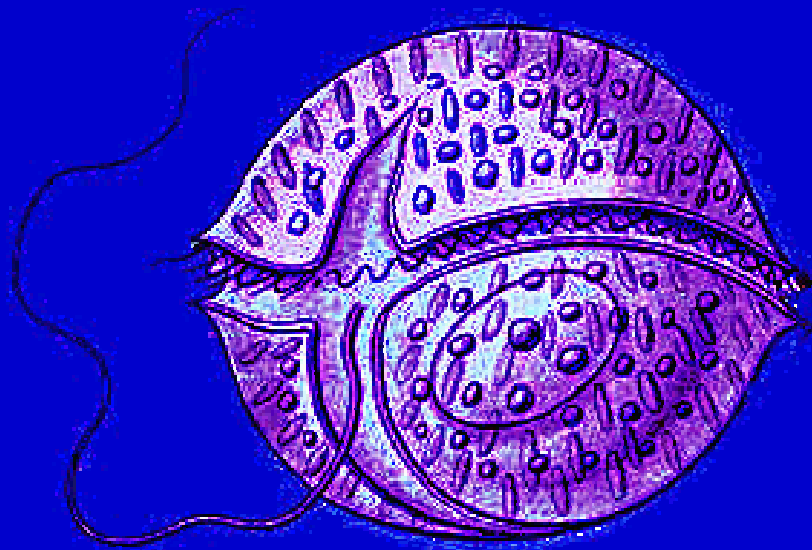
El primer capítol és metodològic. En aquest capítol es treballen tots els aspectes relacionats amb les dades oceanogràfiques : la font de les dades, la descripció de l'obtenció de dades de temperatura i salinitat en les campanyes oceanogràfiques i la metodologia d'anàlisi de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a*. Puig que es pretén utilitzar conjuntament dades de campanyes on els nutrients s'han congelat amb altres on han estat analitzats a bord, s'ha fet un experiment per veure si els resultats poden estar afectats per aquesta diferència metodològica. Per últim s'ha aplicat un control de qualitat a les dades de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a*, adaptat de controls de qualitat existents per a tots els oceans en general i per la Mar Mediterrània en concret.

El segon i tercer capítols contenen els resultats, i la discussió dels mateixos, de l'aplicació dels controls de qualitat en les dades de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a* a la Mar Catalana. S'han definit els rangs usuals de concentracions d'aquestes variables a la Mar Catalana, s'ha estudiat la concentració de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a* mitjana en cada massa d'aigua present a la Mar Catalana i s'ha estudiat l'estequiometria entre els nutrients en aigües profundes de la Mar Catalana. Les variacions espacials (diferències entre els rangs resultants a la plataforma continental i en el mar obert), anuals (estacionalitat) i interanuals (estudi de l'existència de tendències al llarg dels anys, considerant les campanyes obtingudes com una sèrie temporal per a la Mar Catalana) es troben al Capítol 3.

El quart capítol explica la metodologia de microanàlisi de raigs - X i les adaptacions que s'han realitzat per a l'estudi de fitoplàncton amb SEM - EDS. En aquest capítol també s'inclou una intercalibració entre SEM i STEM - EDS, realitzada sota la supervisió de Mikal Heldal i Svein Norland, al Departament de Microbiologia, Laboratori de Microscòpia Electrònica, de la Universitat de Bergen, Noruega.

El cinquè capítol conté els resultats, i la discussió dels mateixos, dels anàlisis realitzats en cèl·lules individuals del fitoplàncton (diatomees i dinoflagel·lades) mitjançant microanàlisi de raigs - X. S'han definit quotes elementals i concentracions cel·lulars per a diversos elements atòmics i la relació empírica entre la massa dels diferents elements i el volum cel·lular. Per últim s'ha definit l'estequiometria entre els diferents àtoms que constitueixen principalment les cèl·lules de diatomees i de dinoflagel·lades.

En el sisè i últim capítol es compara la distribució i estequiometria de les sals nutrients en aigües intermèdies i profundes de la Mar Catalana (Cap. 3) amb la composició química i l'estequiometria dels organismes del fitoplàncton (Cap. 5).



Capítol 1.

Metodologies d'anàlisi i control
de qualitat de dades oceanogràfiques
de la Mar Catalana

Capítol 1. Metodologies d'anàlisi i control de qualitat de dades oceanogràfiques de la Mar Catalana

1.1 Dades oceanogràfiques de la Mar Catalana

Per estudiar l'estequiometria de la Mar Catalana és necessari primer determinar els rangs de concentració de les sals nutrients, l'oxigen dissolt i la clorofil·la *a* a la Mar Catalana. Per això s'han recopilat dades de 28 campanyes oceanogràfiques realitzades en aquesta zona, en les que han participat investigadors de l'Institut de Ciències del Mar i del Centre d'Estudis Avançats de Blanes del CSIC (Grup PEPS, 1986; Masó i Grup PEPS, 1988; Varela i Grup FRONTS, 1991; Masó i Grup Varimed, 1995; i dades proporcionades pels Drs. A. Cruzado, M. Estrada, L. Arin, A. Palanques i A. Sabatés). La Figura 1.1 mostra la posició de les estacions de mostreig de les diferents variables oceanogràfiques estudiades. Els mapes amb la posició de les estacions de mostreig en cada campanya oceanogràfica es troben a l'Apèndix A. La informació recollida comprèn, per cada estació : localització, profunditat màxima de la columna d'aigua, data i hora de mostreig, i dades de pressió, salinitat i temperatura en aquelles profunditats on es van tancar les botelles Niskin per a prendre mostres d'aigua. De l'aigua mostrejada han estat analitzades alguna o totes les variables d'estudi : nutrients (fosfat, nitrat + nitrit (a partir d'aquí s'anomenarà només "nitrat"), nitrit, amoni, silicat), clorofil·la *a* i oxigen dissolt.

Complementant aquestes campanyes, les bases de dades MEDATLAS i MATER també contenen dades oceanogràfiques de la zona d'estudi (Taula 1.1). De totes les campanyes del CSIC, només els nutrients de la campanya Mesoescala 95 (Meso 95) es troben també a MEDATLAS, i s'ha tingut en compte no duplicar aquestes dades en els anàlisis estadístics del CQ. La Taula 1.2 recull per cada campanya : l'acrònim, el cap de campanya, el títol del projecte, les dates de l'expedició, el vaixell oceanogràfic i la font d'on s'han obtingut les dades del CSIC. A la Figura 1.2 es mostra el nombre de dades per any de mostreig.

Taula 1.1 *Quantitat de dades recopilades per a cada variable d'estudi, provinents de les campanyes del CSIC (inclosa Meso 95) i de les bases de dades MEDATLAS i MATER ("Atles"). Les estacions amb una profunditat més gran de 400 m són utilitzades per establir els rangs de concentració en el control de qualitat.*

	Nombre total de dades			Dades d'estacions amb profunditat màxima > 400 m		
	CSIC	Atles	Total	CSIC	Atles	Total
Fosfat	8993	6466	15459	6191	2274	8465
Nitrat	13972	572	14544	9819	269	10088
Nitrit	12984	4903	17887	8953	1818	10771
Amoni	4944	481	5425	3682	178	3860
Silicat	14013	5857	19870	9838	2026	11861
Oxigen dissolt	10248	8357	18605	7455	5395	12849
Clorofil·la <i>a</i>	7201	3530	10731	5004	799	5803
Total	72355	30156	102161	50942	12759	63697

Taula 1.2 Acrònims de les campanyes d'estudi, caps de campanya, projecte al que pertanyen i organisme finançador. UB: Universitat de Barcelona; CSIC: Consell Superior d'Investigacions Científiques; CAICYT: "Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica"; CICYT: "Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología".

ACRÒNIM	CAP de CAMPANYA	PROJECTE	FINANÇAMENT
PEP 82, 83 i 84	Des de 1982 fins a 2000:	Producció Estival Profunda. Transferència vertical de nitrogen i carboni en el Mar Català – Balear durant el període d'estratificació	UB, CSIC i CAICYT (programa num. 233113-08)
FRONTS 3-85, 6-85 i 11-86		Contribució de fronts hidrogràfics costaners a la producció estival al mar Catalano – Balear	CSIC i CAICYT (ajuda num. PR84-0067)
PEP 86 i 87	Dra. Marta Estrada Dr. Miquel Alcaraz Sr. Jordi Salat	Producció Estival Profunda. El màxim profund de clorofil·la	CSIC i Comité Conjunto Hispano – Norteamericano de Cooperación Científica y Tecnológica (ajuda num. CCA8411054)
FRONTS 89, 90 i 91	Normalment les campanyes es dividien en una part hidrogràfica (J.S.) i una altre biològica (M.E. i M.A.).	Estudi dels efectes hidrodinàmics sobre la distribució i fisiologia de les comunitats planctòniques en els fronts del Mar Català	CICYT (MAR88-0252)
FRONTS 1992		Acoblament entre la variabilitat temporal de factors físics i fenòmens biològics en el Mediterrani Nord-Occidental	CICYT (MAR91-0359)
VARIMED 93, fases I, II i III		Variabilitat de mesoescala en el Mediterrani Nord – Occidental, MEPELAGOS, EROS, EUROMODEL	CICYT (AMB93-0728), projectes internacionals: MAST II i GLOBEC, Comunitat Europea
VARIMED 95		Estudi de sistema pelàgic mediterrani: anàlisi de la dinàmica planctònica	CICYT (AMB94-1019)
MESO 95		Caracterització de les xarxes tròfiques planctòniques en el Mar Català. Relació amb els processos hidrogràfics de mesoescala	CICYT (AMB94-0853)
FANS 1, 2 i 3	FANS 1 i 3: Dr. Albert Palanques	Fluxes Across Narrow Shelves. The Ebro Delta Case	EU MAST-III (MAST3-CT95-0037) MAR96-2268-C03-01-CE
HIVERN 99 i 2000		Condicions hivernals en l'ecosistema planctònic del mar	CICYT (MAR98-0932)
CANYONS I a IV	Dr. Albert Palanques	Estudi multidisciplinari de la dinàmica d'un canyó submarí i la seva repercussió sobre l'ecologia del marge continental del Mediterrani Nord – occidental	CICYT (MAR99-1060-CO3-01:02:03)
CACO 1 i 2	Dra. Ana Sabatés	Estudi de l'efecte del canvi global en comunitats marines del Mediterrani nord – occidental	CICYT (REN2002-01339/MAR)

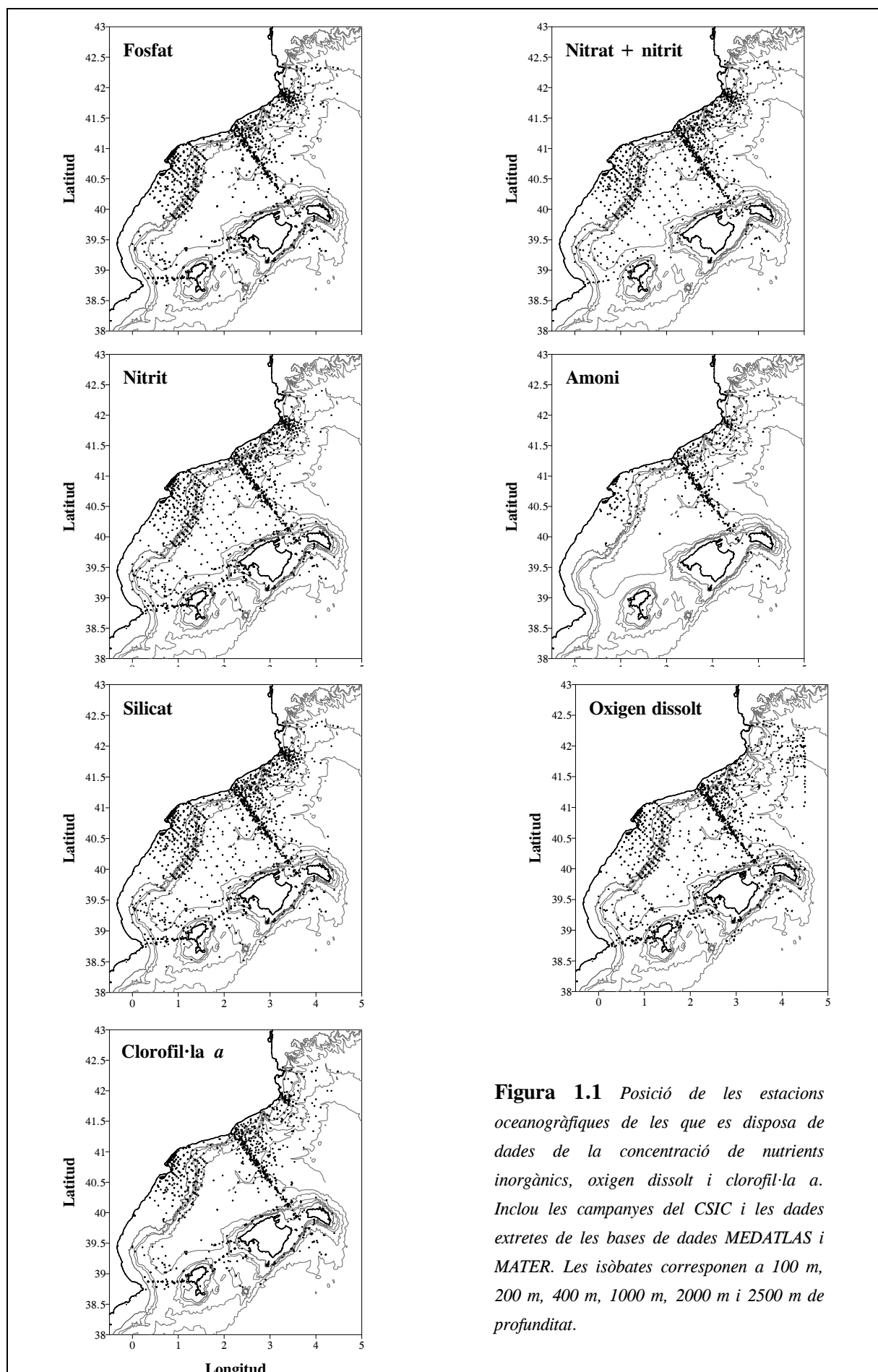
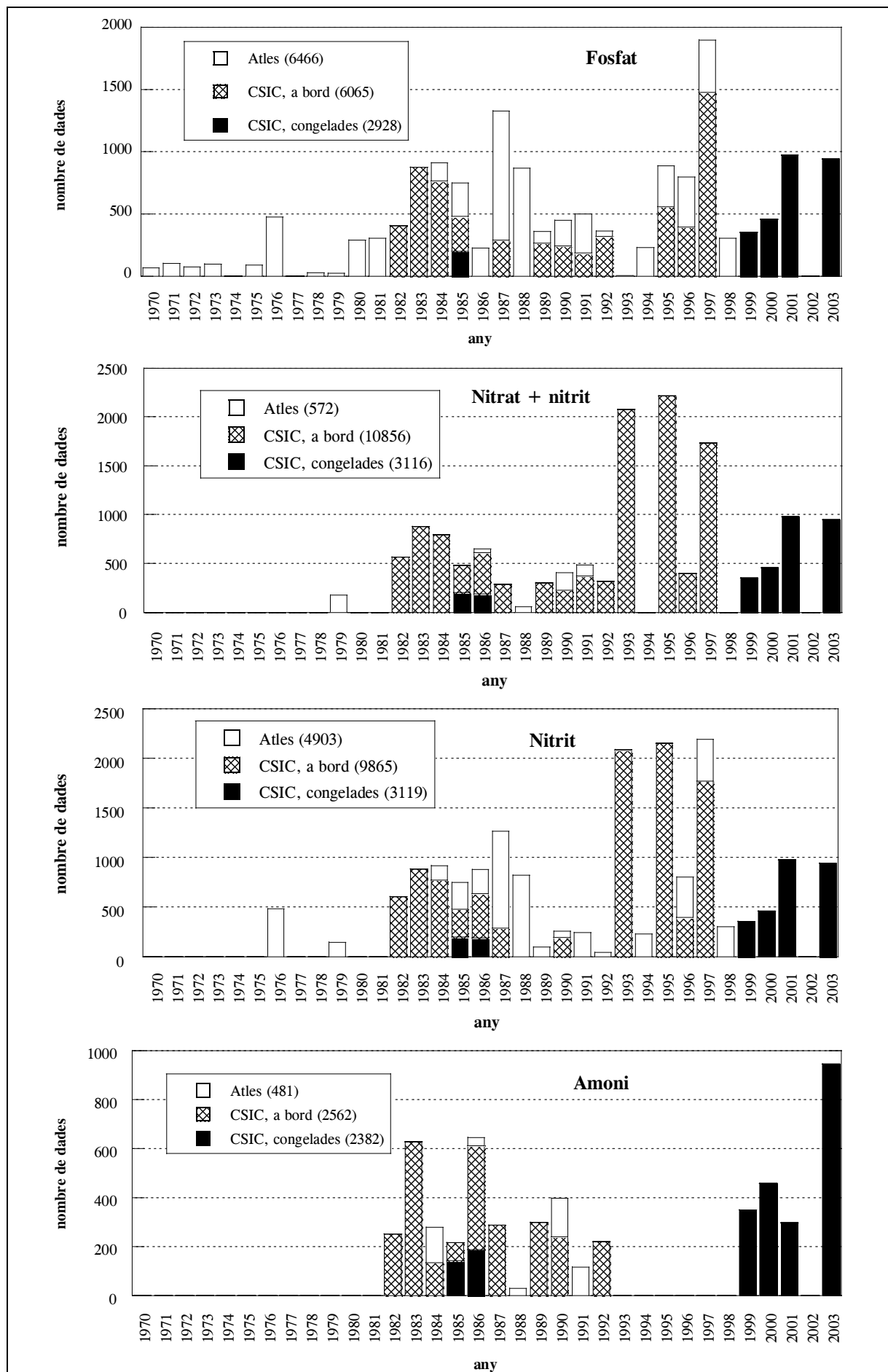


Figura 1.1 Posició de les estacions oceanogràfiques de les que es disposa de dades de la concentració de nutrients inorgànics, oxigen dissolt i clorofil·la a. Inclou les campanyes del CSIC i les dades extretes de les bases de dades MEDATLAS i MATER. Les isòbates corresponen a 100 m, 200 m, 400 m, 1000 m, 2000 m i 2500 m de profunditat.



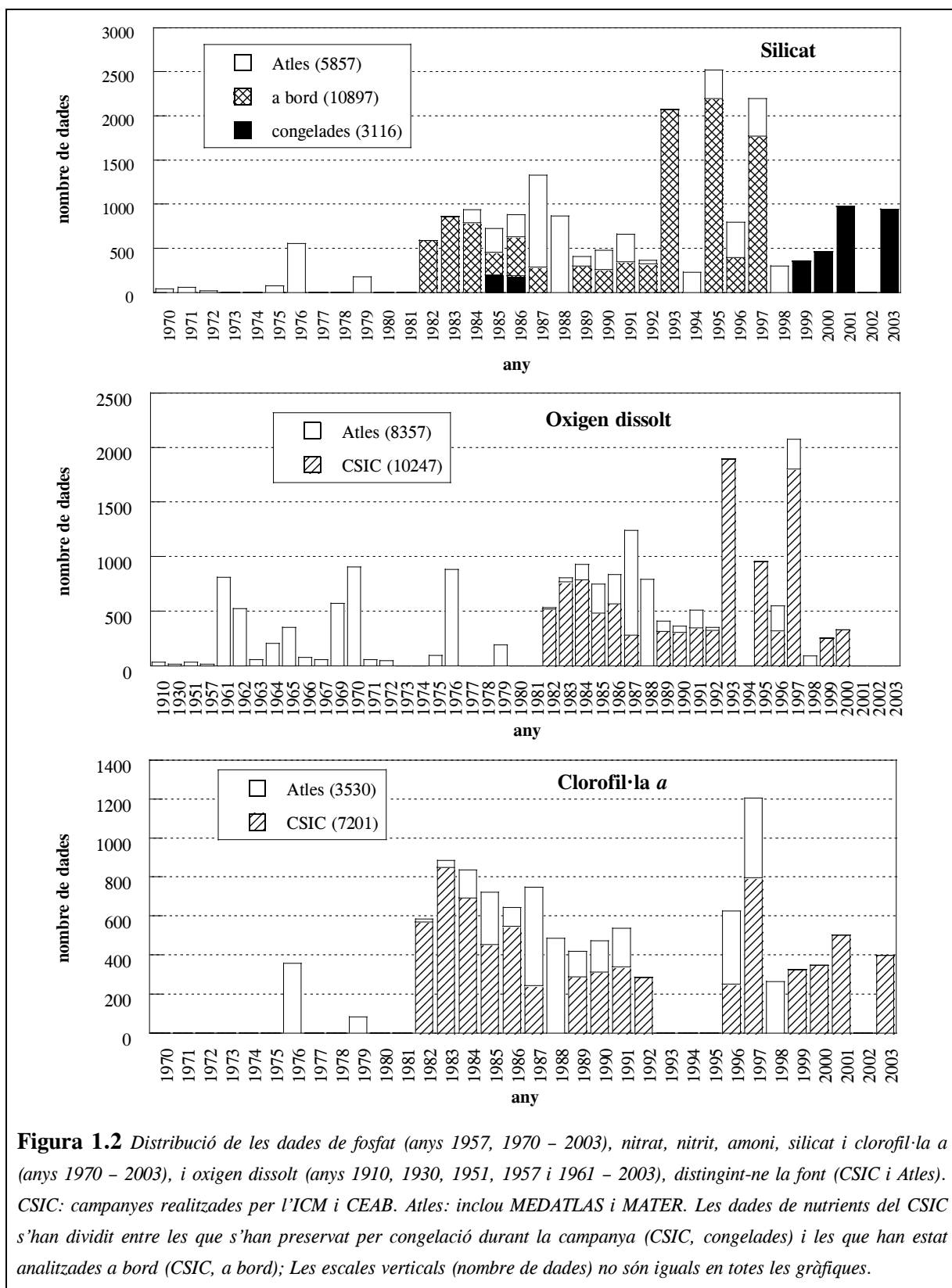


Figura 1.2 Distribució de les dades de fosfat (anys 1957, 1970 – 2003), nitrat, nitrit, amoni, silicat i clorofil·la a (anys 1970 – 2003), i oxigen dissolt (anys 1910, 1930, 1951, 1957 i 1961 – 2003), distingint-ne la font (CSIC i Atles). CSIC: campanyes realitzades per l'ICM i CEAB. Atles: inclou MEDATLAS i MATER. Les dades de nutrients del CSIC s'han dividit entre les que s'han preservat per congelació durant la campanya (CSIC, congelades) i les que han estat analitzades a bord (CSIC, a bord); Les escales verticals (nombre de dades) no són iguals en totes les gràfiques.

1.2 Les variables físiques : temperatura, salinitat i pressió

En les campanyes oceanogràfiques recopilades, les dades de temperatura (T, °C), salinitat (S, Practical Salinity Scale) i profunditat (m, a partir de dades de pressió (db)) han estat obtingudes mitjançant diversos instruments oceanogràfics (Taula 1.3). Per tal de determinar la qualitat d'aquestes dades s'ha comprovat en primer lloc si es troben dins dels anomenats "límits regionals" (en aquesta base de dades, la Mar Catalana correspon a la regió DS2) indicats a la base de dades MEDATLAS (Medar Group, 2002) :

- **Temperatura** : per sobre de 200 m, la temperatura oscil·la entre 11 i 28 °C; i per sota de 200 m fins al fons el rang de temperatura és de 12 a 15 °C.
- **Salinitat** : es troba entre 35,5 i 39.
- **Pressió màxima** : 2700 db.

En les campanyes treballades, pràcticament totes les dades de temperatura i salinitat es troben dins dels rangs de valors proposats per MEDATLAS. Només s'han trobat algunes dades amb salinitat inferior a 35,5 localitzades prop de la desembocadura del Delta de l'Ebre (campanya Fans), que no s'han considerat anòmales ja que corresponen a situacions reals.

A partir de dades de pressió, T i S dins dels rangs, i utilitzant el programari d'instrumentació oceanogràfica SEASOFT v.4.0 (Sea - Bird Electronic, 1992, amb els algorismes de Fofonoff i Millard (1983)), s'ha calculat la temperatura potencial (θ , °C) i la sigma - θ ($\sigma - \theta$, Kg/m³) a pressió atmosfèrica, com a mesura de la densitat de la columna d'aigua. Utilitzant la S i la θ s'han construït diagrames $\theta - S$ per definir en cada profunditat de la columna d'aigua a quina massa d'aigua pertany l'aigua mostrejada.

A la Mar Catalana poden trobar-se diferents masses d'aigua segons la localització, l'època de l'any i la profunditat. Les seves característiques en S, T i densitat varien d'acord amb les condicions de formació, de manera que la quantitat de calor i d'aigua dolça que arriba a la superfície del mar condiciona la flotabilitat de l'aigua i les propietats de les masses d'aigua (Send *et al.*, 1999). L'estructura de les masses d'aigua a la Mar Catalana és doncs el resultat de la combinació dels efectes de la climatologia, la topografia i la circulació (Salat, 1996). Els acrònims usats per a designar les masses d'aigua segueixen les recomanacions de la Taula Rodona sobre els Acrònims de les Masses d'Aigua Mediterrània (Round Table on Mediterranean Water Mass Acronyms, 36è Congrés de la CIESM, Mònaco, 2001 (<http://ciesm.org/events/RT5-WaterMassAcronyms.pdf>)). A la Mar Catalana podem trobar tres tipus de masses d'aigua superficial (SW) (Fig. 1.3) (Salat i Cruzado, 1981; Font *et al.*, 1988; Salat, 1995) :

- Aigua amb influències continentals (CW): com el seu nom indica, conté aigües continentals (rius), especialment del Roine i de l'Ebre. Es troba prop de la costa Catalana, amb una salinitat entre 35,5 i 37. A la corrent Catalana i a la plataforma davant del Delta de l'Ebre la velocitat d'aquesta aigua és de 25 - 26 Km d⁻¹ (Castellón *et al.*, 1990; Sabatés *et al.*, 2001).
- Aigua amb influència Atlàntica (AW): correspon a aigua provinent de l'Oceà Atlàntic. Degut a l'evaporació, des de que entra per l'estret de Gibraltar i avança cap a l'est de la conca Mediterrània la salinitat augmenta des de 36,5 fins a 37 - 37,3 al NO del Mar Mediterrani. A la Mar Catalana trobem la AW prop de les illes Balears, amb salinitats al voltant de 37, formant una capa de 100 - 200 m de gruix.
- Aigües residents (RW): aigües de salinitat superior a 37,8 - 38, resultants dels canvis de l'aigua atlàntica (també pot anomenar-se "Aigua Atlàntica Modificada" (MAW) o "aigua mediterrània") que porta prou temps al Mediterrani com per augmentar la salinitat per efecte de l'evaporació.

Taula 1.3 Instrumentació i vaixells utilitzats per l'obtenció de les variables físiques en les campanyes realitzades a la Mar Catalana. Font: I : Grup PEPS, 1986; II : Masó i Grup PEPS, 1988; III : Varela i Grup FRONTS, 1991; IV : Masó i Grup Varimed, 1995.

Campanya	Data	Num. perfils	Vaixell	CTD	Termòmetre	Salinòmetre	Pressió	Font
PEP-82	11 - 30 juliol 1982	49	García del Cid		reversible	inducció	cable	I
PEP-83	30 juny - 17 juliol 1983	83	García del Cid	Neil Brown	sonda	sonda	sonda	I
PEP-84	15 - 30 maig 1984	53	García del Cid		reversible	inducció	cable	I
FRONTS-3-85	15 - 26 març 1985	17	García del Cid	Neil Brown (1 ^a part)	reversible	inducció	cable	II
FRONTS-6-85	1 - 6 juny 1985	23	García del Cid		reversible	inducció	cable	II
PEP-86	13 - 24 juny 1986	39	García del Cid		reversible	inducció	cable	II
FRONTS 11-86	7 - 12 novembre 1986	15	García del Cid		reversible	inducció	cable	II
PEP-87	23 - 30 maig 1987	20	García del Cid		reversible	inducció	cable	II
FRONTS 89	13 - 22 maig 1989	28	García del Cid	Sea - Bird SEB 19 (alguns)	reversible	inducció	cable	III
FRONTS 90	9 - 21 febrer 1990	30	García del Cid	Neil Brown Mark-III (1 ^a part)	reversible	conductivitat	cable	III
FRONTS 91	10 - 21 abril 1991	37	García del Cid	Neil Brown Mark-III (1 ^a part)	sonda	sonda	sonda	III
FRONTS 92	15 octubre - 4 novembre 1992	27	García del Cid	Seabird SBE 25	sonda	sonda	sonda	IV
VARIMED 93 I	1 - 8 juny 1993	60	Hespérides	Neil - Brown Mark V	sonda	sonda	sonda	IV
VARIMED 93 II	10 - 16 i 23 - 29 juny 1993	21	Hespérides	Neil - Brown Mark V	sonda	sonda	sonda	IV
VARIMED 93 III	18 - 22 juny 1993	41	Hespérides	Neil - Brown Mark V	sonda	sonda	sonda	IV
VARIMED 95	2 - 14 juny 1995	32	Hespérides	Neil - Brown Mark V	sonda	sonda	sonda	M. Estrada
MESO 95	31 maig - 23 juny 1995	176	García del Cid	Neil - Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	A. Cruzado
FANS 1	1 - 11 novembre 1996	53	García del Cid	Neil - Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	L. Arin
FANS 2	4 - 14 febrer 1997	105	García del Cid	Neil - Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	L. Arin
FANS 3	7 - 16 juliol 1997	110	García del Cid	Neil - Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	L. Arin
HIVERN 99	20 febrer - 15 març 1999	47	García del Cid	Neil - Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	M. Estrada
HIVERN 2000	21 gener - 11 febrer 2000	50	García del Cid	Neil - Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	M. Estrada
CANYONS I	13 - 19 març 2001	32	García del Cid	Neil - Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	M. Emelianov
CANYONS II	24 - 31 maig 2001	44	García del Cid	Neil - Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	M. Emelianov
CANYONS III	10 - 15 juliol 2001	24	García del Cid	Sea - bird SBE 25 / Idronaut	sonda	sonda	sonda	M. Emelianov
CANYONS IV	26 - 29 novembre 2001	14	García del Cid	Neil Brown Mark-III	sonda	sonda	sonda	M. Emelianov
CACO 1	18 - 25 juliol 2003	67	García del Cid	Neil Brown Mark-III 1138	sonda	sonda	sonda	M. Emelianov
CACO 2	11 - 20 setembre 2003	65	García del Cid	Neil Brown Mark-III 1138	sonda	sonda	sonda	M. Emelianov

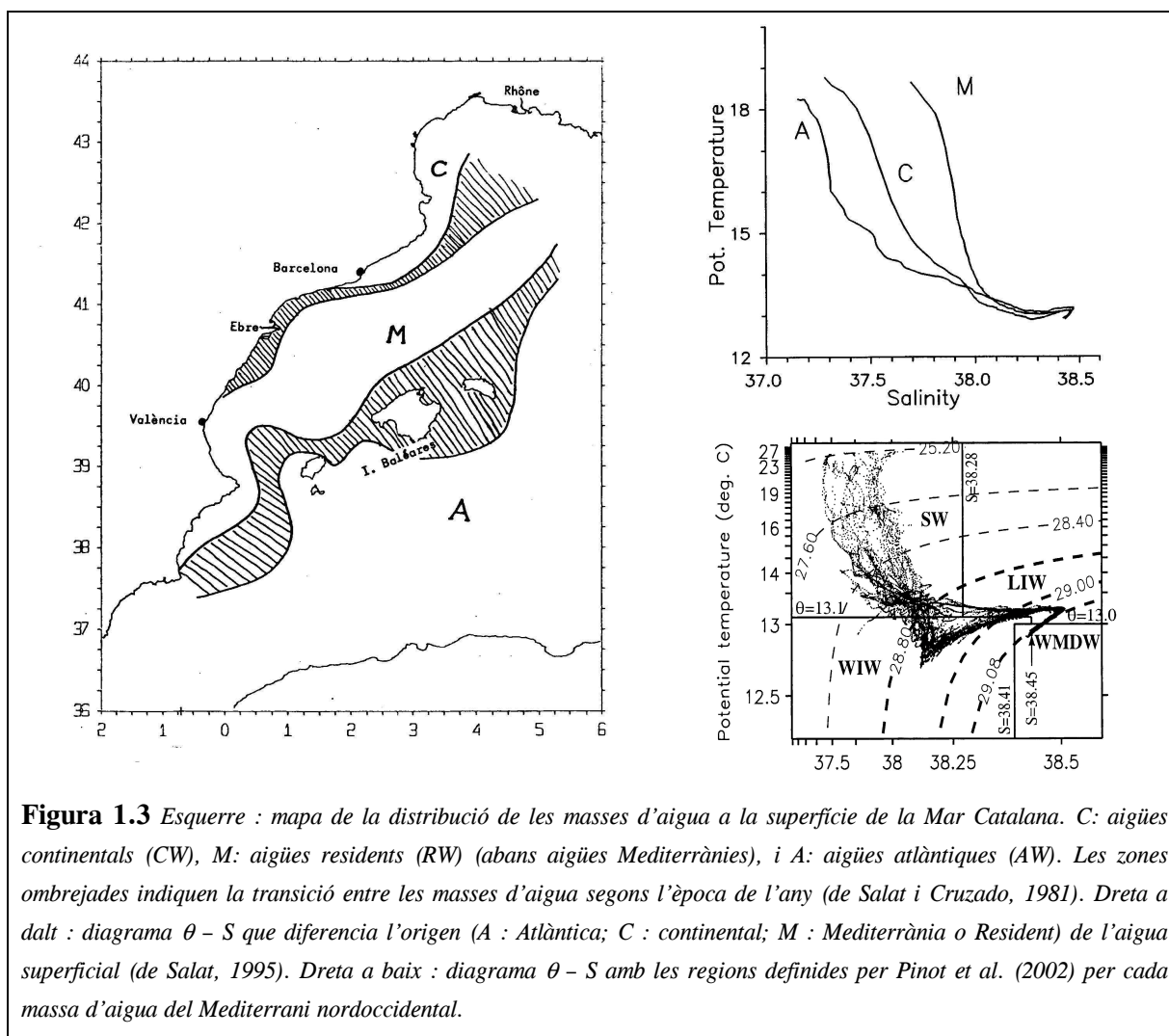


Figura 1.3 Esquerre : mapa de la distribució de les masses d'aigua a la superfície de la Mar Catalana. C: aigües continentals (CW), M: aigües residents (RW) (abans aigües Mediterrànies), i A: aigües atlàntiques (AW). Les zones ombrujades indiquen la transició entre les masses d'aigua segons l'època de l'any (de Salat i Cruzado, 1981). Dreta a dalt : diagrama $\theta - S$ que diferencia l'origen (A : Atlàntica; C : continental; M : Mediterrània o Resident) de l'aigua superficial (de Salat, 1995). Dreta a baix : diagrama $\theta - S$ amb les regions definides per Pinot *et al.* (2002) per cada massa d'aigua del Mediterrani nordoccidental.

Per sota de l'aigua superficial podem trobar dos tipus d'aigua intermèdia:

- **Aigua hivernal (Western Mediterranean Intermediate Water, WIW):** es forma a la plataforma del Golf de Lleó i de la Mar Catalana durant l'hivern per convecció, quan ràfegues relativament intenses de vents del nord refreden l'aigua superficial sense que hi hagi mescla amb aigües més profundes (LIW). Es caracteritza per tenir un mínim de θ al voltant de 12 – 12,5 °C, una salinitat entre 38,1 – 38,3, amb una densitat resultant ($\sigma - \theta$) de 28,9 a 29 (Fig. 1.3 dreta a baix). En cas de coexistència amb l'aigua llewantina, la WIW es situa per sobre (Salat i Font, 1987).
- **Aigua llewantina (Levantine Intermediate Water, LIW):** a la Mar Catalana aquesta massa d'aigua és resultat de la mescla d'aigua llewantina hivernal formada al Mar Egeu i Xipre, i aigua hivernal formada a la Mar Adriàtica (Figura 4, Introducció). L'aigua LIW tipus té un màxim de salinitat de 38,55 i un màxim de θ de 13,5 °C, amb una $\sigma - \theta$ resultant entre 29,07 i 29,08 (Fig. 1.3 dreta), que poden variar segons l'antiguitat de l'aigua (Salat i Cruzado, 1981; Rodríguez, 1984; Millot, 1999; Emelianov *et al.*, 2006).

Per últim, la massa d'aigua profunda a la Mar Catalana (Western Mediterranean Deep Water, WMDW) s'estén des de l'aigua intermèdia fins al final de la columna d'aigua. Aquesta aigua es forma a l'hivern, al nord de la Mar Catalana i Golf de Lleó, on la combinació de vents freds, secs i intenses amb la circulació ciclònica provoquen una conversió profunda de l'aigua superficial, arribant a ser tota la columna

d'aigua homogènia fins a 2800 m (MEDOC Group, 1970; Salat, 1983). Aquesta aigua es troba a una θ de 12,65 a 12,9 °C, 38,45 a 38,48 de salinitat, amb lleugeres variacions d'un any a un altre, i una $\sigma - \theta$ entre 29,08 i 29,11 (Fig. 1.3).

En aquest treball, la divisió en les diferents masses d'aigua per cada campanya s'ha realitzat seguint les definicions de Salat i Cruzado (1981), Font *et al.* (1988), Salat (1995, 1996), Salat *et al.* (2002) i Pinot *et al.* (2002) (Fig. 1.3). La Figura 1.4 recull els diagrames $\theta - S$ de les campanyes d'estudi. Com que les dades de S i θ de què es disposa són puntuals, els perfils sovint són massa segmentats per poder estudiar les característiques físico - químiques en els nuclis de les masses d'aigua presents (aigua tipus). La segmentació és més evident a partir de 200 m cap a aigües profundes, ja que el mostreig en les campanyes sol concentrar-se a la zona superficial, on existeixen gradients de les variables químiques i físiques, i on es localitza el màxim profund de clorofil·la (MPC), que a la Mar Catalana es troba entre 40 i 100 m entre primavera i tardor (Estrada, 1985a, b; Bahamón i Cruzado, 2003); i entre 20 i 70 m a l'hivern si existeix (Estrada *et al.*, 1999).

Els perfils de concentració de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a* a la Mar Catalana poden variar segons l'estació de l'any. La variació estacional generalment està relacionada amb la intensitat de barreja vertical, de manera que en èpoques d'intensa barreja (hivern) les concentracions de nutrients a la capa superficial són més elevades que a la resta de l'any, mentre que en èpoques d'elevada estratificació (estiu) l'intercanvi de nutrients entre la capa superficial i la inferior està limitat per l'existència d'una termoclina i picnoclina molt marcades, i els organismes del plàncton esgoten els nutrients en superfície (Riley, 1971; Spencer, 1975). Per poder estudiar les variacions estacionals s'han agrupat els perfils segons el grau d'estratificació de la columna d'aigua. Així s'ha calculat en cada estació de mostreig l'índex d'estratificació de la columna d'aigua a 100 m de profunditat (VDSI 100: Índex d'Estratificació Vertical de Densitat fins a 100 m de profunditat), segons Estrada (1999) :

$$\text{VDSI } 100 = \sum_{i=1}^n N_i^2 \Delta z_i$$

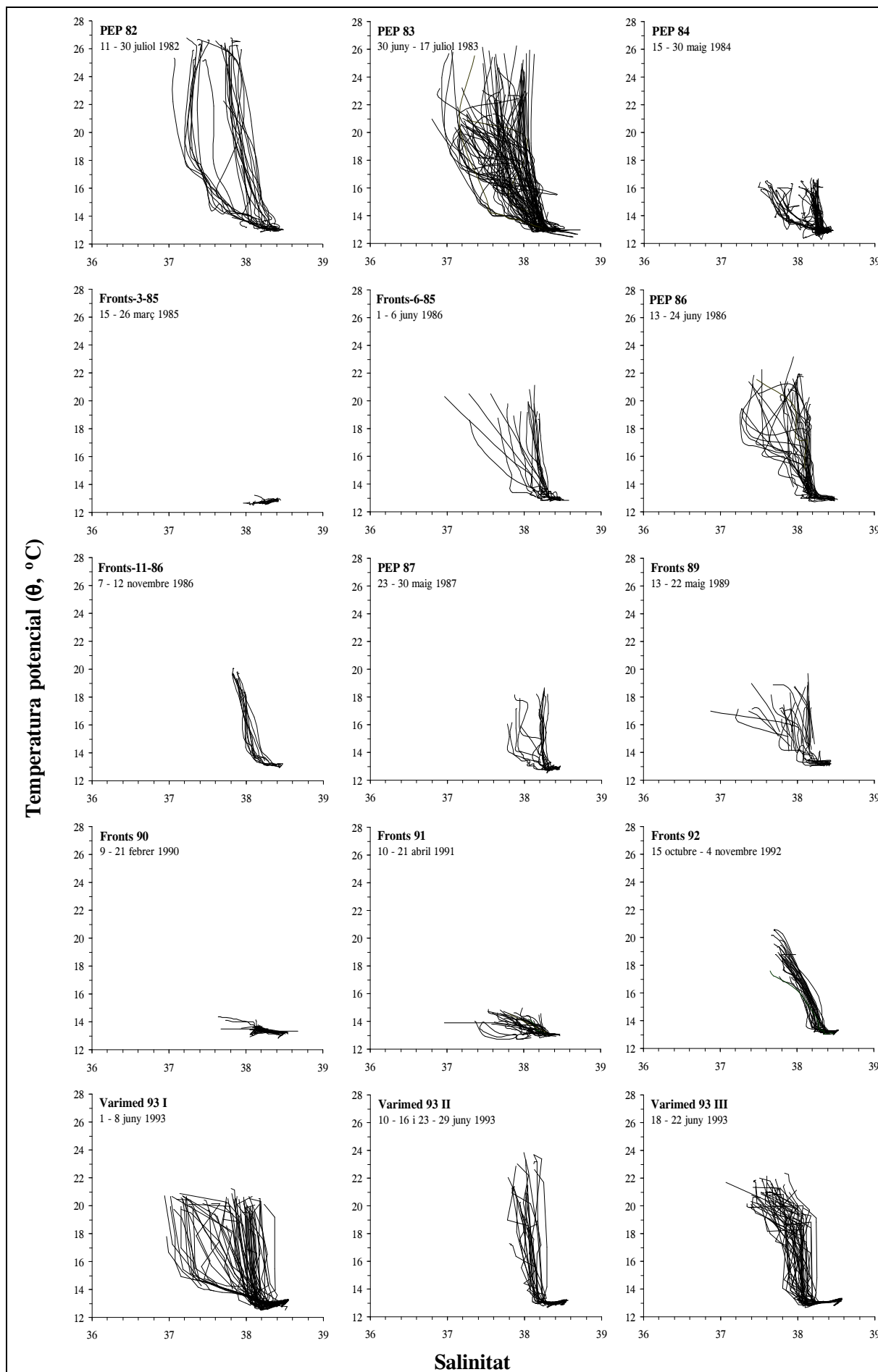
On N_i^2 és la freqüència de Brunt - Väisälä entre z_{i-1} i z_i , $z_n = 100$ (calculada segons Pond i Pickard, 1983) :

$$N^2 = g [-(1/\rho)(\delta\sigma/\delta z)]$$

on g es la gravetat (m/s^2), ρ és la densitat de l'aigua i σ_t és la densitat en forma de $\sigma - T$ (ambdues en Kg/m^3).

En aquelles estacions on no ha estat possible calcular l'índex d'estratificació degut a la falta de punts de mostreig, o per ser menor de 100 m, se'ls ha assignat el coeficient d'estratificació més coherent segons l'època de l'any i la resta d'estacions de mostreig de la campanya, especialment aquelles que la rodejaven.

Calculant aquest valor a cada estació de mostreig, es veu com el VDSI 100 varia estacionalment (Fig. 1.5), i s'ha considerat que no existeix estratificació quan VDSI 100 és ≤ 5 (~ hivern) i que és màxima quan VDSI 100 és més gran que 30 (~ estiu). Durant el transcurs de la primavera, l'índex es correlaciona positivament amb el dia de l'any (la temperatura superficial és cada cop més alta i la columna d'aigua comença a estratificar-se), mentre que a la tardor la correlació és negativa (l'estratificació comença a desaparèixer degut al trencament de la termoclina). Cada estació de mostreig ha estat identificada amb un valor anomenat "coeficient d'estratificació", de l'1 al 4 (Taula 1.4). D'ara en endavant, en aquest treball ens referirem a les estacions de l'any com les calculades segons aquest procediment.



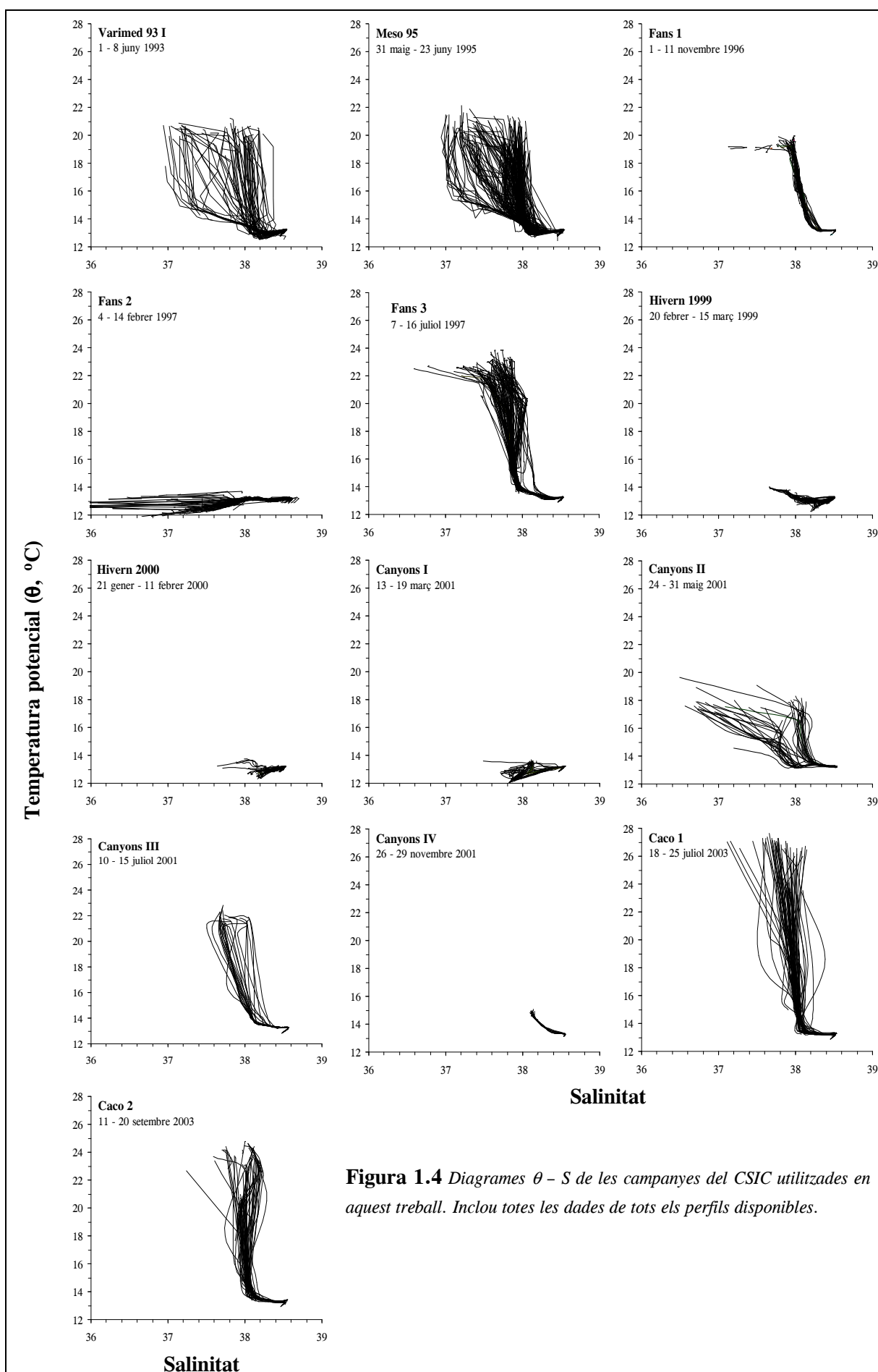
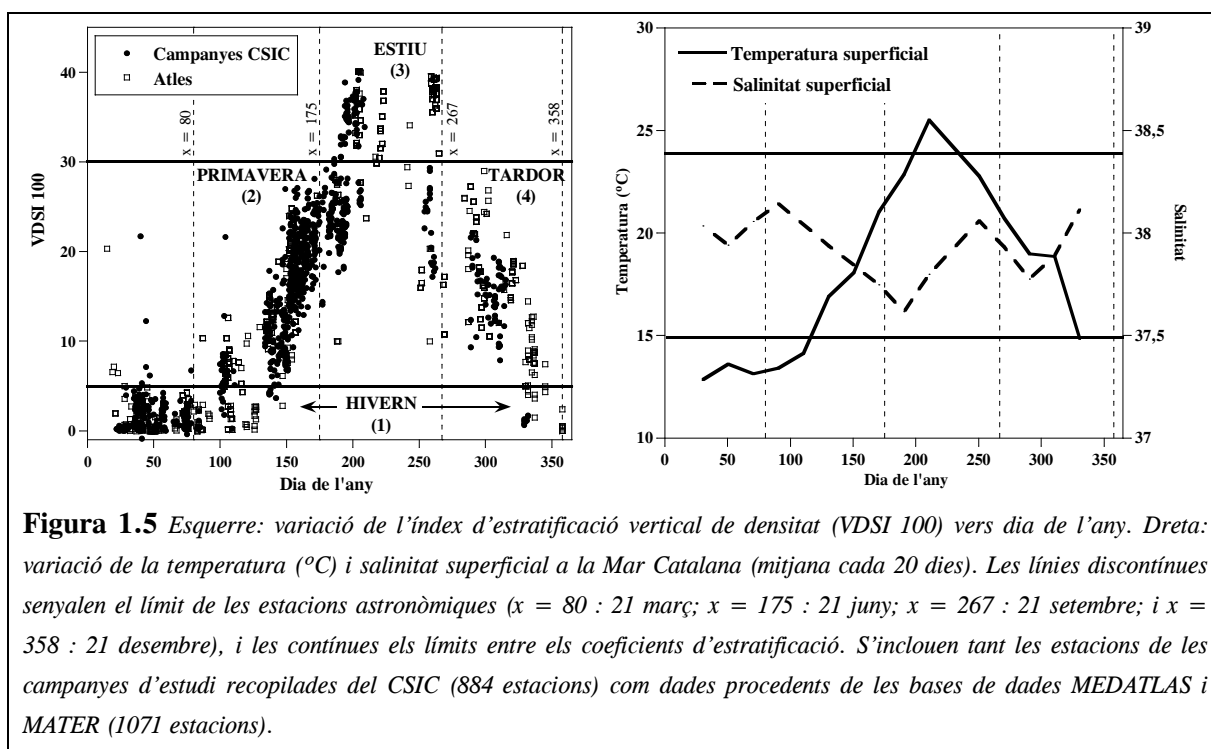


Figura 1.4 Diagrames $\theta - S$ de les campanyes del CSIC utilitzades en aquest treball. Inclou totes les dades de tots els perfils disponibles.

En general, l'estratificació vertical està controlada per la temperatura : la capa de mescla (Mixed Layer Depth, MLD) es forma per l'escalfament de la capa superficial durant la primavera i l'estiu, i es desfà degut a processos convectius (barreja vertical) quan la intensitat dels vents augmenta i es produeixen tempestes a la tardor i hivern (Salat, 1996; Send *et al.*, 1999). La columna d'aigua comença a estratificar-se a principis d'abril, i a començaments de juliol es troben estacions amb la termoclina molt marcada (Fig. 1.5). Des del principi de la formació de la termoclina (al voltant dia 100 de l'any) fins al començament de la seva desaparició (al voltant del dia 240) poden passar entre 4 i 5 mesos (Duarte *et al.*, 1999). A la Fig. 1.5 també es poden veure unes estacions amb VDSI 100 més gran que 5 en època d'hivern (Dia de l'any < 80), que corresponen a estacions estratificades per l'existència d'un gradient de salinitat, en estar prop de la desembocadura del Delta de l'Ebre, i que per tant s'ha considerat que pertanyen a l'hivern (coeficient d'estratificació 1).



Taula 1.4 Criteri utilitzat per definir el coeficient d'estratificació i l'estació de l'any de les estacions oceanogràfiques. 1 ~ Hivern ; 2 ~ Primavera; 3 ~ Estiu; 4 ~ Tardor.

Coeficient d'estratificació	VDSI 100	Estació de l'any que representa	Mesos en què es poden trobar
1	≤ 5 ; T superficial < 15	Hivern	novembre – abril
2	(5, 30]	Primavera	abril – juliol
3	> 30 ; T superficial > 24	Estiu	juny – setembre
4	(5, 30]	Tardor	setembre – desembre

1.3 Metodologia utilitzada en l'anàlisi de nutrients en aigua de mar

Les dades de nutrients de les campanyes del CSIC recopilades per a fer aquest estudi abarquen des de l'any 1982 fins al 2003, i tot i que els nutrients de totes les campanyes han estat analitzats per personal de només dos centres del CSIC, els analistes, autoanalitzadors i procediments de mostreig i anàlisi, no han estat els mateixos. Així ens trobem que per definir els rangs de concentracions de nutrients inorgànics a la Mar Catalana, hem de treballar amb dades de nutrients analitzades per al menys 7 analistes diferents, en 4 autoanalitzadors diferents i que poden haver estat prèviament congelades com a mètode de preservació durant la campanya. Aquest problema també va ser abordat pels autors de MEDATLAS (Fichaut *et al.*, 1997) durant l'elaboració d'aquesta base de dades, que pretenia reunir dades de variables físiques, químiques i biològiques de campanyes realitzades per tota la Mar Mediterrània. Com que les dades provenien de diverses institucions i centres de recerca, es van haver de definir uns criteris de qualitat de les dades que hem adaptat en aquest treball.

La Taula 1.6 conté la informació de l'anàlisi dels nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a* per cada campanya, incloent el tipus d'autoanalitzador, el mètode utilitzat i el lloc d'anàlisi. Totes les referències bibliogràfiques d'aquesta taula recullen els mateixos mètodes per analitzar nutrients, amb algunes modificacions i adaptacions per als autoanalitzadors i rangs d'anàlisi utilitzats. Les modificacions en la metodologia d'anàlisi de nutrients no han d'espantar a ningú, ja que sovint la qualitat dels resultats depèn més del mostrejadore i de l'analista que no pas del mètode usat en l'anàlisi (Hager *et al.*, 1972).

L'anàlisi de nutrients es basa en mètodes colorimètrics, que tenen com a objectiu aconseguir un compost colorejat i quantificar-lo amb un espectrofotòmetre. La determinació del P inorgànic es basa en la reacció dels ions de l'àcid ortofosfòric (pràcticament tot el P inorgànic que existeix en el mar es troba com a ió d'aquest àcid) amb un reactiu de molibdè acidificat, donant lloc a un àcid fosfomolibdat, que posteriorment és reduït donant un compost blau (Murphy i Riley, 1962). La determinació de Si en aigua de mar es basa en la reacció amb molibdat amònic i àcid ascòrbic per donar lloc a un compost blau. S'utilitza àcid oxàlic per eliminar la influència del fosfat de la mostra i per reduir l'excés de molibdat (Grasshoff, 1964; Hansen i Koroleff, 1999).

Els compostos nitrogenats usualment analitzats són el nitrat, el nitrit i l'amoni. Fent reaccionar el nitrit consecutivament amb dues amines aromàtiques s'aconsegueix un compost rosat que es pot quantificar per espectrofotometria (Bendschneider i Robinson, 1952). El nitrat, producte final de la oxidació de compostos nitrogenats en el mar, és reduït mitjançant una columna reductora que conté grans de cadmi recoberts de coure, i posteriorment és analitzat com a nitrit. Per determinar l'amoni es fa reaccionar aquest amb hipoclorit, en presència de fenol, ions de nitroprussiat i excés d'hipoclorit, obtenint un producte de color blau (Grasshoff, 1970). En les dues últimes campanyes estudiades (Caco 1 i 2) s'ha substituït aquest mètode tradicional per un altre que utilitza salicilat sòdic en lloc de fenol, evitant així l'ús d'aquest compost cancerígen per inhalació (Benesch i Mangelsdorf, 1972, citat per Riley *et al.*, 1975; Bower i Holm – Hansen, 1980).

La línia de base utilitzada en les diferents campanyes tampoc ha estat la mateixa. La més recomenada (Hansen i Koroleff, 1999) és aigua de mar pobre (o baixa) en nutrients (LNSW): normalment és aigua superficial de mar obert, agafada a l'estiu, quan les concentracions de nutrients a l'aigua són les més baixes de tot l'any. La quantitat de nutrients que conté aquesta aigua es pot mesurar per la diferència d'alçada que registra l'autoanalitzador quan es passa en primer lloc aigua bidestil·lada amb els reactius colorimètrics i després l'aigua de mar pobre en nutrients. Aquesta diferència d'alçada serà més gran en l'anàlisi de silicat, amoni i nitrat i mínima en fosfat i nitrit, si n'hi ha.

Taula 1.6 Característiques dels anàlisis de nutrients en les campanyes realitzades per el CSIC a la Mar Catalana. *Mètodes: S i P, 72: Strickland i Parsons, 1972; W, 81: Whitledge et al., 1981; C, 89: Cruzado, 1989; G, 83: Grasshoff et al., 1983; B+L 99: Bran+Luebbe, 1999; LNSW: aigua de mar pobre en nutrients (Low Nutrient Sea Water); DW: aigua destil·lada (Distilled Water); NaCl: clorur sòdic (normalment 37g/l). I : Grup PEPS, 1986; II : Masó i Grup PEPS, 1988; III : Varela i Grup FRONTS, 1991; IV : Masó i Grup Varimed, 1995.*

Campanya	Data	Autoanaltitzador	Mètode	Línia de base	Anàlisi	Analista	Font
PEP-82	11 - 30 juliol 1982	Technicon	S i P, 72	LNSW, DW	a bord	1	I
PEP-83	30 juny - 17 juliol 1983	Technicon	S i P, 72	LNSW, DW	a bord	1	I
PEP-84	15 - 30 maig 1984	Technicon	S i P, 72	LNSW, DW	a bord	1	I
FRONTS-3-85	15 - 26 març 1985	Technicon	S i P, 72	LNSW, DW	a bord	1	II
FRONTS-6-85	1 - 6 juny 1985	Technicon	S i P, 72	LNSW, DW	congelades	1	II
PEP-86	13 - 24 juny 1986	Technicon	W, 81	LNSW	a bord	2	II
FRONTS 11-86	7 - 12 novembre 1986	Technicon	W, 81	LNSW, DW	congelades	1	II
PEP-87	23 - 30 maig 1987	Technicon	W, 81	?	a bord	?	II
FRONTS 89	13 - 22 maig 1989	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	2	III
FRONTS 90	9 - 21 febrer 1990	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	2	III
FRONTS 91	10 - 21 abril 1991	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	2	III
FRONTS 92	15 octubre - 4 novembre 1992	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	2	IV
VARIMED 93 I	1 - 8 juny 1993	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	2, 3	IV
VARIMED 93 II	10 - 16 i 23 - 29 juny 1993	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	2, 3	IV
VARIMED 93 III	18 - 22 juny 1993	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	2, 3	IV
VARIMED 95	2 - 14 juny 1995	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	2	M. Estrada
MESO 95	31 maig - 23 juny 1995	Technicon	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	4	A. Cruzado
FANS 1	1 - 11 novembre 1996	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	4	L. Arin
FANS 2	4 - 14 febrer 1997	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	4	L. Arin
FANS 3	7 - 16 juliol 1997	Skalar	W, 81; C, 89	LNSW	a bord	4	L. Arin
HIVERN 99	20 febrer - 15 març 1999	Evolution - II, Alliance	G, 83	NaCl	congelades	5, 6	M. Estrada
HIVERN 2000	21 gener - 11 febrer 2000	Evolution - II, Alliance	G, 83	NaCl	congelades	5	M. Estrada
CANYONS I	13 - 19 març 2001	Evolution - II, Alliance	G, 83	NaCl	congelades	7	M. Segura
CANYONS II	24 - 31 maig 2001	AA3, Bran + Luebbe	B+L, 99	NaCl	congelades	7	M. Segura
CANYONS III	10 - 15 juliol 2001	AA3, Bran + Luebbe	B+L, 99	NaCl	congelades	7	M. Segura
CANYONS IV	26 - 29 novembre 2001	AA3, Bran + Luebbe	B+L, 99	NaCl	congelades	7	M. Segura
CACO 1	18 - 25 juliol 2003	AA3, Bran + Luebbe	B+L, 99	NaCl	congelades	7	M. Segura
CACO 2	11 - 20 setembre 2003	AA3, Bran + Luebbe	B+L, 99	NaCl	congelades	7	M. Segura

Amb aquest tipus de línia de base no hi ha diferència en la composició de la matriu (formada per totes les substàncies presents a la mostra que acompanyen aquella que ens interessa analitzar) de la línia de base i de les mostres a analitzar, al contrari que passa quan utilitzem aigua de mar artificial (ASW). L'ASW pot ser una dissolució tan senzilla com una de clorur sòdic adaptant la salinitat a la de les mostres a analitzar. La diferència de matriu (anomenada "efecte salí") es veu en l'autoanalitzador com uns pics aguts al final, i a vegades també al principi, dels pics de mostra. Aquest efecte pot disminuir afegint bicarbonat i altres sals en l'elaboració de la línia de base.

Un altre problema que apareix en utilitzar ASW com a línia de base consisteix en la contaminació en nutrients, provinents tant dels reactius com de l'aigua bidestil·lada. Si la contaminació només prové dels reactius, el problema és, doncs, el mateix que utilitzar aigua de mar pobre en nutrients, però no tenim constància que s'hagin corregit d'aquesta manera les dades de nutrients quan s'ha fet servir ASW com a línia de base. Només quan han aparegut mostres negatives, com a les campanyes Caco, fetes a l'estiu i analitzades amb clorur sòdic com a línia de base, s'ha sumat a totes les mostres el valor més negatiu trobat. Els valors negatius obtinguts es troben al voltant de (en μM): fosfat : -0,017 (Caco 1 i 2, 2003) i -0,032 (Caco 4 : 2004); amoni : -0,227 (Caco 1 i 2, 2003) i -0,245 (mostres de la Mar Adriàtica, 2006); nitrit : -0,034 (Caco 1 i 2, 2003) i -0,055 (Caco 4 : 2004); nitrat : -0,132 (Caco 1 i 2, 2003) i -0,089 (Caco 4 : 2004). A vegades s'ha pogut comprovar que l'aigua bidestil·lada està contaminada de nitrit, ja que durant la preparació de l'únic reactiu necessari per determinar aquest nutrient, en el moment en què s'afegeix l'últim compost químic, el reactiu ja adquireix el color propi de la reacció colorimètrica de determinació de nitrit.

1.4 Preservació de les mostres de nutrients

Puig que per determinar els rangs de nutrients a la Mar Catalana disposem de dades de mostres congelades i no congelades, ens interessa conèixer l'efecte de la congelació en les concentracions de nutrients ja que si l'error introduït en congelar les mostres és significatiu, no s'inclouran les dades procedents de mostres congelades a l'hora d'estudiar els rangs de concentració dels nutrients a la Mar Catalana.

La utilització d'algun mètode de preservació (congelar, afegir verins, autoclavar) per conservar les mostres de nutrients quan no es poden analitzar immediatament és necessari, ja que s'ha comprovat que deixar les mostres sense cap tipus de tractament provoca una alteració de la concentració dels nutrients (Kotlash i Chessman, 1998; Kremling i Brüggmann, 1999). La concentració dels nutrients pot alterar-se en una mostra degut a diferents processos: volatilització, nitrificació, desnitrificació, assimilació / excreció per part d'organismes del plàncton, precipitació i absorció amb partícules de la mostra, adsorció a les parets del recipient, processos fotoquímics i especiació de constituents inorgànics (Heron, 1962; Latterel *et al.*, 1974; Riley *et al.*, 1975; Parr *et al.*, 1988; Aminot i Kérouel, 1995; Kremling i Brüggmann, 1999).

També s'ha trobat que la concentració de certs nutrients augmenta com a conseqüència de la contaminació des de l'atmosfera a través del tap (fum de tabac, de cotxes o del vaixell, productes de neteja, reactius d'anàlisi de nitrat que usen amoni...), ditades, descomposició de la matèria orgànica de la mostra, o lixiviat de les parets del recipient (Murphy i Riley, 1956; Sisovic *et al.*, 1987; Aminot i Kérouel, 1995; Aminot *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1999; Kremling i Brüggmann, 1999).

Si no és possible analitzar immediatament la mostra just després de recollir-la, que seria la opció més adequada, congelar la mostra és el mitjà de preservació més adient (especialment per nitrat i silicat, encara que incrementi la variabilitat entre mostres), més que no pas afegir verins o àcids (que alteren la matriu) o només filtrant la mostra (Stéfanon i Richards, 1963; Thayer, 1970; Strickland i Parsons, 1972; Riley *et al.*, 1975;

Venrick i Hayward, 1985; Chapman i Mostert, 1990; Avanzino i Kennedy, 1993; Gordon *et al.*, 1993; Valderrama, 1995; Dore *et al.*, 1996; Aminot i K erouel, 1998; Kremling i Br ugmann, 1999).

Tot i l'existència d'abundants estudis per esbrinar l'efecte de la congelació en la concentració de cada una de les sals nutrients, no es pot extreure una conclusió general dels resultats. Els factors estudiats inclouen la velocitat de congelació i descongelació de les mostres; el material del contenidor en el que es congela l'aigua; la prefiltraci  (per reduir o eliminar la presència de plàncton o material en suspensió); el període de temps en que es mantenen congelades les mostres; la relació superfície / volum del recipient; i la salinitat de l'aigua de mar.

Els efectes de la congelació i / o la filtració en les concentracions d'amoni i fosfat són contradictoris en diferents estudis. La congelació sembla especialment adient per a nitrat i silicat, però només si aquests últims es troben a concentracions menors de 60 μM . Alguns autors sostenen que la concentració dels nutrients augmenta després de la congelació i descongelació de la mostra o després de la seva filtració, degut a la ruptura de cèl·lules durant aquests processos, però aquest augment no s'observa en tots els experiments (St fansson i Richards, 1963; DeGobbis, 1973; Carpenter i McCarthy, 1975; Riley *et al.*, 1975; Eppley *et al.*, 1977; Chapman i Mostert, 1990; Valderrama, 1995; Dore *et al.*, 1996; Kremling i Br ugmann, 1999, Krom, 2005).

Venrick i Hayward (1985) fent una revisió bibliogr fica sobre els mètodes de preservació i de materials d'emmagatzematge de mostres de nutrients i troben que l'efectivitat del procés de congelació depèn en gran mesura de les característiques químiques i biològiques de l'aigua (composició en plàncton i altres materials en suspensió), així com de la metodologia utilitzada. Aquests investigadors conclouen que la preservació de nutrients hauria de ser considerada com a última opció, i si és necessària cada laboratori hauria de determinar l'error introduït com a resultat de la congelació.

1.4.1 Validesa de la congelació en mostres costaneres de la Mar Catalana

Seguint el suggeriment de Venrick i Hayward (1985), s'ha realitzat un experiment per comparar mostres de nutrients congelades i fresques i d'aquesta manera ens aproximem al que ha pogut passar en la realitat en congelar mostres de campanyes a la Mar Catalana.

Durant el vuit  mostreig del projecte Pudem davant de Barcelona es mostrej  aigua de 6 estacions (1.3, 1.4 i 2.1 a 2.4, Fig. 1.9), incloent la superfície i el fons (de 10 a 40 metres), fent un total de 12 punts de mostreig, agafant 13 rèpliques a cada punt. S'utilitzaren tubs de polipropil  de 12 ml, i criovials també de polipropil  de 5 ml. Tant els tubs com els criovials s'havien deixant 24 hores en un bany amb HCl al 5%, i després s'havien rentat 3 vegades amb aigua destil·lada i 1 cop amb aigua bidestil·lada.

Mentre es duia a terme el mostreig (d'aproximadament 4 h de durada) les mostres de nutrients es conservaren en gel i un cop a l'Institut de Ciències del Mar es dividiren les rèpliques: 3 foren analitzades immediatament, 3 foren congelades a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, 3 foren congelades a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ i els quatre criovials foren congelats en N líquid ($\sim -200\text{ }^\circ\text{C}$). Al mateix temps també es prepararen i congelaren 3 rèpliques de patrons combinats (que inclouen tots els nutrients) preparats en una dissolució de 37 g/l de clorur sòdic a 3 concentracions diferents dins dels rangs d'anàlisi. La preparació dels patrons tenia com a objectiu poder diferenciar l'efecte de les condicions ambientals (presència de plàncton i altre material en suspensió) respecte l'efecte de la congelació en la concentració de nutrients. Les mostres estigueren 3 dies a $-80\text{ }^\circ\text{C}$, 4 dies en N

líquid, i 7 dies a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ abans de ser analitzades. Com que es combinaren dos criovials en un tub de mostra de l'autoanalitzador, hi ha dos rèpliques per a les mostres i patrons congelats d'aquesta manera.

S'han preservat a tres temperatures diferents de congelació per que alguns investigadors suggereixen que la congelació lenta (pocs graus sota zero) pot causar la ruptura de cèl·lules i alliberar nutrients a la mostra (Strickland i Parsons, 1972; Carpenter i McCarthy, 1975). La mínima temperatura que s'ha considerat és $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, ja que les mostres de nutrients preservades en les campanyes que s'han recollit han estat congelades a aquesta temperatura. Les mostres s'han deixat descongelar a temperatura ambient, tardant entre 30 minuts i una hora en descongelar-se totalment. Com que els tubs de mostra son encaixats directament en el mostrejador de l'autoanalitzador, les mostres no s'han pogut conservar en baixes temperatures (per exemple en gel), entre el primer anàlisi (fosfat, silicat i amoni) i el segon (nitrit i nitrat), realitzat aproximadament 3 h després de ser descongelades.

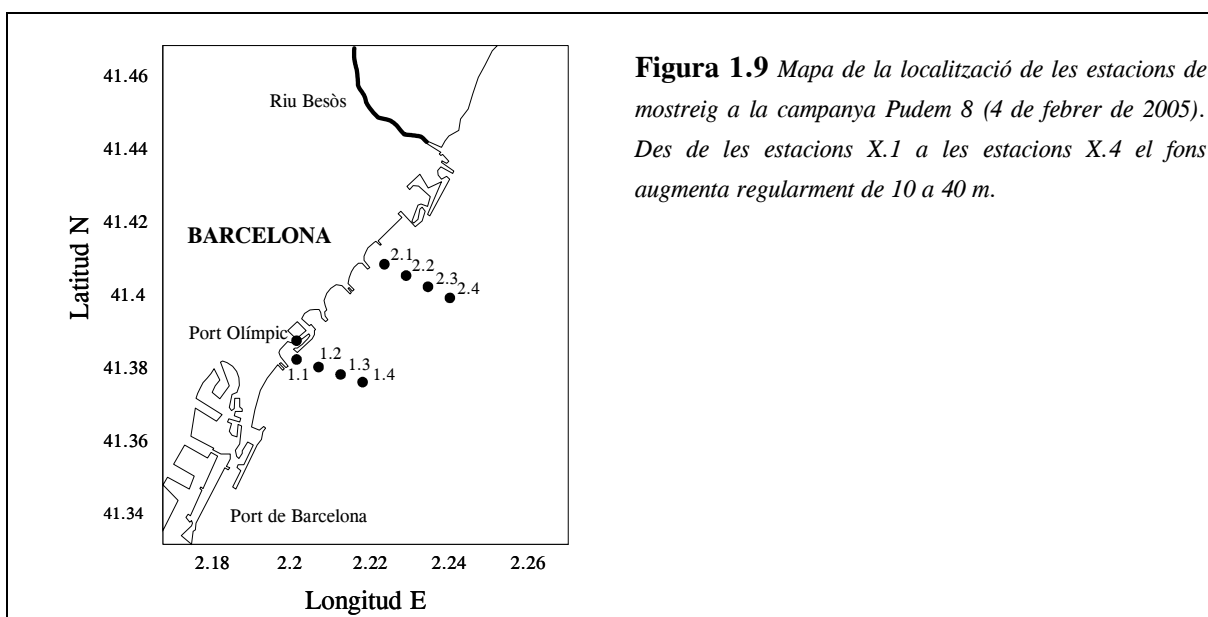


Figura 1.9 Mapa de la localització de les estacions de mostreig a la campanya Pudem 8 (4 de febrer de 2005). Des de les estacions X.1 a les estacions X.4 el fons augmenta regularment de 10 a 40 m.

Els anàlisis dels nutrients s'han fet en un autoanalitzador AA3 (Bran+Luebbe), amb els mètodes descrits a l'apartat 1.3, usant salicilat sòdic per a la determinació de l'amoni. Com a línia de base s'ha utilitzat 37 g/l de clorur sòdic dissolts en aigua bidestil·lada. El rang d'anàlisi, precisió (grau de concordança entre mostres, calculat a partir de Cartes de Control de Qualitat (CCQ) realitzades en els anàlisis de les campanyes Caco 1 i 2) i els límits de detecció (calculats segons EPA, 2003) es troben a la Taula 1.7.

Taula 1.7 Precisió i límit de detecció calculats per als rangs d'anàlisi que es descriuen, en l'autoanalitzador AA3 de Bran+Luebbe.

	Rang d'anàlisi (µM)	Precisió	
		SD (nM) ; CV (%)	Límit de detecció (µM)
Fosfat	0 - 0,5	7 ; 3,5	0,006
Nitrat	0 - 3	19 ; 1,2	0,015
Nitrit	0 - 0,5	7 ; 3,0	0,004
Amoni	0 - 3	47 ; 2,6	0,020
Silicat	0 - 5	15 ; 0,8	0,017

L'estudi preliminar de la correlació entre els nutrients analitzats en fresc i els congelats, mostra que aquesta és significativa en tots els casos i per tots els nutrients ($p < 0,01$, excepte en el cas de nitrit congelat en N líquid, on $p < 0,05$, Fig. 1.10).

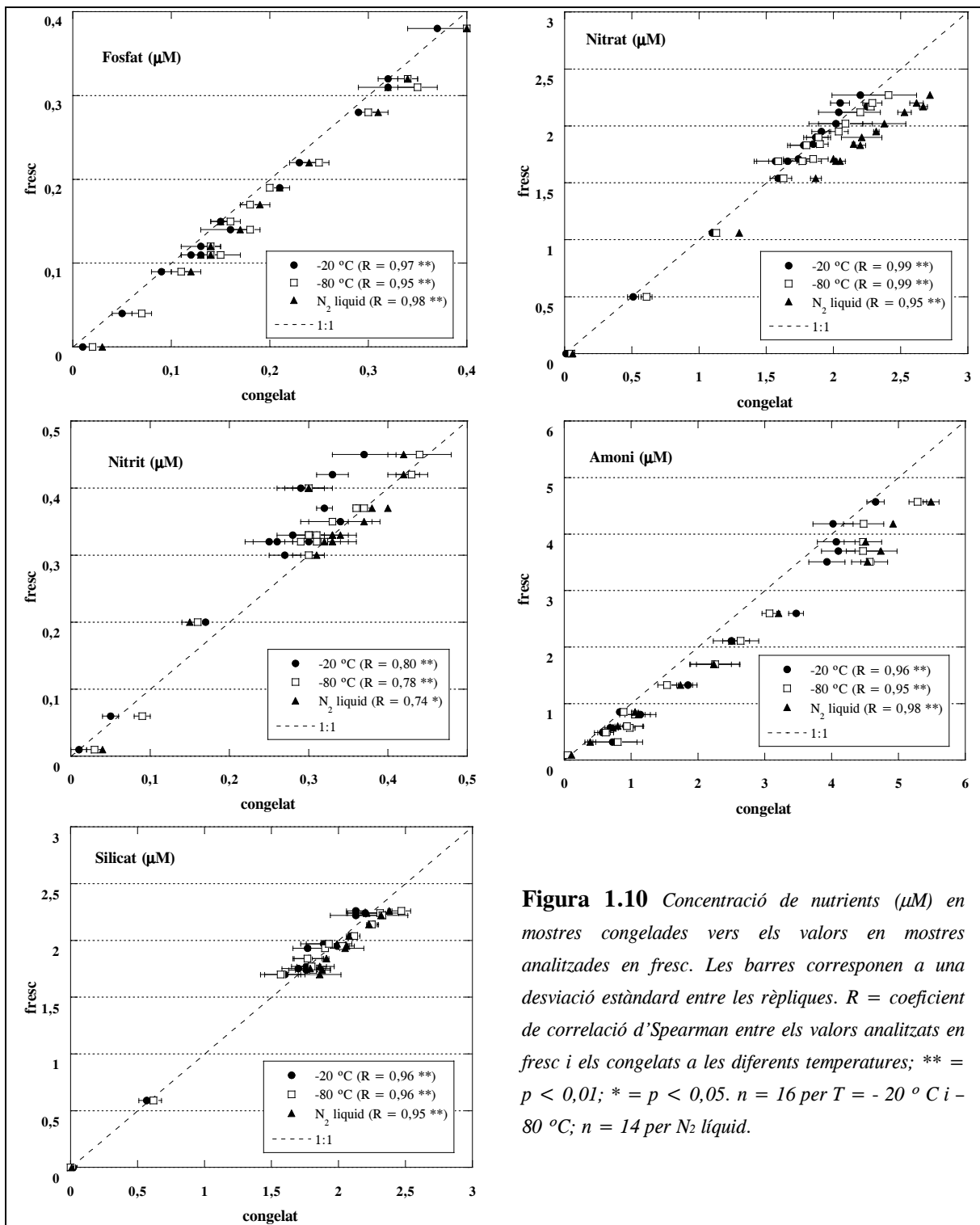


Figura 1.10 Concentració de nutrients (μM) en mostres congelades vers els valors en mostres analitzades en fresc. Les barres corresponen a una desviació estàndard entre les rèpliques. R = coeficient de correlació d'Spearman entre els valors analitzats en fresc i els congelats a les diferents temperatures; ** = $p < 0,01$; * = $p < 0,05$. $n = 16$ per $T = -20$ °C i -80 °C; $n = 14$ per N_2 líquid.

L'existència de diferències entre la concentració dels diferents nutrients analitzats en fresc i congelats en diferents temperatures s'ha estudiat amb una ANOVA no paramètrica amb Statistica 6.0, ja que les dades de fosfat, nitrit i amoni no segueixen una distribució normal (test Kolmogorov - Smirnov, $p < 0,01$ en fosfat i $< 0,05$ en nitrit i amoni). En nitrat i silicat s'ha aplicat una ANOVA paramètrica. S'ha assumit que en els

rangs de concentració en què s'està treballant, la congelació afecta de la mateixa manera a totes les mostres, independentment de la seva concentració inicial, ja que els estudis previs sobre l'efecte de la congelació així semblen indicar-ho (veure referències de l'apartat 1.4). A la Taula 1.8 es pot veure la concentració mitjana per cada tractament i la significació d'acord amb el test aplicat.

Taula 1.8 Concentració mitjana dels nutrients de Pudem 8 segons el tractament aplicat. * indica l'existència de diferències estadísticament significatives (ANOVA, $p < 0,05$) respecte els nutrients analitzats en fresc.

	n	Fosfat	Nitrat	Nitrit	Amoni	Silicat
en fresc	36	0,16	1,88	0,35	2,14	1,96
- 20 °C	36	0,17	1,85	0,31 *	2,53	1,91
- 80 °C	36	0,19	1,94	0,34	2,67	2,00
N ₂ líquid	23	0,18	2,22 *	0,35	2,59	2,03

Segons aquests resultats (Taula 1.8), no existeixen diferències significatives entre les concentracions de fosfat, nitrat, amoni i silicat de les mostres analitzades en fresc i les congelades a - 20 °C i a - 80 °C, tant si tenim en compte els patrons com només les mostres d'aigua de mar. La congelació en N líquid incrementa significativament la concentració de nitrat, probablement per contaminació de la mostra a través del tap. La disminució de la concentració de nitrit i l'augment en la concentració d'amoni en congelar les mostres a - 20 °C, són més grans que la precisió dels mètodes corresponents (Taula 1.7). Aquesta variació no pot estar relacionada amb activitat biològica en les mostres no congelades durant el temps que han estat a l'autoanalitzador abans de ser processades, ja que en els patrons també s'observa la mateixa tendència. Els valors de les variacions entre els nutrients congelats i frescos són similars a la contaminació de la línia de base, calculada a l'apartat 1.3 d'aquest Capítol.

En la majoria dels anàlisis, la variabilitat entre les rèpliques de mostres congelades és superior a la variabilitat entre les mostres analitzades en fresc (Taula 1.9), tal com han trobat altres autors (DeGobbis, 1973; Gordon *et al.*, 1993; Dore *et al.*, 1996). El coeficient de variació de les mostres fresques és similar al calculat a partir de CCQ (Taula 1.7). La precisió entre les rèpliques de les mostres congelades és millor (més baixa) com menor és la temperatura de congelació. A més, la diferència entre la precisió en l'anàlisi dels patrons i de les mostres naturals indica que no tot l'augment en la dispersió de les dades és degut a l'efecte de la congelació. Les mostres congelades a la temperatura més baixa (N líquid) són més precises però menys exactes que les congelades a la temperatura més alta (- 20 °C) (Taula 1.9, l'error relatiu s'ha calculat en cada punt de mostreig com la diferència entre la mitjana de les rèpliques analitzades en fresc i les que han estat prèviament congelades, dividida entre la mitjana de les rèpliques analitzades en fresc, multiplicat per 100). Aquesta falta d'exactitud en congelar amb N líquid podria ser conseqüència tant de les diferències en el tipus de material utilitzat, com de la possible contaminació en algun moment de l'experiment. Segons aquests resultats, és preferible congelar a - 20 °C, però s'aconsella analitzar més d'una mostra (rèpliques).

Els resultats obtinguts confirmen que si es para prou atenció en la manipulació de les mostres, la congelació és un mètode vàlid per a preservar fosfat, nitrat i silicat (Stéfansson i Richards, 1963; Strickland i Parsons, 1972; Riley *et al.* 1975; Chapman i Mostert, 1990; Avanzino i Kennedy, 1993; Valderrama, 1995; Dore *et al.*, 1996; Krom *et al.*, 2005). Els errors associats en congelar a - 20 °C (la temperatura de congelació més usual) mostres de fosfat, nitrat i silicat són 6,3 %, 1,6 % i 2,5 % respectivament, en els rangs estudiats, analitzant tres rèpliques de cada mostra.

Taula 1.9 Exactitud dels anàlisis respecte les mostres analitzades en fresc, expressat com a error relatiu (en %, tres primeres columnes), i precisió dels anàlisis de mostres analitzades en fresc i congelades a diferents temperatures, expressat com a desviació estàndard entre les rèpliques (en nM, últimes quatre columnes). Error relatiu = (mitjana nutrient analitzat en fresc – mitjana nutrient prèviament congelat) / mitjana nutrient analitzat en fresc) * 100.

	Error relatiu (%)		Desviació estàndard de les mostres / dels patrons (nM)				
	-20 °C	-80 °C	N ₂ líquid	en fresc	-20 °C	-80 °C	N ₂ líquid
Fosfat	6,3	18,8	12,5	5 / 3	15 / 11	9 / 4	6 / 2
Nitrat	- 1,6	3,2	18,1	10 / 4	107 / 56	66 / 26	51 / 19
Nitrit	- 11,4	- 2,9	0,0	5 / 3	22 / 13	14 / 9	13 / 9
Amoni	18,2	24,8	21,0	77 / 19	227 / 109	190 / 67	115 / 22
Silicat	- 2,5	2,0	3,6	42 / 5	118 / 89	85 / 8	63 / 6

Els augments en la concentració de fosfat i d'amoni en congelar els nutrients podrien ser resultat de la ruptura de cèl·lules (Carpenter i McCarthy, 1975). Tot i que la concentració de clorofil·la *a* de les mostres és baixa (entre 0,63 i 0,89 µg/l), la desviació estàndard entre les rèpliques de les mostres de patrons combinats i de clorur sòdic sempre ha estat menor que la desviació estàndard de les mostres analitzades en fresc i congelades en l'anàlisi de tots els nutrients, mostrant que la presència de material en suspensió afecta els anàlisis de nutrients.

Les concentracions de nitrit i amoni es veuen afectades per la congelació a - 20 °C (Carpenter i McCarthy, 1975; Eppley *et al.*, 1977). Per tant, tot i existir una alta correlació, i en el cas de l'amoni, que no hi hagi diferències significatives entre les concentracions de les mostres analitzades en fresc i les congelades (Taula 1.8), si es combinen dades d'aquests dos nutrients procedents de mostres analitzades en fresc amb mostres que han estat prèviament congelades per estudiar els rangs de concentració, probablement es generarà un "soroll de fons" prou alt com per impedir que es puguin distingir estructures espacials o temporals, especialment en el cas de l'amoni i, en general, a baixes concentracions.

Segons Chapman i Mostert (1990) "congelar és un mètode adequat si l'estudi pot suportar errors de l'ordre d'un 10%, per exemple per estudis de contaminació, però en estudis d'aigües profundes on es requereix alta precisió o estudis en zones eufòtiques, on les concentracions de nutrients són baixes, els anàlisis de nutrients s'han de fer a bord". Els nostres resultats corroboren l'afirmació de Chapman i Mostert (1990), i per tant no es recomana congelar mostres per estudiar nitrit (especialment a baixes concentracions) i amoni en aigua de mar. Queda però per determinar quina part de la desviació es deu a la congelació i quina part a processos de l'anàlisi, com l'efecte pel tipus de línia de base utilitzada.

Algunes precaucions seguides durant aquest estudi han estat: mantenir el tub de mostreig sempre vertical un cop ple i durant la congelació; evitar que l'aigua del tap pugui entrar en contacte amb l'aigua de la mostra, per exemple eixugant l'exterior del tub un cop la mostra està descongelada, abans d'homogeneïtzar-la i introduir-la a l'autoanàlitzador; mantenir poca estona la mostra exposada a l'aire durant l'anàlisi; i evitar tocar amb els dits nus l'interior dels tubs i taps de mostreig.

1.4.2 Validesa de la congelació en les campanyes d'estudi

No és realista pensar que durant la recollida de mostres en el vaixell i posterior congelació i anàlisi s'hagin pogut seguir les precaucions preses en l'experiment de l'apartat anterior. Segons Aminot i Kérrouel (1998), els desavantatges de congelar les mostres de nutrients és que han de mantenir-se en fred contínuament

fins al moment de l'anàlisi, fet que comporta el risc de perdre les mostres en cas que l'equipament falli. És molt probable que això hagi passat en alguna de les campanyes estudiades, però no en queda cap constància. Moltes vegades, durant la campanya, les mostres havien de congelar-se si sorgien problemes tècnics amb l'autoanalitzador o per mal temps, i podien acabar d'analitzar-se al centre de recerca. El trasllat de les mostres congelades des del vaixell és un altre moment crític, ja que poden descongelar-se parcialment si es tarda massa temps. Per tant, previsiblement els errors comesos en les mostres congelades seran més alts que no els trobats durant l'experiment presentats en l'anterior apartat.

Per comparar les concentracions de nutrients "frescos" i congelats en les campanyes d'estudi, cal assumir que les mostres que van haver de ser congelades durant una campanya on s'analitzaven els nutrients a bord foren escasses. Històricament els anàlisis de nutrients es feien a bord, durant el transcurs de la campanya, però a partir de 1999 les mostres de nutrients han estat rutinàriament congelades i analitzades al laboratori d'anàlisi de nutrients a l'ICM (Fig. 1.2). Les mostres provinents de les bases de dades MEDATLAS i MATER no s'han fet servir en aquest estudi ja que es desconeix si van ser congelades o analitzades a bord.

Per estudiar si existeixen diferències significatives entre les concentracions dels nutrients analitzats a bord o congelats durant la realització de les campanyes oceanogràfiques que estem estudiant, s'ha realitzat una ANOVA paramètrica amb Statistica 6.0. La Taula 1.10 conté la mitjana i el nombre de dades de les mostres analitzades a bord i congelades.

Taula 1.10 Concentració mitjana (μM) i error relatiu (%) dels anàlisis dels nutrients a bord i congelats. Entre parèntesi: nombre de dades. * indica diferències significatives entre la concentració de les mostres analitzades a bord i les congelades (ANOVA, $p < 0,01$).

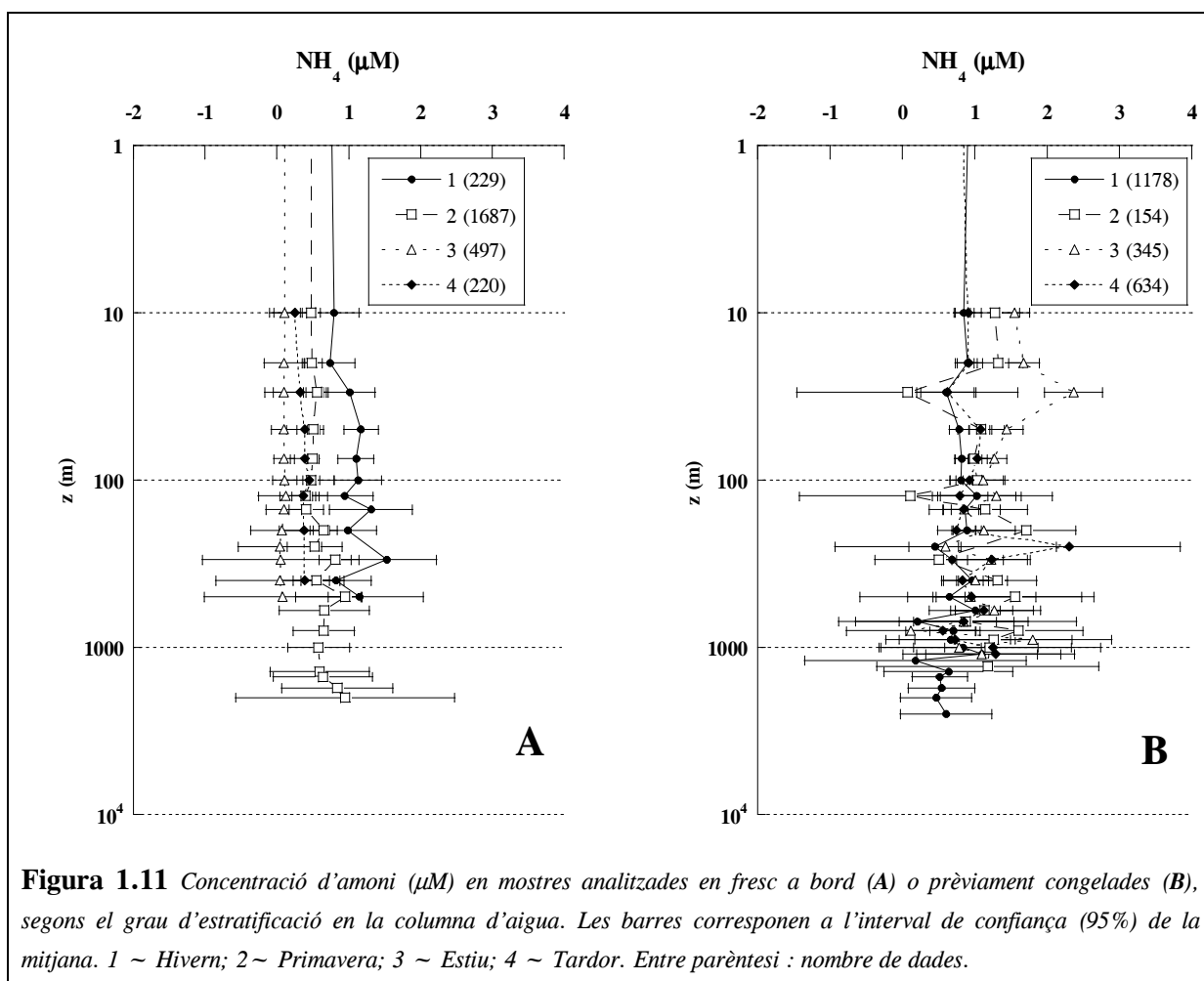
		Fosfat	Nitrat	Nitrit	Amoni	Silicat
Mitjana de l'anàlisi	a bord	0,18 (6065)	3,06 (10856)	0,13 (9865)	0,48 (2562)	2,91 (10897)
	congelades	0,19 * (2928)	3,35 * (3116)	0,10 * (3119)	0,96 * (2382)	2,97 (3116)
Error relatiu (%)		6,2	9,2	- 21,5	102,1	1,8

Comparant els resultats obtinguts amb les dades de nutrients provinents de campanyes oceanogràfiques amb els resultats de l'experiment de laboratori veiem les mateixes tendències per fosfat, amoni i nitrit : les concentracions de fosfat i amoni augmenten, reforçant la hipòtesi que es deu a la ruptura de les cèl·lules presents en la mostra (Carpenter i McCarthy, 1975), mentre que el nitrit disminueix de concentració.

En el cas del fosfat, la diferència de concentracions és la mateixa que la calculada en l'experiment en laboratori, amb el mateix error relatiu (Taula 1.8 i 1.9). En canvi, les mostres d'amoni congelades presenten el doble de concentració que les analitzades a bord (Taula 1.10). L'evolució de la concentració d'amoni segons del grau d'estratificació de la columna d'aigua en mostres analitzades a bord (Fig. 1.11 A) no és evident en els perfils resultants de l'anàlisi de mostres congelades (Fig. 1.11 B), on, a més, també augmenta l'interval de confiança de la mitjana. Per tant, les mostres d'amoni que provinguin de campanyes on les mostres s'han congelat no seran utilitzades per determinar els rangs de concentració d'amoni per a la Mar Catalana. La distribució de l'amoni en el mar pot tenir variacions brusques, que no apareixen amb els altres nutrients, per exemple, associades a altes activitats enzimàtiques o abundàncies de zooplàncton (A. Cruzado, comunicació personal), per tant no es pot assegurar que la diferència entre les concentracions mitjanes d'amoni de la Taula 1.10 només estiguin causades per l'efecte de la preservació de les mostres.

La mitjana de les mostres de nitrit que han estat congelades és $0,03 \mu\text{M}$ inferior a la de les mostres analitzades a bord (Taula 1.10). Aquesta diferència és menor que la calculada al laboratori, però com que la mitjana també ho és, l'error resultant en surt incrementat. De totes maneres els resultats són similars: si combinem dades fresques i congelades de nitrit, la mitjana disminuirà entre un 11 % (experiment en el laboratori) i un 21,5 % (dades de camp). Aquesta disminució inclou tant la variabilitat natural com la deguda a la congelació.

Els resultats obtinguts en l'anàlisi de silicat (Taula 1.10) proporcionen un error relatiu similar a l'obtingut en el laboratori ($0,05 - 0,06 \mu\text{M}$), però aquest cop és positiu: la concentració de silicat augmenta en un 1,8 % (no significatiu, $p = 0,29$), mentre que abans disminuïa en un 2 %. Les mostres congelades de nitrat també es comporten de manera contrària a la trobada en el laboratori: la concentració augmenta un 9,2 %, amb una diferència absoluta de $0,3 \mu\text{M}$. El fet que les concentracions de nutrients siguin més altes en tots els casos (excepte nitrit) pot explicar-se per que 4 de les 10 campanyes on s'han congelat els nutrients són fetes a l'hivern, quan les concentracions superficials de nutrients són més elevades, mentre que només 4 de les 18 campanyes on els nutrients s'han analitzat a bord són fetes a l'hivern. A més, els resultats també poden estar afectats per diferents profunditats de mostreig en les campanyes.



Conèixer la precisió del mètode ens ajudaria a decidir si convé barrejar dades de nutrients congelades i analitzades a bord, a més de saber quina part de la variabilitat no es deurà a processos naturals sinó que és deguda a l'anàlisi i manipulació de les mostres. En la majoria de les campanyes no s'ha calculat la precisió, o bé aquesta dada no és accessible. Intuïtivament creiem que ha de ser més gran que la calculada per a un laboratori a terra en casi totes les campanyes. No podem estimar la precisió calculant el CV de les dades de

nutrients provinents de cada campanya, per exemple agrupant-les en diferents nivells de profunditat o bé en cada estació de l'any, ja que el valor resultant no seria una mesura de la variabilitat del mètode sinó de tot el sistema que estem estudiant. Com que se'ns presenta el mateix problema quan treballem amb les dades de clorofil·la *a* i d'oxigen dissolt, ens tornarem a plantejar el càlcul de la precisió de les dades més endavant (apartat 1.7 d'aquest Capítol).

1.5 Metodologia d'anàlisi d'oxigen dissolt

El mètode d'anàlisi d'oxigen dissolt és un dels més robusts des del punt de vista analític i no ha estat pràcticament modificat des de que va ser descrit a finals del segle XIX (Winkler, 1888). Bàsicament l'oxigen en la mostra d'aigua oxida ions I^- a iode, la quantitat del qual es determina amb una titulació per tiosulfat. La mecànica de l'anàlisi es troba molt detallada a Hansen (1999) : en afegir un reactiu de $CIMn$ i un de $NaI-NaOH$ a la mostra, es produeix una reacció immediata formant un precipitat de $MnO(OH)_2$. A continuació s'acidifica la mostra amb àcid sulfúric al 50%, provocant l'alliberament dels ions $Mn(III)$ que oxiden els ions $2I^-$ a I_2 i que alhora reacciona amb l'excedent de I_2 generant un complex I_3^- . Aquest complex és el que es fa reaccionar amb el tiosulfat. El volum de tiosulfat necessari per complexar tot el iode es pot determinar espectrofotomètricament (per canvi de color, Hansen (1999)) o potenciomètricament (per canvi de potencial, Oudot *et al.*, 1988), amb l'ajuda d'un titulador. Les principals fonts d'error en la determinació d'oxigen dissolt són la concentració d'oxigen dissolt en els reactius i el valor del blanc (Culberson *et al.*, 1991). També és important conèixer la temperatura *in situ* en el moment de mostreig a l'hora de calcular la concentració d'oxigen per unitat de volum d'aigua de mar.

Les millores que s'han fet en l'anàlisi consisteixen en automatitzar el punt final de la valoració, fet que ajuda a millorar la precisió de les dades obtingudes. En la majoria de les campanyes del CSIC, el punt final de la titulació s'ha determinat visualment. A PEP 83, Varimed 93, Fans 1 a 3 i Hivern 1999 i 2000 es va usar un titulador, amb elèctrode de platí (Grup PEPS, 1986; Masó i Grup PEPS, 1988; Varela i Grup FRONTS, 1991; Masó i Grup Varimed, 1995).

Segons MEDAR Group (2002), els "límits regionals" de concentració d'oxigen dissolt a la zona DS2, d'on hem extret les dades, són 0 ml/l com a límit inferior, i 7 ml/l en el límit superior. Aquests valors ens han servit de referència a l'hora de comprovar els rangs de concentració obtinguts per a la Mar Catalana després d'aplicar els procediments de control de qualitat explicats a l'apartat 1.8 d'aquest Capítol.

1.6 Metodologia d'anàlisi de clorofil·la *a*

La clorofil·la *a*, utilitzada en oceanografia com a indicador de la biomassa fitoplànctònica, s'analitza seguint Yentsch i Menzel (1963), amb lleugeres modificacions segons la campanya. El mètode consisteix en filtrar un volum variable d'aigua (normalment entre 25 i 250 ml d'aigua de mar) a través d'un filtre de fibra de vidre Whatman GF/F. El filtre pot ser directament homogeneïtzat en acetona al 90% o bé prèviament congelat a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, amb la finalitat trencar les cèl·lules de la mostra i extreure'n el contingut. A vegades, els filtres han estat triturats per facilitar l'extracció de la clorofil·la *a*. Quan no són triturats, els filtres es deixen 24 hores en acetona a $4\text{ }^\circ\text{C}$ i a la foscor. Per últim, es mesura la fluorescència de l'extracte en un fluoròmetre (normalment algun model Turner). Generalment també es fa una lectura de l'extracte després d'acidificar-lo amb unes gotes d'àcid clorhídric per determinar la quantitat de clorofil·la *a* degradada (feofitines) i corregir la lectura. Les

dades utilitzades en aquest estudi no han estat corregides amb els valors d'aquesta segona lectura, ja que aquesta no és prou precisa.

Normalment, el fluoròmetre de l'ICM es calibra un cop a l'any amb l'ajuda d'un espectrofotòmetre i amb clorofil·la *a* comercial. En principi, quan el fluoròmetre es trasllada al vaixell per fer les lectures a bord, la calibració es repeteix en tornar de la campanya. Aquests procediments es van portar a terme durant les campanyes Canyons I a IV (2001, lectures al laboratori de l'ICM) i Caco 1 i 2 (lectures a bord).

El tipus de filtre GF/F també ha variat entre campanyes : en les tres primeres campanyes del CSIC estudiades, PEP 82, 83 i 84, s'acumulà el fitoplàncton en filtres GF/C, mentre que per a la resta de campanyes es van utilitzar filtres GF/F (Grup PEPS, 1986; Masó i Grup PEPS, 1988; Varela i Grup FRONTS, 1991; Masó i Grup Varimed, 1995). En filtres GF/C la mida de porus nominal és 1,2 µm, mentre que els filtres GF/F és de 0,7 µm. Sembla lògic pensar que els valors de clorofil·la *a* seran més elevats si s'utilitzen filtres GF/F, ja que pot quedar retinguda més quantitat de matèria orgànica, però Morán *et al.* (1999) no han trobat diferències estadísticament significatives en la quantitat de clorofil·la *a* retinguda utilitzant aquests dos tipus de filtres, així com en filtres de policarbonat de 0,2 µm de mida de porus. De totes maneres recomanen utilitzar filtres GF/F especialment en aigües on la biomassa sigui baixa, per evitar la pèrdua d'organismes fitoplanctònics petits.

En algunes campanyes, els valors de concentració de clorofil·la *a* calculats d'aquesta manera s'utilitzen per calibrar el sensor de fluorescència del CTD, mitjançant una regressió lineal entre els valors de fluorescència vers la concentració de clorofil·la *a*. D'aquesta manera s'obtenen perfils continus de concentració de clorofil·la *a*. La relació fluorescència - clorofil·la *a* es pot veure alterada per l'estat fisiològic de la cèl·lula i per canvis ambientals, com la quantitat de llum i de nutrients del medi (Blasco, 1973; Loftus i Selinger, 1975). Utilitzant dades d'algunes campanyes d'aquest estudi (Fronts 92 i Varimed 93), Estrada *et al.* (1996) descriuen variacions diàries de la relació fluorescència *in vivo* / clorofil·la *a*, amb un mínim al voltant del vespre. Per tots aquests motius, únicament s'han utilitzat els valors de concentració procedents d'anàlisis per definir els rangs de concentració de clorofil·la *a* a la Mar Catalana, però no s'han utilitzat els calculats a partir de la fluorescència del sensor del CTD, per evitar el soroll inherent a la regressió, especialment a concentracions baixes quan no es força el pas de la recta de regressió per (0,0). Aquesta afirmació també és vàlida per a les dades d'oxigen dissolt procedents dels sensors dels CTD, i tampoc s'han tingut en compte aquest tipus de dades en el present treball.

1.7 Precisió dels anàlisis i errors sistemàtics en les diferents campanyes

Es disposa de dades sobre la precisió dels anàlisis de nutrients per a les campanyes Fronts 89, 90 i 91 (Varela i Grup FRONTS, 1991), Canyons II a IV i Caco 1 i 2 (calculats a partir de CCQ realitzades intercalant patrons de concentració coneguda durant els anàlisis). No es disposa de dades sobre la precisió dels anàlisis de clorofil·la *a* en cap campanya.

Quan no es disposa de valors de la precisió dels anàlisis, aquests es poden estimar a partir de les dades disponibles de diferents maneres: (1) calculant la desviació estàndard de varies submostres (rèpliques) d'una mateixa botella Niskin (tipus de botella que, enganxada al CTD, permet recollir aigua qualsevol profunditat), considerant que l'aigua de la botella és una mostra homogènia (això s'ha fet, per exemple, a la campanya Varimed 95); (2) calculant la desviació estàndard de varies mostres procedents de diferents Niskin tancades a la mateixa profunditat, d'aquesta manera es considera que la massa d'aigua representa una mostra homogènia (Varimed 93 I a III i Fans 1 a 3); (3) calculant la desviació estàndard entre anàlisis consecutius

d'una mateixa mostra a l'autoanalitzador de nutrients (Hivern 1999 i 2000), de manera que la mitjana de les desviacions entre les mostres pot servir per estimar la precisió de l'autoanalitzador. Les estimes de la precisió a partir de botelles Niskin també inclouran variabilitat natural, que es sumarà a la precisió de l'anàlisi. A la Taula 1.11 es reuneixen les precisions calculades amb aquestes aproximacions, essent el valor de cada campanya la precisió mitjana calculada a partir de totes les mostres en les que s'ha pogut estimar la precisió. En aquesta taula també s'ha inclòs la mitjana de totes les precisions calculades (última fila), sigui quin sigui el mètode utilitzat per calcular la precisió dels descrits en aquest paràgraf.

Per altre banda, Garcia *et al.* (1998) descriuen una aproximació al càlcul de la precisió dels anàlisis de nutrients inorgànics i oxigen dissolt per campanyes en les que no es disposa d'aquest valor. L'aproximació consisteix en calcular la regressió entre les dades observades de la variable a estudiar i la temperatura potencial d'aquells punt que pertanyen a una massa d'aigua amb característiques físiques i químiques estables. La precisió s'estima com la desviació estàndard entre les dades de nutrients i oxigen dissolt observades i les esperades a partir d'aquesta regressió.

De les diferents masses d'aigua que es troben a la Mar Catalana, la més estable tant en variació de temperatura (menys d'un grau (Salat, 1995)), com en concentració de nutrients és l'aigua profunda de la Mediterrània Occidental (WMDW), ja que les concentracions de nitrat i fosfat són constants aproximadament des de 500 m fins al fons, i les concentracions de silicat i oxigen dissolt ho són aproximadament a partir de 1400 – 1500 m (Béthoux i Copin – Montégut, 1986; Muniz, 1996; Béthoux *et al.*, 1998, 2002b; Moutin i Raimbault, 2002; i aquest treball, Cap. 2). Quan no es disposa de suficients dades de WMDW, la millor alternativa és utilitzar les dades de l'aigua tipus LIW (nucli de la LIW). La precisió de l'amoni no es pot estudiar d'aquesta manera per que el nombre de dades és molt escàs. Les estimes de les precisions dels anàlisis segons García *et al.* (1998) en les diferents campanyes oceanogràfiques es troben a la Taula 1.12.

De les Taules 1.11 i 1.12 en podem extreure que en general, quan els valors de precisió es donen com desviació estàndard, els millors resultats s'obtenen a partir de valors de mostres agafats a les mateixes profunditats i amb patrons interns, ja que l'estima de la precisió segons García *et al.* (1998) també incorpora la variabilitat natural del sistema i, per tant, pot estar lleugerament sobreestimada. Els patrons interns no contenen errors deguts al mostreig i manipulació de les mostres. Per aquest motiu, com a aproximació a la precisió de les dades d'estudi s'ha utilitzat la desviació estàndard mitjana de la Taula 1.11 : fosfat = 0,02 μM ; nitrat = 0,11 μM ; nitrit = 0,02 μM ; amoni = 0,14 μM ; silicat = 0,12 μM ; i oxigen dissolt = 0,11 μM .

La precisió obtinguda per a fosfat (0,02 μM) és similar que la diferència entre els nutrients analitzats a bord i congelats (0,01 μM , Taula 1.10), per tant, tot i que l'anàlisi estadístic doni diferències significatives entre aquests dos grups de mostres, aquesta diferència pot ser explicada en part per la precisió dels anàlisis.

En el cas del nitrat, la diferència significativa entre les mostres analitzades a bord i congelades (0,29 μM) és menor que la precisió mitjana obtinguda a partir de Garcia *et al.* (1998), però més gran que la calculada a partir de les estimes fetes durant els anàlisis (0,11 μM). La diferència entre les mitjanes de les dades analitzades a bord i congelades també es pot explicar per la presència de mostres amb concentracions de nitrat superiors a 12 μM entre les dades congelades (a Hivern 1999, amb un màxim de 41,45 μM , probablement a conseqüència d'una incorrecta aplicació del factor de dilució), mentre que les dades analitzades a bord no superen mai els 12 μM de nitrat. En aquesta mateixa campanya també apareixen valors alts de silicat (> 15 μM). Si no tenim en compte els valors més grans de 12 μM d'Hivern 1999, la diferència entre la mitjana dels nutrients congelats i analitzats a bord es redueix a 0,17 μM . Aquest valor és molt proper a la desviació del mètode i, per tant, s'ha decidit fer servir conjuntament les dades de nitrat congelades i analitzades a bord per definir els rangs d'aquest nutrient a la Mar Catalana.

Taula 1.11 Precisió dels anàlisis calculats a partir de : 1: disponibles a Datos Informativos 19 (Grup PEPS, 1986); 2: varies mostres agafades a la mateixa profunditat, que poden correspondre a diferents botelles o a la mateixa; 3: varies submostres de la mateixa botella Niskin; 4: varies submostres de diferents botelles Niskin tancades a la mateixa profunditat; 5: anàlisis duplicats consecutius de la mateixa mostra; 6: patrons interns intercalats durant els anàlisis. s : desviació estàndard; CV : coeficient de variació; n : quantitat de dades. La mitjana (última fila) s'ha calculat a partir de totes les dades.

Càlcul de la precisió	Campanya	Fosfat			Nitrat			Nitrit			Amoni			Silicat			Oxigen dissolt		
		s (µM)	CV (%)	n	s (µM)	CV (%)	n	s (µM)	CV (%)	n	s (µM)	CV (%)	n	s (µM)	CV (%)	n	s (ml/l)	CV (%)	n
1	Fronts 89, 90 i 91		10		1		0,1		1		0,1								
2	Varimed 93 I			0,08	9	16	0,01	16	16		0,15	9	16	0,21	4	6			
2	Varimed 93 II			0,08	7	43	0,02	11	43		0,17	12	41	0,18	3	10			
2	Varimed 93 III			0,16	12	172	0,02	12	173		0,12	9	173	0,16	3	57			
3	Varimed 95	<0,01	7	22	0,08	13	22	0,01	9	22	0,52	38	22						
3	Meso 95			0,65	30	6	0,07	14	6	0,44	18	6	0,30	5	6				
4	Varimed 95	0,01	12	64	0,15	22	64	0,02	12	64	0,17	27	64						
4	Meso 95																		
4	Fans 1	0,03	31	68	0,06	18	68	<0,01	7	68	0,07	5	68	0,07	1	15			
4	Fans 2	0,02	24	276	0,09	3	324	0,01	5	324	0,10	3	324	0,01	0	38			
4	Fans 3	0,04	36	52	0,09	12	126	0,01	11	125	0,12	5	134	0,07	1	40			
5	Hivern 1999	0,01	8	252	0,08	4	226	0,01	9	254	0,04	5	254	0,16	5	235			
5	Hivern 2000	0,01	3	220	0,05	1	216	0,01	9	220	0,08	12	220	0,09	2	195			
5	Canyons I	0,02	6	289	0,08	6	297	0,01	8	296	0,05	11	297	0,12	10	296			
5	Canyons II	<0,01	7	290	0,07	5	291	<0,01	7	291	0,02	2	290						
6	Canyons II a IV	0,03	6	92	0,10	5	110	0,02	5	104	0,43	16	34	0,25	5	92			
6	Caco 1 i 2	0,01	3	90	0,03	2	84	0,01	5	83	0,09	6	89	0,02	1	90			
	mitjana	0,02	23	1715	0,11	9	2065	0,02	9	2089	0,14	11	894	0,12	8	2046	0,11	2	176

Taula 1.12 Estimacions de la precisió dels anàlisis a les campanyes d'estudi calculades segons García et al. (1998) amb dades a la WMDW. *s* : desviació estàndard; CV : coeficient de variació; *n* : quantitat de dades. * : a partir de dades del nucli de la LIW; ** : a partir de dades de la LIW. La mitjana s'ha calculat a partir de totes les dades.

Campanya	any	Fosfat		Nitrat		Nitrit		Silicat		Oxigen dissolt			
		s (µM)	CV (%)	n	s (µM)	CV (%)	n	s (µM)	CV (%)	n	s (ml/l)	CV (%)	n
PEP 82	1982	0,01	6	5	0,14	1	0,00	197	8	0,30	4	0,13	8
PEP 83	1983	0,07	16	12	0,54	7	0,01	104	12	0,53	8	0,06	12
PEP 84	1984	0,03	5	10	0,57	6	0,02	69	10	0,64*	11	0,28	10
Fronts-3-85	1985	0,12	31	13	0,45	6	0,01	109	13	0,44	7	0,16	13
Fronts-6-85	1985	0,06	13	31	0,73	10	0,09**	75	16	0,75	13	0,23	31
PEP 86	1986			36	0,46	7	0,02**	42	33	0,24	4	0,21	37
Fronts 11-86	1986			34	0,13	3	0,00	70	31	0,22	4	0,01	6
PEP 87	1987	0,05	14	34	0,47	5	0,02	36	37	0,31	5	0,04	34
Fronts 89	1989	0,03*	5	15	0,33*	4			16	0,41*	6	0,08*	17
Fronts 90	1990	0,04*	13	8	0,03	0,3	0,01	17	6	0,65	8	0,03	6
Fronts 91	1991			15	0,31**	4			71	0,20**	3	0,07**	3
Fronts 92	1992	0,04*	9	15	0,47*	6			16	0,48*	11	0,17*	16
Varimed 93 I	1993			115	0,28	3	0,02	22	34	0,35	4	0,05	113
Varimed 93 II	1993			25	0,14	2	0,01	3	4	0,56	8	0,21	25
Varimed 93 III	1993			23	0,10	1	0,06	100	115	0,43	6	0,10	23
Varimed 95	1995	0,02	5	68	0,08	1	0,01*	32	18	0,26	3	0,10	73
Meso 95	1995			15	0,45	5	0,06	29	23	0,55	6	0,14*	99
Fans 1	1996	0,02	4	15	0,04	0,4	0,01	28	73	0,06	1	0,18	15
Fans 2	1997	0,01	2	23	0,09	1	0,00*	46	43	0,20	2	0,05	23
Fans 3	1997	0,05	13	10	0,23	3	0,01	17	15	0,34	3	0,06*	9
Hivern 1999	1999	0,07	8	24	0,84	11	0,00	74	24	1,09	13	0,07*	17
Hivern 2000	2000	0,05	11	94	0,91	12	0,01	15	10	1,11	15	0,13	94
Canyons I	2001	0,05*	15	15	0,79	15	0,02	40	24	0,99	18		20
Canyons II	2001	0,02*	5	20	1,02*	9	0,02	40	94	0,15	2		20
Canyons III	2001	0,04	10	17	0,86	10	0,01	79	20	0,71	9		17
Canyons IV	2001	0,04*	10	9	0,65*	7	0,03	47	17	0,28	4		9
Caco 1	2003	0,03	10	4	0,47	7	0,01	25	4	0,47	6		4
Caco 2	2003	0,02	5	3	0,15	2	0,00	8	3	0,18	3		3
Mitjana		0,04	10	435	0,42	6	0,02	52	638	0,46	7	0,12	792
													530

Respecte el silicat, la precisió dels anàlisis és més gran que la diferència (no significativa) entre les mostres analitzades a bord i congelades, per tant no hi haurà cap problema en treballar conjuntament dades analitzades en fresc i dades provinents de mostres congelades per definir el rang d'aquesta variable.

Tan en nitrit com en amoni, la mitjana de la precisió calculada (Taula 1.10) és menor que la diferència entre les mostres congelades i les analitzades a bord. En el cas de l'amoni, no es pot explicar la diferència de concentracions per la precisió dels anàlisis, fent-se evident l'alta variabilitat natural d'aquest nutrient en el mar. Per això, no utilitzarem els valors d'amoni provinents de mostres congelades. Per a nitrit, la diferència entre nutrients congelats i analitzats en fresc és de 0,03 μM , molt semblant a la diferència obtinguda amb l'experiment del laboratori, dels quals 0,02 μM es poden explicar per la precisió dels anàlisis. Considerem la diferència de $\sim 0,01 \mu\text{M}$ restant prou petita per treballar ambdós tipus de mostres conjuntament, però caldrà tenir-la en compte condicions on la concentració de nitrit sigui propera a aquest valor.

Encara que obtinguem uns valors de precisió suficientment bons, pot passar que durant l'anàlisi d'una campanya s'hagi comès un error sistemàtic, per exemple usant línia de base o reactius amb contaminació, de manera que tots els resultats es veuran desviats de la mateixa manera dels valors vertaders. La font més important d'errors sistemàtics en l'anàlisi de nutrients són els patrons a partir dels quals es construeix la recta de calibració (Gordon *et al.*, 1993). La millor manera de saber que s'estan obtenint resultats vertaders consisteix en utilitzar materials de referència certificats (Riu *et al.*, 2002). La participació en exercicis d'intercalibració també ajuda a conèixer com d'exactes són els anàlisis en un laboratori. Així, els valors de nutrients proporcionats pel Departament d'Oceanografia Química del CEAB (Dr. A. Cruzado i S. Pla) poden ser traçables, puig que són els únics analistes d'aquest estudi que han participat en un exercici d'intercalibració de nutrients entre laboratoris, quedant en segona posició (Aminot i Kirkwood, 1995; Muniz, 1996).

Gouretski i Jancke (2001) van estudiar dades oceanogràfiques procedents de diferents campanyes realitzades per tot el món. Un dels seus objectius era definir una metodologia per trobar errors sistemàtics en els anàlisis que podien emascarar o posar en rellevància canvis al llarg dels anys de les diferents variables, i de fet van trobar que alguns canvis publicats en la salinitat d'aigües profundes no es devien a variabilitat natural sinó a error sistemàtics en les campanyes realitzades a la zona. Malauradament no podem calcular l'existència d'error sistemàtics degut a la falta de dades, ja que les condicions imposades en la seva metodologia no es compleixen en les estacions de les campanyes de què disposem : es requereixen perfils amb al menys tres mostres en un rang de temperatura determinat (a definir segons la zona d'estudi), i al menys quatre perfils d'aquestes característiques per cada campanya a comparar (es comparen parells de campanyes).

1.8 Control de Qualitat de les dades de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a*

Per a establir els rangs de les diferents variables oceanogràfiques a la Mar Catalana mitjançant un CQ, és necessari disposar de moltes dades, i per això se n'ha extret des de les bases de dades històriques que existeixen de la zona d'estudi : MEDATLAS i MATER (MEDAR Group, 2002, MATER Group, 2001, Apèndix B). En aquestes bases de dades, la Mar mediterrània es divideix en diferents àrees, corresponent a la Mar Catalana l'àrea DS2 (anomenada "Balearic Sea"). L'àrea a partir de la qual s'han extret les dades és la que es defineix amb les campanyes del CSIC: 0 a 4,5 W i 38,7 a 42,4 N.

El CQ s'ha adaptat principalment de Conkright *et al.* (1994, 2002) i és similar a l'utilitzat en el CQ de les dades de la base de dades MEDATLAS (MEDAR Group, 2002). Però com que aquesta base de dades

no proporciona els valors màxims i mínims per a nutrients i clorofil·la a la Mar Catalana, s'ha decidit fer tot el procés de CQ de les dades per a definir-los.

El CQ per establir els rangs regionals de les variables d'estudi que proposen Conkright *et al.* (1994, 2002), inclou només dades considerades oceàniques, fora de la influència de la plataforma continental. L'àrea d'estudi d'aquest treball conté una gran proporció de costa i plataforma continental, i que per tant pot estar influenciada per aportacions terrestres. Per això, en aquest treball s'han fet servir les divisions proposades a MEDATLAS (Fichaut *et al.*, 1997), que consideren els següents rangs de profunditats : 0 – 200 m (plataforma continental); 200 – 400 m (estrets i talús) i 400 m – fons (mar obert). En el CQ només s'han utilitzat les dades provinents d'estacions amb més de 400 m de fons. Un cop definit el CQ, les estacions de talús s'han considerat equivalents a les de mar obert.

De les bases de dades MEDATLAS i MATER es poden extreure dades amb “banderes de qualitat” que han estat assignades seguint criteris similars als de Conkright *et al.* (1994) (Fichaut *et al.*, 1997). Com que no coneixem quins intervals han estat usats en el control de qualitat de MEDATLAS, ni els rangs de concentració que han considerat vàlids, ni la mitjana i desviació estàndard per cada SLD, no hem tingut en compte les banderes de qualitat que s'extreuen juntament amb les dades i hem decidit establir un CQ específic a la Mar Catalana per cada variable oceanogràfica (nutrients inorgànics, oxigen dissolt i clorofil·la *a*).

Seguint els passos proposats per Conkright *et al.* (1994, 2002), els rangs de concentració s'extreuen a partir de la distribució de freqüències i de l'anàlisi estadístic de les dades per a cada paràmetre en el SLD més proper. Com ja s'ha introduït a l'apartat anterior, les SLD són aquelles profunditats que històricament han estat mostrejades amb més freqüència, i inclouen les dades compreses fins a un 25 % de la distància amb el SLD superior i un 75 % amb l'inferior. MEDAR Group (2002) adaptaren aquestes profunditats per al Mar Mediterrani, i seguint aquest criteri, a la Mar Catalana es defineixen fins a 26 SLD, que corresponen fins a 2500 m de profunditat mostrejats (Taula 1.13).

Un cop fetes les distribucions de freqüències, es defineixen uns rangs inicials. Conkright *et al.* (1994, 2002) els defineixen considerant representatius aquells intervals que superen una freqüència de 0,5 % a un SLD determinat. A la Mar Catalana, tot afegint dades de MEDATLAS i MATER, la quantitat de dades és insuficient per considerar que el 0,5 % és representatiu, així que s'ha pujat el llindar fins a un 10 % per sota de 500 metres de profunditat, on el nombre de dades és bastant escàs, i fins un 5 % per sobre de 500 m. També cal tenir en compte que les variacions estacionals són més marcades a la capa superior i que l'àrea d'estudi no es troba tan allunyada de la costa com idealment hauria d'estar per a definir els rangs de concentració tal com ho fan Conkright *et al.* (1994, 2002). Els intervals considerats vàlids han de ser consecutius en la mateixa SLD i coherents amb les SLD que els envolten. Les taules de freqüències per establir els rang inicials es troben a l'Apèndix C, on s'han ombrejat els rangs inicials de cada SLD.

Com que la quantitat de dades disminueix de forma bastant brusca a mesura que augmenta la profunditat, s'ha integrat la capa d'aigua des de 500 m fins al fons (nivells estàndard (SL) 17 a 26) per a ajudar a definir els rangs de fòsfat i nitrat. En el cas del silicat, la concentració també augmenta amb la profunditat com a conseqüència de la dissolució dels frústuls de les diatomees, però de manera més lenta que en els casos de nitrat i fòsfat (Millero, 1996; Muniz, 1996; Leblanc *et al.*, 2003). Per això, la integració de les dades de silicat s'ha fet a partir de 1400 metres fins al fons (SL 22 a 26). No ha estat necessari integrar les dades en el cas de l'estudi de l'oxigen dissolt, puig que el nombre de dades és més alt i no estan tan disperses com en el cas dels nutrients.

Taula 1.13 Rang de profunditats (en m) que comprèn cada Nivell Estàndard (SL) i cada Nivell Estàndard de Profunditat (SLD, en m) a la Mar Mediterrània segons MEDAR Group (2002).

SL	SLD	Superior (\geq)	Inferior ($<$)
1	0	0	1,25
2	5	1,25	6,25
3	10	6,25	12,5
4	20	12,5	22,5
5	30	22,5	32,5
6	40	32,5	42,5
7	50	42,5	52,5
8	60	52,5	65
9	80	65	85
10	100	85	105
11	120	105	130
12	160	130	170
13	200	170	212,5
14	250	212,5	262,5
15	300	262,5	325
16	400	325	425
17	500	425	525
18	600	525	650
19	800	650	850
20	1000	850	1050
21	1200	1050	1250
22	1400	1250	1450
23	1600	1450	1650
24	1800	1650	1850
25	2000	1850	2125
26	2500	2125	2625
27	3000	2625	3250
28	4000	3250	4000

Les concentracions de clorofil·la *a* i de nitrit són en general molt baixes, trobant-se les concentracions més elevades entre 50 i 100 m. La clorofil·la *a* depèn de la concentració de fitoplàncton, que té un creixement exponencial. Per això, els intervals de concentracions definits per calcular les distribucions de freqüències d'aquesta variable també s'han distribuït exponencialment.

El nitrit es genera a la zona eufòtica de la columna d'aigua (1) durant el procés de nitrificació (estadi intermedi d'oxidació d'amoni a nitrat dut a terme per bacteris i arquees), (2) per la incompleta assimilació de nitrat per part del fitoplàncton, bacteris i potencialment arquees, i per últim (3) per reducció fotalítica de nitrat (veure la revisió de Lomas i Lipschultz, 2006). L'excreció de nitrit per part del fitoplàncton com a resultat de la incompleta reducció del nitrat assimilat per als requeriments cel·lulars (Riley, 1971; Spencer, 1975) apareix, per exemple, en condicions de baixa intensitat de llum (Vaccaro i Ryther, 1960, Carlucci *et al.*, 1970; Blasco, 1971). Ja que el màxim de nitrit situat aproximadament al mateix nivell que el màxim de clorofil·la *a* s'explica majoritàriament per aquest últim procés a la Mar Catalana (Estrada, 1999; Lomas i

Lipschultz, 2006), també s'han dividit els intervals de forma exponencial. Aquest tipus de divisions permet una millor resolució de les baixes concentracions, majoritàries en la columna d'aigua per a clorofil·la *a* i nitrit.

En el cas de l'amoni, puig que només es consideren les mostres analitzades a bord (en fresc), el nombre de dades és molt reduït, i només s'ha estudiat el perfil fins a 500 m de profunditat, ja que les dades d'amoni analitzades en fresc mostrejades per sota de 500 m pertanyen només a una estació de l'any (primavera) i per tant podrien no ser representatives per tot l'any (Figura 1.11).

El següent pas en establir el control de qualitat de les dades consisteix en definir els rangs finals, que són aquells que comprenen tres desviacions estàndard per sobre i per sota de la mitjana dels valors compresos dins del rang inicial, en cada SL. Per sobre de 50 m i acostant-nos a la costa, aquests rangs augmenten a 4 i 5 desviacions estàndard (Conkright *et al.*, 1994, 2002). Per definir els rangs finals a la Mar Catalana s'han considerat només dues desviacions estàndard per sota de SL 10 (per sota de 105 m de profunditat), ja que els valors resultants de calcular la mitjana ± 2 desviacions estàndard s'aproximen als rangs inicials, sense sobrepassar-los; mentre que per sobre de SL 10 s'han considerat 3 desviacions estàndard, ja que aquesta zona, que comprèn el MPC, és biològicament molt més dinàmica, i per tant les concentracions de nutrients i oxigen dissolt estan subjectes a més variació. Els rangs finals definits d'aquesta manera seran considerats vàlids per a estacions amb més de 200 m de profunditat (talús i mar obert). Per a la plataforma continental, amb una profunditat del fons de 200 m com a màxim, i teòricament més influenciada per processos costaners, s'incrementa el rang fins a una desviació estàndard més en tota la columna d'aigua amb l'objectiu de recollir les variacions degudes a la influència continental (Conkright *et al.*, 1994, 2002; MEDAR Group, 2002).

Un cop aplicat el CQ a cada perfil individual, les dades són identificades per mitjà d'una "bandera de qualitat", de manera que si les dades es troben per sobre dels rangs de valors la bandera de qualitat és "1", "2" si es troben per sota, i "0" si estan incloses dins del rang. En posterior estudis (Cap. 2 i 3) només s'han utilitzat les dades de les diverses variables oceanogràfiques amb banderes de qualitat "0". Les dades de θ i S que formen pics en els perfils dels diagrames $\theta - S$ per cada estació individual, han estat marcades amb una bandera de qualitat "3", i també s'exclouen dels estudis posteriors (i de la Fig. 1.4).

Les dades que es troben fora dels rangs, s'han de llegir com a "valors no usuals per a la profunditat en què es troben", ja que pot ser que siguin valors erronis, deguts a problemes instrumentals o de mostreig, però també pot ser que estiguin associats a condicions específiques de la hidrodinàmica de la zona, per exemple en el cas de l'àrea MEDOC, on els perfils de concentració són diferents respecte els perfils usuals definits a partir d'aquest control de qualitat, com veurem en el capítol següent.

En començar a treballar les dades per establir els rangs de concentracions a la Mar Catalana, s'ha observat que les concentracions superficials de les diferents variables a l'hivern, excepte en el cas de fosfat i oxigen dissolt, són més altes que a la resta de l'any. Es per això que s'han estudiat els perfils d'aquestes variables en aquesta època de l'any separades de la resta de dades, ja que d'altra manera la majoria de les dades pertanyents a l'hivern estarien fora dels rangs anuals vàlids. El percentatge acceptable de dades en els diagrames de freqüències de l'hivern ha augmentat a un 10% en tota la columna d'aigua, ja que el nombre de dades s'ha vist molt reduït.

1.9 Conclusions i resum del capítol

Per poder descriure els rangs de concentració, la distribució i les variacions de nutrients, oxigen dissolt i clorofil·la *a* a la Mar Catalana és indispensable disposar de dades que siguin fiables. En aquest treball s'han reunit dades oceanogràfiques a partir de campanyes oceanogràfiques realitzades per l'Institut de Ciències del Mar i amb la col·laboració del Centre d'Estudis Avançats de Blanes (CSIC), entre 1982 i 2003, però aquestes dades no han passat cap control de qualitat. Aquestes campanyes inclouen dades físiques (temperatura, salinitat i pressió), químiques (concentració de nutrients i oxigen dissolt) i biològiques (concentració de clorofil·la *a*). La avantatge de disposar d'aquestes campanyes ha estat la gran quantitat d'informació de què es disposa per cada estació i profunditat mostrejades, que permeten estudiar les relacions (estequiometria) i les variacions estacionals i anuals d'aquestes variables de manera conjunta i simultània. A més, també es coneix informació sobre les metodologies de mostreig i processament de les mostres.

Amb l'ajuda de MEDATLAS s'ha estudiat la validesa de les dades de *T* i *S*, ja que aquest Atlas descriu els rangs usals per aquestes variables a la zona d'estudi. Amb el càlcul de la θ i la densitat (en forma de $\sigma - T$) s'ha distribuït les dades entre les masses d'aigua presents a la Mar Catalana. El càlcul de l'estratificació de la columna d'aigua, ha permès agrupar les estacions mostrejades segons les seves característiques hidrogràfiques.

A continuació s'ha fet una recopilació de les diferències entre les metodologies utilitzades per els anàlisis de les variables oceanogràfiques al llarg dels anys, trobant que la variació més important es la preservació de les mostres de nutrients mitjançant la congelació a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, a partir de 1999.

Com que l'efecte de la congelació en la concentració dels nutrients pot variar segons la qualitat de l'aigua (concentració inicial de nutrients, presència de material en suspensió) i segons la metodologia de mostreig (material dels recipients de mostra), i per poder estar segur que les dades preses d'una o altre forma poden utilitzar-se conjuntament per definir els rangs de concentració a la Mar Catalana, s'ha fet un experiment per determinar l'efecte de la congelació en la concentració de nutrients en la zona d'estudi. Segons els resultats de l'experiment, les concentracions de fosfat, nitrat i silicat no es veuen afectades per la congelació a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, mentre que les concentracions de nitrit i d'amoni sí que es podrien veure afectades, les primeres per una lleugera disminució i les segones per un augment. També es fa notar que en cas de congelar mostres és aconsellable analitzar rèpliques.

S'han comparat estadísticament les dades provinents de nutrients analitzats a bord i congelats, de les diverses campanyes oceanogràfiques. Aquesta comparació corrobora que podem fer servir conjuntament els dos tipus de dades (analitzades a bord i congelades) per establir un control de qualitat de dades i posteriorment definir els rangs de concentració de fosfat, nitrat i silicat a la Mar Catalana. En el cas del nitrit s'ha vist que la congelació només afectarà significativament les mostres de baixa concentració, i també s'ha decidit utilitzar les dades de mostres prèviament congelades i les analitzades a bord conjuntament. En canvi, no s'han inclòs les mostres d'amoni congelades provinents de campanyes oceanogràfiques, ja que introduirien massa dispersió en el conjunt de dades, tot i que encara no sabem quina part d'aquesta variació pot estar causada per característiques naturals i quina per l'efecte de la congelació durant les campanyes. L'ús de línies de base consistents en clorur sòdic poden haver causat una subestimació de les concentracions de nutrients si aquesta contaminació no s'ha corregit (campanyes dels anys 1999 – 2001, en les que també es van preservar els nutrients per congelació).

Malauradament les dades oceanogràfiques de la bibliografia sovint no venen acompanyades per valors analítics tan importants com el límit de detecció i la precisió. No és possible determinar el límit de detecció a

partir de les dades, però s'han fet varies aproximacions per conèixer la precisió dels anàlisis de nutrients i oxigen dissolt en cada campanya oceanogràfica. En aquest capítol, l'estima de la precisió també ha estat útil per explicar si la diferència entre la concentració del conjunt de dades analitzades "en fresc" (a bord) i congelades es deu a l'anàlisi o a l'efecte de la congelació.

Per últim, utilitzant les dades que pertanyen a la zona de mar obert (la profunditat del fons és més gran de 400 m) s'ha establert un CQ per a les variables oceanogràfiques químiques i biològiques a la Mar Catalana, que permetrà definir els rangs d'aquestes variables a la Mar Catalana, en funció de la profunditat i del grau d'estratificació de la columna d'aigua. S'han introduït més dades oceanogràfiques des de les bases de dades MEDATLAS i MATER per augmentar el nombre de dades i aconseguir que els tractaments estadístics del CQ siguin més robusts.

