

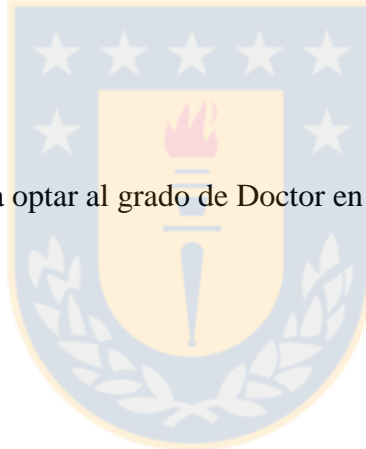


Universidad de Concepción

Dirección de Postgrado

Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas -Programa de Doctorado en Oceanografía

**Factores y mecanismos que modulan la estructura comunitaria del mesozooplankton
marino: Efecto de la estratificación vertical de la columna de agua**



Tesis para optar al grado de Doctor en Oceanografía

DIANA JOHANNA MEDELLIN MORA

CONCEPCIÓN-CHILE

2016

Profesor Guía: Rubén E. Escribano Veloso

Dpto. de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas

Universidad de Concepción

Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado

La Tesis de “*Doctorado en Oceanografía*” titulada “*Factores y mecanismos que modulan la estructura comunitaria del mesozooplankton marino: Efecto de la estratificación vertical de la columna de agua*”, de la Srta. *DIANA JOHANNA MEDELLIN MORA* y realizada bajo la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, ha sido aprobada por la siguiente Comisión de Evaluación:

Dr. Rubén Escribano V.
Profesor Guía
Universidad de Concepción - Chile

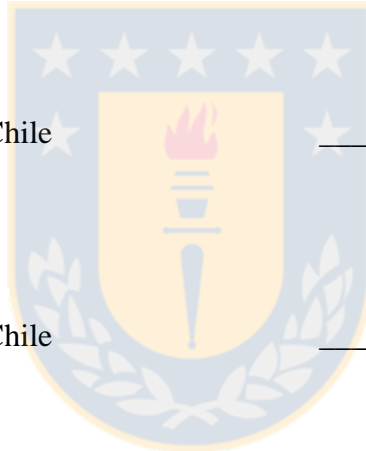
Dr. Leonardo Castro
Miembro Comité de Tesis
Universidad de Concepción - Chile

Dr. Wolfgang Schneider
Miembro Comité de Tesis
Universidad de Concepción - Chile

Dr. Néstor H. Campos
Miembro Comité de Tesis
Universidad Nacional de Colombia -
Colombia

Dra. María Delia Viñas
Evaluadora Externa
Universidad Nacional de Mar del Plata
Argentina

Dra. Carmen Morales Van de Wingard
Directora (s)
Programas de Postgrados en Oceanografía
Universidad de Concepción, Chile





A Violeta Neira Medellín

Índice de Contenidos

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	VI
CURRÍCULUM VITAE	VII
RESUMEN	X
ABSTRACT	XIII
1. INTRODUCCION	1
1.1. LA ESTRUCTURA COMUNITARIA DEL ZOOPLANCTON E IMPORTANCIA DE SU ESPECTRO DE TAMAÑO.	1
1.2. VARIABILIDAD CLIMÁTICA Y ESTRUCTURA DEL PLANCTON: IMPORTANCIA DE LA ESTRATIFICACIÓN.	2
1.3. MECANISMOS QUE MODIFICAN LA ESTRUCTURA DEL ZOOPLANCTON A TRAVÉS DE LA ESTRATIFICACIÓN.	5
1.4. HIPÓTESIS GENERAL	7
1.5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
2. MATERIALES Y METODOS	9
2.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS ZONAS DE ESTUDIO.	9
2.1.1. <i>Región subtropical: Centro -Sur de Chile</i>	9
2.1.2. <i>Región tropical: aguas oceánicas Caribe colombiano</i>	10
2.2. DISEÑO DE MUESTREO Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS.	12
2.2.1. <i>Métodos de muestreo oceanográfico</i>	13
2.2.2. <i>Métodos de muestreo de zooplancton</i>	14
2.3. ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE MUESTRAS DE ZOOPLANCTON - ZOOIMAGE	15
2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	16
3. RESULTADOS	18
3.1. CAPÍTULO 1: RESPUESTA COMUNITARIA DEL ZOOPLANCTON A LOS CAMBIOS OCEANOGRÁFICOS (2002-2012) EN EL SISTEMA DE SURGENCIA DEL CENTRO-SUR DE CHILE	18

3.2. CAPÍTULO 2: VARIABILIDAD DE LA ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DEL ZOOPLANCTON EN LAS AGUAS OCEÁNICAS DEL CARIBE COLOMBIANO FORZADA POR LOS REGÍMENES CLIMÁTICOS ESTACIONALES	33
3.3. CAPÍTULO 3: PRODUCCIÓN DE ZOOPLANCTON EN LA ZONA DE SURGENCIA COSTERA DEL CENTRO/SUR DE CHILE (2002-2012).	69
4. DISCUSIÓN	103
5. CONCLUSIONES	111
6. REFERENCIAS	113
7. ANEXOS	122



Índice de Figuras

Figura 1. Áreas de estudio. Zona 1: variabilidad espacial (arriba) y Zona 2: variabilidad temporal (abajo).....12

3.2. Capítulo 2: Variabilidad de la estructura de la comunidad del zooplancton en las aguas oceánicas del Caribe colombiano forzada por los regímenes climáticos estacionales

Índice de Figuras

Figure 1. The Colombian Caribbean illustrating the study area with the location of the Stations during two periods.39

Figure 2. Boxplot of mean rainfall data of nearshore stations in the Colombian Caribbean during 2008 and 2009. The black square shows sampling periods of oceanographic cruises in ocean waters of the Colombian Caribbean. Bottom panels show stations grouped by zones (northeast, central and southwest). Data provided by IDEAM.43

Figure 3. Satellite imagery during transition period (Mayo-Jun of 2008) (Left) and rainy period (Nov-Dec of 2009) (Right). a-b. Sea Level Anomaly (cm) and Geostrophic current; c-d. Mean Sea Surface Temperature °C; e-f. Mean Chlorophyll-a (mg m^{-3}).45

Figure 4. Vertical section during the transition period (May-June of 2008) (Left) and rainy period (Nov-Dec of 2009) (Right). a-b. Temperature (°C); c-d. Salinity; e-f. Oxygen (ppm); g-h. Brunt-Vaisala Frequency; i-j. Chlorophyll-a (mg m^{-3}).....46

Figure 5. Spatial distribution of biological variables during May-June of 2008. a). Log-normalized abundance of zooplankton, b). Slope of normalized size spectra of the zooplankton community, c). Shannon-Wiener diversity index as standardized by size, d) Shannon-Wiener index for size classes.47

Figure 6. Log-normalized size spectrum of zooplankton in the Colombian Caribbean sea waters during two climate periods. Upper panel: Transition period (May-Jun 2008), lower panel: Rainy period (November-December 2009).48

Figure 7. Spatial distribution of biological variables during November-December of 2009. a). Log-normalized abundance of zooplankton, b). Slope of normalized size spectra of the

zooplankton community, c). Shannon-Wiener diversity index as standardized by size, d) Shannon-Wiener index for size classes.49

Figure 8. Principal component analysis to assess oceanographic variation in the Colombian Caribbean oceanic waters for spatial distribution select three zones: Northeast, Central and southwest and two climatic periods: Transition (May-Jun 2008) and Rainy (November-December 2009). BVF= Brunt-Väisälä frequency, PEA=Potential Energy Anomaly, MLD= Mixed Layer Depth, T_ML= Mean temperature of Mixed Layer, T_10m= Temperature of 10 meters, O₂_ML= Mean Oxygen concentration of Mixed Layer, Density=Sigma T (0-50 m), OMZ=Depth of the oxygen minimum zone, Chla= Chlorophyll a, SLA=Sea Level Anomaly.51

Figure 9. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) plot on the first two axes based on the Bray-Curtis similarities of the log (x+1) of transformed zooplankton abundance data for zone and seasonality (stress = 0.03).52

Figure 10. Changes of the more abundant copepod species during May-Jun 2008 in the Colombian Caribbean oceanic waters.55

Índice de Tablas

Table 1. ANOVA to test the effects of variable conditions at Colombian Caribbean on abundance and the slope of size spectra y diversity of the zooplankton community.50

Table 2. Best combinations of oceanographic variables most influential in the zooplankton community of the Colombian Caribbean oceanic waters, based on the BIOENV. Spearman correlation indicates the degree of co-variation between the biotic component and abiotic variables.53

Table 3. Stepwise regression models for biological variables vs. environmental variables for the two periods.54

Table 4. The Confusion matrix for the 17 categories of the training set using the random forest algorithm. Rows are taxonomic classification and columns are automatic recognition of the same classifications. The diagonal in gray color represents correct identifications and numbers outside the diagonal represent errors in classification.68

3.3. Capítulo 3: Producción de zooplancton en la zona de surgencia costera del centro/sur de Chile (2002-2012).

Índice de Figuras

Figure- 1. The coastal upwelling zone off central/southern Chile, illustrating the study area with the location of Station 18, used for the 2002-2012 time series.	94
Figure- 2. Time series of residuals of oceanographic variables at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Temperature 10 m, b) Salinity of ML, c) Depth of the Oxygen Minimum Zone, d) Integrate Chlorophyll a (Chl-a), e) Zonal Ekman Transport ($m^2 s^{-1}$). The red lines show the linear trends.	95
Figure- 3. Time series biomass of zooplankton by taxa at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Copepods, b) Other crustacean and c) other groups.	96
Figure- 4. Time series of zooplankton biomass measured directly and estimated by ZooImage at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile.	97
Figure- 5. Annual cycle of taxa-structured biomass of zooplankton estimated by ZooImage at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Copepods, b) Other crustacean and c) other groups.	98
Figure- 6. Time series of Secondary Zooplankton Production rate at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. The red lines show the linear trends.	99
Figure- 7. Annual cycle of integrated production by taxa at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Copepods, b) Other crustacean and c) other groups.	100
Figure- 8. Time series of contribution (%) to secondary production of zooplankton by different taxa at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Copepods, b) Other crustacean and c) other groups.	101
Figure- 9. a) Integrated annual production of zooplankton, mean annual zooplankton biomass and the annual P/B ratio, and b) Contribution (%) to mean annual zooplankton biomass by taxa at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile.....	102

Índice de Tablas

Table- 1. Summary of the equations used to calculate growth rates of different zooplankton taxa at Station 18 off central/southern Chile.	90
Table- 2. Basic statistics of the oceanographic variables measured in for the time series (2002-2012) at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Mean \pm standard deviation (Sd), range of values (min–max) and Variation coefficient (CV) , n=125.....	91
Table- 3. Basic statistics of the abundance and biomass of zooplankton obtained in the time series (2002-2012) at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Mean \pm standard deviation (Sd), n=125.	92
Table- 4. Statistics of the production and growth rates of zooplankton obtained in the time series (2002-2012) at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Mean \pm standard deviation (Sd), n=125.	93



Agradecimientos

Quiero agradecer a mi familia chilena y colombiana por su apoyo en todo momento, especialmente a Sergio Neira y su familia a Violetita y a mi madre, mi padre y mis hermanos. Un reconocido agradecimiento a mi profesor Guía Rubén Escribano quien ha sido un excelente profesor, investigador, amigo, padre, es la persona más eficiente que conozco ¡Muchas gracias por la ayuda y el apoyo incondicional en todos los aspectos de este proceso!. A mis compañeros de postgrado con quienes iniciamos este largo trayecto, de ellos siempre he recibido gran ayuda y consejo, especialmente a Andrea Corredor, María Lorena González, Pamela Pino, Matías Pizarro y Paula Ruz. Así como otros amigos que también se cruzaron en mi camino y me enseñaron muchas cosas Eliana Velasco, Macarena Vergara, Alexander Galán, Leising Frederic, Nicolas Bralic, Pamela Prieto, Esteban Hernández, Claudia Muñoz, entre otros. A mis amigos colombianos que son como mi familia Oscar Martínez, Camila Posada, Doña Mery, Carlos Trujillo y Angélica Ramírez que siempre están ahí y desde lejos aportan con su buena energía y consejo. A mis compañeros de laboratorio y el reciente grupo ECOP. A Don José Marileo por su ayuda y compañía durante un año en el laboratorio de Dichato. A Fabiola Gaete y Gisela Letelier por toda su colaboración y buena voluntad en todo momento. A mis profesores del programa de postgrado por todas sus enseñanzas y formación académica de calidad. También agradezco a los coautores de los trabajos por sus aportes, sugerencias y correcciones. Al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR – Capitán Francisco Arias, David Alonso, Grupo del Museo de Historia Natural Marina de Colombia, especialmente a Paola Flores, Erika Montoya, Andrea Polanco y Fernando Dorado.

El desarrollo de esta tesis no hubiese sido posible sin el apoyo económico la beca de la Dirección de Postgrado UdeC (2011), beca del Proyecto FONDECYT 11204782012 (2012), Beca Doctorado. REDOC.CTA- UdeC (2013). Finalmente, agradezco el financiamiento otorgado por medio de la Beca de Doctorado en Chile para Estudiantes Extranjeros. CONICYT 2014-02/2016. Beca de Pasantía Doctoral. REDOC.CTA- UdeC (2015). Beca de la Dirección de Postgrado UdeC (03-06/2016) y Proyecto IMO (07-10/2016).

Curriculum Vitae
DIANA JOHANNA MEDELLIN MORA

Bióloga Marina B.Sc

Doctorado en Oceanografía (c)

FORMACIÓN ACADÉMICA/TITULACIÓN

Universidad de Concepción. Doctorado en Oceanografía (Candidata)

31/03/2011 - Actual

Universidad Jorge Tadeo Lozano. Biología Marina

26/05/2005

BECAS

2011. Beca de la Dirección de Postgrado UdeC

2012. Beca Proyecto FONDECYT 1120478

2013. Beca Doctorado. REDOC.CTA- UdeC

2014-02/2016. Beca de Doctorado en Chile para Estudiantes Extranjeros. CONICYT

2015. Beca de Pasantía Doctoral. REDOC.CTA- UdeC

03-06/2016. Beca de la Dirección de Postgrado UdeC

PUBLICACIONES

- Medellín-Mora, J., R. Escribano y W. Schneider. 2016. Community response of zooplankton to oceanographic changes (2002–2012) in the central/southern upwelling system of Chile. *Progress in Oceanography* 142:17-29.
- Medellín–Mora, J., A. Polanco F. y G.R. Navas S. 2013. Inventario de larvas de peces registradas para el Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras- INVEMAR*. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras- INVEMAR* 42(2): 233-253.
- Medellín-Mora, J. & R. Escribano. 2013. Análisis automático de zooplancton utilizando imágenes digitalizadas: Estado del conocimiento y perspectivas en Latinoamérica. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41(1): 29-41.

- Gracia, A., J. Medellín-Mora, D. Gil-Agudelo y V-Puentes (Eds.). 2011. Guía de las especies introducidas marino-costeras de Colombia. Serie de publicaciones especiales Invemar No. 15. 128 p.
- Medellín-Mora, J. y G. Navas, 2010. Listado taxonómico de copépodos (Arthropoda: Crustacea) del Mar Caribe Colombiano. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras- INVEMAR 39(2): 249-291.
- Medellín-Mora, J. y O. Martínez- Ramírez. 2010. Distribución del mesozooplancton en aguas oceánicas del mar Caribe colombiano durante mayo-junio de 2008. 121-144 p. En: INVEMAR (eds.). 2010. Biodiversidad del Margen Continental del Caribe colombiano. Serie de Publicaciones Especiales, Invemar No. 20 p. 458
- Lozano-Duque, Y., J. Medellín-Mora y G. R. Navas S. 2010. Contexto climatológico y oceanográfico del mar Caribe colombiano. 53- 81 p. En: INVEMAR (eds.). 2010. Biodiversidad del Margen Continental del Caribe colombiano. Serie de Publicaciones Especiales, Invemar No. 20 p. 458
- R. López-Peralta y J. Medellín-Mora. 2010. Distribución de Eufausiáceos (Crustacea: Malacostraca) en el Océano Pacífico colombiano durante el periodo 02 al 27 de septiembre de 2005. Revista Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Militar Nueva Granada 6(2):240-255. ISSN 1900-4699.
- Medellín-Mora, J., N.H. Campos, A. Franco-Herrera y J.C. Jaimes. 2009. Taxonomía de larvas zoea de crustáceos decápodos en el área nororiental del Mar Caribe colombiano. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras- INVEMAR 38(2): 55-73.

EXPERIENCIA DOCENTE

- Ayudantía de docencia: Asignatura de Sistemas Pelágicos. Carrera de Biología Marina, Universidad de Concepción, Chile, años 2012-2015.
- Ayudantía de docencia: Asignatura de Ecología de Sistemas Acuáticos. Carrera de Ingeniería en Biotecnología Marina y Acuicultura, Universidad de Concepción, Chile, 08 - 09/2012.
- Director Trabajo de Grado: Composición, abundancia y distribución de larvas de crustáceos decápodos en estado zoea entre los 0 y 200 metros de profundidad en la provincia oceánica del mar Caribe colombiano. 2010 Universidad Jorge Tadeo Lozano Persona Orientada: Andrea del Pilar Hormaza. Codirector: Dr. rer. nat. Néstor H. Campos.

- Director Trabajo de Grado: Composición, abundancia y distribución de la comunidad de zooplancton marino en la bahía de Taganga – Caribe colombiano, entre agosto de 2009 a abril de 2010. 2011. Universidad del Magdalena. Persona Orientada: Shilenne Ortiz Rolón. Asesor: M Sc. Carlos Alberto Trujillo.

- Codirector Trabajo de Grado: Composición y distribución de las larvas de peces en las aguas oceánicas del Mar Caribe colombiano y su relación con algunas variables oceanográfica. 2013. Universidad Jorge Tadeo Lozano Persona Orientada: Leonardo Pabón Méndez. Director: M Sc. Andrea Polanco.

EXPERIENCIA PROFESIONAL

12/2013 - 02/2015. Ecoreef Ltda- Bogotá.

12/2007 – 02/2011. Programa de Biodiversidad y Ecosistemas Marinos - BEM, Museo de Historia Natural Marina de Colombia - MHNMC, INVEMAR - Santa Marta.

4/2005 – 12/2007. 4/2005 – 12/2007. Programa de Biología aplicada. Universidad Militar “Nueva Granada”- Cajicá.

06/ 2006 – 01/ 2007. MCS Consultoría Ambiental - Bogotá.

CRUCEROS OCEANOGRÁFICOS

Crucero de Investigación: B/I ANCON mayo – junio 2008. Caribe colombiano (Bloque Guajira, Magdalena y Fuerte). Proyecto “Especies, ensamblajes y paisajes de los bloques marinos sujetos a exploración de hidrocarburos” Fase I. (ANH – INVEMAR). Responsable componente oceanográfico y zooplancton.

Crucero de Investigación: B/I ANCON octubre-noviembre de 2009. Caribe colombiano (Bloque Guajira). Proyecto “Especies, ensamblajes y paisajes de los bloques marinos sujetos a exploración de hidrocarburos” Fase II. (ANH – INVEMAR) Responsable componente oceanográfico y plancton.

Concepción- Chile Septiembre de 2016

Resumen

Factores y mecanismos que modulan la estructura comunitaria del mesozooplancton marino: Efecto de la estratificación vertical de la columna de agua

El zooplancton es un indicador del impacto de la variabilidad ambiental sobre la estructura y funcionamiento de los ecosistemas marinos. La estratificación de la columna de agua es una de las variables afectadas por el cambio climático y también es un factor relevante para la producción biológica y la dinámica del zooplancton. El calentamiento global en gran parte del océano inhibe la mezcla vertical de la columna de agua y en ciertas regiones puede producir aumento de los vientos, generando un enfriamiento de las aguas por aumento de la surgencia. El objetivo general del estudio se enfocó en la comprensión del forzamiento de procesos físicos, derivados de la variabilidad climática/oceanográfica, sobre la estructura de comunidades del mesozooplancton. Los efectos de los procesos que modifican la estratificación vertical sobre los organismos pelágicos no han sido estudiados. Se propone la hipótesis general que los cambios en la estratificación vertical de la columna de agua alteran las proporciones de clases de tamaño del espectro comunitario y la composición taxonómica del zooplancton.

Los cambios en la estructura del mesozooplancton se determinaron mediante análisis automático de imágenes digitalizadas de zooplancton (Zooimage) y la identificación de las especies más abundantes de copépodos. Se estudiaron dos sistemas contrastantes: la surgencia costera subtropical de Chile centro sur (Océano Pacífico Oriental) y un ecosistema tropical al norte de Colombia (Mar Caribe). En el primero se analizó la variabilidad estacional e interanual, usando los datos de la Serie de Tiempo 2002-2012 de la Estación 18 frente a Concepción (36°30'S). En el segundo se estudió la variabilidad espacial sobre un transecto de ~ 800 km durante dos periodos climáticos (transición y lluviosa). En ambos sistemas se analizó la abundancia, pendiente del espectro de tamaño y diversidad de taxa y tamaños. Se examinó la asociación de todos los descriptores comunitarios con la estratificación y otras variables oceanográficas implicadas. En el sistema de surgencia del centro/sur de Chile la columna de agua fue menos estratificada, más salina y fría, la capa de mezcla fue más

profunda y la zona mínima de oxígeno más somera durante el segundo periodo de la serie de tiempo (2008-2012).

La estructura de tamaños y la composición del zooplancton se asociaron significativamente con los cambios oceanográficos. La diversidad de taxa y tamaños de la comunidad de zooplancton aumentaron en el periodo más reciente. Durante el segundo periodo, los copépodos de menor tamaño (<1 mm) disminuyeron en abundancia y fueron reemplazados por copépodos de tamaño mayor (>1.5 mm) y medio (1-1.5 mm). También aumentó la abundancia de eufáusidos, larvas de decápodos, apendicularios y ostrácodos. Esto indica que la estructura de la comunidad de zooplancton estuvo fuertemente influenciada por la variabilidad del proceso de surgencia. Entonces, el cambio de la surgencia inducido por el clima puede alterar la comunidad del zooplancton en esta región con potenciales consecuencias para la trama trófica.

El mar Caribe colombiano mostró alta heterogeneidad espacial. En la zona suroccidental se presentó mayor estratificación, mientras que la zona nororiental mostró mayor mezcla. Esto se relacionó con el forzamiento de procesos oceanográficos en cada sector (p.e. vientos, descargas continentales, orientación de la línea de costa y características de la plataforma continental). La estructura del zooplancton fue similar entre las zonas estudiadas (nororiental, centro y suroccidental) y es típica de las masas de agua encontradas entre la superficie y los 200 m, como resultado del transporte efectuado por las principales corrientes y la advección por la actividad de mesoescala. A nivel temporal, los cambios de la estructura de taxa y tamaños del zooplancton se relacionaron con la actividad de mesoescala y el proceso de surgencia moderado. La estratificación, el oxígeno y la clorofila-a presentaron relación con la abundancia, pendientes del espectro de tamaño e índices de diversidad.

Los resultados de este estudio permiten aceptar la hipótesis general planteada, siendo la estratificación una variable importante en el entendimiento de la comunidad zooplanctónica, actuando en conjunto con otras forzantes oceanográficas. Se plantea que estos organismos y la estratificación de la columna de agua pueden ser utilizados como indicadores de cambios

globales, como la variabilidad climática y el cambio climático global sobre el ecosistema pelágico.



Abstract

Zooplankton is considered to be a suitable bioindicator of the impact of environmental variability on the structure and functioning of marine ecosystems. The stratification of the water column is a variable affected by global climate change and is a relevant factor for biological production and zooplankton dynamics. Global warming inhibits vertical mixing of the water column and strengthens winds, inducing a cooling of water by increased upwelling. The general objective of the study focused on understanding the action of physical processes, derivatives climate/oceanographic variability on the structure of communities mesozooplankton. The effects of the processes that modify vertical stratification on pelagic organisms have not been studied. Changes in the vertical stratification of the water column alter the proportions of size classes spectrum and taxonomic composition the zooplankton, as a general hypothesis for this study, is proposed.

Changes in the structure of mesozooplankton were determined by automated analysis of digitized images of zooplankton (Zooimage), and the identification of the most abundant species of copepods. Two contrasting systems were studied: in the first case, seasonal and interannual variability were analyzed by using of data of the 2002-2012 time series at Station 18 in front of Concepción - Chile (36 ° 30'S). In the second case, spatial variability was studied along transect of ~ 800 km in two climatic periods (transition and rainy). In both systems, abundance, slope of the size spectrum and diversity of taxa and sizes were estimated. The association between community descriptors and stratification and other oceanographic variables were examined.

In the upwelling system of central-southern Chile the water column became less stratified, more saline, and colder, the mixed layer deepened, and the oxygen minimum zone became shallower during the second half of the time series (2008-2012). Both size structure and composition of the zooplankton were significantly associated with the oceanographic changes. Taxonomic and size diversity of the zooplankton community increased in the most recent period. For the second period, small sized copepods (<1 mm) decreased in abundance and were replaced by large (>1.5 mm) and medium size (1-1.5 mm) copepods. Euphausiids, decapod larvae, appendicularian and ostracods also increased in abundance during the second

period. These findings indicated that the zooplankton community structure was strongly influenced by the variability of the upwelling process. Thus, climate-induced forcing of upwelling trends can alter the zooplankton community in this highly productive region with potential consequences for the ecosystem food web.

The Colombian Caribbean Sea exhibits strong spatial heterogeneity. The southwestern area exhibited stronger stratification, whereas the northeastern area presented higher mixing. This is related to the forcing of oceanographic processes and characteristics of each sector (e.g. winds, continental runoff, orientation of coastline, and features of the continental shelf). The structure of zooplankton was similar between the studied areas (northeastern, central and southwestern) and is typical of the water masses found between the surface and 200 m depth, as a result of transport by main currents and advection by mesoscale activity. In the time scale, changes in the structure of zooplankton taxa and sizes were related to mesoscale activity, the upwelling process and the influence of El Niño / La Niña. Stratification, oxygen and chlorophyll-a were related to the abundance, size slope spectrum and diversity indices.

The results of this study allow us to accept the general hypothesis, stratification being an important variable in the understanding of the zooplankton community structure, acting together with other oceanographic forcing. It is argued that these organism and the stratification of the water column can be used as indicators of global changes, such as climate variability and global climate change on the pelagic ecosystem.

1. INTRODUCCION

1.1. La estructura comunitaria del zooplancton e importancia de su espectro de tamaño.

El estudio de la estructura y dinámica de las comunidades planctónicas requiere de observaciones sobre su composición, abundancia, diversidad y ciclos de vida, así como el análisis de procesos ecológicos y metabólicos y su relación con factores fisicoquímicos en diferentes escalas espaciales y temporales (Alder & Morales, 2009). El metazooplancton marino está compuesto por organismos de varios taxa de invertebrados, e incluso vertebrados, con diferentes tamaños (20 μm a 200 cm), composición bioquímica (gelatinoso o quitinoso), ciclos de vida y hábitos alimenticios (filtradores o depredadores de partículas), herbívoros, detritívoros, omnívoros y carnívoros (Lenz, 2000). Esta alta diversidad hace que el sistema planctónico en el ambiente natural sea complejo de analizar y una de las aproximaciones de la oceanografía biológica moderna para estudiar la dinámica y estructura planctónica ha sido utilizando el espectro de tamaño como un descriptor comunitario.

El tamaño de los organismos es una propiedad ecológica y evolutiva fundamental (LaBarbera, 1989; Rodríguez, 2005), que se asocia con procesos básicos como el metabolismo, la locomoción y las tasas de reproducción y evolución (Preisser & Orrock, 2012). La importancia del tamaño de los organismos se ha formulado a través de la llamada “ley alométrica” (sensus Peters, 1983). Esta “ley” propone el estudio de los sistemas naturales complejos por medio de relaciones simples, tal como $Y = \beta x^\alpha$, donde Y es alguna respuesta o variable dependiente, x representa la variable independiente o predictiva, β es una constante de normalización y α es el exponente de escalamiento. Dependiendo del valor del exponente esta relación puede ser llamada alométrica ($\alpha \neq 1$) o isométrica ($\alpha = 1$) (Marquet et al., 2005). Esta relación también es llamada ley de potencias y se puede decir que es un carácter común en el espectro de tamaños del plancton (Camacho & Solé, 2001; Solé et al., 2001). Este enfoque de la estructura comunitaria por tamaño se sugiere como un método más fácil que el taxonómico para analizar la estructura y función del ecosistema pelágico (Quiñones et al., 2003).

En el ecosistema pelágico se han propuesto dos modelos teóricos que describen la estructura de tamaños de los organismos, el primero se basa en el nivel trófico y establece que la biomasa es constante en clases de tamaño logaritmizadas (usualmente en base 2) con el fin de organizar cada clase de igual magnitud y balancear el peso de organismos muy grandes o

muy pequeños (Kerr, 1974; Sheldon et al., 1977) y, el segundo modelo tiene en cuenta el tamaño corporal y evidencia desviaciones alométricas de esta constancia, con una ligera disminución de la biomasa, conforme aumenta el tamaño y una pendiente cercana a - 0.22 (-1,22 normalizado) (Platt & Denman, 1977; 1978). La pendiente y el intercepto han sido propuestos como índices o descriptores de la estructura del ecosistema, y algunos autores han sugerido su uso para evaluar el impacto de la contaminación sobre un ecosistema, modificación del hábitat o explotación (Robson et al., 2005; Shin et al., 2005; Gómez - Canchong, 2011).

1.2. Variabilidad climática y estructura del plancton: importancia de la estratificación.

Propiedades relacionadas con el tamaño de los organismos pueden ser afectadas por la variabilidad ambiental forzada por el cambio climático, alterando la estructura y dinámica de las tramas tróficas (Preisser & Orrock, 2012). Recientemente, se ha estudiado el rol del zooplancton como indicador de cambios climáticos de gran escala, ya que estos organismos son sensibles a variables como la temperatura, la calidad y cantidad del alimento, la estratificación y la oxigenación (Beagrand et al., 2010; Richardson, 2007). Las respuestas del zooplancton a estas variables pueden reflejarse en cambios en la estructura de tamaños.

Entre las variables sujetas a alteraciones producto del cambio climático está la estratificación. Este proceso físico describe como las masas de agua se disponen en capas o estratos que se diferencian principalmente por su densidad (Karp-Boss et al., 2009). Una columna de agua fuertemente estratificada es definida como estable, y la condición opuesta de débil estratificación como inestable. Los factores que promueven este proceso son la radiación solar y el aporte de agua dulce (precipitación o descargas de ríos) y aquellos que lo revierten son el viento (difusión turbulenta), convección vertical, ondas internas, corrientes de marea, surgencia, hundimiento y los procesos de mesoescala (“eddies”) (Mann & Lazier, 1991; Pond & Pickard, 1983). La radiación solar controla en gran parte la estratificación superficial, no obstante en una escala espacial, a nivel superficial en el océano abierto, las variaciones en densidad están controladas principalmente por la temperatura, y en las zonas costeras por el aporte de agua dulce de los ríos, la poca profundidad, las corrientes de marea y la línea de

costa, que crea una barrera para la advección generando convergencia o divergencia de aguas (Mann & Lazier, 1991).

En regiones tropicales la estratificación es relativamente constante. Durante el año se presenta una termoclina marcada, excepto en algunas zonas con patrones de vientos fuertes ($>10 \text{ m s}^{-1}$) que producen afloramiento o hundimiento mezclando la columna de agua. Mientras que en regiones subtropicales se forman termoclinas estacionales que son más pronunciadas en la estación de verano (Lalli & Parsons, 1997). Durante el día y la noche también se pueden presentar cambios en la temperatura y capa de mezcla (Mann & Lazier, 1991).

La estratificación puede ser un factor crítico para la producción biológica. Concentraciones elevadas de fitoplancton en la capa superficial hacen que aumente la producción biológica, pero un evento de estratificación prolongada puede producir un agotamiento de los nutrientes y la fuerte piconclina, inhibe el suministro de los mismos, con la consecuente disminución de la producción (Mann & Lazier, 1991) y alteración de las tramas tróficas marinas (Iriarte et al., 2012).

Actualmente se ha encontrado que el aumento del calentamiento global inhibe fuertemente la mezcla y reduce la entrada de nutrientes, esto disminuye la producción biológica (Behrenfeld et al., 2006; Doney, 2006). De igual forma, en algunas regiones como la costa centro-sur de Chile ($37\text{-}41^\circ\text{S}$), y por medio de un modelo climático regional se proyecta una mayor frecuencia y duración de las condiciones actuales en los vientos costeros de las regiones subtropicales. Esto sugiere que se producirá un aumento en el transporte y bombeo de Ekman, durante el periodo primavera - verano, así como en la actividad de giros de mesoescala (Garreaud & Falvey, 2008).

Entre los grupos del plancton y la estratificación de la columna de agua se han encontrado algunas relaciones. Estudios de oceanografía física han registrado que la formación, mantenimiento y disipación de agregaciones de fitoplancton, zooplancton, nieve marina, virus y bacterias conocidas como capa fina de plancton ("*thin layer*"), están relacionados con los cambios físicos en la columna de agua, principalmente en zonas con fuertes gradientes verticales de algunas propiedades físicas como la densidad del agua o velocidad de la corriente (Sevadjian et al., 2010). Generalmente el estrato asociado al zooplancton se relaciona con el aumento en la estabilidad de la columna de agua (alta

frecuencia de boyantes o Brunt - Väisälä y un número de Richardson >0.25), y se localiza en zonas de bajo movimiento, entre dos capas de agua de movimiento opuesto y en regiones con baja velocidad de la corriente (McManus et al., 2005).

Bouman et al. (2011) registraron una correlación positiva de la comunidad de picoplancton en la capa superficial con la temperatura y la estratificación. En varios estudios ha sido demostrado que la temperatura y la estabilidad de la columna de agua explican los patrones espaciales y temporales en la estructura de las comunidades de fitoplancton (Margalef, 1979; Cushing, 1989; Li, 2002; Bouman et al., 2003). No obstante, Anabalón et al. (2007) y Böttjer & Morales (2007) no encontraron correlación entre la estratificación y la abundancia y biomasa de nanoplancton. Al parecer a los flagelados no les afecta la estratificación y la idea general de que la estabilidad influencia cambios en los grupos funcionales no es soportada por sus datos. Así mismo, Iriarte et al. (2012) muestran que los cambios en la composición de biomasa y productividad primaria de fitoplancton costero son detectados principalmente en la estación afectada por las descargas del río Itata en la zona frente a Concepción (36°S).

Por su parte, Romagnan (2007) estudió la relación entre la distribución vertical del zooplancton y los cambios en la estructura hidrográfica (estratificación) en distintas localidades en el ecosistema de la Corriente de California. En el estrato 0 - 50 m no encontró relación entre el tamaño del zooplancton con el gradiente de estratificación y el fitoplancton disponible ($>3 \mu\text{m}$). Tampoco observó diferencias entre hábitats verticales de zooplancton, considero ambientes más estratificados (aguas claras) y mezclados y el factor día-noche como condiciones contrastantes. Teniendo en cuenta el tamaño de los copépodos y quetognatos y los patrones de migración vertical diurna (MVD), determinó que los quetognatos no mostraron un comportamiento migratorio, en copépodos pequeños y grandes se observó un patrón de migración de reversa en aguas oceánicas oligotróficas. Tamaños intermedios muestran pronunciada MVD, estos organismos probablemente se alimentan en superficie y migran para escapar de la depredación visual, ya que tienen el tamaño suficiente para ser depredados por depredadores visuales. Los grandes no tienen MVD o es baja, ya que son organismos que se alimentan en aguas profundas en aguas mesopelágicas, sus grandes cuerpos podrían ser más susceptibles a depredadores visuales selectivos en aguas superficiales de día y de noche. Con los pocos datos y corto periodo de muestreo las hipótesis Romagnant (2007) no mostraron

relación directa aparente entre el tamaño del cuerpo del zooplancton y el gradiente de estratificación.

1.3. Mecanismos que modifican la estructura del zooplancton a través de la estratificación.

Entre los mecanismos por los cuales la estratificación puede modificar la estructura comunitaria del zooplancton se encuentran:

1) *Cambios en el tipo de alimento*: en condiciones de fuerte estratificación y poca mezcla en la capa superficial se agotan los nutrientes para la producción primaria, entonces dominan organismos fitoplanctónicos de menor tamaño que poseen mayor relación superficie volumen para la asimilación de los nutrientes. El sistema estaría sustentado por la producción regenerada con una trama microbiana eficiente, se presentarían cadenas tróficas largas que incluyen fitoplancton de tamaño pequeño (diatomeas, dinoflagelados, cocolitoforidos), virus, bacterias, flagelados, ciliados los cuales son depredados por microzooplancton y mesozooplancton (Vargas et al., 2007). En esta condición, los organismos del mesozooplancton serán dominados por omnívoros y en algunos casos podrían dominar organismos gelatinosos como medusas, larváceos y salpas, ya que pueden prosperar en ambientes oligotróficos, haciendo que cambie el espectro de tamaño.

2) *Efectos sobre la fisiología y tolerancia a fuertes gradientes de temperatura y oxígeno disuelto*: los organismos están adaptados para responder a la variabilidad de alta frecuencia en el océano, no obstante los cambios de la temperatura que son derivados del efecto de la estratificación podrían afectar las tasas fisiológicas de los organismos del zooplancton favoreciendo algunas poblaciones y así alterando la estructura de la comunidad. Si se aceleran las tasas de desarrollo, dominarían los organismos de menor tamaño que están más adaptados a las condiciones ambientales. Adicionalmente, como consecuencia del aumento en la estratificación que se produce por el incremento en la temperatura se darán cambios en las concentraciones de oxígeno, puesto que se reduce la mezcla con las aguas profundas y la solubilidad, los organismos se verán restringidos en espacio y condiciones ambientales y se concentraran en las zonas con oxígeno, algunas poblaciones podrán adaptarse a estas condiciones, modificando también la comunidad.

3) *Efectos sobre los patrones de migración vertical*: dependiendo de la presencia de gradientes de salinidad, temperatura u oxígeno, algunas especies pueden variar la extensión vertical de

sus migraciones. Por ejemplo, si existe un gradiente muy fuerte de salinidad por efecto de lluvias o ríos, algunas especies menos tolerantes a la baja salinidad no realizarán su ascenso vertical a la capa de mezcla. Si existe un gradiente muy fuerte en oxígeno, algunas especies no migrarán hacia aguas más profundas. Todas estas alteraciones en patrones de migración vertical que dependen de la estratificación pueden modificar la estructura comunitaria, ya sea de las especies o del espectro de tamaño. En condiciones de estratificación débil con una capa de mezcla más profunda los organismos pueden realizar mayores migraciones en la columna de agua. En condiciones de estratificación fuerte la presencia de gradientes reduce la migración, aunque algunas especies pueden atravesar estos gradientes.

4) *Efectos en las interacciones depredador-presa por las variaciones en la dispersión vertical*: la estratificación tiene un efecto en las interacciones depredador- presa puesto que puede aumentar o disminuir las tasas de encuentro. Según Viser (2007) la velocidad de natación óptima de un organismo que busca alimento disminuye con el aumento en la concentración de presas e incrementa el riesgo de ser emboscado por los depredadores. En condiciones de alta estratificación las tasas de encuentro entre el mesozooplankton y el alimento (fitoplancton autótrofo y heterótrofo y microzooplankton) aumentaría ya que la capa de mezcla es más superficial y el alimento está más concentrado facilitando el encuentro de este. Lo contrario ocurriría cuando aumenta la turbulencia y la capa de mezcla se encuentra a mayor profundidad, aumentaría la dispersión del alimento haciendo que las tasas de encuentro disminuyan. Sin embargo, Rothschild & Osborn (1988) exponen que la turbulencia a escalas relevantes a las de interacción depredador-presa (centímetros a metros) aumentan la velocidad efectiva de natación y sus movimientos relativos, por lo tanto, aumenta el potencial de contacto entre las larvas y sus presas.

Los antecedentes previos sugieren que la estratificación incide en la estructura comunitaria. No obstante, se vislumbra la necesidad de contar con una mayor cobertura y resolución temporal (Ej. >tamaño de muestra) para aumentar la precisión y poder así detectar el efecto asociado entre estratificación y cambio de la comunidad. El presente proyecto abordará esta temática con una variedad de condiciones de la columna de agua, incorporando escalas de variabilidad estacional, interanual y de mesoescala espacial, para dos sistemas muy

contrastantes como el tropical y otro temperado de surgencia. Se considerará la incidencia de la estratificación sobre el espectro en tamaño de la comunidad.

1.4. Hipótesis general

Las alteraciones en los gradientes físicos y químicos de la columna de agua, derivadas de cambios temporales y espaciales en la estratificación vertical, afectan la fisiología, espectro de alimento, patrones de migración e interacciones presa-depredador de las comunidades del zooplancton. Estas alteraciones se reflejarán en variaciones en la estructura de tamaño del espectro comunitario y en su composición taxonómica.

1.5. Objetivos específicos

1. Determinar las variaciones (espaciales y temporales) de la estratificación de la columna de agua en dos zonas de estudio diferentes y contrastantes, y las características oceanográficas asociadas (temperatura, salinidad, densidad, estabilidad, frecuencia Brunt - Väisälä, oxígeno, transporte de Ekman, índice de surgencia).
2. Conocer la estructura comunitaria (estructura de tamaño y taxonómica) del zooplancton y su variabilidad temporal (escala estacional a interanual) en un sistema de surgencia costera (centro-sur Chile) en relación a la variabilidad oceanográfica.
3. Conocer la estructura comunitaria (estructura de tamaño y taxonómica) del zooplancton y sus variaciones espaciales en una región del mar Caribe para dos épocas climáticas en relación a la variabilidad oceanográfica.
4. Establecer el efecto de las variaciones temporales y espaciales de la estratificación sobre la estructura de comunidades del zooplancton, en términos de espectro de tamaño y composición de especies dominantes, para dos sistemas fuertemente contrastantes.

5. Examinar el rol de la estructura de la comunidad del zooplancton sobre la dinámica de la producción secundaria en escalas anuales e interanuales en un sistema de surgencia costera (centro-sur Chile).



2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Características de las zonas de estudio.

2.1.1. *Región subtropical: Centro -Sur de Chile*

Sobarzo et al. (2007) durante 2002 – 2006 describen que la surgencia forzada por los vientos del suroeste a lo largo de la costa es estacional, durante primavera – verano. También encontraron que se presentan periodos de activa surgencia (5-6 días) que alternan con periodos de relajación (2-5 días) proporcionando una fuerte variabilidad hidrográfica. La estratificación en la capa superficial en el periodo primavera-verano está influenciada por el balance de calor (radiación solar) en los primeros 10 m, y durante otoño-invierno por el balance de agua dulce (descargas de ríos y/o precipitación) sobre los primeros 20 m de la columna de agua.

En esta región algunos investigadores han estudiado cómo las variables oceanográficas estructuran la comunidad de zooplancton en varias escalas espaciales y temporales, teniendo en cuenta la composición de especies, diversidad, biomasa y contenido de carbono (Escribano et al., 2007, 2012; Hidalgo et al., 2012; Riquelme-Bugueño et al., 2012). Recientemente se han implementado nuevas técnicas para el estudio del zooplancton y se ha incluido el tamaño de los organismos como una característica ecológica que juega un papel fundamental en la estructuración de las comunidades biológicas (Manríquez et al, 2009, 2012; Hidalgo et al., 2012). En la zona de Concepción, durante la surgencia de 2004 Manríquez et al. (2012) registraron variabilidad espacial de la clorofila a y espectros de tamaño del zooplancton entre las zonas costera, frente de surgencia y oceánica. Se evidenció una pendiente negativa del espectro indicando bajos valores de diversidad y abundancia en la zona costera y oceánica, aún cuando se presentaron valores altos de clorofila-a cerca a la costa. La comunidad estuvo mejor representada con varias clases de tamaño reflejadas en una pendiente más positiva en la zona del frente costero. Asimismo, Hidalgo et al. (2012) durante la surgencia de 2009 al analizar los atributos de la comunidad de copépodos en dos estratos (0 - 50 m y 50 - 200 m) y en el transcurso del día y la noche, encontraron cambios significativos en la estructura comunitaria, sugiriendo que la MVD es una fuente de variación importante de la comunidad de zooplancton. La diversidad por tamaño representó mejor a la comunidad en comparación con los otros atributos, y con una fuerte relación con la surgencia y profundidad de la Zona de

Mínimo Oxígeno (ZMO) . Estos efectos pueden manifestarse en algunas propiedades de la comunidad en conjunto, como por ejemplo su espectro de tamaño, en cambios en orden de dominancia de conjuntos de especies, o en remplazo de especie entre aquellas dominantes.

2.1.2. Región tropical: aguas oceánicas Caribe colombiano

En esta región se presentan periodos estacionales menos evidentes, en comparación con las zonas subtropicales, que han sido explicados principalmente por los movimientos de la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT) y su influencia sobre la dinámica de los vientos Alisios. Se reconocen una época seca de vientos fuertes (diciembre a abril), una época de transición (mayo a julio) y una época lluviosa (agosto a noviembre) (Andrade-Amaya, 2001).

En la región nororiental de Colombia en la época seca se presenta un evento de surgencia costera frente a la Península de La Guajira, en la cual, los vientos Alisios del noreste producen un afloramiento de aguas profundas que altera la estratificación superficial del Caribe colombiano (Andrade-Amaya & Barton, 2005). De igual forma la zona central se encuentra influenciada por las descargas continentales del río Magdalena, el cual durante la época lluviosa aporta un caudal promedio de 7100 m³ s⁻¹ y 185 x 10⁶ toneladas de sedimentos al año (Invemar, 2006; Posada & Henao, 2006) y en la zona suroccidental se presenta un giro ciclónico permanente (Andrade-Amaya, 2001). También existe fuerte influencia de los procesos de mesoescala (Andrade & Barton, 2000).

En el Caribe colombiano se ha estudiado la estructura del zooplancton, principalmente de la zona nerítica. Bernal (2000) desde la frontera con Venezuela hasta Panamá determinó la variabilidad del zooplancton en relación a especies, taxa, tamaños, biomasa, abundancia así como niveles tróficos durante tres periodos del año, según la intensidad de los vientos alisios (fuerte, intermedia y débil). En general observó organismos de tamaño pequeño, tendencias neríticas y poca biomasa durante el periodo de vientos débiles. Esta caracterización es similar en la zona suroccidental durante la condición intermedia, a diferencia de la zona centro y norte donde se presentaron mayores tamaños, tendencias nerítico-oceánicas y altas biomásas. Durante vientos fuertes se obtuvieron mayores tamaños, tendencias oceánicas y biomásas tres veces mayores que para los otros periodos, y una comunidad dominada por carnívoros y herbívoros de gran tamaño. Bernal et al. (2004) y Manjarrés et al. (2005) encontraron un comportamiento temporal similar en la biomasa húmeda total y algunas variaciones según el

valor discriminado para 11 grupos del zooplancton. De igual forma se han efectuado trabajos sectorizados frente a los departamentos de La Guajira (Marino & Merchán, 1993; Franco-Herrera & Londoño-Lara, 2000), Magdalena (Campos & Plata, 1990; Lozano, 1991; Bernal & Zea, 2000; Franco-Herrera et al., 2006), Bolívar (Franco et al., 1992; Rendón et al., 2003; Cañón et al., 2005), y en la zona insular de San Andrés y Providencia (Giraldo & Villalobos, 1983; Martínez-Barragán et al., 2008).

En las aguas oceánicas se conocen estudios de expediciones oceanográficas en todo el Caribe con algunas estaciones en aguas cercanas a Colombia (Park, 1970; Michele & Foyo, 1976). Recientemente en el Caribe colombiano, sobre la isobata de 1000 m, Medellín-Mora & Martínez-Ramírez (2010) estudiaron la distribución horizontal y vertical del mesozoplancton. La variabilidad mostró una relación aparente con el patrón de corrientes superficiales y la circulación ciclónica. Las mayores concentraciones se presentaron en el área nororiental coincidiendo con la surgencia, y en el área suroccidental con las descargas continentales y el giro Panamá-Colombia. Se encontraron diferencias significativas de la densidad de zooplancton entre áreas geográficas y entre los estratos de profundidad, las mayores abundancias se presentaron en el estrato superficial.

Por su parte, Gutiérrez (2011) caracterizó hasta los 1000 m de profundidad la taxonomía, distribución vertical, tamaño y nivel trófico del mesozoplancton y la comparó con el modelo propuesto por Longhurst (1985 a, 1985 b) para las Zonas Típicas Tropicales Oceánicas (ATTO), las cuales concuerdan con las masas de agua y la distribución y estructura del zooplancton. Durante mayo-junio de 2008 estudió tres sectores influenciados por la surgencia, aguas continentales y un giro ciclónico. Las características más similares según la comparación fueron la dominancia de los copépodos, el pequeño tamaño principalmente en la capa superficial y mayor tamaño en profundidad y una red trófica clásica de los ensamblajes de la masa de Agua Subsuperficial Subtropical. Entre las diferencias se destacó la profundidad de la capa máxima de clorofila localizada entre las masas de agua Superficial Tropical y Subsuperficial Subtropical y algunos cambios en la estructura de la comunidad del zooplancton, tales como, la alta abundancia de larváceos superando a los copépodos en el sector influenciado por agua dulce. En las tres masas de agua estudiadas dominaron los pequeños tamaños, seguidos por grandes y mediamos. En los sectores norte y centro se presentaron pendientes más negativas en superficie que en profundidad, a diferencia del sector

sur que mostro pendientes más negativas en las masas de agua localizadas a mayor profundidad.

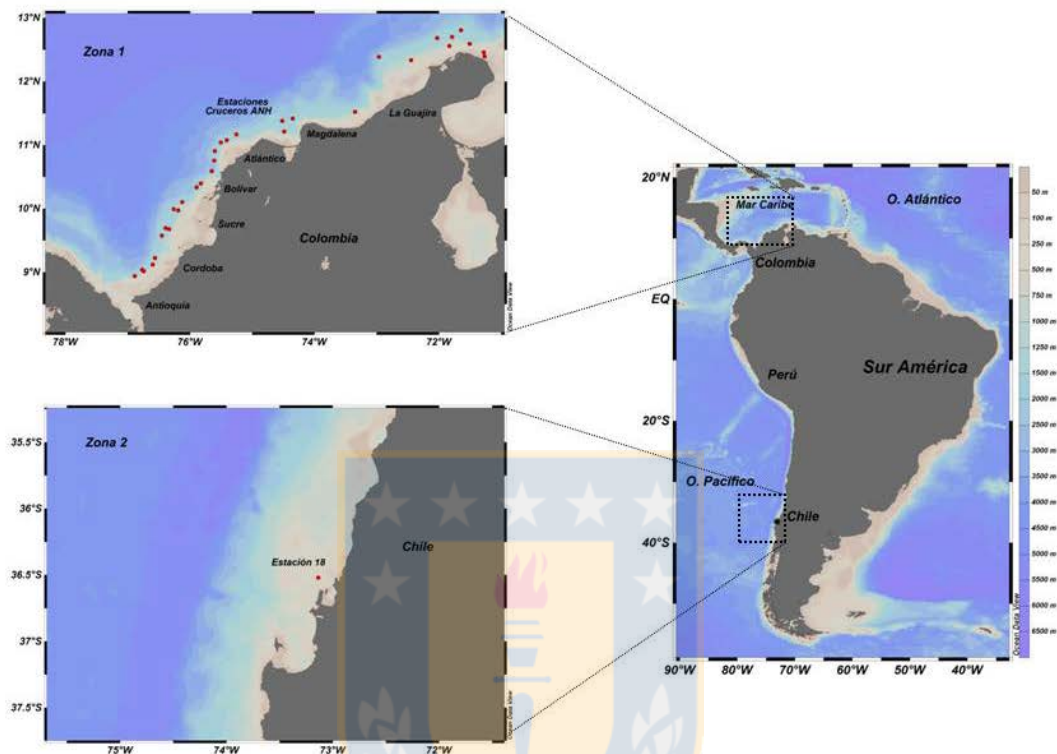


Figura 1. Áreas de estudio. Zona 1: variabilidad espacial (arriba) y Zona 2: variabilidad temporal (abajo).

2.2. Diseño de muestreo y obtención de muestras.

En el centro - sur de Chile (Zona 1), fuera de la bahía de Concepción el Centro de Investigación Oceanográfica en el Pacífico Sur Oriental (COPAS) realizó entre el 2002 - 2012 el monitoreo hidrográfico mensual de una estación fija localizada a 18 mn de la costa (~33 km) sobre la plataforma continental (90 m) (Estación 18: 36°30,80'S; 73°07,75'W).

En las aguas oceánicas del Caribe colombiano (Zona 2) se registraron las características de la columna de agua y se tomaron muestras biológicas en 36 estaciones 13 estaciones durante el periodo de transición (mayo-junio 2008) y 19 en el periodo de lluvias (noviembre-diciembre 2009). Estas estaciones cubrieron un área aproximada de 800 km en la isobata de 900 m.

Objetivo 1: Determinar la variaciones de la estratificación de la columna de agua en dos zonas de estudio y sus características oceanográficas asociadas (temperatura, salinidad, densidad, frecuencia Brunt - Väisälä, oxígeno).

2.2.1. Métodos de muestreo oceanográfico

Mediante dos perfiladores CTD Seabird SBE-25 y SBE-19 Plus (Zona 1) y Idronaut Ocean Seven 316 plus (Zona 2) se registraron las propiedades de la columna de agua (temperatura (°C), salinidad, conductividad (mS cm⁻¹), oxígeno disuelto (mg l⁻¹) y fluorescencia)

Los datos oceanográficos fueron procesados con la herramienta de TEOS-10 Gibbs SeaWater (GSW). Se uso la temperatura potencial, salinidad absoluta y densidad in situ para calcular la estabilidad de la columna de agua (E) y la frecuencia de boyantes o Brunt Väisälä (N₂), de esta última variable se obtuvo un valor promedio (0 - 50 m) con el fin de conocer el estado de estratificación de la columna de agua.

$$E (m^{-1}) = -\frac{1}{\rho} \frac{\partial \rho}{\partial z}$$

Donde E es la estabilidad de la columna de agua, ρ es la densidad, $\partial \rho$ es el cambio de la densidad y ∂z el cambio en la profundidad en metros.

Donde N₂ es la frecuencia Brunt Väisälä, E es la estabilidad de la columna de agua y g es la gravedad o aceleración de la tierra (9,8 m s⁻²).

$$N^2 (\text{ciclos } h^{-2}) = g \cdot E$$

Se estimo la profundidad de la capa de mezcla considerando el gradiente de densidad y el primer valor más alto como la base o límite de la capa de mezcla. Con los datos de oxígeno y profundidad se realizaron perfiles para determinar la profundidad de la oxiclina y el valor promedio de oxígeno disuelto de la columna de agua. En la zona centro sur de Chile se tomó la profundidad de la zona mínima de oxígeno (Definida como la profundidad a la cual se encuentra una concentración de oxígeno de 20 μM ó 0,5 ml l⁻¹ (Ulloa & Pantoja, 2009; Revsbech et al. 2009).

En ambas zonas con los perfiles de fluorescencia y mediciones de clorofila-a mediante métodos fluorométricos, se realizó la corrección de los perfiles y se integro en la capa 0-60 m la concentración de la clorofila a. Esta información se utilizó para evaluar potencial efecto de la distribución del alimento sobre la estructura comunitaria del zooplancton, tanto del punto de vista espacial como temporal.

Para el análisis espacial (Caribe colombiano) se utilizó información satelital de temperatura y clorofila a superficial, nivel del mar y corrientes estróficas. Valores de clorofila a y temperatura con una resolución espacial de 4 km, se obtuvieron para productos de nivel-3 de *Moderate Resolution Imaging Spectro-radiometer—MODIS - Aqua mission*, distribuido por el grupo de procesamiento *Ocean Biology* (<http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/cms/>). La anomalía del nivel del mar y corrientes geostroficas fueron obtenidas de los productos de Saral, Cryosat-2, Jason-1&2, T/P, Envisat, GFO, ERS-1 & 2 y Geosat missions, distribuidas por AVISO (<http://www.aviso.altimetry.fr/en/home.html>). El promedio de temperatura y clorofila fue calculado entre el primer día y el ultimo día de cada crucero usando la media geométrica de los registros de satélite disponibles (sin interferencia por nubes). El nivel del mar y corrientes corresponde a el día intermedio de cada crucero.

Objetivo 2, 3 y 5: Determinar la estructura comunitaria (estructura de tamaño, taxonómica y biomasa) del zooplancton y sus variaciones espaciales y temporales en las dos zonas de estudio en relación a la variabilidad oceanográfica.

2.2.2. Métodos de muestreo de zooplancton

Zona 1 (Centro-sur de Chile): Las muestras de zooplancton fueron colectadas mensualmente con una red Tucker de 1 m² de boca y una malla de 200 µm y un flujómetro calibrado. Se realizaron arrastres oblicuos a una velocidad de 1,5 m s⁻¹ desde 85 m a la superficie. Las muestras fueron fijadas con formalina al 10%. Las muestras de zooplancton y los datos fisicoquímicos serán provistos por la serie de tiempo del Centro de Investigación Oceanográfica del Pacífico Suroriental - COPAS.

Zona 2 (Mar Caribe colombiano): Se efectuaron arrastres verticales diurnos de zooplancton y en la columna de agua de 0 - 200 m durante la época seca y lluviosa. Los arrastres se realizaron con una red cónica de 2,2 m de longitud, 0,58 m de diámetro de boca y malla de 200 μm , equipada con un sistema de apertura-cierre marca Sea Gear, un colector y un flujómetro previamente calibrado para la determinación del volumen de agua filtrado (m^3). Se determinó el ángulo de inclinación del cable con un clinómetro para establecer la profundidad real del arrastre (Smith & Richardson, 1979). Los organismos retenidos en el colector fueron narcotizados con agua carbonatada, luego se fijaron con formol al 10% neutralizado con tetraborato de sodio y agua de mar filtrada.

2.3. Análisis automatizado de muestras de zooplancton - ZooImage

En el laboratorio las muestras de zooplancton se fraccionaron con un separador Folsom (dependiendo de su abundancia), luego los organismos se separaron en dos fracciones de tamaño con un tamiz de 1000 μm . Posteriormente, las muestras se tiñeron con Eosina (5g l^{-1}) y luego se retiró el exceso de Eosina de la muestra con etanol al 70 %. Facciones de las muestras teñidas se colocaron en placas de acrílico transparente de 10 x 10 cm y se digitalizaron con un escáner EPSON Perfection V300 Photo con una resolución de 800 dpi.

Las imágenes digitalizadas se procesaron con el programa *ZooImage*, se construyó un entrenador semi-automático ("*Training set*"), con la revisión y corrección de la identificación de los organismos. Esta se realizó a nivel de grandes grupos del zooplancton, los copépodos fueron divididos en categorías cualitativas de tamaño grandes, medianos y pequeños (<500, 500-1000 y >1000 μm). Luego, se hizo una validación de la identificación automática y la verificación por el investigador por medio de una matriz de confusión que mostró la exactitud en la identificación de cada grupo. El análisis de muestras de zooplancton con el *ZooImage* permitió estimar el tamaño de cada organismo o partícula y su Diámetro Circular Equivalente (ECD) en μm (Grosjean & Denis, 2007). Con la abundancia de las partículas y el ECD normalizadas con $\text{Log}(2)$ se construyó el espectro de tamaño de zooplancton de cada muestra, luego un modelo tipo I de regresión simple fue aplicado y se utilizó la pendiente (b) del espectro de tamaño como un índice de la estructura del tamaño de la comunidad del zooplancton. Para el cálculo de biomasa se usó la ecuación de conversión de ECD (μm) a

peso seco (mgC) sugerida por Hernández-León & Montero (2006) para mesozooplankton y ajustada por Grosjean & Denis (2007) para el uso del ZooImage por medio de los parámetros alométricos (P1, P2 y P3).

Detalles del método fueron publicados en un Artículo de revisión en la revista *Latin American Journal of Aquatic Research* con el título "Análisis automático de zooplankton utilizando imágenes digitalizadas: Estado del conocimiento y perspectivas en Latinoamérica" Medellín-Mora & Escribano (2013) (Anexo 1).

Con los datos de abundancia por taxa y por clase de tamaño se calcularon los índices de diversidad de Shannon-Weaver.

2.4. Análisis estadísticos

Objetivo 4: Establecer el efecto de las variaciones temporales y espaciales de la estratificación sobre la estructura en tamaño de comunidades del zooplankton.

Para los análisis estadísticos se tuvieron en cuenta las siguientes variables:

- Variables respuesta (dependiente): la estructura de las comunidades del zooplankton (abundancia, índices de espectro de tamaños (pendiente), índices de diversidad).
- Variables predictivas (independiente): La estratificación (Frecuencia Brunt - Väisälä), T°C, salinidad, O₂, biomasa del fitoplancton, profundidad capa de mezcla.

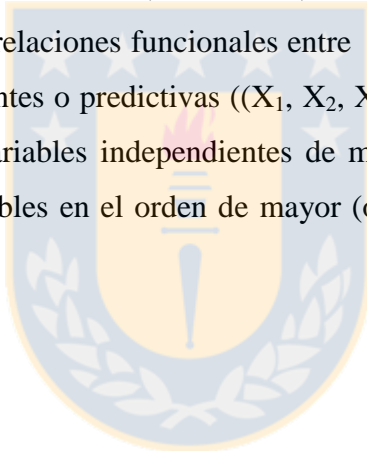
Zona 1 (Centro-sur de Chile):

Para las series de tiempo oceanográficas y biológicas se efectuaron análisis de estadística descriptiva, luego cada serie fue graficada y los componentes básicos como tendencia lineal y ciclos anuales fueron analizados para explicar la estacionalidad. Luego estos componentes fueron removidos y los residuos fueron usados para aplicar funciones de correlación cruzada entre las variables bióticas y abióticas. Mediante análisis de varianza (ANOVA, ANCOVA) se probaron diferencias de las variables bióticas entre los factores día-noche, estrato de profundidad, estacionalidad y periodos de la serie de tiempo de mayor (2002 - 2007) y menor estratificación (2008-2012). Finalmente, se usaron análisis multivariados de componentes principales (PCA) para las variables abióticas y de agrupamiento (Cluster-NMDS) para la

abundancia y composición del zooplancton para examinar diferencias estacionales (surgencia - no surgencia) e interanuales (2002-2007 vs 2008 - 2012). Estas diferencias fueron probadas con la rutina ANOSIM, estos análisis se efectuaron con el programa PRIMER-E6.

Zona 2 (Mar Caribe colombiano):

Con el fin de caracterizar los periodos climáticos estudiados (transición y lluvias) se analizaron los datos de precipitación de las estaciones climatológicas localizadas cerca a la costa, las diferencias entre cada periodo fueron probadas mediante un análisis de varianza (ANOVA). Se efectuaron los mismos análisis multivariados usados en la zona 1 pero considerando los factores espaciales (Zonas: norte, centro y sur) y temporales (época de transición y lluviosa). Finalmente, para determinar asociaciones entre las variables bióticas y abióticas se utilizó un análisis BIOENV, así mismo, se utilizaron regresiones múltiples, las cuales permiten establecer relaciones funcionales entre una variable dependiente (Y) y múltiples variables independientes o predictivas (X_1, X_2, X_n). Con el procedimiento paso a paso se seleccionarán las variables independientes de mayor importancia, mediante la adición o eliminación de variables en el orden de mayor (o menor) correlación entre sí y con las variables dependientes.



3. RESULTADOS

Artículo científico publicado en la revista *Progress in Oceanography* (142): 17-29, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2016.01.005>

3.1. Capítulo 1: Respuesta comunitaria del zooplancton a los cambios oceanográficos (2002-2012) en el sistema de surgencia del centro-sur de Chile

Johanna Medellín-Mora , Rubén Escribano, Wolfgang Schneider

Resumen

La serie de tiempo de la estación 18 localizada fuera del centro-sur de Chile permitió estudiar las variaciones en el zooplancton junto con la variabilidad interanual y tendencias en las condiciones oceanográficas. Se usó un programa de análisis automatizado (ZooImage) para explicar los cambios en la estructura de tamaños del mesozooplancton y la composición de taxa a través de toda la comunidad. Condiciones oceanográficas cambiaron durante la década: la columna de agua se volvió menos estratificada, más salina y fría, la capa de mezcla fue más profunda y la zona mínima de oxígeno más superficial durante la segunda mitad de la serie de tiempo (2008-2012). La estructura de tamaños y la composición del zooplancton estuvo significativamente asociada con cambios oceanográficos. La diversidad de taxa y tamaños de la comunidad de zooplancton aumentaron para el periodo más reciente. Para el segundo periodo, copépodos de menor tamaño (<1 mm) disminuyeron en abundancia y fueron reemplazados por copépodos de mayor tamaño (>1.5 mm) y medio(1-1.5 mm); además, eufáusidos, larvas de decápodos, apendicularios y ostrácodos aumentaron en abundancia durante el segundo periodo. Este hallazgo indica que la estructura de la comunidad de zooplancton en este ecosistema de borde oriental estuvo fuertemente influenciado por la variabilidad del proceso de surgencia. Entonces, forzamiento de las tendencias de la surgencia inducido por el clima pueden alterar la comunidad del zooplancton en esta región altamente productiva con potenciales consecuencias para la trama trófica del ecosistema.



Contents lists available at ScienceDirect

Progress in Oceanography

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

Review

Community response of zooplankton to oceanographic changes (2002–2012) in the central/southern upwelling system of Chile

Johanna Medellín-Mora^{a,b,*}, Ruben Escribano^b, Wolfgang Schneider^b^aDoctoral Program in Oceanography, Universidad de Concepción, Chile^bMillennium Institute of Oceanography (IMO) and Department of Oceanography, Faculty of Natural and Oceanographic Sciences, Universidad de Concepción, P.O. Box 160, Concepción, Chile

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 July 2015

Received in revised form 14 January 2016

Accepted 14 January 2016

Available online 21 January 2016

ABSTRACT

A 10-year time series (2002–2012) at Station 18 off central/southern Chile allowed us to study variations in zooplankton along with interannual variability and trends in oceanographic conditions. We used an automated analysis program (Zoolmage) to assess changes in the mesozooplankton size structure and the composition of the taxa throughout the entire community. Oceanographic conditions changed over the decade: the water column became less stratified, more saline, and colder; the mixed layer deepened; and the oxygen minimum zone became shallower during the second half of the time series (2008–2012) in comparison with the first period (2002–2007). Both the size structure and composition of the zooplankton were significantly associated with oceanographic changes. Taxonomic and size diversity of the zooplankton community increased to the more recent period. For the second period, small sized copepods (<1 mm) decreased in abundance, being replaced by larger sized (>1.5 mm) and medium size copepods (1–1.5 mm), whereas euphausiids, decapod larvae, appendicularian and ostracods increased their abundance during the second period. These findings indicated that the zooplankton community structure in this eastern boundary ecosystem was strongly influenced by variability of the upwelling process. Thus, climate-induced forcing of upwelling trends can alter the zooplankton community in this highly productive region with potential consequences for the ecosystem food web.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	18
2. Methods	18
2.1. Field studies	18
2.2. Zooplankton analyses	19
2.3. Data processing and analyses	19
3. Results	20
3.1. Oceanographic variability	20
3.2. Zooplankton responses	20
3.3. Environmental correlations	22
4. Discussion	24
Acknowledgements	28
Appendix A. Supplementary material	28
References	28

* Corresponding author at: Doctoral Program in Oceanography, Universidad de Concepción, Chile.
E-mail address: dmedellin@udec.cl (J. Medellín-Mora).

1. Introduction

Zooplankton are considered to be a suitable indicator for assessing the impact of climate change-related environmental variability on the structure and functioning of global marine ecosystems (Roemmich and McGowan, 1995; Mackas et al., 2007; Chiba et al., 2015). This is because zooplankton populations and communities respond rapidly to the environmental variables affected by climatic changes (Richardson, 2008).

In the ocean, some of the variables most affected by climate change (temperature, water-column stratification, acidification, oxygenation, the quality and quantity of food resources) also interact with zooplankton (Daufresne et al., 2009; Doney et al., 2012). Increasing atmospheric temperatures cause the sea surface temperature to rise, and the development of a strong pycnocline reduces vertical mixing in the water column. This depletes the nutrients in the photic layer, thereby lowering primary production (Mann and Lazier, 1991; Doney, 2006) and affecting the entire marine food web (Landry and Kishi, 2013; Doney et al., 2012). However, the different regions of the ocean respond differently to such changes. For example, in eastern boundary current systems (EBCs) of the southern hemisphere, stronger southerly winds give rise to more active upwelling (Garreaud and Falvey, 2008; Belmadani et al., 2013), allowing more mixing in the water column and cooling the surface water, with uncertain consequences for primary production and zooplankton dynamics.

Among the EBCs, the coastal zone off Chile is one of the most productive marine ecosystems on Earth (up to $10\text{--}20\text{ g C m}^{-2}\text{ d}^{-1}$). Here, strong fisheries are sustained by the intense upwelling of cold, nutrient-rich, subsurface waters of equatorial origins (Escribano and Schneider, 2007; Thiel et al., 2007). Upwelling off central/southern Chile ($30\text{--}40^\circ\text{S}$) experiences both seasonal (more intense in spring–summer) and strong intra-seasonal variation (alternating periods of active upwelling and relaxation) (Sobarzo et al., 2007; Pino-Pinuer et al., 2014). The upwelling period takes place between early September to March (austral spring–summer) and is characterized by strong southerly winds, resulting in the ascent of equatorial sub-surface water into the photic zone, increasing surface salinity and lowering surface temperature and oxygenation upon the ascent of the oxygen minimum zone (OMZ). During the months of April and August (austral autumn and winter) downwelling (non-upwelling) conditions prevails with weakening of southerly wind, low salinity water near surface due to rain and river runoff, highly oxygenated water in the upper layer (Escribano et al., 2009). The biogeochemical consequences of these upwelling variations include near-surface hypoxia events that occur during spring–summer when the OMZ rises (Paulmier and Ruiz-Pino, 2009), and changes in water column stratification resulting from heat-driven (i.e., solar) mixing in the water column and freshwater runoff (i.e., river discharge and/or precipitation) (Sobarzo et al., 2007). This variability in oceanographic conditions can heavily impact the zooplankton community in the coastal zone (Escribano et al., 2007; Hidalgo et al., 2012; González et al., 2015).

The zooplankton community off central/southern Chile is dominated by small ($<1.5\text{ mm}$) and medium-sized ($1.5\text{--}3.0\text{ mm}$) copepods (Hidalgo et al., 2010). Strong aggregations of the dominant euphausiid, *Euphausia mucronata*, occur occasionally, mainly by late summer/early autumn (Riquelme-Bugueño et al., 2012). The responses in the composition and diversity of copepods and euphausiids have been studied as a means to evaluate upwelling forcing in the zooplankton community (e.g. Escribano et al., 2007, 2012).

Automated analyses of digitized zooplankton samples offer an alternative approach that incorporates the entire zooplankton community structure and does not require taxonomic description

at the species level, but instead it is related to major taxa and size composition. Although this approach may not provide a full description of the community composition, it should be considered as an useful tool to rapidly assess a large number of samples and obtain size and group structure. This automated analyses can thus be adopted by applying Zoolmage (Grosjean and Denis, 2007) and it has been named as the “RAPID” (Research in Automated visual Plankton Identification) approach (Benfield et al., 2007).

Previous studies performed off central/southern Chile have used Zoolmage to describe how oceanographic variations influenced the size structure of the zooplankton community. In a spatial study carried out in spring 2004, the zooplankton size spectrum (derived from Zoolmage) was linked to cross-shelf oceanographic conditions. The steeper (offshore) slopes of the normalized size spectrum were related to lower diversity and abundance, whereas more gradual slopes (inshore) were related to more size classes and greater abundances (Manríquez et al., 2012). A temporal analysis of the zooplankton time series (2002–2005) at Station 18 off Concepción (36°S) showed a highly variable size spectrum. Slopes were less pronounced during active upwelling, indicating a more uniform distribution of size classes. In contrast, during non-upwelling periods, the zooplankton community was dominated by smaller size classes, with scarce large-sized zooplankton and steeper size-spectrum slopes (Manríquez et al., 2009).

Accordingly, intense upwelling can force responses in the zooplankton community. Therefore, the composition and size-structure of zooplankton in the coastal upwelling zone could reflect climate-induced changes in the upwelling process. In this work, we used a 10-year time series study at Station 18 off central/southern Chile and the RAPID approach to assess how the size structure and composition of the main meso-zooplankton community responded to variations and trends in upwelling intensity. We ultimately aimed to understand how zooplankton dynamics can be affected given a scenario in which global warming impacts wind-driven coastal upwelling.

2. Methods

2.1. Field studies

The COPAS research center initiated a time series study at a fixed station (Station 18) in the upwelling system off central/southern Chile ($36^\circ30'$, 80°S ; $73^\circ07'$, 75°W). Station 18 is located on the continental shelf about 30 km from the coast and 90 m deep (Fig. 1) and was used for this study lasting from August 2002 to 2012.

Oceanographic data were obtained with two CTD autonomous profilers (SBE-25 and SBE-19 Plus) deployed down to 85 m depth. Additional water samples were collected with 10-L Niskin bottles at nine different depths for chemical and chlorophyll *a* (Chl *a*) analyses. See Sobarzo et al. (2007) for details on the CTD procedures and chemical and physical data.

Monthly zooplankton samples were collected by oblique hauls using a 1-m^2 Tucker trawl net (mesh size: $200\text{ }\mu\text{m}$) equipped with a calibrated General Oceanics flowmeter. On occasions, during rough weather, samples were obtained with a $200\text{-}\mu\text{m}$ to 0.5-m opening WP2, towed vertically from 80 m to the surface. Our Tucker trawl net was equipped with three nets and an opening-closing mechanism activated by messengers, allowing us to take one integrated and two additional stratified samples. Pre-defined sampling depths were achieved in according to wire length and its corresponding inclination angle.

Zooplankton specimens were caught in each haul covering the $0\text{--}80\text{ m}$ layer and the $0\text{--}50\text{ m}$ and $50\text{--}80\text{ m}$ layers, such that we could also assess the zooplankton vertical distribution. These strata

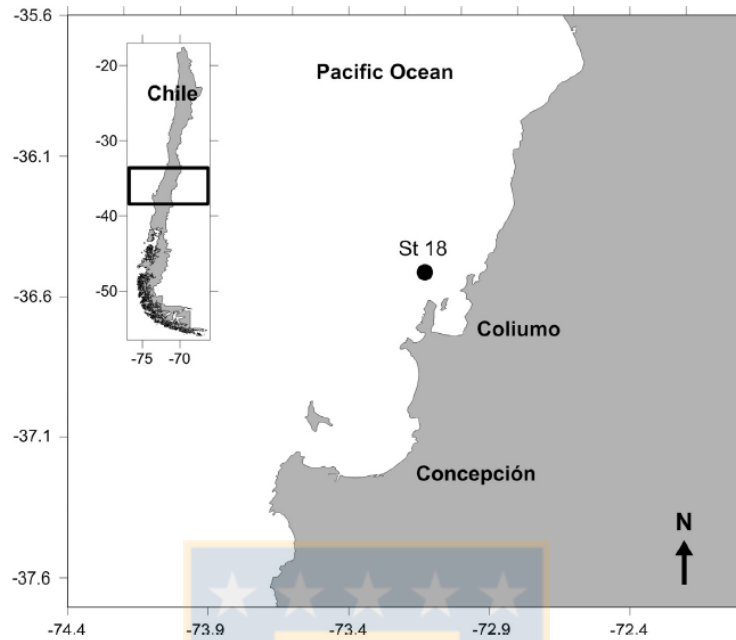


Fig. 1. The coastal upwelling zone off central/southern Chile, illustrating the study area with the location of Station 18, used for the 2002–2012 time series.

can well represent the upper photic oxygenated and mixed layer (0–50 m) and the subsurface lower-oxygen and below thermocline layer (>50 m) (Sobarzo et al., 2007). Day and night samples were taken on several (34) opportunities so that we could examine potential effects of light conditions on zooplankton abundance and structure. Samples were fixed with 10% neutralized formalin. See Escribano et al. (2007) for more details on zooplankton sampling and sample processing.

2.2. Zooplankton analyses

In the laboratory, zooplankton samples were fractionated according to their abundance with a Motoda splitter. They were then separated with a 1000- μm sieve into two size fractions (<1000 μm and >1000 μm). Samples were stained with 5% Eosin, and the excess colorant was removed with 70% ethanol (24 h exposure). Fractions of the stained samples were placed on transparent acrylic plates (26 \times 15 cm^2) and digitized with an EPSON Perfection V300 Photo scanner (800 dpi resolution). Digitized images were processed with Zoolmage V1.2-0 software.

First, we built a training set for the study area in order to identify the major zooplankton groups. A total of 17 classes were found to properly represent the zooplankton community, based on their occurrence and abundance (Escribano et al., 2007). Of these, copepods were the most abundant and covered a wide size range. Thus, we separated the copepods by prosome length into qualitative size categories (large > 1.5 mm, medium 1–1.5 mm, small < 1 mm). The taxonomic classification was carried out using the Random Forest algorithm and evaluated using the 10-fold cross validation confusion matrix (see as Supplemental Material). This allowed us to determine the rate of error between manual and automated recognition, which had an estimated accuracy of 80%. Data for total abundance, taxonomic groups, and size (measured as equivalent circular diameter, ECD) were obtained for each object identified

in the digitized images. ECD estimates were then used to obtain the size spectrum for each sample analyzed. See Grosjean and Denis (2007) for details on the procedures of the Zoolmage software.

2.3. Data processing and analyses

Data from the oceanographic time series were processed with the Gibbs SeaWater (GSW) Oceanographic Toolbox of TEOS-10 (IOC and IAPSO, 2010). We used absolute salinity, potential temperature, and *in situ* density to calculate the stability of the water column and the buoyancy or Brunt-Väisälä frequency. We also looked at the temperature at 10 m depth and estimated the mixed layer depth (MLD) by considering the density gradient and the first higher value as the base. Finally, we calculated the average temperature and oxygen of the mixed layer. The depth of the OMZ was defined as the depth of 1 $\text{ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ and Chl *a* concentrations in the water column (0–60 m) were also included.

Each sample represents a single monthly sampling with Tucker Trawl net (on few occasions with wp2 net, 9 out of 120). Stratified samples (47 out of 120) were treated separately, but then abundances were averaged for the 0–80 m water column. Data on abundance and size distribution of zooplankton were calculated by Zoolmage using the metadata (volume of filtered seawater, fraction of samples and size of the scanning dish) and then standardized as $\text{individual} \times \text{m}^{-3}$.

Size spectra for the zooplankton were obtained from the data on taxa abundance and ECD estimates. These were first log-normalized with \log_2 ; then a simple Model I regression analysis was applied. We used the slope (*b*) of size spectra as an index of the size structure of the zooplankton community. Moreover, we calculated the Shannon–Weaver diversity index used the following equations for size class diversity (H'_{sc}) and major taxa diversity weighed by size (H'_{ts}).

$$H'sc = \sum_{i=1}^k p_i \ln(p_i) \quad (1)$$

where $H'sc$ = size class diversity, p_i = the proportion of each i size class and k = total number of size classes.

$$H'ts = \sum_{j=1}^T p_j \ln(p_j) \quad (2)$$

where $H'ts$ = taxa diversity, p_j = the proportion of each j taxa weighed by its corresponding median size, and T = total number of taxa. Total identified taxa are shown in the confusion matrix (see [Supplemental Material](#)).

Descriptive statistics (means, ranges, variations) were obtained for the entire oceanographic and biological time series. Thereafter, each series was plotted and the basic components (e.g., linear trends, annual cycles) were obtained from the monthly means and used to assess seasonality. These components were then removed and the residuals were used to apply cross-correlation functions to test the effect of oceanographic factors on biological responses. All these analyses were carried out with the Program R, v.3.1.2 (R core team, 2014).

We tested for differences in the slope of the size spectra and size class abundances with SYSTAT 12, ANOVA, and ANCOVA. These programs were also used to test the effect of daytime vs. nighttime (hours of light and darkness depending of climatic station), the depth strata (surface: 0–50 m; depth: 50–80 m), and seasonal upwelling and downwelling effects. Also, after a preliminary assessment of oceanographic variations throughout the time series, we divided this into two distinctive periods (2002–2007 and 2008–2012) based on water column stratification. This division was also based on previous evidence suggesting a change in upwelling intensity in the region around 2006–2007 due to southerly displacement and acceleration of the south Pacific central gyre (Ancapichún and Garcés-Vargas, 2015, Schneider et al., unpublished). This division also allowed us to test the effect that the conditions of these periods had on the zooplankton structure over two periods of about same time length.

Finally, multivariate analyses were conducted with PRIMER v.6 (Clarke and Gorley, 2006). First, we grouped different months according to oceanographic variables using the ordination method of principal component analysis (PCA) based on Euclidean distance with standardized data. Then, to assess similarities in the composition and abundance of the community among months, we applied cluster analysis and multidimensional scaling (MDS) with log-transformed data and following the Power Law of Taylor for aggregated data (Taylor, 1961). For this, we used the Bray-Curtis index and average linking. Two factors were examined: seasonal effects (upwelling vs. downwelling conditions) and interannual effects (2002–2007 vs. 2008–2012). The ANOSIM routine was applied to test these effects, under the hypothesis that community composition and the abundance of zooplankton did not differ significantly between upwelling conditions and interannual periods. Later, differences or similarities between groups were analyzed with the SIMPER module (similarity percentages).

3. Results

3.1. Oceanographic variability

The oceanographic condition that varied most was water column stratification, whereas the temperature and salinity of the mixing layer varied the least. See [Table 1](#) for a statistical summary of the oceanographic variables.

When analyzing the complete time series, water column stratification, as represented by the Brunt-Väisälä frequency, water

Table 1

Basic statistics of the oceanographic variables measured in the time series (2002–2012) maintained at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Mean \pm standard deviation (Sd), and range of values (min-max), $n = 124$.

Variable	Unit	Mean	Sd	Min	Max
Brunt-Väisälä frequency (0–50 m)	cph	35.77	12.27	3.17	77.39
Sigma-T (0–50 m)	kg m ⁻³	26.16	0.31	24.65	26.53
Mixed Layer Depth (MLD)	m	8.33	5.30	2.00	28.00
Temperature ML	°C	12.91	1.21	10.55	15.45
Salinity ML	psu	33.88	1.09	27.87	34.78
O ₂ ML	ml L ⁻¹	5.10	0.97	2.55	7.40
Oxygen minimum zone depth	m	38.97	18.71	13.00	84.00
Chlorophyll <i>a</i>	mg m ⁻²	109.06	132.41	8.17	712.65

density and temperature at 10 m depth showed significant negative linear trends ([Fig. 2a, b and e](#)), whereas salinity of the mixed layer showed a positive linear trend ([Fig. 2f](#)). The other oceanographic variables did not show significant trends or seasonality ([Figs. 2 and 3](#)), although weak negative trends were noted in the temperature of the mixing layer and OMZ depth, and positive trends were observed for the mixing layer depth and mean oxygen concentration of the mixed layer, whereas Chl *a* did not show any significant trend ([Fig. 2](#)).

Mean stratification of the surface layer (0–50 m) showed a seasonal pattern, with greater values (36.5–47.5 cph) in winter and early spring ([Figs. 3a and 4a](#)). This pattern coincided with low salinity (<28) and water density (<25) and was considered to be saline stratification ([Fig. 3a–c, and f](#)). In summer and autumn, thermal stratification led to lower (24.3–34.8 cph) and shallower (0–30 m) stratification ([Fig. 3a](#)). During this period the salinity was constant with mean value between 34.53 \pm 0.65. In May these values began to decline (33.63 \pm 1.38).

The depth of the mixed layer varied greatly among months, but showed a seasonal pattern, being deeper in autumn and winter (9–12 m), mainly in June and May, and shallower (5–7 m) in spring-summer ([Fig. 3c](#)). The mean temperature of this layer varied seasonally, being 11.8–13.3 °C in winter and 13.6–14.6 °C in spring-summer ([Fig. 3d](#)). Mean oxygen concentrations in the mixing layer ranged from 4.2 to 5.7 ml L⁻¹ ([Fig. 3f](#)).

The OMZ was found between depths of 49 m and 63 m during downwelling conditions (autumn–winter) and between 23 m and 30 m during upwelling conditions (spring–summer) ([Fig. 3g](#)). However, integrated chlorophyll *a* in the water column was greater (105–237 mg m⁻²) during upwelling than downwelling (20.4–76.2 mg m⁻²) ([Fig. 3h](#)).

When looking at the entire structure of the water column, it was inferred that both, temperature and salinity influenced the seasonal pattern of water column stratification, which was characterized by a greater stratification in winter due to low surface salinity, although highly stratified condition prevailed throughout the spring and summer resulting from surface warming, while a much less stratified water column was evidenced in autumn and early winter ([Fig. 4a](#)). Stratification of the complete water column also showed that the division of the time series into two subsequent periods consistently had different stratification conditions from Period 1 to Period 2, with a less stratified water column from 2006 to 2012 ([Fig. 4b](#)).

3.2. Zooplankton responses

In terms of interannual variability, the zooplankton abundance fluctuated the most among years ([Table 2](#)) ([Fig. 5b](#)). Two remarkable peaks of abundance occurred, one in autumn 2011 (9849 ind m⁻³) and one in summer 2002 (3496 ind m⁻³). Monthly

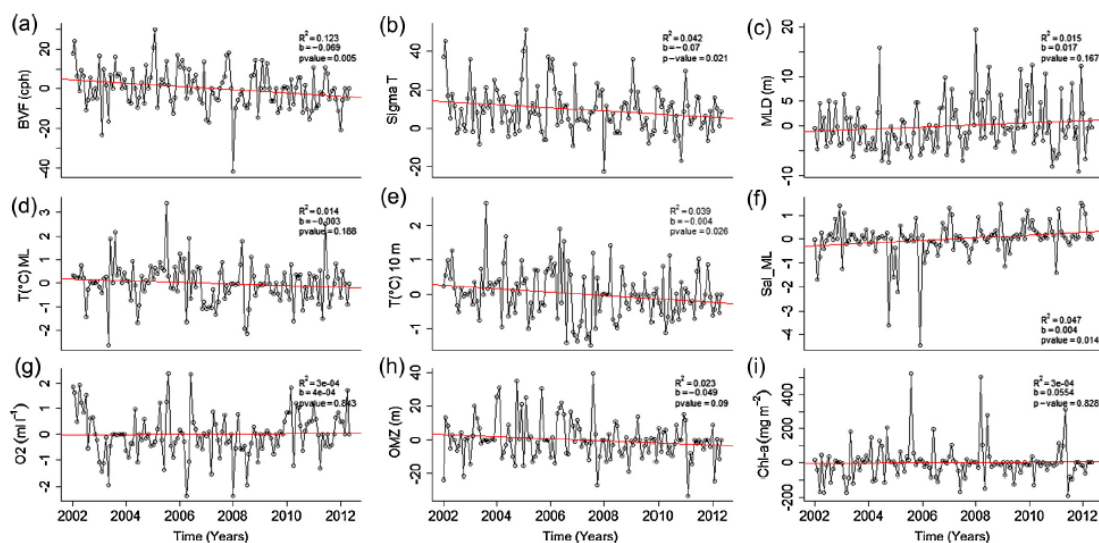


Fig. 2. Time series of residuals of oceanographic variables at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. (a) Brunt-Väisälä frequency, (b) Sigma T, (c) Mixed Layer Depth (MLD), (d) mean temperature of ML, (e) temperature 10 m, (f) salinity of ML, (g) mean oxygen concentration of ML, (h) depth of the oxygen minimum zone, (i) integrate chlorophyll *a* (Chl *a*). The continuous line show the linear trend.

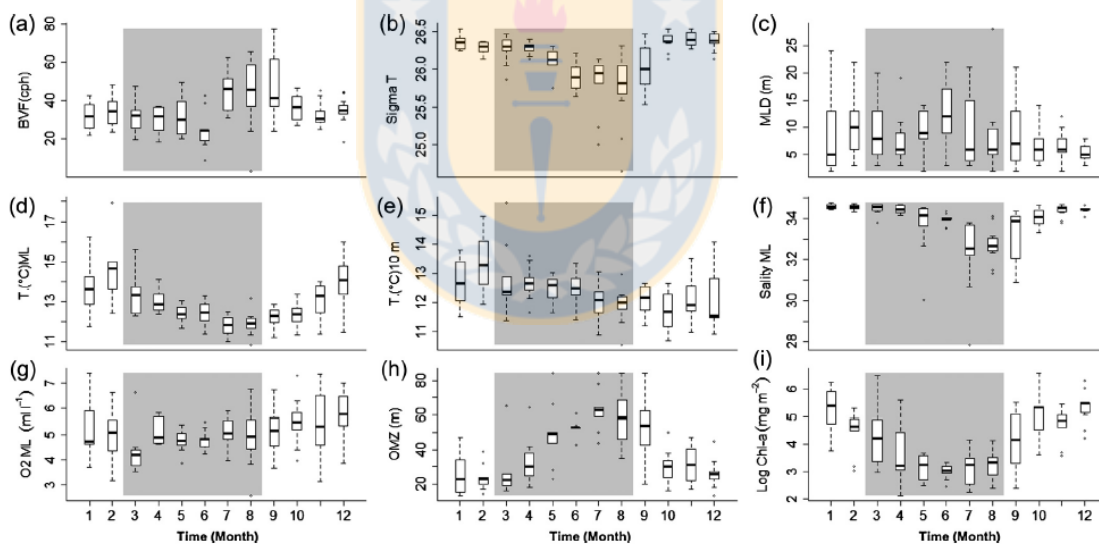


Fig. 3. Boxplots of monthly (a) Brunt Väisala frequency, (b) Sigma T, (c) Mixed Layer Depth (MLD), (d) mean temperature of ML, (e) temperature 10 m, (f) salinity of ML, (g) mean oxygen concentration of ML, (h) depth of the oxygen minimum zone, (i) integrated (0–80 m) chlorophyll *a* (Chl *a*). The boundary of the box indicates the 25th and 75th percentiles, the line within the box indicates the median, the whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles, and the dots outside the box are outlying values. White areas represent upwelling period (September to February), and shaded areas represent downwelling period (March to August).

mean abundances were greater in spring–summer than in winter (Fig. 6b). According to ANOVA, four factors (day/night, deep strata, period, up/down welling) significantly affected total abundance, such that abundance was greater at night, greater in the upper layer (0–50 m), greater during the second half of the study (2008–2012), and greater during upwelling (Table 3).

Normalized size spectra showed a suitable linear fit ($R^2 = 0.87 \pm 0.09$), with a negative slope ranging between -2.53 and -0.44 and an average slope of -1.42 ± 0.40 (mean \pm SD). This slope varied significantly between periods and upwelling vs downwelling (Table 3, Figs. 6a and 7). The annual cycle had a slope with a median value of about -1.5 in every month. However, extremely

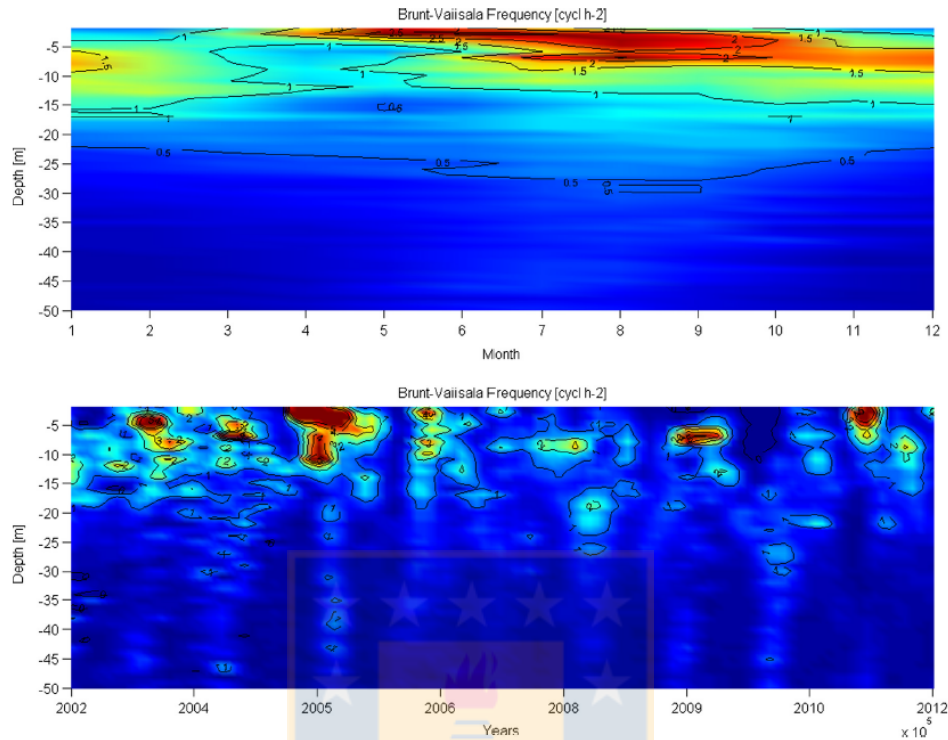


Fig. 4. Annual and interannual mean cycles of the Brunt-Vaisala frequency of time series 2002–2012 at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Black lines enclose autumn–winter periods (March to August).

Table 2

Basic statistics of the zooplankton biological variables measured in the time series (2002–2012) maintained at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Mean \pm standard deviation (Sd), and range of values (min–max), $n = 124$.

Variable	Mean	Sd	Min	Max
Size spectrum slope	–1.42	0.40	–2.53	–0.44
N (ind m^{-3})	486.88	978.45	2.98	9849.92
H'size taxa	0.84	0.20	0.24	1.28
H'size class	1.32	0.56	0.31	2.99

negative values were found during March, May and November and positive ones in June and August. In late autumn and winter size spectra were found with more positive slopes (Fig. 6a). ANOVA did not show significant changes of size slope between day and night or strata depth (Table 3, also Fig. 7), but there were significant differences between upwelling and downwelling periods (Table 3), and mean slopes were steeper in 2002–2007 than in 2008–2012. Steeper (more negative) slopes were also found during upwelling periods throughout the time series. Meantime, the abundance of zooplankton was significantly different among all conditions (Table 3).

Diversity indices exhibited significant ($P < 0.01$) positive trends throughout the time series (Fig. 5c and d), indicating an increase in taxa and size class diversity through the last period of the time series. There are also seasonal variations in these indices. For instance, the monthly means of both indices dropped during late summer and autumn (March–April) and increased by mid winter (July) through early spring (September) (Fig. 6c and d).

3.3. Environmental correlations

The values of cross-correlations between environmental and biological responses were significant in several cases ($r > 0.19$). At time lag = 0, the slope of the size spectra and abundance of zooplankton showed a high cross-correlation with the mixed layer depth ($r = 0.22$ and $r = -0.30$, respectively), and taxa size diversity showed a high and positive cross-correlation ($r > 0.20$) with oxygen content of the mixed layer. At time lags of ± 1 and ± 2 abundance correlated significantly with temperature and OMZ depth and Chl *a*, whereas size diversity showed a significant correlation to temperature of the mixed layer. Significant cross-correlations with time lags greater than 3 were also found and they are shown in Table 4. For example, the slope was correlated to Chl *a* ($r = -0.21$, time lag = –8), and zooplankton abundance to temperature ($r = 0.28$, time lag = –3). The depth of the OMZ and Brunt-Vaisälä frequency showed high negative cross-correlations with diversity index of taxa ($r = -0.28$ and $r = -0.33$) and size class ($r = -0.27$ and $r = -0.28$) with times lags of 14–16 and 4–12 months, respectively (Table 4).

Two sources of variability were considered to examine changes in zooplankton community structure, seasonal and interannual. Seasonal effects were assessed by comparing upwelling vs. non-upwelling periods, whereas interannual effects were examined by dividing the series into two major periods of equal length: 2002–2007 and 2008–2012. The multivariate Principal Component Analysis (PCA) allowed us to distinguish some groupings associated with these two sources of variation and in relation to the environmental variables throughout the time series. The first two components explained 56.7% of total variance of the series

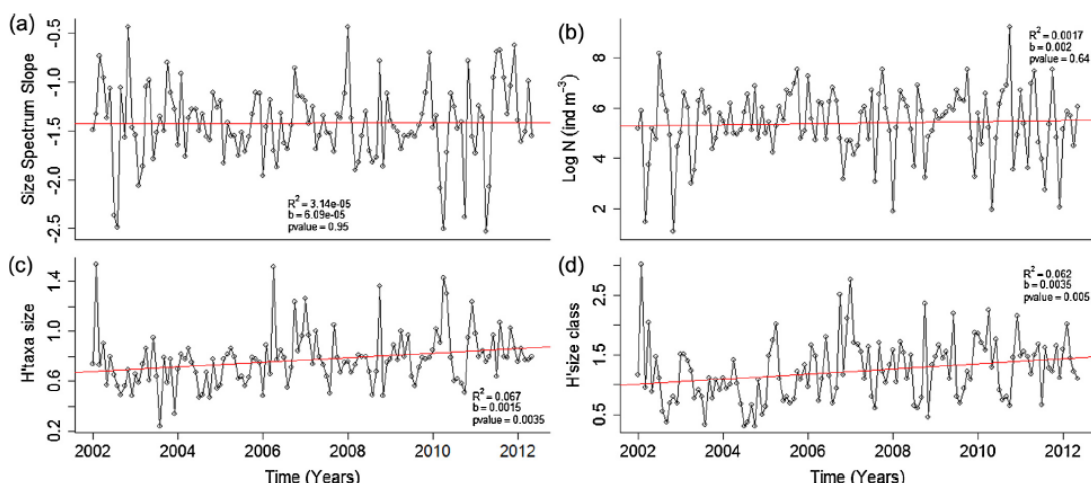


Fig. 5. Time series of biological variables of zooplankton at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. (a) Slope of normalized size spectra of the zooplankton community, (b) log-normalized abundance of zooplankton, (c) Shannon–Wiener diversity index as standardized by size, (d) Shannon–Wiener index for size classes. The continuous line show the linear trend.

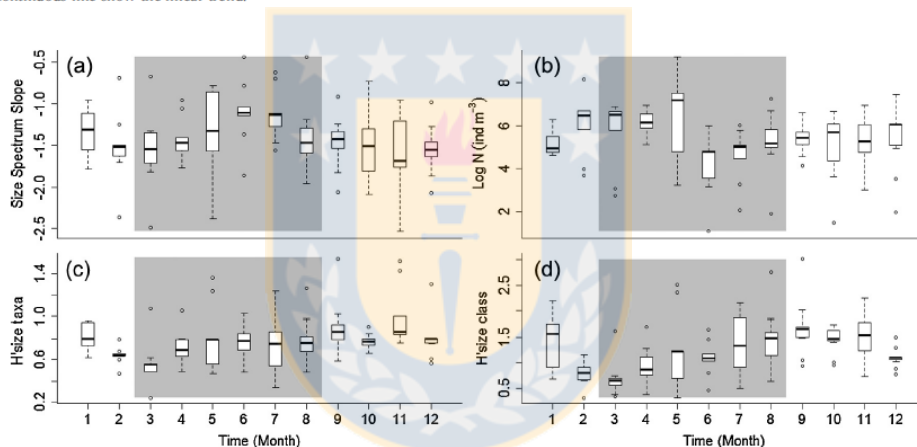


Fig. 6. Boxplots of monthly slope of size spectra of zooplankton (a), log-normalized abundance of zooplankton (b), Shannon–Wiener index for taxa standardized by size (c), Shannon–Wiener index for size classes (d). The boundary of the box indicates the 25th and 75th percentiles, the line within the box indicates the median, the whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles, and the dots outside the box are outlying values. White areas represent upwelling periods (September to February), and shaded areas represent downwelling periods (March to August).

Table 3

ANOVA to test the effects of variable conditions at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile on abundance and the slope of size spectra of the zooplankton community.

Source of variation	df	Sum Sq	Mean Sq	F ratio	P-value
<i>N (ind m⁻³)</i>					
Day/night	1	118.581	118.581	78.703	0.000***
Surface/depth/integrated	2	11.245	5.622	3.655	0.026*
Period	1	117.329	117.329	77.854	0.000***
Up/down-welling	1	23.422	23.422	15.267	0.000***
Error	3444	5013.7	1.456		
<i>b slope size spectrum</i>					
Day/night	1	0.000	0.741	0.001	0.972
Surface/depth/integrated	1	0.046	0.045	0.267	0.605
Period	1	0.741	0.741	4.324	0.044*
Up/down-welling	1	0.703	0.703	4.100	0.038*
Error	199	34.115	0.171		

This result is statistically significant. ***(0%), **(0.001%), *(0.05%).

(PC1 = 30.6%; PC2 = 26.1%). PC1 was related to temperature and oxygen, whereas PC2 was related to stratification. These two components accounted for OMZ depth, mixed layer depth, and Chl *a*. Stratification and OMZ depth were associated with non-upwelling conditions, whereas temperature and oxygen were associated with upwelling events. Grouping of samples for seasonal and period effects are illustrated in Fig. 8.

A similarity analysis (ANOSIM) of 2002–2007 and 2008–2012 showed significant differences in zooplankton abundance and community composition ($R = 0.061$, $p < 0.05$), but not between upwelling and non-upwelling ($r = 0.014$, $p > 0.05$). Classification and ordination analyses (clustering, MDS) were done using the Bray–Curtis index and revealed 60% similarity. On a seasonal scale (upwelling–downwelling) did not show a clear grouping. However, grouping of some samples was found when considering the two halves of the study period, and also when mixing samples from

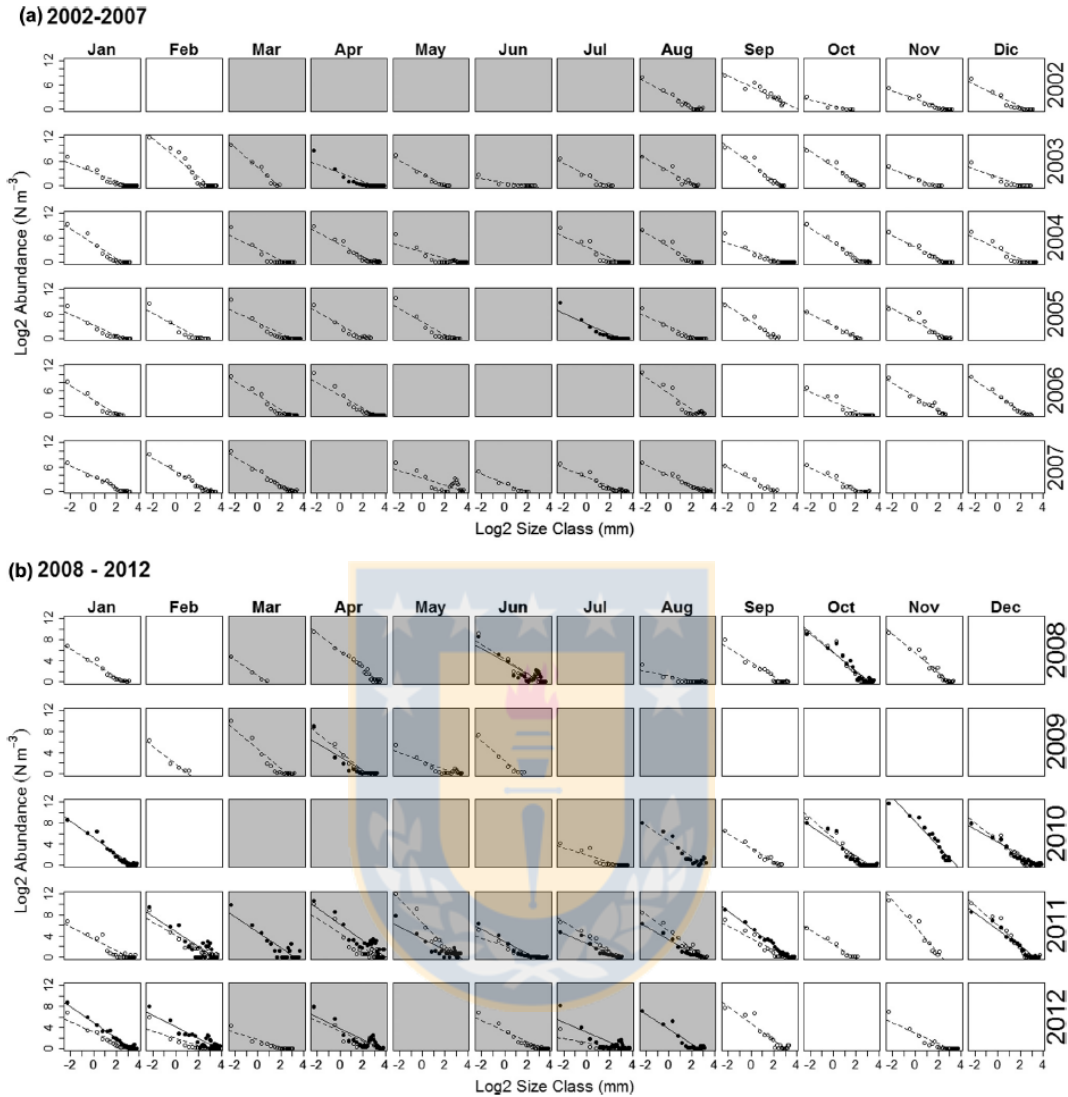


Fig. 7. Log-normalized size spectrum of zooplankton from Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Upper panel: Period 1 (2002–2007), lower panel: Period 2 (2008–2012). White areas represent upwelling periods (September to February), and shaded areas represent downwelling periods (March to August). White circles = day samples and black circles = night samples. Empty panels = no sample during this month.

both periods (Fig. 9). The correlation analysis between taxa abundances and the axes of the MDS showed that copepods (large, medium and small sized), appendicularians, crustacean larvae and ostracods accounted for the greatest differences between periods. SIMPER analysis revealed an average contribution of 65.31% to similarity by taxonomic composition, characterized by presence of small and medium size copepods, ostracods and appendicularian in the first period (2002–2007). Conversely, the contribution to similarity of taxa from 2008 to 2012 was 58.26%, and most important groups were small and medium sized copepods and ostracods. Meantime, the taxa that have more average contribution to dissimilarity between periods were small, medium and large sized copepods.

Changes in community structure from Period 1 to Period 2 are reflected in variation of taxa composition in terms of relative abundance (Fig. 10), which shows two remarkable distinct communities. During second period, small sized copepods (<1 mm) decreased in abundance, being replaced by larger sized (>1.5 mm) and medium size copepods (1–1.5 mm), whereas euphausiids, decapod larvae, appendicularian and ostracods increased their abundance during the second period (Fig. 10).

4. Discussion

The use of Zoolmage appears as a valuable tool to assess variations in the zooplankton community structure. Unlike the

Table 4

Cross-correlation functions for pairs of oceanographic vs biological variables. Values in brackets show the time-lag (months) between the environmental forcing and the biological response. BVF = Brunt-Väisälä Frequency, MLD = Mixed Layer Depth, T_MLD = mean temperature of Mixed Layer Depth, O2_MLD = mean oxygen concentration of Mixed Layer Depth, OMZ = depth of the oxygen minimum zone, Chl *a* = integrated chlorophyll *a*, *b* = slope size spectrum, N = abundance, H'ts = Shannon-Weaver diversity index for major taxa standardized by size, H'sc = Shannon-Weaver diversity index of size class. Significant values are $r > 0.19$.

	<i>b</i>	N	H'ts	H'sc
BVF	0.18 (-2) -0.19 (-12)	-0.18 (-2)	-0.28 (12) -0.24 (4)	-0.27 (4) -0.25 (12)
MLD	0.22 (0)	-0.30 (0)	0.26 (12) 0.21 (-3)	0.25 (18) 0.22 (1) 0.20 (4,12)
T_MLD	0.18 (-1)	0.28 (-3) 0.20 (1)	-0.20 (9,10)	-0.19 (9)
O2_MLD	0.19 (3)	-0.23 (18) -0.20 (19)	0.22 (0)	0.25 (0)
OMZ		0.22 (2)	-0.33 (14) -0.29 (16)	-0.28 (16)
Chl <i>a</i>	-0.21 (-8)	-0.23 (-4) -0.20 (-2)	-0.23 (8)	0.22 (8) 0.20 (-5)

traditional taxonomic method, which is time-consuming, this automated approach allows us to rapidly determine variation in zooplankton size distributions and major taxa composition (Benfield et al., 2007; Bachiller et al., 2012). However, considering the taxonomic resolution of our training set, we cannot detect changes in particular species, which could indicate alteration of migration processes or biogeographic patterns, as shown for the copepod community in the same region (Pino-Pinuer et al., 2014). The confusion matrix also indicated that some errors in taxa identification can occur when too few objects (specimens) are available for the training set. Therefore, caution should be taken when interpreting changes in taxa which are less abundant.

There are also potential sources of biases for interpreting community changes when data come from a single sampling station. For instance, high frequency variation in zooplankton distribution due to advection, mixing and migration processes can affect the monthly pattern at Station 18 (Peterson, 1998; Aguilera et al., 2009). These effects are minimized by increasing sampling size over time, and thus focusing on longer time scales, such as seasonal

and interannual. Also, previous studies have shown that Station 18 can properly represent plankton variability of the upwelling zone over the continental shelf of this region (Escribano et al., 2007; Morales and Anabalón, 2012).

Changing the community structure of zooplankton as a response to large-scale variability of the upwelling process should be considered as critical for the ecosystem functioning in the eastern south Pacific. Size structure is an important attribute of the community at lower trophic levels (Peters, 1986). Species composition modulates trophic interactions, community metabolism, and the flux of energy and C through the food web (Peters, 1986), with consequences for productivity of higher trophic levels. All of these changes can affect the food chains and C flux, with negative consequences for the C pump and commercially important fishes (Beaugrand et al., 2010). These changes in size and composition can certainly relate to species and species assemblages variation. For instance, alterations in the proportion of dominant species of copepods (Pino-Pinuer et al., 2014), responded to the local oceanographic variations as revealed by the presence of steeper slopes during the upwelling season when small-sized organisms were more abundant, and flatter slopes during downwelling, when the community had more diverse taxa and sizes. This last result did not agree with that of Manríquez et al. (2009), who found a steeper slope during non-upwelling conditions for the first three years of the time series (2002–2005). It may be that our much longer time series better revealed the actual seasonal pattern. Small organisms may predominate during upwelling because of a greater abundance of larval stages, mainly from copepods but from other crustaceans as well, which spawn and reproduce more rapidly in spring–summer in this region (Vargas et al., 2010).

When explaining observed changes in the community structure, bottom-up and top-down processes should be considered. Both can exert their influence on zooplankton populations and communities (Checkley et al., 2009). Although food resources (bottom-up effects) for zooplankton are represented by a variety of autotrophic and heterotrophic components, it has usually been assumed that phytoplankton biomass (Chl *a*) is the key indicator of food condition, whereas top-down effects are commonly associated with presence of vertebrate and invertebrate predators (Bachiller and Irigoien, 2015). For the seasonal cycle, food conditions may influence zooplankton dynamics and structure (Vargas et al., 2006,

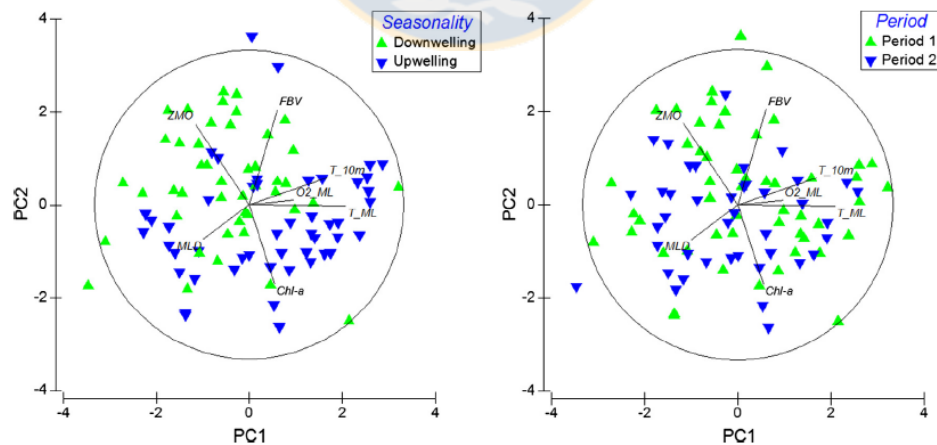


Fig. 8. Principal component analysis to assess oceanographic variation at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile for two station Upwelling (September to February) and Downwelling (March to August) and for two comparative periods: Period 1 (2002–2007) and Period 2 (2008–2012). BVF = Brunt-Väisälä frequency, MLD = Mixed Layer Depth, T_ML = mean temperature of mixed layer, T_10 m = temperature of 10 m, O2_ML = mean oxygen concentration of mixed layer, OMZ = depth of the oxygen minimum zone, Chl *a* = integrated (0–80 m) chlorophyll *a*.

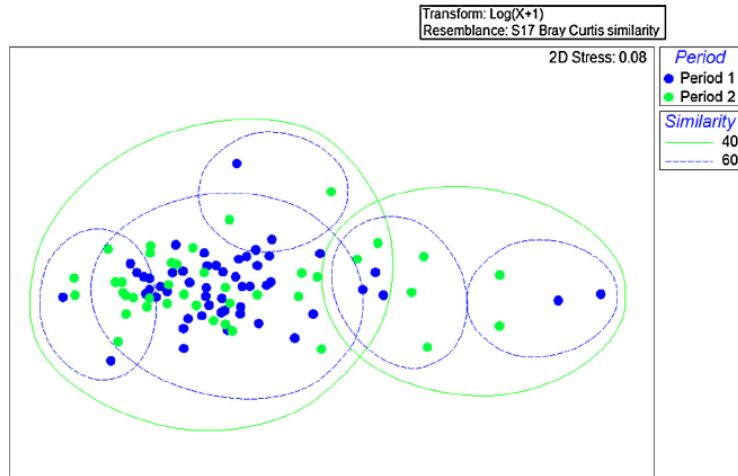


Fig. 9. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) plot on the first two axes based on the Bray-Curtis similarities of the log ($x + 1$) of transformed zooplankton abundance data for two comparative periods: Period 1 (2002–2007) and Period 2 (2008–2012) (stress = 0.08).

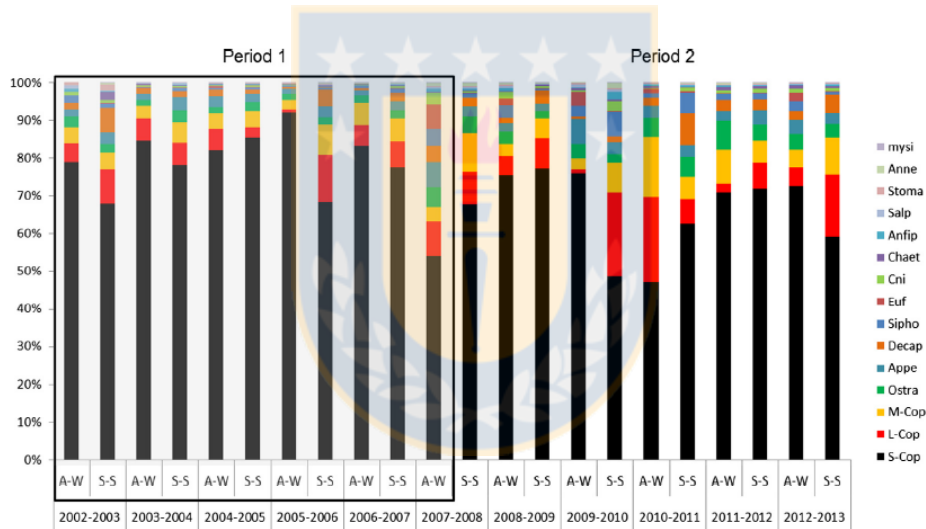


Fig. 10. Changes of the major taxa zooplankton community during time series 2002–2012 at station 18 in the coastal upwelling zone off centre-south of Chile. Taxa composition was assessed by Zoolmage. Data are compared for two consecutive periods: Period 1 (2002–2007) and Period 2 (2008–2012).

2010). For instance, Chl *a* concentrations have shown strong seasonality at Station 18 with significant differences between upwelling and non-upwelling conditions (Fig. 3i). Also, chain-forming diatoms dominated during upwelling and flagellates (nanoplankton) were more abundant during the non-upwelling season (Anabalón et al., 2007; Böttjer and Morales, 2007; Morales and Anabalón, 2012). These seasonal food variations can influence the annual life cycles and, subsequently, the community structure of zooplankton over the seasonal scale by changing the abundance of dominant species (Vargas et al., 2010). In addition, our time series data clearly showed a strong seasonal pattern for most oceanographic variables. For example, seasonality was evident in the stratification of the water column and OMZ depth. These variables followed the pattern previously described by

Sobarzo et al. (2007) for the earlier period (2002–2007). This local variability may also depend on prevailing water masses at the time of sampling at Station 18. During non-upwelling conditions, Sub-Antarctic Surface Water (SAS) is the dominant water mass (salinity = 33.8–34.3), although the upper layer (0–20 m) of the coastal zone is less salty due to rainfall (Sobarzo, 1993, 1994; Sobarzo et al., 1997; Faúndez-Báez et al., 2001). In contrast, during the more active upwelling season (spring–summer), the predominant water mass is Equatorial Subsurface Water (ESSW) (salinity = 34.3–34.5), a cooler (ca. 9 °C), less dense (25.7 kg m^{-3}) water mass with much lower oxygen content ($<1 \text{ mL}^{-1} \text{ O}_2$) (Strub et al., 1998). Fluctuations in salinity, oxygen content, and temperature reflect the presence of these water masses over a seasonal scale (Fig. 2). All these seasonal changes in the proportion of water

masses can influence zooplankton composition by advection and mixing of different populations and fauna from coastal, offshore and southern regions (Hidalgo et al., 2010).

As to explain interannual changes, we should note that major changes in the water column at Station 18 were driven by increased upwelling during the second half of the time series (2008–2012) (Pino-Pinuer et al., 2014). In fact, the time series evidenced a significant decrease in stratification through the years, associated with a deeper mixed layer in the last 5 years of the time series (2008–2012). Meantime, the gradual cooling of the water column may be related to a large-scale phenomenon in the eastern South Pacific, resulting from strengthening of the southerly winds (Garreaud and Falvey, 2008; Belmadani et al., 2013). This large-scale variability may be associated with the Interdecadal Pacific Oscillation (IPO) or the Pacific Decadal Oscillation (PDO) (Montecino et al., 2006; Roemmich et al., 2007; Schneider et al., 2007; Bakun et al., 2010; Ancapichún and Garcés-Vargas, 2015). Heightened southerly winds occurred between 37°S and 41°S in spring–summer, extending the upwelling-favorable period and promoting a more frequent, longer-lasting coastal jet. Cold-upwelled water could thus advect offshore, increasing the activity of mesoscale eddies. In autumn and winter, the strengthening southerly winds concentrated over the subtropical latitudes and maintained the seasonal jet throughout the year (Garreaud and Falvey, 2008). In the same context, Ancapichún and Garcés-Vargas (2015) reported a decreasing trend in temperature of about -0.0016°C per month (-0.19°C per decade) along the South American coast between 2000 and 2012. In our study, the mean temperature decreased with a linear negative trend (slope = -0.032).

Interannual variation in zooplankton community structure should also relate to modifications in the conditions of the water column that occur from year to year. For instance, food conditions can change due to the effect of stratification or nutrient availability on primary production. In this respect, our proxy (Chl *a* concentration) for primary production and, hence, food conditions for zooplankton and Chl *a* concentrations did not show significant trends during the entire time series (2002–2012), nor there were significant interannual variations detected at the onset, duration, and amplitude of phytoplankton blooms (Corredor-Acosta et al., 2015), suggesting that food quantity remained high and consistent throughout the study period. Thus, food conditions, at least in terms of food quantity, may not be a determining factor for zooplankton responses. Alterations in food quality by modifications of the autotrophic community in terms of dominant groups can affect zooplankton feeding in upwelling systems (Irigoien et al., 2005; Vargas et al., 2006), and perhaps influencing species composition of zooplankton. However, in this strongly seasonal upwelling system, zooplankton seem to have adapted to alternate or modify their diet depending on a highly variable food offering (Vargas et al., 2010), such that populations can even sustain reproduction, cohort development and growth continuously year round (Escribano et al., 2014). Thus, interannual bottom-up control of zooplankton populations seems unlikely providing that food sources are abundant a diverse throughout the year cycle, as shown at least for copepods (Vargas et al., 2006).

Over the interannual scale, we could also consider potential top-down control on the zooplankton community. The pelagic community includes important predators: cnidaria, chaetognath, fish larvae, and certainly fishes. All these predators might selectively prey on copepods or other zooplankton, thereby modifying the community size structure. For instance, we found a positive linear correlation between gelatinous zooplankton and copepods ($r^2 = 0.30$), suggesting co-occurrence, although not necessarily a top-down control (Gerritsen and Strickler, 1977). Verheye et al. (1992) stressed that top-down controls may not act individually, and the complexity of prey-predator interactions within the

zooplankton community are not easily discernible (Bachiller and Irigoien, 2015). Furthermore, Schmoker and Hernández-León (2013) suggested that important changes in the structure of pelagic communities can result from a combination of top-down and bottom-up controls.

The positive trends in size and taxa diversity revealed that important changes are taking place in the zooplankton community as a response to changing conditions of the water column. In the North Atlantic, Beaugrand et al. (2010) postulated that ocean warming and greater stratification led to a spatial reorganization of the zooplankton community, with increasing diversity of phytoplankton and zooplankton accompanied by a size reduction. In our time series, significant changes in species composition of the dominant copepod group occurred between 2002 and 2012 (Pino-Pinuer et al., 2014). These changes were accompanied by alterations in the dominance of copepod species. The small copepod *Paracalanus* cf. *indicus* was replaced by *Drepanopus forcipatus*, there was reduction in abundance of the larger sized copepods *Calanoides patagoniensis* and *Rhyncalanus nasutus* (Pino-pinuer et al., 2014). The dominant euphausiid, *E. mucronata*, which at times contribute substantially to the zooplankton biomass in this upwelling zone (Riquelme-Bugueño et al., 2012) has also potentially decreased in abundance in the last decade (Escribano et al., 2012). Possibly, compositions of other groups have also been modified and that this affected the size structure of the whole community. This variation can have strong effects on the food field available for important fish populations in upwelling zones, such as anchovies and sardines (Bachiller et al., 2015; Bachiller and Irigoien, 2015).

Clearly, it is not easy to dissect the key factors that give rise to the changes observed in the zooplankton community structure. It is likely that these responses obey a multifactor effect acting on different processes and at different levels of the organisms comprising the community. Over a seasonal scale, increased upwelling in spring–summer leads to: (1) a shallow OMZ (oxygen deficient habitat), (2) greater equatorward transport, (3) generation of mesoscale eddies, (4) more offshore advection, and (5) more mixing. The ascent of the OMZ during upwelling is an important factor affecting zooplankton populations. The incursion of the upper limit of the OMZ into the upper layer (<50 m) can effectively reduce the oxygenated habitat for the dominant zooplankton, such as copepods (Escribano et al., 2009; Wishner et al., 2013), allowing more aggregation of zooplankton and, thus, increasing biological (e.g., trophic) interactions among species. A shallow OMZ also alters diel vertical migration (DVM) patterns and vertical distributions of zooplankton, thereby increasing predation and mortality (Wishner et al., 2013). Furthermore, water column cooling affects zooplankton populations by reducing their development and growth rates (Escribano et al., 2014). Temperature affects all the physiological rates of zooplankton, influencing population dynamics which, in turn, are reflected in community and size structure in the long run. Low temperatures retard development, especially in young stages (eggs, larvae), which affects recruitment and population growth (Huntley and Lopez, 1992). Temperature is subject to highly frequent variations in the upwelling zone, and zooplankton must cope with this variability (Peterson, 1998). However, a gradual cooling over an interannual scale could also have a cumulative effect on population dynamics that is reflected in the community structure after several years. These gradual changes in community structure cannot be easily accounted by the multivariable PCA and MDS analyses when splitting the series into two periods, because of samples mixing from both periods and the transition between them. Long-term trends can better reflect such gradual changes in size and taxa diversity.

To summarize, oceanographic conditions have changed over the decade. The water column has become less stratified, more saline,

and colder; the mixed layer has deepened; and the OMZ has shoaled during the second half of the time series. In association to these changes, taxonomic and size diversity of the zooplankton community has increased to the more recent period. For period 2008–2012, small sized copepods (<1.5 mm) decreased in abundance, being replaced by larger sized (>2.0 mm) and medium size copepods (>1.5–<2.5 mm), whereas euphausiids, decapod larvae, appendicularian and ostracods increased their abundance during the second period. Both seasonal and interannual conditions affected the zooplankton community structure, and the key variables appear related to stratification, temperature, oxygenation and OMZ depth. There were no apparent effects of Chl *a* concentration, salinity, depth distribution and day vs nighttime conditions on size and taxonomic structure, although total abundance of zooplankton can also strongly depend on daytime/nighttime conditions and depth distribution. Climate-induced forcing on upwelling trends, altering oceanographic conditions can therefore modify the zooplankton community in this highly productive region with potential consequences for the functioning ecosystem food web.

Acknowledgements

This work has been funded by FONDECYT of Chile, Grant 1120478. Time series study was funded by FONDAP COPAS Program of CONICYT – Chile. Additional funding has been provided by the Millennium Institute of Oceanography (IMO). Graduate studies of J. Medellín-Mora were supported by CONICYT Scholarship of Chile and REDOC project of Universidad de Concepción. We thank the Kay Kay crew and scientific staff for the time series sampling. This work is a contribution to ANTARES IAI CRN3094 project.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2016.01.005>.

References

- Aguilera, V., Escribano, R., Herrera, L., 2009. High frequency responses of nanoplankton and microplankton to wind-driven upwelling off northern Chile. *Journal of Marine Systems* 78, 124–135.
- Ancapichún, S., Garcés-Vargas, J., 2015. Variability of the Southeast Pacific Subtropical Anticyclone and its impact on sea surface temperature off north-central Chile. *Ciencias Marinas* 41, 1–20. <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v41i1.2338>.
- Anabalón, V., Morales, C., Escribano, R., Varas, M.A., 2007. The contribution of nano- and micro-planktonic assemblages in the surface layer (0–30 m) under different hydrographic conditions in the upwelling area off Concepción, central Chile. *Progress in Oceanography* 75, 396–414. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2007.08.023>.
- Bachiller, E., Fernandes, J.A., Irigoien, X., 2012. Improving semiautomated zooplankton classification using an internal control and different imaging devices. *Limnology and Oceanography Methods* 10, 1–9. <http://dx.doi.org/10.4319/lom.2012.10.1>.
- Bachiller, E., Cotano, U., Ibaibarría, L., Santos, M., Irigoien, X., 2015. Intraguild predation between small pelagic fish in the Bay of Biscay: impact on anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) egg mortality. *Marine Biology* 162, 351–1369. <http://dx.doi.org/10.1007/s00227-015-2674-0>.
- Bachiller, E., Irigoien, X., 2015. Trophodynamics and diet overlap of small pelagic fish species in the Bay of Biscay. *Marine Ecology Progress Series*. <http://dx.doi.org/10.3354/meps11375>.
- Bakun, A., Field, D.B., Redondo-Rodríguez, A.N.A., Weeks, S.J., 2010. Greenhouse gas, upwelling-favorable winds, and the future of coastal ocean upwelling ecosystems. *Global Change Biology* 16, 1213–1228. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.02094>.
- Beaugrand, G., Edwards, M., Legendre, L., 2010. Marine biodiversity, ecosystem functioning, and carbon cycles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 10120–10124. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0913855107>.
- Belmadani, A., Echevin, V., Codron, F., Takahashi, K., Junquas, C., 2013. What dynamics drive future wind scenarios for coastal upwelling off Peru and Chile? *Climate Dynamics* 43, 1893–1914. <http://dx.doi.org/10.1007/s00382-013-2015-2>.
- Benfield, M.C., Grosjean, P., Culverhouse, P.F., Irigoien, X., Sieracki, M.E., Lopez-Urrutia, A., Dam, H.G., Hu, Q., Davis, C.S., Hansen, A., 2007. RAPID: research on automated plankton identification. *Oceanography Society* 20, 172–187. <http://dx.doi.org/10.5670/oceanog.2007.63>.
- Böttjer, D., Morales, C.E., 2007. Nanoplanktonic assemblages in the upwelling area off Concepción (~36°S), central Chile: abundance, biomass, and grazing potential during the annual cycle. *Progress in Oceanography* 75, 415–434. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2007.08.024>.
- Checkley, J., Alheit, J., Oozeki, C. Roy (Eds.), 2009. *Climate Change and Small Pelagic Fish*. Cambridge University Press, Cambridge, New York, UK. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511596681>.
- Chiba, S., Batten, S.D., Yoshiki, T., Sasaki, Y., Sasaoka, K., Sugisaki, H., Ichikawa, T., 2015. Temperature and zooplankton size structure: climate control and basin-scale comparison in the North Pacific. *Ecology and Evolution* 5, 968–978. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.1408>.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. *PRIMER v6: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E, Plymouth.
- Corredor-Acosta, A., Morales, C., Hormazabal, S., Andrade, I., Correa-Ramirez, M., 2015. Phytoplankton phenology in the coastal upwelling region off central-southern Chile (35°S–38°S): time-space variability, coupling to environmental factors, and sources of uncertainty in the estimates. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 120 (2), 813–831. <http://dx.doi.org/10.1002/2014JC010330>.
- Daufresne, M., Lengfellner, K., Sommer, U., 2009. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 12788–12793. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0902080106>.
- Doney, S.C., 2006. Oceanography: plankton in a warmer world. *Nature* 444, 695–696. <http://dx.doi.org/10.1038/444695a>.
- Doney, S.C., Ruckelshaus, M., Duffy, J.E., Barry, J.P., Chan, F., English, C.A., Galindo, H. M., Grebmeier, J.M., Hollowed, A.B., Knowlton, N., 2012. Climate change impacts on marine ecosystems. *Marine Science* 4. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-marine-041911-111611>.
- Escribano, R., Schneider, W., 2007. The structure and functioning of the coastal upwelling system off central/southern Chile. *Progress in Oceanography* 75, 343–347. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2007.08.020>.
- Escribano, R., Hidalgo, P., González, H., Giesecke, R., Riquelme-Bugueño, R., Manríquez, K., 2007. Seasonal and inter-annual variation of mesozooplankton in the coastal upwelling zone off central-southern Chile. *Progress in Oceanography* 75, 470–485. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2007.08.027>.
- Escribano, R., Hidalgo, P., Krautz, C., 2009. Zooplankton associated with the oxygen minimum zone system in the northern upwelling region of Chile during March 2000. *Deep Sea Research, Part II, The Oceanography of the eastern South Pacific* 56, 1049–1060. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr2.2008.09.009>.
- Escribano, R., Hidalgo, P., Fuentes, M., Donoso, K., 2012. Zooplankton time series in the coastal zone off Chile: variation in upwelling and responses of the copepod community. *Progress in Oceanography* 97–100, 174–186. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2011.11.006>.
- Escribano, R., Hidalgo, P., Valdés, V., Frederick, L., 2014. Temperature effects on development and reproduction of copepods in the Humboldt Current: the advantage of rapid growth. *Journal of Plankton Research* 36, 104–116. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbt095>.
- Faúndez-Báez, P., Morales, C.E., Arcos, D., 2001. Variabilidad espacial y temporal en la hidrografía invernal del sistema de bahías frente a la VIII región (Chile centro-sur). *Revista chilena de historia natural* 74 (4), 817–831. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2001000400009>.
- Garreaud, R.D., Falvey, M., 2008. The coastal winds off western subtropical South America in future climate scenarios. *International Journal of Climatology* 29, 543–554. <http://dx.doi.org/10.1002/joc.1716>.
- Gerritsen, J., Strickler, J.R., 1977. Encounter probabilities and community structure in zooplankton: a mathematical model. *Journal of Fishery Research Board of Canada* 34, 73–82. <http://dx.doi.org/10.1139/f77-008>.
- González, C., Escribano, R., Hidalgo, P., 2015. Intra-seasonal variation of upwelling and its effects on copepod community structure off central/southern Chile (2002–2009). *Hydrobiologia*, 1–14. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-015-2265-6>.
- Grosjean, P., Denis, K., 2007. *Zoolmage Users Manual*. Sciviews.org/Zoo/Phytoplimage (accessed 21.04.08).
- Hidalgo, P., Escribano, R., Fuentes, M., Jorquera, E., Vergara, O., 2012. How coastal upwelling influences spatial patterns of size-structured diversity of copepods off central-southern Chile (summer 2009). *Progress in Oceanography* 92–95, 134–145. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2011.07.012>.
- Hidalgo, P., Escribano, R., Vergara, O., Jorquera, E., Donoso, K., Mendoza, P., 2010. Patterns of copepod diversity in the Chilean coastal upwelling system. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 57, 2089–2097. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.09.012>.
- Huntley, M.E., Lopez, M.D., 1992. Temperature-dependent production of marine copepods: a global synthesis. *American Naturalist*, 201–242. <http://www.jstor.org/stable/2462607>.
- IOC, S., IAPSO, 2010. *The International Thermodynamic Equation of Seawater – 2010: Calculation and Use of Thermodynamic Properties*. Intergovernmental Oceanographic Commission, Manuals and Guides. www.teos-10.org/pubs/TEOS-10_Manual.pdf.
- Irigoien, X., Verheye, H.M., Harris, R., Harbour, P., 2005. Effect of food composition on egg production and hatching success rate of two copepod species (*Calanoides carinatus* and *Rhincalanus nasutus*) in the Benguela upwelling system. *Journal of Plankton Research* 27, 735–742. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbi046>.



- Landry, M., Kishi, M., 2013. Introduction: sensitivities of marine food webs and biogeochemical cycles to enhanced ocean stratification. *Progress in Oceanography* 119, 1–3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poccean.2013.10.001>.
- Mackas, D.L., Batten, S., Trudel, M., 2007. Effects on zooplankton of a warmer ocean: recent evidence from the Northeast Pacific. *Progress in Oceanography* 75, 223–252. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poccean.2007.08.010>.
- Mann, K., Lazier, J., 1991. *Dynamics of Marine Ecosystem*. Blackwell Science.
- Manríquez, K., Escribano, R., Hidalgo, P., 2009. The influence of coastal upwelling on the mesozooplankton community structure in the coastal zone off Central/Southern Chile as assessed by automated image analysis. *Journal of Plankton Research* 31, 1075–1088. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbp053>.
- Manríquez, K., Escribano, R., Riquelme-Bugueño, R., 2012. Spatial structure of the zooplankton community in the coastal upwelling system off central-southern Chile in spring 2004 as assessed by automated image analysis. *Progress in Oceanography* 92–95, 121–133. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poccean.2011.07.020>.
- Montecino, V., Strub, P., Chavez, F., Thomas, A., Tarazona, J., Baumgartner, T., 2006. Bio-physical interactions off western South-America. In: Robinson, A.R., Brink, K.H. (Eds.), *The Sea: The Global Coastal Ocean: Interdisciplinary Regional Studies and Syntheses*, vol. 14, pp. 329–390. <<http://www.hup.harvard.edu/catalog.php?isbn=9780674015272>>.
- Morales, C.E., Anabalón, V., 2012. Phytoplankton biomass and microbial abundances during the spring upwelling season in the coastal area off Concepción, central-southern Chile: variability around a time series station. *Progress in Oceanography* 92, 81–91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poccean.2011.07.004>.
- Paulmier, A., Ruiz-Pino, D., 2009. Oxygen minimum zones (OMZs) in the modern ocean. *Progress in Oceanography* 80, 113–128. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poccean.2008.08.001>.
- Peters, R.H., 1986. *The Ecological Implications of Body Size*. Cambridge University Press. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511608551>.
- Peterson, W., 1998. Life cycle strategies of copepods in coastal upwelling zones. *Journal of Marine Systems* 15, 313–326. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-7963\(97\)00082-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-7963(97)00082-1).
- Pino-Pinuer, P., Escribano, R., Hidalgo, P., Riquelme-Bugueño, R., Schneider, W., 2014. Copepod community response to variable upwelling conditions off central-southern Chile during 2002–2004 and 2010–2012. *Marine Ecology Progress Series* 515, 83–95. <http://dx.doi.org/10.3354/meps11001>.
- R Core Team, 2014. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<http://www.R-project.org/>>.
- Richardson, A.J., 2008. In hot water: zooplankton and climate change. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 65, 279–295. <http://dx.doi.org/10.1093/icesjms/fsn028>.
- Riquelme-Bugueño, R., Núñez, S., Jorquera, E., Valenzuela, L., Escribano, R., Hormazábal, S., 2012. The influence of upwelling variation on the spatially-structured euphausiid community off central-southern Chile in 2007–2008. *Progress in Oceanography* 92–95, 146–165. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poccean.2011.07.003>.
- Roemmich, D., McGowan, J., 1995. Climatic warming and the decline of zooplankton in the California current. *Science* 267, 1324–1326. <http://dx.doi.org/10.1126/science.267.5202.1324> (New Series).
- Roemmich, D., Gilson, J., Davis, R., Sutton, P., Wijffels, S., Riser, S., 2007. Decadal spinup of the South Pacific subtropical gyre. *Journal of Physical Oceanography* 37, 162–173. <http://dx.doi.org/10.1175/JPO3004.1>.
- Schmoker, C., Hernández-León, S., 2013. Stratification effects on the plankton of the subtropical Canary Current. *Progress in Oceanography* 119, 24–31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poccean.2013.08.006>.
- Schneider, W., Fukasawa, M., Garcés-Vargas, J., Bravo, L., Uchida, H., Kawano, T., Fuenzalida, R., 2007. Spin-up of South Pacific subtropical gyre freshens and cools the upper layer of the eastern South Pacific Ocean. *Geophysical Research Letters* 34. <http://dx.doi.org/10.1029/2007GL031933>.
- Sobarzo, M., 1993. Caracterización de la circulación de Bahía Concepción, Chile: Un análisis temporal y en el dominio de la frecuencia. Tesis (Magister en Ciencias mención en Oceanografía) – Universidad de Concepción, Chile. 128 p.
- Sobarzo, M., 1994. Oceanografía física entre Punta Nugurme (35°57'S; 72°47'W) y Punta Manuel (38°30'S; 73°31'W), Chile: una revisión histórica (1936–1990). *Gayana Oceanológica* 2, 5–17.
- Sobarzo, M., Figueroa, D., Arcos, D., 1997. The influence of winds and tides in the formation of circulation layers in a Bay, a case study: Concepción Bay, Chile. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 45, 729–736. <http://dx.doi.org/10.1006/ecs.1997.0233>.
- Sobarzo, M., Bravo, L., Donoso, D., Garcés-Vargas, J., Schneider, W., 2007. Coastal upwelling and seasonal cycles that influence the water column over the continental shelf off central Chile. *Progress in Oceanography* 75, 363–382. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poccean.2007.08.022>.
- Strub, P., Mesías, J., Montecino, V., Rutlant, J., Salinas, S., 1998. Coastal ocean circulation off western South America. In: Robinson, A.R., Brink, K.H. (Eds.), *The Sea*, vol. 11, pp. 273–313.
- Taylor, L.R., 1961. Aggregation, variance and the mean. *Nature* 189, 732–735. <http://dx.doi.org/10.1038/189732a0>.
- Thiel, M., Macaya, E., Acuña, E., Arntz, W., Bastías, H., Brokordt, K., Camus, P., Castilla, J.C., Castro, Cortés, M., Dumont, C.P., Escribano, R., Fernández, M., Lancellotti, D.A., Fajardo, J.A., Gaymer, C.F., Gomez, I., González, A.E., Gonzalez, H.E., Haye, P.A., Illanes, J.-E., Iriarte, J.L., Luna-Jorquera, G., Luxoro, C., Manríquez, P.H., Marín, V., Muñoz, P., Navarrete, S.A., Perez, E., Poulin, E., Sellanes, J., Sepúlveda, A., Stotz, W., Tala, F., Thomas, A., Vargas, C.A., Vasquez, J.A., Vega, A., 2007. The Humboldt Current System of northern-central Chile oceanographic processes, ecological interactions and socio-economic feedback. *Marine Biology and Oceanography: An Annual Review* 45. <http://www.ieb-chile.cl/uploads/publicaciones/_Thiel_etal_2007_Ocean_Marin_Biol_AnuarRew.pdf>.
- Vargas, C., Martínez, R., Escribano, R., Lagos, N., 2010. Seasonal relative influence of food quantity, quality, and feeding behaviour on zooplankton growth regulation in coastal food webs. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 90, 1189–1201. <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315409990804>.
- Vargas, C., Escribano, R., Poulet, S., 2006. Phytoplankton food quality determines time windows for successful zooplankton reproductive pulses. *Ecology* 87 (12), 2992–2999. [http://dx.doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87](http://dx.doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87).
- Verheye, H., Hutchings, L., Huggett, J., Painting, S., 1992. Mesozooplankton dynamics in the Benguela ecosystem, with emphasis on the herbivorous copepods. *South African Journal of Marine Science* 12, 561–584. <http://dx.doi.org/10.2989/02577619209504725>.
- Wishner, K.F., Outram, D.M., Seibel, B.A., Daly, K.L., Williams, R.L., 2013. Zooplankton in the eastern tropical north Pacific: Boundary effects of oxygen minimum zone expansion. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 79, 122–140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr.2013.05.012>.

3.2. Capítulo 2: Variabilidad de la estructura de la comunidad del zooplancton en las aguas oceánicas del Caribe colombiano forzada por los regímenes climáticos estacionales

Johanna Medellín-Mora, Rubén Escribano, Wolfgang Schneider, Marco Correa and Néstor Campos

Resumen

La zona oceánica del Caribe colombiano mostró alta heterogeneidad espacial, estaciones climáticas variables moduladas por las condiciones del ENSO (El Niño Oscilación del Sur) y el calentamiento global en curso, pueden modificar fuertemente la actividad de mesoescala en la región, que es reflejada en varios remolinos ciclónicos y anticiclónicos y sus interacciones. Por medio del enfoque de análisis automatizado de imágenes, se estudió la estructura de la comunidad de zooplancton para los periodos de transición y lluvias después de dos cruceros oceanográficos que obtuvieron muestras de zooplancton y datos hidrográficos. Se encontraron patrones contrastantes de abundancia, diversidad de taxa y tamaño de la comunidad de zooplancton sobre el dominio espacial. En la zona suroccidental se presentó mayor estratificación y en la zona nororiental mayor mezcla. Esto se relacionó con el forzamiento de procesos oceanográficos en cada sector (p.e. vientos, descargas continentales, orientación de la línea de costa y características de la plataforma continental). La estructura del zooplancton fue similar entre las zonas estudiadas (nororiental, centro y suroccidental) y es típica de las masas de agua muestreadas hasta los 200 m, como resultado del transporte efectuado por las principales corrientes y advección por la actividad de mesoescala. A nivel temporal, los cambios de la estructura de taxa y tamaños del zooplancton se relacionaron con la actividad de mesoescala, el proceso de surgencia y la influencia de los eventos El Niño/La Niña. La estratificación, el oxígeno y la clorofila-a presentaron relación con la abundancia, pendientes del espectro de tamaño e índices de diversidad. Remolinos ciclónicos y anticiclónicos de tamaño variable pueden transportar o retener zooplancton sobre la plataforma y áreas oceánicas modificando la estructura espacial de taxa y tamaño. El forzamiento climático que modifica las condiciones hidrográficas y la actividad de mesoescala se sugiere como un proceso importante que afecta la estructura de la comunidad de zooplancton con

consecuencias inciertas para el funcionamiento del ecosistema y la productividad del mar Caribe.



Variability of the zooplankton community structure in the Colombian Caribbean ocean waters as forced by seasonal climatic regimes

J. Medellín-Mora^{1,2}, R. Escribano², W. Schneider², M. Correa-Ramirez³ and N.H. Campos⁴

¹Doctoral Program in Oceanography, University of Concepción, Chile, ²Instituto Milenio de Oceanografía (IMO) and Department of Oceanography, Faculty of Natural and Oceanographic Sciences, Universidad de Concepción, Chile. P.O. Box 160, Concepción, Chile, ³Instituto de Oceanografía, Universidad de Concepción, Chile, ⁴Universidad Nacional de Colombia, Sede Caribe⁴

Johanna Medellín-Mora, dmedellin@udec.cl

Key Points:

- The Caribbean sea circulation is dominated by mesoscale eddies forced by climatic conditions over a seasonal scale
- Mesoscale activity has a strong influence on spatial patterns of the size-taxonomic structure of the zooplankton community

Abstract

The Colombian Caribbean Sea exhibits strong spatial heterogeneity. Variable climatic seasons, modulated by ENSO (El Niño Southern Oscillation) conditions and ongoing global warming, can greatly modify the mesoscale activity in the region which is reflected in a variety of cyclonic and anticyclonic eddies and their interactions. Here, using an automated analysis approach, we assessed the zooplankton community structure for two climatic seasons after two oceanographic cruises from which zooplankton samples and hydrographic data were obtained. Contrasting patterns of abundance, size and taxa diversity of the zooplankton community were found over the spatial domain and seasonal periods, mostly related to mesoscale activity. Cyclonic and anticyclonic eddies of variable size can either transport or retain zooplankton over cross-shelf and oceanic areas modifying its spatial size-taxonomic structure. Climatic changes, forcing the hydrographic conditions and eddies activity, are thus suggested as a

major process impacting the zooplankton community structure with uncertain consequences for ecosystem functioning and productivity of the Caribbean Sea.

1 Introduction

The zooplankton play a key role in marine food webs by transferring C and energy to higher trophic levels and thus sustaining the entire marine ecosystem. Zooplankton are also considered as useful indicators of the impact of climate variability on the ocean environment [Beaugrand et al., 2002; Richardson and Schoeman, 2004; Hays et al., 2005]. This because, the species comprising the zooplankton are mostly short lived, such that they can rapidly respond to changes in their habitats, and so reflecting responses of the entire marine ecosystem. Climate variability may in turn affect zooplankton habitats, altering their community structure and dynamics [Hays et al., 2005]. Assessing such responses requires studies focused on species composition, abundances, diversity and life cycles of dominant species or groups, as well as the assessment of metabolic processes, and their relationships with physical-chemical factors at various spatial and temporal scales [Alder and Morales, 2009].

Another approach to study zooplankton responses to climate variation is the assessment of the spatial patterns of its community structure. These patterns respond to spatial changes of environmental (oceanographic) conditions which determine ecological niches and the structure of the zooplankton community utilizing that habitat [Williams, 1988]. These spatial patterns could also reflect the potential trophic interactions with fishes [Rand and Hinch, 1998]. Knowing how the zooplankton community structure changes spatially under different environmental conditions may improve our capacity to predict changes of the zooplankton in a future scenario of climatic change. Commonly these changes are associated with oceanographic processes over a mesoscale (circulation, advection, upwelling currents) [Mark et al., 1995].

Climate variability in the Caribbean Sea is complex and its influence on oceanographic processes depends on the region. In the northern region of Colombia, located in the Southwest of the Caribbean Sea, seasonal periods in the patterns of winds respond to changes in position (North -South) of the Inter-tropical Convergence. For this region, three climatic periods are described: a windy dry season (December to April), a transition period (May to July), and a

rainy season of low winds (August to November) [Andrade-Amaya, 2001]. In the northeast zone (off La Guajira peninsula) wind-driven upwelling events take place, which become strong during dry and transition season, and weak during the rainy season [Andrade-Amaya and Barton, 2005]. The Guajira upwelling region supports a fishery sustained by enhanced primary production and promotes an intense shelf-ocean water exchange, associated with the upwelling filaments [Andrade and Barton, 2005] with an important role for horizontal mixing of nutrients into the oligotrophic waters of the Caribbean sea. The central zone is influenced by the Magdalena River, the largest river in Colombia, which discharges $7100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ of fresh water and contributes with 185×10^6 tons of sediment per year [Henao and Posada, 2008]. This river flows northward into the Caribbean Sea, having its main mouth located east of the city of Barranquilla (Bocas de Ceniza), and in Cartagena Bay, Bay of Barbacoas and Caño Correa (Canal del Dique) [Bernal, 1996].

Major oceanographic processes in the Caribbean Sea are the Caribbean Current flowing westward [Wust, 1964; Morrison and Nowlin, 1982] with its characteristic intense transit of mesoscale eddies (Juano et al., 2012), and a cyclonic circulation associated with the Gyre Panama- Colombia in the southwestern zone [Mooers and Maul, 1998; Schott and Molinari, 1996]. This circulation generates the Panama- Colombia countercurrent flowing eastward, which during the rainy season reaches La Guajira and Venezuela region [Sheinbaum et al., 1997; Andrade-Amaya, 2001; Andrade et al., 2003]. These processes-features cause strong spatial and temporal heterogeneity over a mesoscale, such as meanders, filaments and eddies [Andrade and Barton, 2000; Juano and Sheinbaum, 2013].

In the context of effects of climate variation on oceanographic processes and consequences for plankton dynamics and structure, there are very few studies for the Caribbean Sea. Bernal [2000] analyzed the variability of coastal zooplankton from Venezuela limits up to Panamá during three different wind seasons (strong, intermediate and weak winds). Neritic, small-sized organisms, and low biomass were found during periods of weak winds. This pattern was similar in the south western zone during the transition period, but different in the north and central zone which is dominated by oceanic and neritic zooplankton of larger size and higher biomass. Under strong winds, oceanic large-sized organisms and an greater biomass can be found. Bernal et al. [2004] and Manjarrés et al. [2005] showed a similar condition in total wet biomass for the dry and rainy seasons. Most of the other studies

deal with the description of the composition and abundance of zooplankton in local areas of north and central of Colombian Caribbean (Marino and Merchán [1993], Franco-Herrera and Londoño-Lara [2000] in front of La Guajira; Campos and Plata [1990], Lozano [1991], Bernal and Zea [2000] and Franco-Herrera et al. [2006] Franco et al. [1992], Rendón et al., [2003] and Cañón et al. [2005]

Over a large scale, two expeditions in the oceanic Caribbean and adjacent waters have described the horizontal distribution, and vertical distribution of zooplankton species in relation to water masses near Colombia [Park, 1970; Michele and Foyo, 1976]. These studies reported the greatest abundances in Tropical Surface Waters and Subtropical Underwater although some species were reported typical for some water masses. More recently, Medellín-Mora and Martínez-Ramírez [2010] observed that the major concentrations of organisms are found in the northern area associated with the upwelling zone, and in the southwestern area influenced by the river and the Panama-Colombia gyre. Regarding zooplankton size, too little information is available. Gutierrez [2011] found that small organisms of zooplankton dominated all water masses in the Caribbean sea, whereas large and medium sized zooplankton was scarce. Other studies have also examined the dynamics of the Caribbean Sea as influencing the zooplankton community structure (Park, 1970; Owre and Foyo, 1972; Michele & Foyo, 1976; Franco-Herrera et al., 2006; Taylor et al., 2012). Most studies suggest that a variety of oceanographic processes and mesoscale features in the Caribbean off Colombia coasts that can modulate the habitat for the zooplankton community, affecting their physiology, food spectrum, migration patterns, and predator-prey interactions.

In the present study, we aimed at understanding how the oceanographic dynamics, influenced by seasonal climate conditions, can affect the spatial structure of the zooplankton community. For this, we used automated analysis of zooplankton samples to assess the community size spectra, taxa diversity and abundance, along with oceanographic data. The automated analysis allows us to obtain the zooplankton size spectrum and taxonomic structure of the community over a large number of samples, which is a difficult task with traditional taxonomic laboratory analysis [Gorsky and Grosjean, 2003; Grosjean et al., 2004].

2 Data and Methods

2.1 Field Studies

The study area comprised the oceanic waters of the Colombian Caribbean over the isobath of 900 m. 36 stations were sampled, 13 during the transition seasonal period (May - June 2008) between dry and wet periods, and 19 during the rainy season (November - December 2009) (Fig. 1). Oceanographic data were obtained with a CTD autonomous profiler (Idronaut Ocean Seven 316 plus) deployed down to near bottom at each station. Water samples were also collected with 10-L Niskin bottles at five different depths for chemical and chlorophyll a (Chla) analyses, performed at the Environmental Quality Laboratory of INVEMAR. At each station, zooplankton samples were collected down to 200 m of depth through vertical hauls of a 1 m² opening-diameter conical net (mesh size: 200 µm), equipped with a calibrated Hydro-bios flowmeter, and an opening – closing mechanism. Samples were fixed with 10% neutralized formalin in filtered seawater and stored for further observation and analysis in the laboratory.

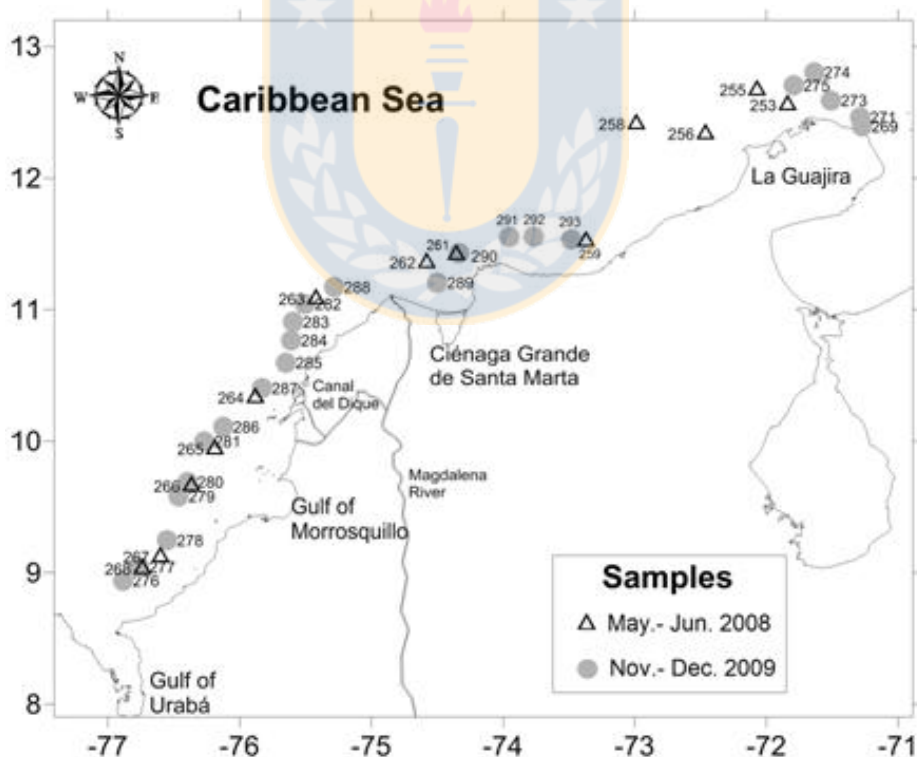


Figure 1. The Colombian Caribbean illustrating the study area with the location of the Stations during two periods.

2.2. Analysis of Zooplankton samples

In the laboratory of the Colombian Marine Natural History Museum (MHNMC), zooplankton samples were fractionated in according to their abundance with a Folsom splitter. They were thereafter fractionated with a 1000- μm sieve into two size fractions ($< 1000 \mu\text{m}$ and $> 1000 \mu\text{m}$). Samples were stained with 5% Eosin, and the excess colorant was removed with 70% ethanol (24 h exposure). Fractions of the stained samples were placed on transparent acrylic plates (26 x 15 cm) and digitized with an EPSON Perfection V300 Photo scanner (800 dpi resolution). Digitized images were then processed with the ZooImage V1.2- software.

For ZooImage processing, we first built a training set for the study area in order to identify the major zooplankton groups. A total of 15 taxa categories were selected. Of these, copepods were the most abundant and covered a wide size range. The taxonomic classification was carried out using the Random Forest algorithm, evaluated using the 10-fold cross validation confusion matrix. This allowed us to determine the rate of error between manual (human eye) and automated recognition, which resulted in an estimated accuracy of 80%. Data for total abundance, taxonomic groups, and size (measured as equivalent circular diameter, ECD) were obtained for each object identified in the digitized images. ECD estimates were then used to obtain the size spectrum for each sample. Detailed procedures for ZooImage use can be found in Grosjean and Denis [2007].

Finally, in the first cruise a fraction of some samples (two for each zone) was used for identification of copepods species. These samples were analyzed under stereomicroscopes Nikon SMZ 1000 and Leica DM500.

2.3. Analysis of climate condition and oceanographic data

Rainfall data were provided by Institute of Hydrology, Meteorology and Environmental Studies (IDEAM) of the nearshore stations of the Colombian Caribbean. Descriptive statistics (means, ranges, variations) were obtained for each climatic period. We tested differences in the rainfall between zones and periods (transition vs rainy) with the Program R, v.3.1.2, ANOVA test.

Satellite information of Chlorophyll-a concentration (Chla), sea surface temperature, sea level and geostrophic currents was used. Surface data of Chla and temperature with the spatial resolution of 4 km were obtained from level-3 products of the Moderate Resolution

Imaging Spectro-radiometer—MODIS - Aqua mission, distributed by the Ocean Biology Processing Group (<http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/cms/>). The Sea Level and geostrophic currents information was obtained from products of Saral, Cryosat-2, Jason-1&2, T/P, Envisat, GFO, ERS-1 & 2 and Geosat missions, distributed for Aviso [<http://www.aviso.altimetry.fr/en/home.html>]. Average temperature and Chla were calculated between the first and last day of each cruise, using the geometric mean of satellite records available (without interference by clouds). The sea level and geostrophic currents fields corresponded to the intermediate day of each cruise.

Field data from the oceanographic cruises were processed with the Gibbs Sea Water (GSW) Oceanographic Toolbox of TEOS-10 (IOC and IAPSO, 2010). We used absolute salinity, potential temperature, and in situ density to calculate the stability of the water column and the buoyancy or Brunt-Väisälä frequency (BVF), and potential energy anomaly (PEA) to assess stratification of the water column. We also looked at the temperature at 10 m depth and estimated the mixed layer depth (MLD) by considering the density gradient and the first higher value as the base of the MLD. Finally, we calculated the average temperature and oxygen of the mixed layer. In situ Chla in the water column (0–60 m) was also included.

2.4 Analysis of Zooplankton data

Stratified samples (13 out of 36) were treated separately, but their abundances were averaged for the 0–200 m water column. Data on abundance and size distribution of zooplankton were calculated by ZooImage using the metadata (volume of filtered seawater, fraction of samples and size of the scanning dish) and then standardized as individual m^{-3} . Size spectra for the zooplankton community were obtained from the data on taxa abundance and ECD estimates. These were first \log_2 normalized and thereafter a simple Model I regression analysis was applied. We used the slope (b) of size spectra as an index of the size structure of the zooplankton community. Moreover, we calculated the Shannon–Weaner diversity index which was for size class diversity ($H'sc$) and major taxa diversity weighed by size ($H'ts$).

$$(1)$$

where $H'sc$ = Size class diversity, p_i = the proportion of each i size class and k = total number of size classes.

(2)

where H' = Taxa diversity, p_j = the proportion of each j taxa weighed by its corresponding median size, and T = total number of taxa. Total identified taxa are shown in the confusion matrix (see Supplemental Material).

We tested for differences in the slope of the size spectra and size class abundances with ANOVA. We also tested the effect of seasonality (transition vs rainy season) and for different zones of the Colombian Caribbean: North (upwelling influence), Centre (discharge river influence) and South (cyclonic gyre). Finally, multivariate analyses were conducted with PRIMER v.6 [Clarke and Gorley, 2006]. For this, we first grouped different stations in according to oceanographic variables using the ordination method of principal component analysis (PCA), based on Euclidean distance with standardized data. To assess similarities in the composition and abundance of the community among stations, we applied cluster analysis and multidimensional scaling (MDS) with log-transformed data and following the Power Law of Taylor for aggregated data [Taylor, 1961]. For this, we used the Bray-Curtis index and average linking. Two factors were examined: temporal effects (transition and wet periods) and spatial effects (northern, central and southern). The ANOSIM routine was applied to test these effects, under the hypothesis that community composition and the abundance of zooplankton did not differ significantly between seasonality and zones. Later, differences or similarities between groups were analyzed with the SIMPER module (similarity percentages).

Finally, a BIOENV (Bio-Environmental Analysis) was performed to determine the combinations between of environmental variables and the biotic component, expressed by the Spearman's rank correlation coefficient. The composition and abundance of zooplankton from the similarities of Bray-Curtis for samples of zooplankton and Euclidean distances of abiotic using the method of Spearman correlation (RV) between the matrices of biotic similarity and abiotic [Clarke and Warwick, 2001]. In the same way, with the SYSTAT-12 program, stepwise regression modeling carried out on the data sets collected in two climatic periods (May 2008 and November 2009). Dependent variables (abundance of zooplankton, slope spectrum size and diversity index) were related to independent variables (stratification, temperature, oxygen, chlorophyll a and Sea Level Anomaly). The stepwise regression analysis was particularly useful, as its algorithm uses partial correlations (thus minimizing problems with co-linearity)

and helps to identify variables of higher importance [Krivtsov et al., 2009].

3 Results

3.1 Environmental variability

Monthly climatological means of rainfall for both seasonal periods and for three different zones are shown in Fig. 2. During May 2008 (transition period), the mean rainfall was 228.0 mm, ranging between 63.7 and 403.0 mm. In November 2009 (rainy period) the mean precipitation was 163.0 mm with a maximum of 508.7 mm and minimum of 76.8 mm (Fig. 2) . There were no significant differences in precipitation between climatic periods (ANOVA, $F=3.8$, $P= 0.067$), and neither between zones (ANOVA, $F= 2.34$, $P= 0.12$ in May 2008; $F= 0.23$, $P= 0.79$ in November 2009).

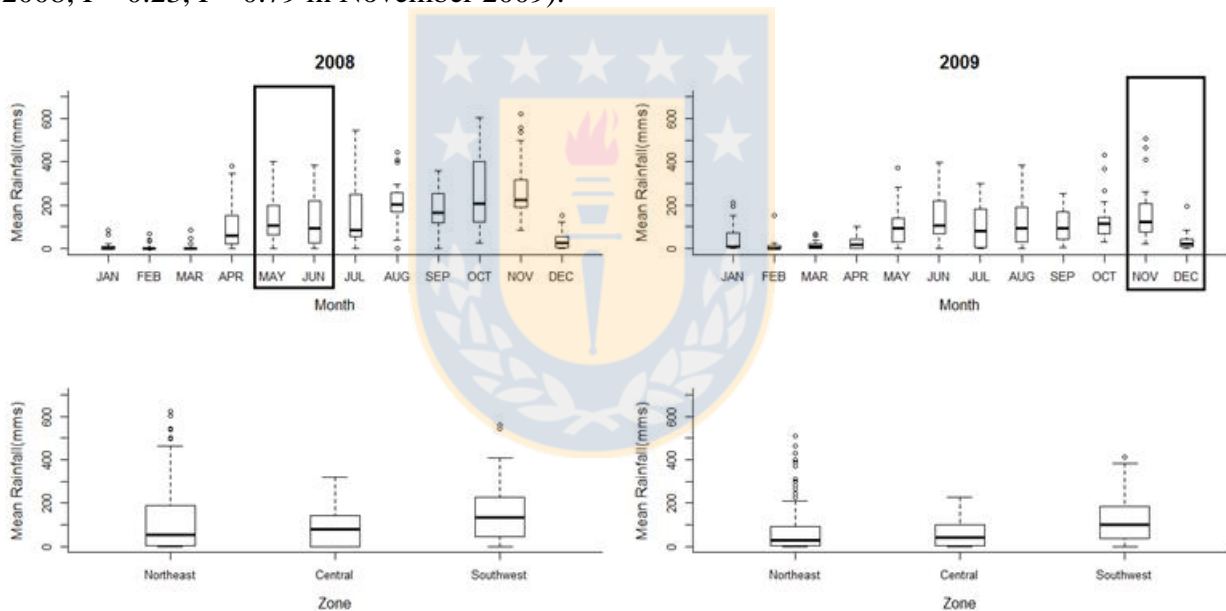


Figure 2. Boxplot of mean rainfall data of nearshore stations in the Colombian Caribbean during 2008 and 2009. The black square shows sampling periods of oceanographic cruises in ocean waters of the Colombian Caribbean. Bottom panels show stations grouped by zones (northeast, central and southwest). Data provided by IDEAM.

The satellite information during the transition period (May-Jun 2008) showed strong mesoscale activity at the region, with two large eddies, one cyclonic and other anticyclonic in the oceanic zone (beyond 200 km) off the southwestern and northeastern zone respectively, and several small eddies along the coastal zone(Fig. 3). Presence of the large Panama-

Colombia gyre (was observed during the two periods (Fig. 3a). The northeast zone showed a relatively low temperature (25 °C) and high chlorophyll-a ($>1 \text{ mg m}^{-3}$), suggesting the presence of an upwelling event (Fig. 3c and 3d). In contrast, the southwest zone shows higher temperatures, although also with high chla, associated with the anticyclonic gyres and river discharges in this area. In fact, in the central zone the discharge of the Magdalena River forms a plume of ~100 km length of high chla and high temperature (Fig. 3c and 3d).

During the rainy period (Nov-Dec 2009), two large anticyclonic gyres were observed, one in the northeast zone and another in the southwest zone (Fig. 3b). In comparison with May, the temperature was higher and showed the highest values in the southwest zone (Fig. 3c and 3d). Chla concentration was lower than in the transition period, with higher concentrations restricted to the Magdalena plume (Fig. 3e and 3f).

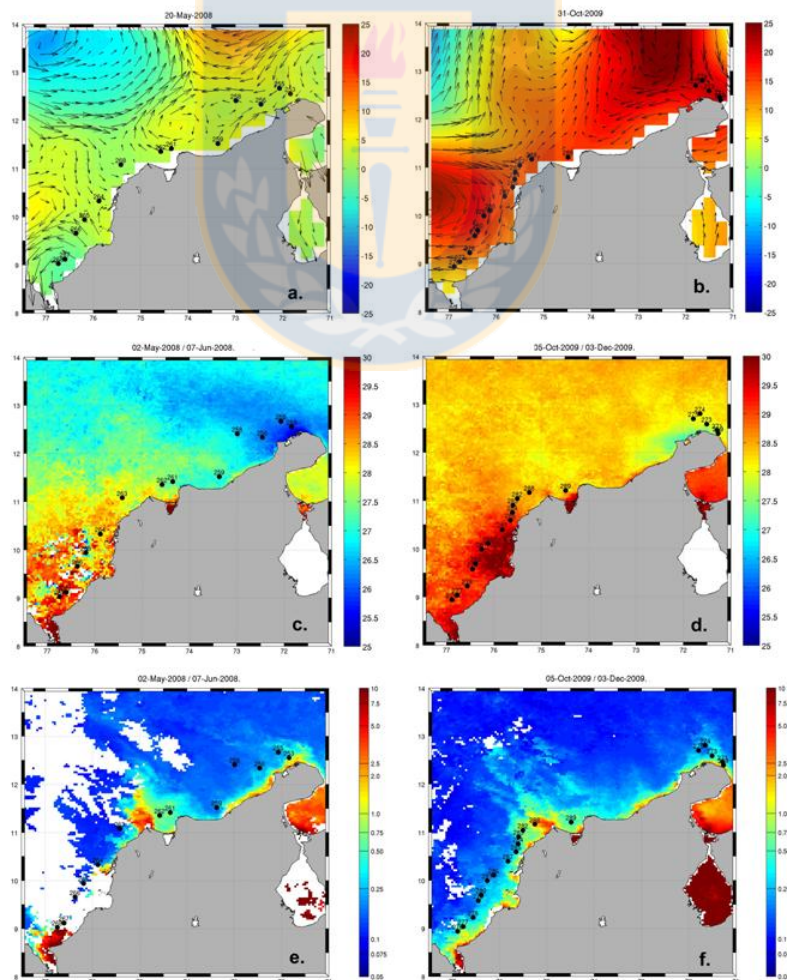


Figure 3. Satellite imagery during transition period (Mayo-Jun of 2008) (Left) and rainy period (Nov-Dec of 2009) (Right). a-b. Sea Level Anomaly (cm) and Geostrophic current; c-d. Mean Sea Surface Temperature °C; e-f. Mean Chlorophyll-a (mg m^{-3}).

Oceanographic vertical sections in the layer 0-200 m during the transition period showed higher temperatures in most of the surface layer (0-150 m) with values between 25- 29 °C. In the upper 50 to 150 m the temperature was in a range between 25-20 °C, and below 150 m temperature was $<20^{\circ}\text{C}$ (Fig. 4a). Salinity was homogeneous in most of the study area with the highest values (ca. 35) in the near surface layer (0-15 m), although the southwest area had lower values (33 - 34) (Fig. 4c).

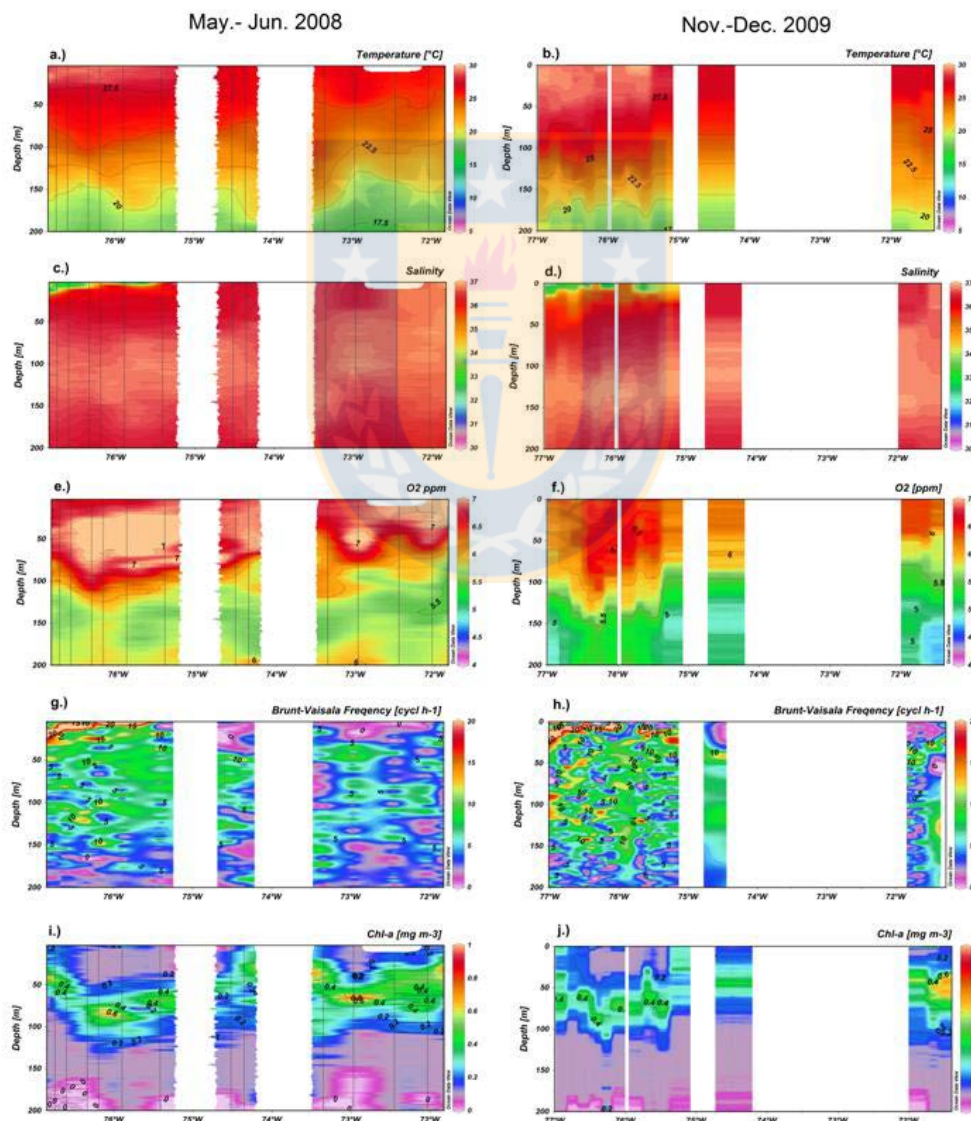


Figure 4. Vertical section during the transition period (May-June of 2008) (Left) and rainy period (Nov-Dec of 2009) (Right). a-b. Temperature ($^{\circ}\text{C}$); c-d. Salinity; e-f. Oxygen (ppm); g-h. Brunt-Vaisala Frequency; i-j. Chlorophyll-a (mg m^{-3}).

Stratification of the water column in the southwest zone showed the highest values (15-20 cph) between 0 - 30 m of depth, in central and northeast zones, the values were restricted to surface layer (0 - 5 m), below this layer lowest value were found (0 - 5 cph). In the northeast (12.39 N - 72.96 W) below 30 m a rise (5 - 10 cph) of the Brunt-Vaisala frequency was registered (Fig. 4g). In the upper 100 m high concentrations of oxygen ($>7 \text{ mL L}^{-1}$) were found and lowest (5.5 mL L^{-1}) in depth (100 - 200 m) (Fig. 4e). The highest concentration of chlorophyll ($0.4 - 1 \text{ mg m}^{-3}$) was found between 50 and 100 m, and this maximum was more superficial in the central and northeast zones (Fig. 4i). In the rainy period, the oceanographic variables showed a similar pattern as that of the transition period (Fig. 4d, 4h and 4j). The differences are that in the surface layer, with a rise in temperature at the northeast zone (Fig. 4b), decreased salinity in the southwest zone, and lower concentrations of oxygen in the surface layer (Fig. 4d and 4f).

3.2. Zooplankton responses

In the transition period, relatively high abundance of zooplankton was found in the northeast and southwest areas, while lower values are present in the central zone (Fig. 5a). When examining the zooplankton size-structure, steeper slopes of the size spectra (more negative) were found in the southwest area, indicating the prevalence of small-sized organisms, whereas flatter slopes of the size spectra were estimated in the central and northeast areas indicating that size classes were more evenly distributed (Fig. 5b). Steeper slopes of the size spectra were also found for the transition period, in comparison with the rainy one (Flattened slopes) (Fig. 6a and 6b). In terms of zooplankton diversity, in oceanic waters, the diversity index of taxa, and the diversity size of size classes were higher in the northeast zone, and the lowest values were found in the central zone (Fig. 5c and 5d).

During the rainy season the highest abundances of zooplankton occurred in the southwest area, in two stations close to the central zone (most westerly, E282 y E283), and in the most northeast station of the study area (E269). The lowest abundance was found in the

central zone in front of the Tayrona Natural National Park (PNNT) and Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM) (Fig. 7a). In terms of size structure, the southwest area showed more negative slopes of the size spectra (dominance of small-sized organisms), and in the central y northeast areas more positive slopes (flatter) were found (Fig. 7b). The highest value of taxa diversity and size class diversity were registered in the central (PNNT and CGSM), and in the southwest zone in front of Canal del Dique System and Rosario Islands (Fig. 7c and 7d).

When applying a one-way ANOVA to test differences in spatial distribution of zooplankton categorized by zone (northeast, central and southwest) only the abundance showed significant differences (Table 1). Meantime, seasonal effects (transition vs. rainy) significant differences were found in abundance, slope of the size spectrum and taxa diversity index, but not in the size-class diversity index (Table 1).

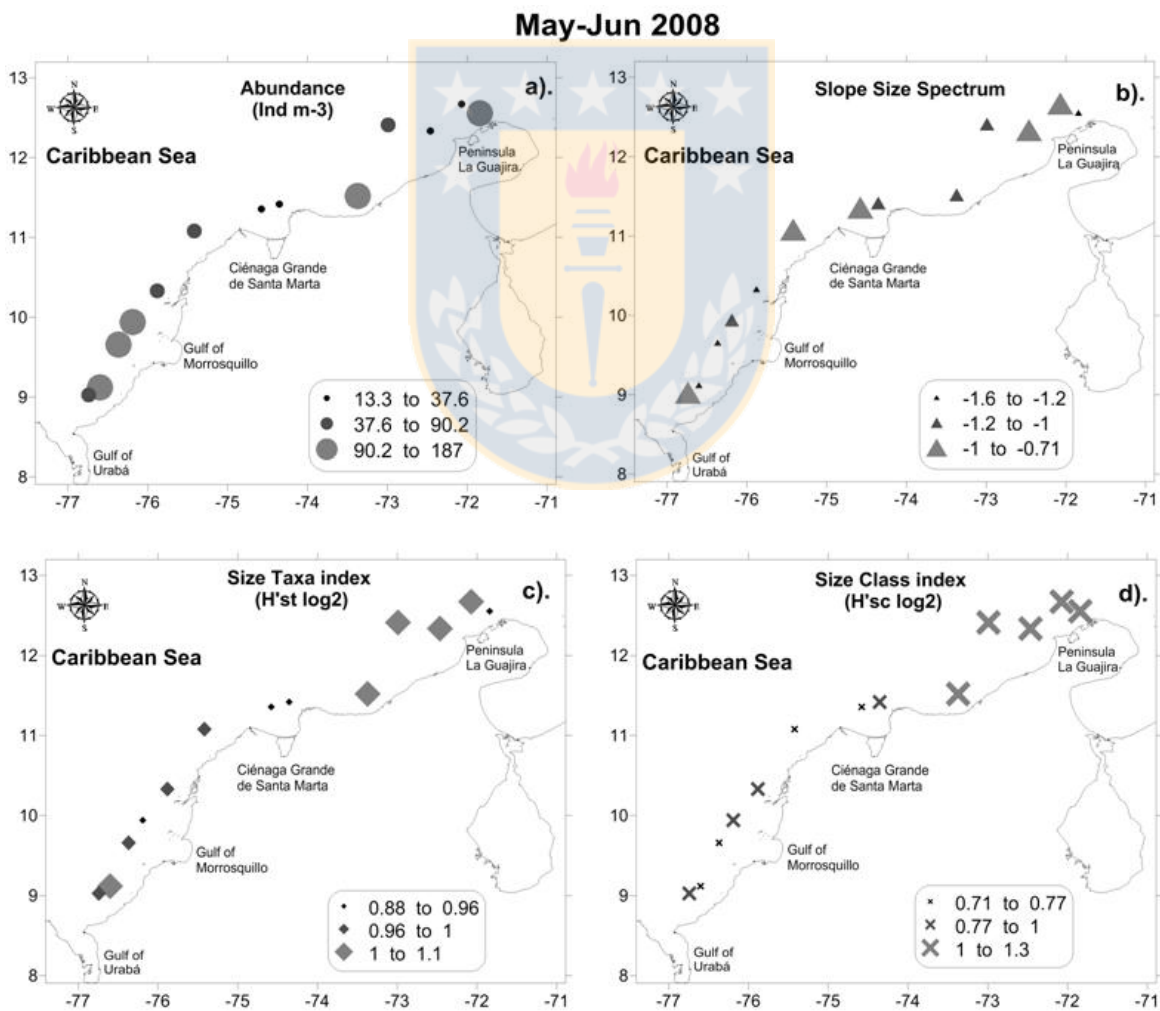


Figure 5. Spatial distribution of biological variables during May-June of 2008. a). Log-normalized abundance of zooplankton, b). Slope of normalized size spectra of the zooplankton

community, c). Shannon-Wiener diversity index as standardized by size, d) Shannon-Wiener index for size classes.

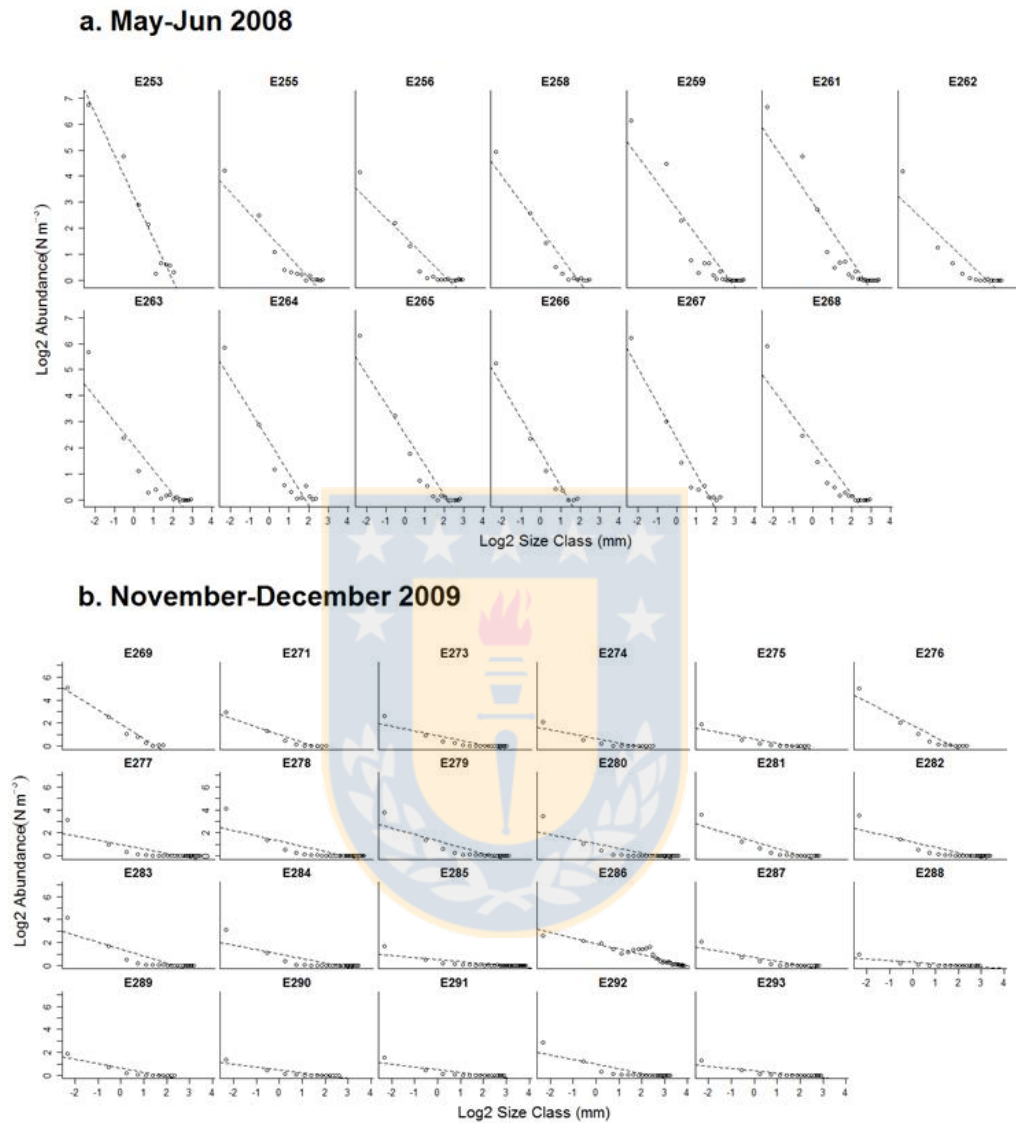


Figure 6. Log-normalized size spectrum of zooplankton in the Colombian Caribbean sea waters during two climate periods. Upper panel: Transition period (May-Jun 2008), lower panel: Rainy period (November-December 2009).

Nov-Dec 2009

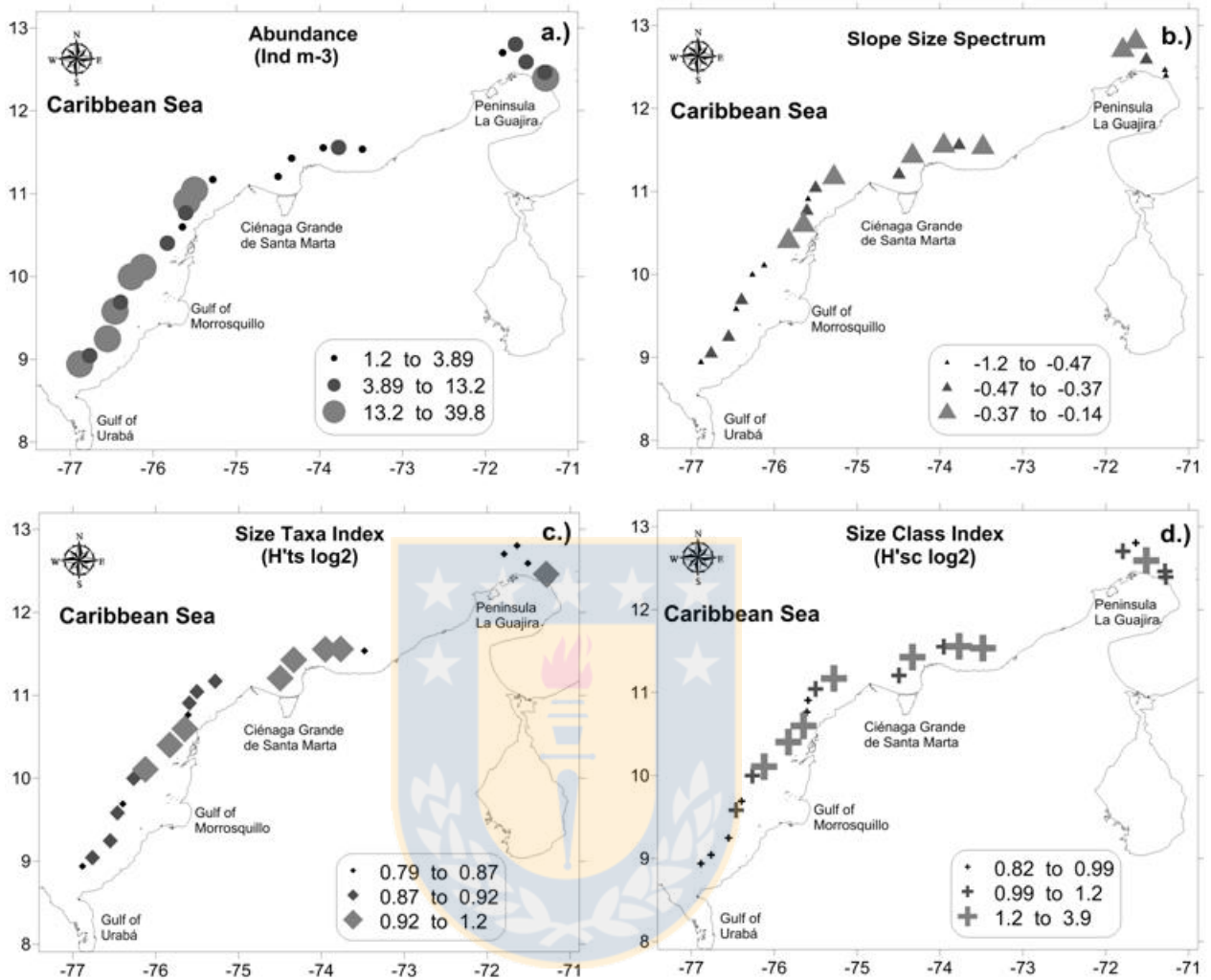


Figure 7. Spatial distribution of biological variables during November-December of 2009. a). Log-normalized abundance of zooplankton, b). Slope of normalized size spectra of the zooplankton community, c). Shannon-Wiener diversity index as standardized by size, d) Shannon-Wiener index for size classes.

Table 0.1. ANOVA to test the effects of variable conditions at Colombian Caribbean on abundance and the slope of size spectra y diversity of the zooplankton community.

Source of variation	df	Sum Sq	Mean Sq	F ratio	P-Value
<i>Log N (ind m⁻³)</i>					
Zone	2	1.227	0.613	5.737	0***
Seasonality	1	4.482	4.482	41.924	0.008***
Error	30	3.207	0.107		
<i>Slope size spectrum (b)</i>					
Zone	2	0.283	0.142	2.425	0.106
Seasonality	1	2.541	2.541	43.545	0***
Error	30	1.751	0.058		
<i>Index taxa</i>					
Zone	2	0.009	0.005	0.766	0.474
Seasonality	1	0.071	0.071	11.841	0.002**
Error	30	0.18	0.006		
<i>Index Size class</i>					
Zone	2	0.542	0.271	1.035	0.367
Seasonality	1	0.454	0.454	1.733	0.198
Error	30	7.854	0.262		

*** Significant value

3.3 Environmental correlations

The spatial (northeast, central and southwest zones) and temporal (Transition and rainy periods) variability in environmental conditions was assessed through a Principal Component Analysis (PCA). A non-rotated PCA resulted in a first component (PC1) explaining 66.7 % and a second 21.0 % of total variance. Temperature and water density were associated with this PC1, and oxygen of the mixed layer (ML), SLA and Chlorophyll-a with a PC2. The Brunt-Vaisala Frequency and potential energy anomaly, mixed layer depth (MLD) and salinity were associated with the two components, but they had more contribution to PC1 (Fig. 8). Sample grouping for spatial and seasonal effects are also illustrated in Fig. 8. Northeast stations and some stations of the central zone were related with the MLD, salinity, density,

oxygen and Chla, while the central and southwest zones with the Brunt-Vaisala Frequency, anomaly of potential energy and temperature. In the transition period, stratification parameters (BVF and PEA), and water density were related associated, whereas in the rainy period the temperature and Chla.

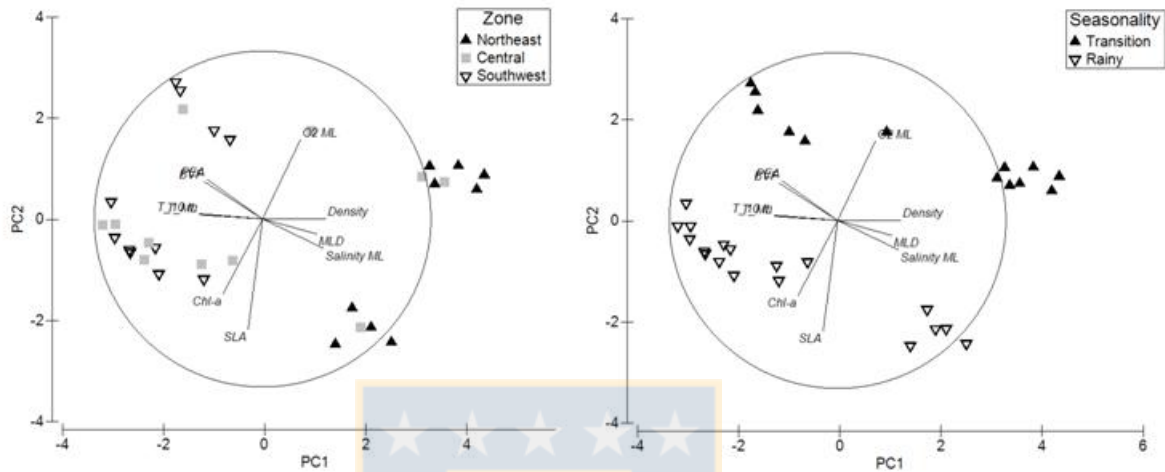


Figure 8. Principal component analysis to assess oceanographic variation in the Colombian Caribbean oceanic waters for spatial distribution select three zones: Northeast, Central and southwest and two climatic periods: Transition (May-Jun 2008) and Rainy (November-December 2009). BVF= Brunt-Väisälä frequency, PEA=Potential Energy Anomaly, MLD= Mixed Layer Depth, T_ML= Mean temperature of Mixed Layer, T_10m= Temperature of 10 meters, O₂_ML= Mean Oxygen concentration of Mixed Layer, Density=Sigma T (0-50 m), OMZ=Depth of the oxygen minimum zone, Chla= Chlorophyll a, SLA=Sea Level Anomaly.

A similarity analysis (ANOSIM) between climatic periods (transition and rainy) showed significant differences in zooplankton abundance and community composition ($R = 0.359$, $P < 0.05$), but not between zones ($R=0.031$, $P>0.05$). The classification and ordination analyses (clustering, MDS) were done using the Bray-Curtis index and revealed 60% similarity. In the spatial scale (zones) the multivariate analysis showed a separation of two groups, in the first group some stations of central zone were found, and the other group joined stations of the three zones (Fig. 9). In according with the seasonal factor, stations of the rainy period were associated in the first group and stations of the two periods in the second group, but inside, clustering of 80% similarity was found, separating two periods (Fig. 9). SIMPER analysis revealed an average contribution of 76.05% to similarity by taxonomic composition, characterized by presence of copepods, salps and appendicularian in the transition period.

Conversely, the contribution to similarity of taxa from the rainy period was 64.72 %, and the same groups were found which were those with more average contribution to dissimilarity between periods.

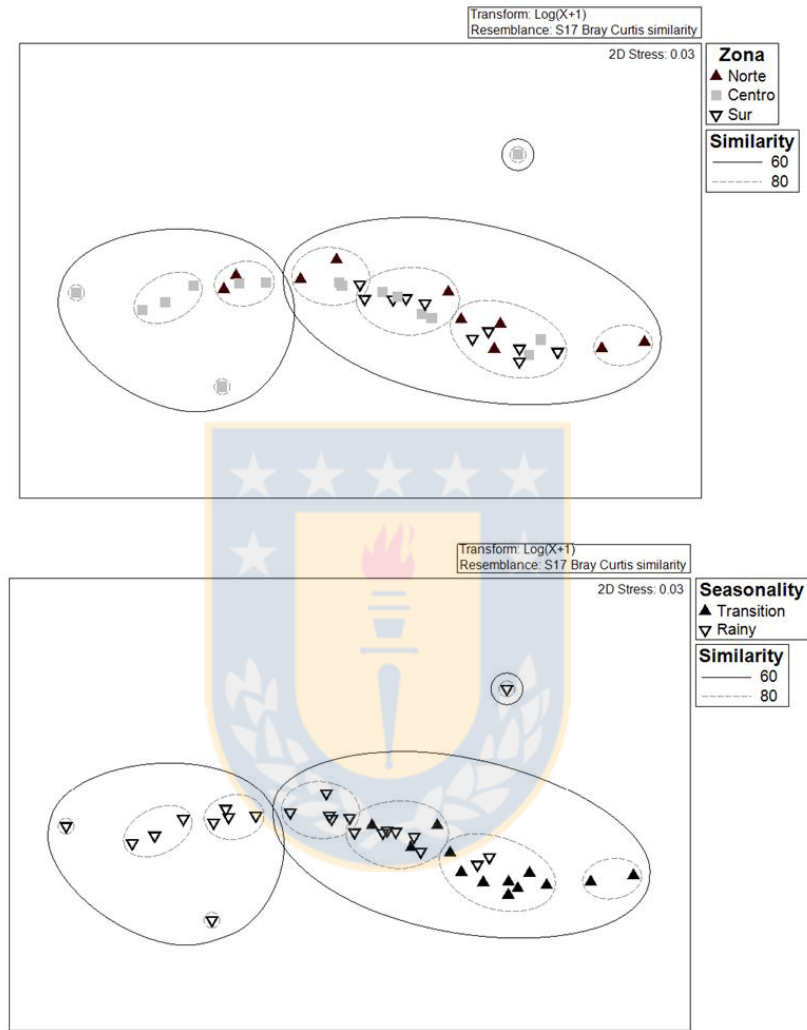


Figure 9. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) plot on the first two axes based on the Bray-Curtis similarities of the log (x+1) of transformed zooplankton abundance data for zone and seasonality (stress = 0.03).

According to the BIOENV analysis, the Sea Level Anomaly and Chlorophyll-a concentration were the combination of variables that associated most with the composition and abundance of zooplankton, with a maximum Spearman correlation= 0.42 (Table 2). A stepwise multiple regression showed that most important predictors for abundance and slope

of the size spectrum were Brunt-Vaisala frequency, oxygen and Chlorophyll-a. Meantime for the taxa diversity index the best predictor was oxygen concentration, and for the size-class diversity oxygen and Chlorophyll-a (Table 3).

Table 0.2. Best combinations of oceanographic variables most influential in the zooplankton community of the Colombian Caribbean oceanic waters, based on the BIOENV. Spearman correlation indicates the degree of co-variation between the biotic component and abiotic variables.

No.	Best combinations	Spearman correlation
2	Chl-a - SLA	0.412
3	O2_ML - Chl-a - SLA	0.39
1	SLA	0.379
3	MLD - Chl-a - SLA	0.364
	MLD - O2_ML - Chl-a -	
4	SLA	0.354
2	MLD - SLA	0.343
4	BVF - MLD - SLA	0.321
2	O2_ML - Chl-a	0.317
1	Chl-a	0.315
3	BVF - O2_ML - SLA	0.31

BVF= Brunt-Vaisala frequency, MLD= Mixed Layer Depth, O2_ML= Mean Oxygen concentration of Mixed Layer, Chl a= Chlorophyll a, SLA=Sea Level Anomaly.

Table 0.3. Stepwise regression models for biological variables vs. environmental variables for the two periods.

	Slope	Taxa index	Size class Index	LN N
FBV (cph)	-0.006 (0.004)			0.014 (0.000)
O2 MLD	-0.535 (0.014)	0.182 (0.005)	0.863 (0.093)	0.892 (0.004)
Chla (ug m-2)	4.807 (0.000)		6.771 (0.003)	-4.390 (0.001)
Constant	2.799	-0.246	-5.050	-4.892
F	23.609	9.334	5.185	21.866
Pvalue	0.000	0.005	0.012	0.000
AdjRsqr	0.693	0.217	0.218	0.676

Each column gives coefficients for significant predictors returned by the final stepwise regression model for the variable listed in the first row. In parentheses p value. The last three rows give the F statistic, the p value, and the total percentages of the variance explained by the final model.



In this study 53 copepod species were identified. The most representative species (> 1% of relative abundance) were *Paracalanus parvus*, *Temora turbinata*, *Oithona plumifera*, *Subeucalanus subtenuis*, *Clausocalanus arcuicornis* and *Oncaea venusta*. The preliminary statistical analysis for species did not show differences between the studied zones, indicating that these species characterize the water masses present in the region. However, some changes were evident in terms of relative abundances. For example, *Temora turbinata* and *Subeucalanus subtenuis* was characteristic in the northeast zone, *Clausocalanus arcuicornis* in the central zone and *Paracalanus parvus* and *Oithona plumifera* in the southwest zone. Differences and similarities in species composition among zones are illustrated in Fig. 10.

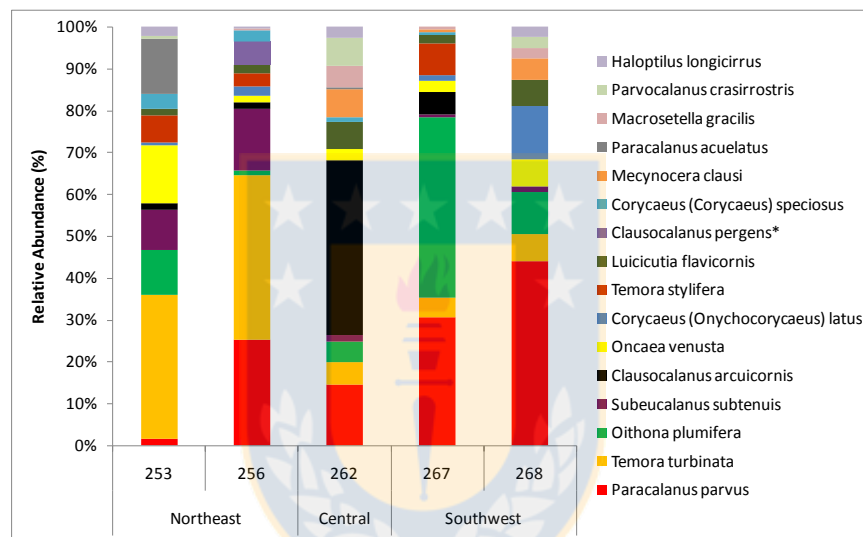


Figure 10. Changes in the relative abundance of the most representative species (> 1%) of copepod during May-Jun 2008 in the Colombian Caribbean oceanic waters.

4 Discussion

Over various spatial and temporal scales, zooplankton community structure has been efficiently assessed by automated methods, such as ZooImage [Irigoién et al., 2009; Manríquez et al., 2009; Di Mauro, 2011; Manríquez et al., 2012; Medellín-Mora et al., 2016]. This approach allows us to rapidly obtain the community size spectrum, which is considered an important community descriptor. For example, variations in the slope of such size spectrum have been used to infer changes in spatial and temporal size-structure under the influence of environmental factors [Canales et al., 2005; Lefort et al., 2015], or the response of communities to pollution, habitat alteration or exploitation [Robson et al., 2005; Shin et al.,

2005; Gómez-Canchong, 2011]. Therefore, the slope of the size spectrum, complemented with taxonomic composition, also assessed by ZooImage, should be considered as a useful tool to study zooplankton responses to changes in the physical environment.

Among the physical processes affecting the spatial distribution and structure of zooplankton communities, mesoscale circulation can play a significant role [Praire et al., 2012]. For example, a greater productivity and abundance of zooplankton have been found inside cyclonic eddies (cold core eddie) due to divergence and the ascent of deep nutrient-rich waters [Merino and Monreal-Gómez 2009; Correa-Ramírez et al., 2007; Llinás et al., 2009]. This also occurs surrounding the eddies [Olson, 1991; Morales et al. 2010]. Moreover, mesoscale eddies can transport/export or disperse nutrients, food resources and diversity to oceanic areas [Hu et al., 2004; Correa-Ramírez et al., 2007; Morales et al., 2010].

During our study, over the oceanic zone of the Colombian Caribbean sea, strong mesoscale activity of cyclonic and anticyclonic eddies was evidenced with maximal activity in the months of May and June 2008 (transition period). The dynamics of these gyres seems related to displacements of the Inter-Tropical Convergence Zone (ITCZ) through its influence on variability of the circulation patterns of winds (Low Level Atmospheric Jet), also by the salinity gradients generated in the southwest zone [Andrade and Barton, 2000]. In the northeast zone the eddies during both seasonal periods are formed and transported in the Caribbean current that enters the Colombia basin from Brazil. This Caribbean current has a constant flow towards the west zone carrying mesoscale eddies with sizes between 100-500 km at a speed of about 30 cm s^{-1} [Kinder et al., 1985; Nystuen and Andrade, 1993; Fratantoni et al., 1995; Andrade and Barton, 2000]. In May-June 2008 an anticyclonic Eddy was evidenced which was transported from the north and which was formed upon convergence of this current with the Darien countercurrent, generating a unstable frontal area.

In the southwest area the eddies recorded in both periods are advected from the permanent and large-scale cyclonic circulation of the Panama-Colombia gyre, as described by several authors [Mooers and Maul, 1998; Andrade and Barton, 2000; Jouano et al., 2008]. This mesoscale activity in the Colombian Caribbean sea may also depend on the ENSO (El Niño Southern Oscillation) cycle. For instance, Poveda and Mesa [1999] found that the low-level jet current of the Choco is weaker during the El Niño, and becomes more intense during La Niña, therefore increasing mesoscale activity during La Niña conditions. In other regions, such the

coastal transition zone off Chile Hormazabal et al. [2004] found that low frequency variability in kinetic energy (EKE) at the sea surface can be strongly modulated by El Niño/La Niña cycles. In the Colombian Caribbean, Andrade and Barton [2000] observed greater EKE during October, the rainiest month of the year, while in the Colombian Pacific Corredor et al. [2011] found a greater amount of eddies during years affected by El Niño.

Observed mesoscale activity, modulated by climatic conditions, may have strongly influenced the zooplankton community. In according to international reports (e.g. NOAA) about the ENSO (El Niño Southern Oscillation) cycle, during 2008-2009 the region was subject to La Niña conditions. Both El Niño and La Niña conditions were present during our study. The ONI (Oscillation El Niño index) was -0.7 (La Niña) for April, May and June 2008, and 1.2 (El Niño) for October, November and December 2009 (<http://www.cpc.ncep.noaa.gov/>). Spatial and temporal distribution of zooplankton was determined by mesoscale variability, dominant circulation, water masses structure and local conditions (e.g. upwelling). During the transition period (May-June 2008) zooplankton was more abundant than during the rainy one, and this may be explained by a greater enrichment in the northeast area due to upwelling, along with transport to the west by the Caribbean current associated with greater mesoscale activity (eddies). In the northeast zone, zooplankton abundance was related to more positive slopes of the size spectra, as well as high indexes of taxa and size diversity. Nutrient input by upwelling in this northeast zone sustains new production and more food for zooplankton, perhaps explaining greater abundance of zooplankton. Upwelling can also cause vertical ascent of species from deep water, also increasing taxa diversity. These species can then be advected to oceanic areas by mesoscale eddies. In May-June 2008, a cyclonic eddy was present in the northeast of Colombia (the border with Venezuela) and an anticyclonic eddy in the central zone. Our sampling stations were localized in the area of interaction of both eddies, both of which can transport nutrient-rich coastal waters to the more oceanic zone. These eddies can indeed transport the complete plankton community, as seen in other regions [Morales et al. 2010], and such process can be enhanced upon interaction between cyclonic and anticyclonic eddies [Moore et al.2007].

The central zone of our study area, located off Ciénaga Grande of Santa Marta (CGSM), is directly subjected to discharges of the Magdalena river (Bocas de Ceniza) and the system Canal del Dique (SCD). During both periods, greater abundances of zooplankton were

present in the northeast area, with highly variable slopes of the size spectra although they were generally more positive (steeper) and diversity indexes were low in May-June 2008 and higher in November-December 2008. This rather high variation may result from a frontal area originated by the Caribbean current and the Panama-Colombia countercurrent. Considering mesoscale eddies, this area would behave as a frontal zone between eddies, which in according to their circulation (cyclonic/anticyclonic) may export or import zooplankton diversity to the region. Increased Chla off the mouth of Magdalena river, as evidenced by the satellite image map showing an offshore extension during May-June 2008, reveals advection to the oceanic area. In contrast, in October-November 2009 this Chla plume appears displaced slightly to the southwest. These frontal zones aggregate a higher biological activity with greater concentrations of phytoplankton and zooplankton, along with incremented fish catches [Mann y Lazier, 1991].

Finally, in the southwest region the zooplankton abundance was high, but the slopes of the size spectra were strongly negative (dominance of small-sized organisms) and both diversity indexed (taxa and size) were lower compared to the other regions. In both periods this region was characterized by high temperature and greater stratification, possibly linked to transport, cyclonic circulation (Panama-Colombia gyre) and re-circulation of fresh water of low salinity coming from the Magdalena, Sinú and Atrato rivers. Related to this condition, Restrepo et al. [2014] described for the period 2000-2010 an increase in about 65% of the river outflows onto the Caribbean sea, reflecting the migration of the ZCIT and suggesting that such climatic process is the key factors causing the oceanographic variability.

To summarize, our analyses evidenced changes in the spatial size-taxa structure of the zooplankton community for both seasonal periods. These changes are related to the following processes: 1) Moderated upwelling, with more mixing, greater Chla, a deeper mixed layer and lower temperature during May-June 2008, resulting in greater abundance of zooplankton and greater diversity indexes, especially in the northeast and central zone. 2) The influence of El Niño and La Niña events during the transition and rainy periods which can increase/decrease the rivers discharges onto the Colombian Caribbean, increasing stratification, temperature and inputs of nutrients and sediments, and lowering salinity in the central and southwest areas, possibly altering the food field for zooplankton and resulting in a dominance of small-sized and less diverse zooplankton. 3) Variability in mesoscale activity between periods, which for

the Colombian Caribbean may control spatial distribution of zooplankton. This mesoscale activity is also strongly linked with the ENSO cycle which can influence local wind patterns. Such mesoscale activity may transport or disperse nutrients, plankton, diversity between the coastal and oceanic zones, and so affecting the spatial structure of zooplankton. Cyclonic and anticyclonic eddies clearly explain zooplankton distribution patterns and this is reinforced by our multiple regression analysis revealing that stratification, dissolved oxygen and Chla are best predictors of zooplankton abundance, slopes of size spectra and diversity indexes.

In the context of the future of the zooplankton community of the Caribbean sea, global warming, linked to the increment in greenhouse gases, is clearly impacting the atmosphere and the ocean by reducing the ice sheet and snow, and increasing sea level and sea surface temperature [Stocker et al., 2013]. In Colombia, between 1971 and 2010 the atmosphere and surface temperature of the ocean have increased in about 1.3 °C and 0.1 °C per decade, respectively; also precipitation. Projections of climate change for Colombia, considering four levels of CO₂ emissions, indicate that average temperature of the country will increase in about 1.4°C for 2011-2040, 2.4°C for 2041-2070 and 3.2°C for 2071-2100; while precipitation should diminish in about 10-40% for the whole Caribbean region [Armenta et al., 2015]. Climate variability in the region however also depend on other large-scale processes, such as the El Niño Southern Oscillation (ENSO), the Pacific Decadal Oscillation (PDO) and the North Atlantic Oscillation (NAO), all of which mostly cause interannual variability by forcing the migration of the Intertropical Convergence Zone (ITCZ), the alisios wind patterns, and the low level pressure ("Chorro del Choco") over the annual cycle with oscillations between 30-60 days, as well as the intra-annual eastern tropical waves [Poveda, 2004]. All these altered, future conditions, may greatly impact the zooplankton community in the region, mostly by altering the spatial size-taxa structured distribution with uncertain consequences for the whole Caribbean sea ecosystem.

5 Conclusions

- Spatial and temporal variability of the zooplankton community structure (size and taxa composition) can be efficiently assessed by automated methods, such as ZooImage.

- In oceanic waters of the southwest area of the Colombian Caribbean sea the vertical structure (stratification) of the water column was related to the forcing of oceanographic processes including winds, continental runoff, orientation of coastline and extension of the continental shelf.
- Statistical analyzes show that in oceanic waters of Colombian Caribbean Sea the size and taxonomic structure of zooplankton is similar among studied areas (northeast, central and southwest). However, patterns of size distribution of zooplankton resulted from transport induced by main currents and dispersal processes driven by mesoscale activity.
- During the two study periods, changes in the spatial and temporal size-taxa structure of the zooplankton community, in addition to variability in mesoscale activity, were related to moderate coastal upwelling and the influence of El Niño/ La Niña events.
- In terms of oceanographic conditions, water column stratification, dissolved oxygen and Chla were best predictors of zooplankton abundance, slopes of their size spectra and diversity indexes.

Acknowledgments, Samples, and Data

This work has been funded by Graduate studies of J. Medellín-Mora as supported by CONICYT Scholarship of Chile and REDOC project of Universidad de Concepción, FONDECYT of Chile, Grant 1120478 and the Instituto Milenio de Oceanografía (IMO). We thank The National Agency Of Hydrocarbons of Colombia, the Institute of Marine and Coastal Research - INVEMAR, the Biodiversity of Marine Ecosystems Program (BEM) and Marine Natural History Museum of Colombia (MHNMC), the B/I ANCON crew and scientific staff who participated in cruises. We also thank to the "Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia - IDEAM" by the rainfall data.

References

Alder, V. A., and C. E. Morales (2009), Manual de métodos para el estudio de sistemas planctónicos marinos, Eudeba.

- Andrade-Amaya, C. A. (2001), Las corrientes superficiales en la cuenca de Colombia observadas con boyas de deriva, *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 25(96), 321-335.
- Andrade, C. A., and E. D. Barton (2000), Eddy development and motion in the Caribbean Sea, *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 105(C11), 26191-26201, doi:10.1029/2000jc000300.
- Andrade, C. A., and E. D. Barton (2005), The Guajira upwelling system, *Continental Shelf Research*, 25(9), 1003-1022, doi:10.1016/j.csr.2004.12.012.
- Andrade, C. A., E. D. Barton, and C. N. Moore (2003), Evidence for an eastward flow along the Central and South American Caribbean Coast, *Journal of Geophysical Research*, 108(C6), doi:10.1029/2002jc001549.
- Armenta, G., J. Dorado, A. Rodríguez, and J. F. Ruíz (2015), Escenarios de Cambio Climático para Precipitación y Temperatura para Colombia 2011-2100 Herramientas Científicas para la Toma de Decisiones – Estudio Técnico Completo : Tercera Comunicación Nacional de Cambio Climático., 279 pp., IDEAM, PNUD, MADS, DNP, CANCELLERÍA, Bogotá, Colombia.
- Beaugrand, G., P. C. Reid, F. Ibanez, J. A. Lindley, and M. Edwards (2002), Reorganization of North Atlantic marine copepod biodiversity and climate, *Science*, 296(5573), 1692-1694, doi:10.1126/science.1071329
- Benfield, M. C., P. Grosjean, P. F. Culverhouse, X. Irigoien, M. E. Sieracki, A. Lopez-Urrutia, H. G. Dam, Q. Hu, C. S. Davis, and A. Hansen (2007), RAPID: research on automated plankton identification, *Oceanography Society*, 20(2), 172-187.
- Bernal, A. (2000), Die Struktur der Zooplanktongemeinschaft im neritischen Bereich des kolumbianischen karibischen Meeres, Doktorgrades der Naturwissenschaftlichen thesis, 142 pp, Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen.
- Bernal, A., B. Werding, and S. Zea (2004), Variación espacial y temporal de biomasa zooplanctónica en el sector nerítico del mar Caribe colombiano, 187-196 pp., Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

- Bernal, A., and S. Zea (2000), Estructura de la comunidad de zooplancton en condiciones de descarga continental y afloramiento costero en Santa Marta, Caribe colombiano, *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras. Invemar*, 29, 3-26.
- Bernal, G. (1996), Caracterización geomorfológica de la llanura deltaica del Río Magdalena con énfasis en el sistema lagunar de la Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia, *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR*, 25(1), 19-48.
- Canales, T. M., R. Law, J. L. Blanchard, and J. Baum (2016), Shifts in plankton size spectra modulate growth and coexistence of anchovy and sardine in upwelling systems¹, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 73(4), 611-621, doi:10.1139/cjfas-2015-0181.
- Cañón, M., T. Vanegas, M. Gavilán, L. Morris, and G. Tous (2005), Dinámica planctónica, microbiológica y fisicoquímica en cuatro muelles de la bahía de Cartagena y buques de tráfico internacional, *Bol. Cient. CIOH*, 23(23), 46-59.
- Clarke, K., and R. Warwick (2001), *Change in Marine Communities: An approach to statistical analysis and interpretation*, 2nd ed., Plymouth, United Kingdom.
- Clarke, K. R., and R. N. Gorley (2006), *PRIMER v6: User Manual/Tutorial*. , Plymouth, England.
- Correa-Ramirez, M. A., S. Hormazábal, and G. Yuras (2007), Mesoscale eddies and high chlorophyll concentrations off central Chile (29–39 S), *Geophysical Research Letters*, 34(12), doi:10.1029/2007GL029541.
- Corredor-Acosta, A., A. Acosta, P. Gaspar, and B. Calmettes (2011), Variation in the surface currents in the Panama bight during El Niño and La Niña events from 1993 to 2007, *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR*, 40, 33-56.
- Di Mauro, R. (2011), Variación interanual del mesozooplancton de la plataforma bonaerense en primavera : Introducción de las nuevas metodologías para su análisis, Doctorado thesis, 169 pp, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
- Díaz, J. M., and A. Acero (2003), Marine biodiversity in Colombia: achievements, status of knowledge and challenges. *Biodiversidad marina en Colombia: Estado actual del conocimiento y desafíos futuros*, *Gayana*, 67(2), 261-274.
- Franco-Herrera, A. (2006), Variación estacional del fitoplancton y mesozooplancton e impacto de herbivoría de *Eucalanus subtenuis*, Giesbrecht, 1888 (Copepoda: Eucalanidae) en el

- Caribe colombiano, Tesis de Doctorado Oceanogr., Univ. Concepción, Concepción, Chile. 209 p.[Links].
- Franco-Herrera, A., D. Avendaño, W. Bernal, and M. Uribe (1992), Contribución al conocimiento del plancton de isla Tesoro, Parque Nacional Natural Corales del Rosario, Caribe colombiano. 754-762, paper presented at Memorias VIII Seminario Nacional de Ciencias y Tecnologías del Mar y I Congreso Centroamericano y del Caribe de Ciencias del Mar. Comisión Colombiana de Oceanografía, Santa Marta.
- Franco-Herrera, A., and L. Londoño-Lara (2000), Referencia preliminar para el reporte del zooplancton superficial, sector “Plataforma Chuchupa b” departamento de La Guajira, Caribe colombiano., *Colombia Geotrópica*, 5(3), 23-32.
- Fratantoni, D. M., W. E. Johns, and T. L. Townsend (1995), Rings of the North Brazil Current: Their structure and behavior inferred from observations and a numerical simulation, *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C6), 10633-10654, doi:10.1029/95JC00925.
- Gómez-Canchong, P. (2011), Estabilidad y resiliencia en comunidades marinas un enfoque alométrico, Doctorado thesis, 250 pp, Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Departamento de Oceanografía.
- Gorsky, G., and P. Grosjean (2003), Qualitative and quantitative assessment of zooplankton samples. *GLOBEC Int, Newsletter*, 9(1), 5.
- Grosjean, P., and K. Denis (2007), ZooImage users manual, sciviews.org/Zoo/PhytoImage, last accessed on April, 21, 2008.
- Grosjean, P., M. Picheral, C. Warembourg, and G. Gorsky (2004), Enumeration, measurement, and identification of net zooplankton samples using the ZOOSCAN digital imaging system, *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 61(4), 518-525, doi:10.1016/j.icesjms.2004.03.012.
- Gutierrez, J. M. (2011), Estructura vertical del zooplancton oceánico del mar Caribe colombiano, Maestria thesis, 101 pp, Universidad Nacional de Colombia, Santa Marta, Colombia.
- Hays, G. C., A. J. Richardson, and C. Robinson (2005), Climate change and marine plankton, *Trends Ecol Evol*, 20(6), 337-344, doi:10.1016/j.tree.2005.03.004.

- Henao Pineda, W., and B. Posada Posada (2008), Diagnóstico de la erosión en la zona costera del Caribe colombiano.
- Hormazabal, S. (2004), Coastal transition zone off Chile, *Journal of Geophysical Research*, 109(C1), doi:10.1029/2003jc001956.
- Hu, C., E. T. Montgomery, R. W. Schmitt, and F. E. Muller-Karger (2004), The dispersal of the Amazon and Orinoco River water in the tropical Atlantic and Caribbean Sea: Observation from space and S-PALACE floats, *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 51(10), 1151-1171, doi:10.1016/j.dsr2.2004.04.001.
- INVEMAR (2010), Biodiversidad del Margen Continental del Caribe colombiano, 458 pp., Serie de Publicaciones Especiales No. 20, Santa Marta, Colombia.
- IOC., and SCOR. (2010), The international thermodynamic equation of seawater–2010: Calculation and use of thermodynamic properties, edited, Intergovernmental Oceanographic Commission, Manuals and Guides.
- Irigoiien, X., J. A. Fernandes, P. Grosjean, K. Denis, A. Albaina, and M. Santos (2009), Spring zooplankton distribution in the Bay of Biscay from 1998 to 2006 in relation with anchovy recruitment, *Journal of Plankton Research*, 31(1), 1-17, doi:10.1093/plankt/fbn096.
- Jouanno, J., and J. Sheinbaum (2013), Heat Balance and Eddies in the Caribbean Upwelling System, *Journal of Physical Oceanography*, 43(5), 1004-1014, doi:10.1175/jpo-d-12-0140.1.
- Jouanno, J., Sheinbaum, J., Barnier, B., Molines, J.M., Candela, J., 2012. Seasonal and Interannual Modulation of the Eddy Kinetic Energy in the Caribbean Sea. *J. Phys. Oceanogr.* 42, 2041–2055. doi:10.1175/JPO-D-12-048.1
- Jouanno, J., J. Sheinbaum, B. Barnier, J.-M. Molines, L. Debreu, and F. Lemarié (2008), The mesoscale variability in the Caribbean Sea. Part I: Simulations and characteristics with an embedded model, *Ocean Modelling*, 23(3-4), 82-101, doi:10.1016/j.ocemod.2008.04.002.
- Kinder, T. H., G. W. Heburn, and A. W. Green (1985), Some aspects of the Caribbean circulation, *Marine Geology*, 68(1), 25-52, doi:10.1016/0025-3227(85)90004-0.
- Krivtsov, V., M. Howarth, and S. Jones (2009), Characterising observed patterns of suspended particulate matter and relationships with oceanographic and meteorological variables: Studies in Liverpool Bay, *Environmental Modelling & Software*, 24(6), 677-685.

- Lefort, S., O. Aumont, L. Bopp, T. Arsouze, M. Gehlen, and O. Maury (2015), Spatial and body-size dependent response of marine pelagic communities to projected global climate change, *Global change biology*, 21(1), 154-164, doi:10.1111/gcb.12679.
- Lozano, F. (1991), Contribución al conocimiento de la comunidad zooplanctónica nerítica de la Bahía de Santa Marta, Colombia., *Trianea*, Inderena, 4, 459-470.
- Llinás, L., R. S. Pickart, J. T. Mathis, and S. L. Smith (2009), Zooplankton inside an Arctic Ocean cold-core eddy: Probable origin and fate, *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56(17), 1290-1304.
- Manjarrés, L., A. Vergara, J. Torres, G. Rodríguez, E. Arteaga, J. Viaña, J. Arévalo, and R. Galvis (2005), Evaluación de peces demersales e ictioplancton en el Mar Caribe de Colombia, incluyendo condiciones oceanográficas parte I: crucero INPA-VECEP/UE/DEMÉR/9507 (julio de 1995), *INTROPICA*, 2(1), 51-86.
- Mann, K., and J. Lazier (1991), *Dynamics of marine ecosystem*, Blackwell Science.
- Manríquez, K., R. Escribano, and P. Hidalgo (2009), The influence of coastal upwelling on the mesozooplankton community structure in the coastal zone off Central/Southern Chile as assessed by automated image analysis, *Journal of Plankton Research*, 31(9), 1075-1088, doi:10.1093/plankt/fbp053.
- Manríquez, K., R. Escribano, and R. Riquelme-Bugueño (2012), Spatial structure of the zooplankton community in the coastal upwelling system off central-southern Chile in spring 2004 as assessed by automated image analysis, *Progress in Oceanography*, 92-95, 121-133, doi:10.1016/j.pocean.2011.07.020.
- Marino, S., and J. Merchán (1993), Estimación cuantitativa y descripción cualitativa del zooplancton del noreste de La Guajira (Puerto Estrella Punta Espada) y su relación con parámetros físico-químicos del agua, Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta.
- Medellín-Mora, J., R. Escribano, and W. Schneider (2016), Community response of zooplankton to oceanographic changes (2002–2012) in the central/southern upwelling system of Chile, *Progress in Oceanography*, 142, 17-29, doi:10.1016/j.pocean.2016.01.005.
- Medellín-Mora, J., and O. Martínez-Ramírez (2010), Distribución del mesozooplancton en aguas oceánicas del mar Caribe colombiano durante mayo y junio de 2008, in

- Biodiversidad del Margen Continental del Caribe colombiano, edited by INVEMAR, pp. 119-148, Serie de Publicaciones Especiales No. 20, Santa Marta, Colombia.
- Merino, M., and M. Monreal-Gómez (2009), Ocean currents and their impact on marine life, Marine Ecology. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford, 1, 52-47.
- Michele, H., and M. Foyo (1976), Studies of Caribbean zooplankton. Rep., 275-289 pp, Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, University of Miami, Miami, Florida.
- Miloslavich, P., J. M. Díaz, E. Klein, J. J. Alvarado, C. Díaz, J. Gobin, E. Escobar-Briones, J. J. Cruz-Motta, E. Weil, and J. Cortes (2010), Marine biodiversity in the Caribbean: regional estimates and distribution patterns, PloS one, 5(8), e11916, doi:10.1371/journal.pone.0011916.
- Miloslavich, P., and E. Klein (2005), Caribbean Marine Biodiversity the known and the unknown, DEStech Publications, Inc., Lancaster, Pennsylvania 17601 U.S.A.
- Mooers, C., and G. Maul (1998), Intra-Americas sea circulation, in The Sea., John Wiley and Sons, Inc, edited, pp. 183-208.
- Moore, T. S., R. J. Matear, J. Marra, and L. Clementson (2007), Phytoplankton variability off the Western Australian Coast: Mesoscale eddies and their role in cross-shelf exchange, Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 54(8), 943-960, doi:10.1016/j.dsr2.2007.02.006.
- Morales, C. E., M. Loreto Torreblanca, S. Hormazabal, M. Correa-Ramírez, S. Nuñez, and P. Hidalgo (2010), Mesoscale structure of copepod assemblages in the coastal transition zone and oceanic waters off central-southern Chile, Progress in Oceanography, 84(3-4), 158-173, doi:10.1016/j.pocean.2009.12.001.
- Morrison, J. M., and W. D. Nowlin (1982), General distribution of water masses within the eastern Caribbean Sea during the winter of 1972 and fall of 1973, Journal of Geophysical Research: Oceans, 87(C6), 4207-4229, doi:10.1029/JC087iC06p04207.
- Nystuen, J. A., and C. A. Andrade (1993), Tracking mesoscale ocean features in the Caribbean Sea using Geosat altimetry, Journal of geophysical research, 98(C5), 8389-8394, doi:10.1029/93JC00125.

- Olson, D. B. (1991), Rings in the ocean, *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 19, 283.
- Park, T. S. (1970), Calanoid copepods from the Caribbean Sea and Gulf of Mexico. 2. New species and new records from plankton samples, *Bulletin of Marine Science*, 20(2), 472-546.
- Poveda, G., and O. Mesa (1999), La corriente de chorro superficial del Oeste (“del Chocó”) y otras dos corrientes de chorro en Colombia: climatología y variabilidad durante las fases del ENSO”, *Revista Académica Colombiana de Ciencia*, 23(89), 517-528.
- Rand, P. S., and S. G. Hinch (1998), Spatial patterns of zooplankton biomass in the northeast Pacific Ocean, *Marine Ecology Progress Series*, 171, 181-186, doi:doi:10.3354/meps171181.
- Rendón, R., T. Vanegas, and P. Tigreros (2003), Contaminacion en la bahía de Cartagena por aguas de lastre de los buques de tráfico internacional, *Bol. Cient. CIOH*, 21, 91-100.
- Restrepo, J. C., J. C. Ortíz, J. Pierini, K. Schrottke, M. Maza, L. Otero, and J. Aguirre (2014), Freshwater discharge into the Caribbean Sea from the rivers of Northwestern South America (Colombia): Magnitude, variability and recent changes, *Journal of Hydrology*, 509, 266-281, doi:10.1016/j.jhydrol.2013.11.045.
- Richardson, A. J., and D. S. Schoeman (2004), Climate impact on plankton ecosystems in the Northeast Atlantic, *Science*, 305(5690), 1609-1612, doi: 10.1126/science.1100958
- Robson, B., L. Barmuta, and P. G. Fairweather (2005), Methodological and conceptual issues in the search for a relationship between animal body-size distributions and benthic habitat architecture, *Marine and Freshwater Research*, 56(1), 1-11.
- Schott, F., and R. Molinari (1996), The western boundary circulation of the subtropical warmwatersphere, *The Warmwatersphere of the North Atlantic Ocean*, 229-252.
- Sheinbaum, J., J. Zavala, and J. Candela (1997), modelación numérica del Golfo de México y Mar Caribe, *Contribuciones a la Oceanografía Física en México, Monografía*, 3.
- Shin, Y.-J., M.-J. Rochet, S. Jennings, J. G. Field, and H. Gislason (2005), Using size-based indicators to evaluate the ecosystem effects of fishing, *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 62(3), 384-396, doi:10.1016/j.icesjms.2005.01.004.
- Stocker, T., D. Qin, G. Plattner, M. Tignor, S. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, B. Bex, and B. Midgley (2013), IPCC, 2013: climate change 2013: the physical science basis.

Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change.

Taylor, L. R. (1961), Aggregation, Variance and the Mean, *Nature*, 189(4766), 732-735.

Williams, R. (1988), Spatial heterogeneity and niche differentiation in oceanic zooplankton, *Hydrobiologia*, 167(1), 151-159, doi:10.1007/BF00026301.

Wüst, G. (1964), Stratification and circulation in the Antillean-Caribbean basins, Columbia University Press.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table 0.4. The Confusion matrix for the 17 categories of the training set using the random forest algorithm. Rows are taxonomic classification and columns are automatic recognition of the same classifications. The diagonal in gray color represents correct identifications and numbers outside the diagonal represent errors in classification.

Actual	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1 alter	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
2 Anfipods	0	3	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
3 Annelids	0	0	21	0	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0
4 Appendicularia	0	0	4	116	5	0	0	10	5	0	6	0	2	3	2	0	3
5 Chaetognats	0	0	1	3	79	1	1	2	5	1	2	0	0	2	1	0	0
6 Cnidarian	1	0	0	0	0	21	2	0	0	0	2	1	1	3	3	1	1
7 Copepods	1	5	22	0	0	6	359	10	0	1	5	9	4	10	4	0	10
8 Eufausids	0	0	5	6	0	0	3	61	0	0	1	0	3	2	2	0	10
9 Luciferids	0	0	1	1	3	0	0	0	32	0	0	0	0	0	1	1	1
10 Megalopa larvae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
11 Molluscs	0	3	1	0	0	2	0	1	0	3	22	0	2	0	0	0	0
12 Ostracods	0	1	3	0	0	1	5	0	0	0	2	29	0	0	0	0	0
13 Pisces	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	6	0	12	0	0	0	2
14 Salps	1	0	1	1	2	4	6	0	0	0	0	0	0	37	6	1	1
15 Sifonophores	5	0	0	0	1	5	2	0	0	0	0	0	0	9	40	0	1
16 Stomatopods	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	3	0
17 Zoea_Mysis larvae	0	3	2	0	0	2	4	2	0	1	1	1	0	0	1	2	15

Artículo científico en preparación

3.3. Capítulo 3: Producción de zooplancton en la zona de surgencia costera del centro/sur de Chile (2002-2012).

Johanna Medellín-Mora, Rubén Escribano, Angus Atkinson

Resumen

Las tasas de producción secundaria implican la producción de nuevo tejido elaborado cada día o año y permiten estimar la eficiencia ecológica de los bajos niveles tróficos y la cantidad de producción que deben consumir los altos niveles de la trama trófica. En los sistemas de surgencia durante el periodo de primavera-verano la producción primaria es alta, en comparación con el periodo de no surgencia en otoño-invierno. En condiciones de surgencia un aumento en la producción primaria no necesariamente involucra una relación lineal con la producción secundaria, el ascenso de aguas frías con bajas concentraciones de oxígeno y pendientes pronunciadas del espectro de tamaño indican el predominio de organismos pequeños. Esta condición puede no favorecer tasas de producción de zooplancton. Por ejemplo, el ensamblaje del zooplancton es diferente entre las dos fases de la surgencia, y las tasas de crecimiento también difieren de acuerdo a los taxa.

En este trabajo se usó la serie de tiempo del 2002-2012 de datos oceanográficos y muestras de mesozooplancton colectados mensualmente en la estación 18 localizada frente al centro-sur de Chile. Con los datos mensuales de abundancia y biomasa obtenidos mediante el análisis automatizado de imágenes y las tasas de crecimiento por taxa calculadas según las ecuaciones de crecimiento establecidas en la literatura que involucran el tamaño, la temperatura y la clorofila-a se obtuvieron las tasas de producción secundaria del zooplancton. El objeto de este estudio fue proveer estimaciones de biomasa, crecimiento y producción de zooplancton total y por taxa y analizar cómo pueden variar en un ecosistema de surgencia de borde oriental.

La biomasa total estimada por el ZooImage fue contrastada con los valores de biomasa directa, se encontró que aunque el método automatizado tiende a subestimar un poco los valores, las

estimaciones presentan un patrón consistente. La serie de tiempo de la biomasa por taxa mostró fuerte variabilidad estacional e interanual, indicando la ausencia de patrones claros de estacionalidad o tendencias. Se encontró variabilidad en los ciclos anuales, por ejemplo los copépodos pequeños y eufáusidos presentaron mayor biomasa durante mayo (otoño), mientras que los copépodos grandes, quetognatos, cnidarios y anélidos aumentaron en primavera. Las tasas de crecimiento presentaron poca variación entre grupos, se encontraron en un rango entre $0.02 - 0.67 \text{ d}^{-1}$, el valor más alto fue para los apendicularios. La serie de tiempo de producción secundaria presentó fuerte variabilidad interanual, pero sin tendencia significativa. Los ciclos estacionales de la producción secundaria fueron similares a la biomasa, la contribución en porcentaje fue alta para los apendicularios (larváceos), copépodos grandes y pequeños, eufáusidos, anélidos y cnidarios. Durante la serie de tiempo la producción integrada anual no evidenció tendencias claras, pero la biomasa y la proporción P/B exhibieron variación de baja frecuencia. Se encontraron cambios interanuales en la estructura taxonómica que pueden ser relacionados con la disminución de la producción y el P/B y tal vez estén relacionados con los años más fríos de la serie de tiempo (2007 y 2012). En los últimos años de la serie se evidenció un aumento en la biomasa de eufáusidos y cnidarios.

Las tasas de crecimiento por grupo taxonómico no presentaron grandes variaciones como se esperaba, los apendicularios presentaron las tasas más altas, coincidiendo con otros estudios. La estructura taxonómica es un factor clave para la determinación de la producción secundaria, la biomasa y el crecimiento dependen de composición de los grupos. En la zona de surgencia del centro sur de Chile los copépodos pequeños dominan en abundancia y biomasa y por lo tanto deben controlar la producción secundaria, entonces, se debería prestar atención al forzamiento oceanográfico sobre este grupo del zooplancton en particular. Aparentemente, la zona de surgencia estudiada no presenta limitación de alimento disponible para el zooplancton y la temperatura varía en un rango estrecho, por lo tanto, es posible que otros factores y procesos como la depredación y la advección controlen la biomasa de los copépodos regulando la producción sobre una base anual. Las estimaciones de crecimiento al menos para copépodos y apendiculares son consistentes con otros estudios. Las estimaciones de producción secundaria de zooplancton son escasas para los sistemas marinos y generalmente no consideran los diferentes grupos que componen la comunidad. La tasa de recambio

representada por la proporción P/B es alta (>10) sugiriendo que la biomasa de zooplancton es reemplazada varias veces y refleja un ecosistema altamente productivo. Estos análisis son preliminares y es necesario examinar los datos con más tiempo y detalle y efectuar los análisis estadísticos que quizás permitan obtener conclusiones más claras.



Community structured production of zooplankton in the coastal upwelling zone of central/southern Chile (2002-2012)

Johanna Medellín-Mora^{1,2}, Rubén Escribano^{2,3}, Angus Atkinson⁴

¹ Doctoral Program of Oceanography, Department of Oceanography, University of Concepción

² Instituto Milenio de Oceanografía (IMO), Universidad e Concepción

³ Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Concepción

⁴ Plymouth Marine Laboratory (PML)



Introduction

Coastal upwelling systems, commonly associated with eastern boundary currents (EBUS), are highly productive and play an important biogeochemical role in the ocean, influencing global climate variability (Large and Danabasoglu, 2006). In these ecosystems the metazooplankton form the key link between primary production and fish (Pauly and Christiansen, 1995; Capone and Hutchins, 2013).

These systems are climatically sensitive and changes in upwelling strength have been linked to climatic drivers that affect southerly wind strengths and hence upwelling intensity (Lehodey et al. 2006; Parrish et al. 2000). In this context, plankton and particularly zooplankton have been considered as suitable sensors to assess biological response of the ecosystem to both climate variation and changes in upwelling strength (Hays et al. 2005, Hooff and Peterson, 2006).

In coastal upwelling systems, primary production is higher during the spring-summer which is known as the production periods compared to a non-upwelling season associated with autumn-winter conditions. Primary production, however, does not necessarily mean a simple linear relationship with secondary production, since upwelling is also marked by colder water, lower oxygen levels near the surface and a steeper slope of the normalised size spectrum (Medellín-Mora et al., 2016), indicating the prevalence of small-sized organisms in the water column. Such conditions may not favor higher production rates of zooplankton. For instance, the zooplankton assemblage is different between the two phases of upwelling, and growth rates also differ according to taxa (Escribano et al., 2007). Medellín-Mora et al. (2016) found at station 18 off central/southern Chile that there were changes in zooplankton composition

associated with upwelling intensity increase from 2002-2012, but it is uncertain how this relates to biomass or to changes in secondary production.

The main components of the zooplankton community in the upwelling zone off Chile are copepods (Hidalgo et al., 2010). There are marked seasonal and interannual changes in copepod production at the upwelling zone off Chile (Escribano et al. 2016), although variability in secondary production of the entire zooplankton community and of taxa other than copepods has not been examined in this region. Indeed, the estimate of total secondary production by zooplankton is a highly valuable measurement of ecosystem productivity a state (Beaugrand et al., 2010), so that research of zooplankton dynamics in EBUS should invest efforts in such direction.

The rates of zooplankton secondary production (ZSP) imply production of new tissue elaborated each day or year. However, at least mesozooplankton are not finely dispersed particles like phytoplankton, and they do not take up a well-defined and easily labeled substrate (e.g. CO₂), such that they can simply be filtered and their productivity calculated from the content of an incorporated tracer, although that has been tried and may be quite appropriate to protistan zooplankton. Estimation of ZSP is thus difficult, and we have no complete sets of values for any defined portion of the community. However, work on the problem generates insights about zooplankton themselves. The hope has been offered at times that, if we knew the rates of secondary production in pelagic ecosystems, we could estimate the ecological efficiency of the lower trophic levels and develop an expectation for amounts of production (of fish, squid, shrimps) that might be harvested from higher levels. In a more detailed definition, ZSP is the rate of change in the biomass of grazers, plus the portion of increase of biomass that is balanced by predation. Some would add the non-predatory death

and molting amounts. The problem is measure this rate for all grazers or even for one abundant species (Miller and Wheeler, 2012).

The bulk of zooplankton biomass is comprised by a variety of organisms over a rather wide size range, although typically we have focused on the mesozooplankton fraction (200-2000 microns) which constitutes the main prey of most commercial fishes. Taxonomic diversity however is still huge in this size range making extremely difficult the application of population dynamics for estimating production rates. Therefore, we must develop community approaches for assessing production of the bulk of zooplankton.

The structure of the zooplankton community can be examined by the automated analysis approach, also known as RAPID approach (Benfiedl et al. 2007). This analysis uses the ZooImage software to rapidly assess the size and composition of zooplankton. This method has the advantage of providing numbers and biomass for broad taxa, with essential subdivisions according to size. We can therefore use this RAPID approach to develop a community-based method to estimate ZSP.

In this work, we use size and taxon whole-assemblage resolved data and established growth equations, factoring in temperature, body size, taxon and food (Hirst et al. 2003, Hirst and Bunker, 2003) to provide estimates of biomass, growth and secondary production and how these may vary in a strongly variable upwelling system. These equations are based on large meta-analyses and do a reasonable job of predicting growth from the key predictors of size, taxon type, temperature and food.

Methods

Field data

The COPAS research center initiated a time series study at a fixed station (Station 18) in the upwelling system off central/southern Chile ($36^{\circ}30,80'S$; $73^{\circ}07,75'W$). Station 18 is located on the continental shelf about 30 km from the coast and 90 m deep (Fig. 1) and was used for a this study lasting from August 2002 to 2012.

Oceanographic data were obtained with two CTD autonomous profilers (SBE-25 and SBE-19 Plus) deployed down to 85 m depth. See Sobarzo et al. (2007) for details on the CTD procedures and chemical and physical data. Satellite time series data of surface Zonal Ekman Transport (ZET) was analyzed for the coastal region between $35^{\circ}S$ and $38^{\circ}S$, wind data from the pixels nearest the coast (station 18) were used to calculate ZET ($m^2 s^{-1}$), details of procedure can be found in Corredor-Acosta et al (2015).

Monthly zooplankton samples were collected by oblique hauls using a 1-m² Tucker trawl net (mesh size: 200 μm) equipped with a calibrated General Oceanics flowmeter. On occasions, during rough weather, samples were obtained with a 200- μm to 0.5-m opening WP2, towed vertically from 80 m to the surface. Our Tucker trawl net was equipped with three nets and an opening-closing mechanism activated by messengers, allowing us to take one integrated and two additional stratified samples. Pre-defined sampling depths were achieved in according to wire length and its corresponding inclination angle.

Zooplankton specimens were caught in each haul covering the 0-80 m layer and the 0-50 m and 50-80 m layers. These strata can well represent the upper photic oxygenated and mixed layer (0-50 m) and the subsurface lower-oxygen and below thermocline layer (>50 m)

(Sobarzo et al., 2007). Samples were fixed with 10% neutralized formalin. See Escribano et al. (2007) for more details on zooplankton sampling and sample processing.

Abundance and biomass estimates

In the laboratory, zooplankton samples were fractionated according to their abundance with a Motoda splitter. They were then separated with a 1000- μm sieve into two size fractions ($< 1000 \mu\text{m}$ and $> 1000 \mu\text{m}$). Samples were stained with 5% Eosin, and the excess colorant was removed with 70% ethanol (24 h exposure). Fractions of the stained samples were placed on transparent acrylic plates (26 x 15 cm²) and digitized with an EPSON Perfection V300 Photo scanner (800 dpi resolution). Digitized images were processed with ZooImage V1.2-0 software.

First, we built a training set for the study area in order to identify the major zooplankton groups. A total of 17 classes were found to properly represent the zooplankton community, based on their occurrence and abundance (Escribano et al., 2007). Of these, copepods were the most abundant and covered a wide size range. Thus, we separated the copepods by prosome length into qualitative size categories (large $> 1.5 \text{ mm}$, medium 1-1.5 mm, small $< 1 \text{ mm}$). The taxonomic classification was carried out using the Random Forest algorithm and evaluated using the 10-fold cross validation confusion matrix (see as Supplemental Material). This allowed us to determine the rate of error between manual and automated recognition, which had an estimated accuracy of 80%. See Grosjean and Denis (2007) for details on the procedures of the ZooImage software. Total abundance and biomass by taxonomic groups were obtained for each object identified in the digitized images. For calculating biomass we used the suggested equation by Hernández-León and Montero (2006) for mesozooplankton (1), considering converting values of body area to ECD (mm) and dry

weight to carbon (mgC) (2). This equation was adjusted (3) for use ZooImage by Grosjean and Denis (2012), these equations are described below:

$$\text{Biomass } (\mu\text{g dry weight/ind.}) = 45.7 * \text{area (mm}^2) ^{1.19} \quad (1)$$

$$\text{Log Biomass} = 3.04 * \text{Log ECD (mm)} + 18.7 \quad (2)$$

$$\text{Biomass } (\mu\text{g dry weight/ind.}) = 34.3 * \text{ECD (mm)} ^{2.38} \quad (3)$$

Growth and production rates

Growth rates for the three size classes of copepods were calculated using the equation of Hirst and Bunker (2003) which considers the size, temperature and chlorophyll. For appendicularians are using the equation described by López-Urrutia et al. (2003) and for other taxonomic groups equations Hirst et al. (2003), these latter include temperature and do not allow for variation in food and is assumed to represent high food availability (Tabla 1).

Secondary production of each taxon was calculated with growth rates as described above and discriminated taxa biomass obtained by the zooimage method.

Environmental influences

Data from the oceanographic time series were processed with the Gibbs SeaWater (GSW) Oceanographic Toolbox of TEOS-10 (IOC and IAPSO, 2010). We used absolute salinity, potential temperature, the depth of the OMZ was defined as the depth of 1 ml O₂ l⁻¹ and Chl_a concentrations in the water column (0-60 m) were also included.

Each sample represents a single monthly sampling with Tucker Trawl net (on few occasions with wp2 net, 9 out of 120). Stratified samples (47 out of 120) were treated separately, but then abundances and biomass were averaged for the 0-80 m water column.

Data on abundance and biomass of zooplankton were calculated by ZooImage using the metadata (volume of filtered seawater, fraction of samples and size of the scanning dish) and then standardized as individual $\times \text{m}^{-3}$. Biomasses for the zooplankton were obtained from the data on taxa abundance and ECD estimates from ZooImage.

Descriptive statistics (means, ranges, variations) were obtained for the entire oceanographic and biological time series. Thereafter, each series was plotted and the basic components (e.g., linear trends, annual cycles) were obtained from the monthly means and used to assess seasonality.

Results

Environmental conditions

Oceanographic variability at Station 18 has been previously reported for variable periods in other works (e.g. Escribano & Morales 2012). For the time period between 2002 and 2012 the basic statistics of temperature, salinity, OMZ depth, Chlorophyll-a and an index of upwelling (ZET), is shown in Table 1. Upwelling intensity, Chla and OMZ depth exhibit much variability judging by their coefficient of variation (CV), but temperature and salinity are much more stable ($\text{CV} < 5\%$) (Table 1).

For the time period covering August 2002 through December 2012 the time series of oceanographic variables at Station 18 were describe in detail in Medellín-Mora et al. (2016). From this data base we derived temperature at 10 m depth, mean salinity of the mixed layer, upper limit of the oxygen minimum zone (ZMO), Integrated Chlorophyll-a (Chla) of the water column, and also included an index of upwelling, which is the Zonal Ekman Transport (ZET). The monthly time series of all these variable are shown in Fig. 2. In addition to strong

seasonal and interannual variation, temperature at 10 m exhibited a significant negative trend (Fig. 2a), while salinity showed a significant positive trend (Fig.2b). The ZMO, Chla and ZET (Fig.2c, Fig.2d., Fig.2e) also varied strongly but without significant trends.

Zooplankton abundance and biomass

A summary of taxa structured abundance and biomass of the zooplankton community, estimated by ZooImage, is shown in Table 2. Mean values of numerical abundances indicated that small copepods (categorized by ZooImage) were dominant during both conditions upwelling (spring-summer) and non-upwelling (autumn-winter), In terms of biomass, small copepods also dominated the zooplankton community during upwelling and non-upwelling conditions. Large copepods, chaetognaths, annelids and cnidarian showed higher biomass in upwelling and euphausiids and siphonohorae in downwelling.

Seasonal and interannual variability in zooplankton biomass, separated into 3 categories (copepods, other crustacean and other taxa), is illustrated in Fig. 3. The time series also show the strong seasonal and interannual variation of different groups within these categories, but indicating the absence of clear patterns of seasonality or trends (Fig. 3).

Total zooplankton biomass estimated by ZooImage was also contrasted to direct measurements of zooplankton biomass. Although, ZooImage tended to show lower values through the time series, seasonal and interannual fluctuations of estimates from ZooImage are consistent with those obtained from direct measurements (Fig. 4).

The annual cycle of biomass (estimated from monthly climatology) showed that some groups exhibited a seasonal cycle (Fig. 5). For example, small copepods show two major peaks in biomass in autumn (May) and summer (February) (Fig. 5a). Meantime, euphausiids clearly

had a major peak of biomass in May (Fig. 5b). Other taxa also had some seasonal peaks, either in autumn or spring (Fig. 5c).

Growth rates and production

Estimated growth rates and production rates for different taxa are summarized in Table 3. The time series of zooplankton secondary production (ZSP) fluctuated strongly from year to year, but exhibited no trends or clear pattern of variation (Fig. 6). The annual cycle of production rates for different taxa is shown in Fig. 7. These seasonal cycles are consistent and similar to those of biomass (Fig. 5) with exception of small copepods, appendicularian, annelids and chaetognats, the contribution of different taxa to ZSP in percentage is illustrated in Fig. 8.

Integrated annual ZSP along with mean annual biomass and an estimate of the annual P/B ratio are shown in Fig. 9a. No clear trend can be inferred in these variables, but biomass exhibits low-frequency variation, as well as the P/B ratio, which acts as an index of production efficiency or zooplankton turnover rate.

To explore the effect of changing community structure on annual production and the P/B ratio, we assessed the annual taxa composition (Fig. 9b). This shows that some changes in taxonomic structure could be noticed on an annual basis. For example, euphausiids were in lower abundances during the first three years (2003-2005), then they started to increase from 2006 and so on (Fig. 9b). Meantime, cnidarian and siphonofores increased during the last years of the time series (Fig. 9b).

Discussion

In spite of the variety of zooplankton groups comprising the bulk of zooplankton biomass, our estimates of growth rates for most groups do not vary extensively as expected and where in the range of 0.06-0.15 d⁻¹. The exception for this pattern was the growth rate of the appendicularian group which was in average 0.68 d⁻¹. Although these organisms have been described as having a very high growth rate (Lombard et al. 2009), it is unlikely that such growth can be sustained for long in the field. Therefore, further studies may be required for reliable estimates of growth rate. In any case, total zooplankton production may not be largely affected by overestimating growth of this group, because its contribution to total biomass and production in this region is not substantial.

Clearly, taxonomic structure constitutes a key factor of the zooplankton community determining its secondary production (ZSP). Both zooplankton biomass and growth rates are strongly dependent in taxa composition. Size structure of the zooplankton community can also affect biomass and growth. Size mainly affects individual growth through the allometric effect on animal physiology and metabolism (Peters, 1986; West et al., 1997), such that smaller animals are expected to grow faster than larger ones. In this regard, it should be noted that in this upwelling zone small-sized copepods dominate both numbers and biomasses, and they also control ZSP. Therefore, in the context of environmental forcing on zooplankton production in this region, attention should be paid on factors affecting the dynamics of copepods, and in particular on small copepods (Escribano et al., 2016).

A key question related to dynamics of copepods is the relative influence of food resources and temperature on their growth. If copepod growth rates are food saturated in the upwelling zone, then temperature might be considered as a suitable predictor for copepod

production (Huntley and López.1992). In this respect, Escribano et al. (2016) suggested that copepod growth in this zone may occur under food-saturated conditions, although temperature in the upwelling zone varies in a rather narrow range, and it may not predict growth rates either (At least, in conditions without influence of ENSO events). Thus, it seems that other factors controlling copepod biomass may be more critical to regulate ZSP on an annual basis, such as, predation, mixed up/top-down control, change of gelatinous abundance, interaction between food and copepod mortality and physics processes (e.g. advection). In this study, higher biomass of cnidarian, siphonophores and eufausids were observed in the last years of the time series.

Changes in predation pressure of fish and other carnivorous zooplankton can affect abundance and biomass of zooplankton (Bachiller and Irigoien, 2015). In fact, Medellín-Mora et al. (2016) found a positive correlation between gelatinous zooplankton and copepods at Station 18 during the same period (2002-2012), suggesting a coincidence of copepods and their predators, although this does not necessarily mean a top-down control on zooplankton (Gerritsen and Strickler 1977). The advection can also affect abundance and biomass of zooplankton. Peterson (1998) suggested that upwelling circulation may control copepods in the upwelling zone. This implies a strong offshore advection through the Ekman layer (Marín et al., 2001) and also by formation of mesoscale eddies which can transport plankton offshore (Morales et al., 2010).

Our estimates of growth are consistent with estimates from other regions, although estimates for upwelling regions are not many (e.g. Mackinnon & Duggan, 2003), and this issue needs to be examined separately for taxa. Copepods have received more attention (e.g, Hutchings et al., 1995; Vargas et al., 2010; Escribano et al., 2016). Estimates of total

zooplankton production (ZSP) are very few for any marine system or region (e.g. Huntley & Boyd, 1984; Avila et al. 2012).

In the context of functioning of the upwelling system, the turnover rate of zooplankton biomass, and the proportion of C produced by phytoplankton and converted into secondary production, are fundamental issues (Mann & Lazier, 1991). The annual turnover rate of zooplankton biomass is represented by the annual P/B ratio. Our estimates of P/B are notably high (>10) suggesting annually the zooplankton biomass can be replaced several times and thus indeed reflecting a very productive ecosystem. With respect to ecological efficiency, phytoplankton production in this zone has been estimated in the range of 1-10 g C m⁻² d⁻¹ depending on seasonal/upwelling conditions (Daneri et al., 2000; Montero et al., 2007). Both processes however take place over different time scales. Phytoplankton biomass may be replaced in a few days, while zooplankton biomass may require at least a month or more, and therefore a comparison should be made over an integrated period.

References

- Avila, T.R., de Souza Machado, A.A., Bianchini, A., 2012. Estimation of zooplankton secondary production in estuarine waters: comparison between the enzymatic (chitobiase) method and mathematical models using crustaceans. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 416-417, 144–152.
- Bachiller, E., Irigoien, X., 2015. Trophodynamics and diet overlap of small pelagic fish species in the Bay of Biscay. *Marine Ecology Progress Series*, 534, 179-198.

- Beaugrand, G., Edwards, M., Legendre, L., 2010. Marine biodiversity, ecosystem functioning, and carbon cycles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 10120-10124.
- Benfield, M.C., Grosjean, P., Culverhouse, P.F., Irigoien, X., Sieracki, M.E., Lopez-Urrutia, A., Dam, H.G., Hu, Q., Davis, C.S., Hansen, A., 2007. RAPID: research on automated plankton identification. *Oceanography Society*, 20, 172-187.
- Capone, D., and D.A. Hutchins, 2013: Microbial biogeochemistry of coastal upwelling regimes in a changing ocean. *Nature Geoscience*, 711-716.
- Corredor-Acosta, A., Morales, C.E., Hormazabal, S., Andrade, I., Correa-Ramirez, M.A., 2015. Phytoplankton phenology in the coastal upwelling region off central-southern Chile (35° S–38° S): Time-space variability, coupling to environmental factors, and sources of uncertainty in the estimates. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 120, 813-831.
- Daneri, G., Dellarossa, V., Quiñones, R., Jacob, B., Montero, P., Ulloa, O., 2000. Primary production and community respiration in the Humboldt Current System off Chile and associated oceanic areas. *Marine Ecology Progress Series*, 197, 41-49.
- Escribano, R., Bustos-Ríos, E., Hidalgo, P., Morales, C.E., 2016. Non-limiting food conditions for growth and production of the copepod community in a highly productive upwelling zone. *Continental Shelf Research*, 126, 1-14.
- Escribano, R., Hidalgo, P., González, H., Giesecke, R., Riquelme-Bugueño, R., Manríquez, K., 2007. Seasonal and inter-annual variation of mesozooplankton in the coastal upwelling zone off central-southern Chile. *Progress in Oceanography*, 75, 470-485.

- Escribano, R., Morales, C.E., 2012. Spatial and temporal scales of variability in the coastal upwelling and coastal transition zones off central-southern Chile (35–40°S). *Progress in Oceanography*, 92-95, 1-7.
- Gerritsen, J., Strickler, J.R., 1977. Encounter probabilities and community structure in zooplankton: a mathematical model. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 34, 73-82.
- Grosjean, P., Denis, K., 2007. ZooImage users manual. sciviews.org/Zoo/PhytoImage, last accessed on April, 21, 2008.
- Hays, G., Richardson, A., Robinson, C., 2005. Climate change and marine plankton. *Trends Ecol. Evol.* 20(6), 337- 344.
- Hernández-León, S., Montero, I., 2006. Zooplankton biomass estimated from digitalized images in Antarctic waters: A calibration exercise. *Journal of Geophysical Research*, 111.
- Hidalgo, P., Escribano, R., Vergara, O., Jorquera, E., Donoso, K., Mendoza, P., 2010. Patterns of copepod diversity in the Chilean coastal upwelling system. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57, 2089-2097.
- Hirst, A., Bunker, A., 2003. Growth of marine planktonic copepods: global rates and patterns in relation to chlorophyll a, temperature, and body weight. *Limnology and Oceanography*, 48, 1988-2010.
- Hirst, A., Roff, J., Lampitt, R., 2003. A synthesis of growth rates in marine epipelagic invertebrate zooplankton. *Advances in Marine Biology*, 44, 1-142.

- Hooff, R.C., and W.T. Peterson. 2006. Copepod biodiversity as an indicator of changes in ocean and climate conditions of the northern California current ecosystem. *Limnol. Oceanogr.* 51(6): 2607-2620.
- Huntley, M., Boyd, C., 1984. Food-limited growth of marine zooplankton. *American Naturalist*, 455-478.
- Huntley, M.E., Lopez, M.D., 1992. Temperature-dependent production of marine copepods: a global synthesis. *American Naturalist*, 201-242.
- Hutchings, L., Verheye, H., Mitchell-Innes, B., Peterson, W., Huggett, J., Painting, S., 1995. Copepod production in the southern Benguela system. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 52, 439-455.
- IOC, S., IAPSO, 2010. The international thermodynamic equation of seawater–2010: Calculation and use of thermodynamic properties. Intergovernmental Oceanographic Commission, Manuals and Guides.
- Large, W.G., Danabasoglu, G. 2006. Attribution and impacts of upper-ocean biases in CCSM3. *Journal of Climate* 19, 2325–2346.
- Lehodey, P., J. Alheit, M. Barange, T. Baumgartner, G. Beaugrand, K. Drinkwater, J-M. Fromentin, S.R. Hare, G. Ottersen, R.I. Perry, C. Roy, C.D. van der Lingen and F. Werner 2006. Climate variability, fish and fisheries. *J. Climate*, 19(20): 5009-5030.
- Lombard, F., Florent Renaud, Christopher Sainsbury, Antoine Sciandra, Gabriel Gorsky. 2009. Appendicularian ecophysiology I: Food concentration dependent clearance rate, assimilation efficiency, growth and reproduction of *Oikopleura dioica*. *J. Mar. Sys.* 78: 606-616.

- López-Urrutia, Á., Acuña, J.L., Irigoien, X., Harris, R., 2003. Food limitation and growth in temperate epipelagic appendicularians (Tunicata). *Marine Ecology Progress Series*, 252, 143-157.
- McKinnon, A., Duggan, S., 2003. Summer copepod production in subtropical waters adjacent to Australia's North West Cape. *Marine Biology*, 143, 897-907.
- Manríquez, K., Escribano, R., Hidalgo, P., 2009. The influence of coastal upwelling on the mesozooplankton community structure in the coastal zone off Central/Southern Chile as assessed by automated image analysis. *Journal of Plankton Research*, 31, 1075-1088.
- Mann, K., Lazier, J., 1991. *Dynamics of marine ecosystem*. Blakwell Science.
- Marín, V.H., Escribano, R., Delgado, L.E., Olivares, G., Hidalgo, P., 2001. Nearshore circulation in a coastal upwelling site off the northern Humboldt Current System. *Continental Shelf Research*, 21, 1317-1329.
- Medellín-Mora, J., Escribano, R., Schneider, W., 2016. Community response of zooplankton to oceanographic changes (2002–2012) in the central/southern upwelling system of Chile. *Progress in Oceanography*, 142, 17-29.
- Morales, C.E., Torreblanca, M.L., Hormazabal, S., Correa-Ramírez, M., Nuñez, S., Hidalgo, P., 2010. Mesoscale structure of copepod assemblages in the coastal transition zone and oceanic waters off central-southern Chile. *Progress in Oceanography*, 84, 158-173.
- Miller, C.B., Wheeler, P.A., 2012. *Biological oceanography*: John Wiley & Sons.
- Montero, P., Daneri, G., Cuevas, L.A., González, H.E., Jacob, B., Lizárraga, L., Menschel, E., 2007. Productivity cycles in the coastal upwelling area off Concepción: the importance

- of diatoms and bacterioplankton in the organic carbon flux. *Progress in Oceanography*, 75, 518-530.
- Parrish, R.H., F.B. Schwing and R. Mendelsohn. 2000. Mid-latitude wind stress: the energy source for climatic shifts in the North Pacific Ocean. *Fisheries Oceanography* 9:3, 224-238.
- Pauly, D., Christensen, V. 1995. Primary production required to sustain global fisheries. *Nature* 374, 255-257.
- Peters, R.H., 1986. *The ecological implications of body size*: Cambridge University Press.
- Sobarzo, M., Bravo, L., Donoso, D., Garcés-Vargas, J., Schneider, W., 2007. Coastal upwelling and seasonal cycles that influence the water column over the continental shelf off central Chile. *Progress in Oceanography*, 75, 363-382.
- Peterson, W., 1998. Life cycle strategies of copepods in coastal upwelling zones. *Journal of Marine Systems*, 15, 313-326.
- Vargas, C., Martinez, R., Escribano, R., Lagos, N., 2010. Seasonal relative influence of food quantity, quality, and feeding behaviour on zooplankton growth regulation in coastal food webs. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90, 1189-1201
- West, G.B., Brown, J.H., Enquist, B.J., 1997. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science*, 276, 122-126.

Table- 1. Summary of the equations used to calculate growth rates of different zooplankton taxa at Station 18 off central/southern Chile.

Taxa	Equation growth rate	Author
Copepods	$\text{Log}_{10}=0.0186[\text{T}]$ + $0.288[\text{Log}_{10}\text{BW}]+0.417[\text{Log}_{10}\text{Ca}]+-1.209$	Hirst and Bunker (2003)
Appendicularian	$0.25 \times e^{0.0815 \text{ T}}$	Lopez-Urrutia (2003)
Amphipoda	$\text{Log (g) = -1.232}+0.0246\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.717}+0.0178\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.717}+0.0178\text{T}$	
Anelids	$\text{Log (g) = -1.406}+0.0326\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.779}+0.0364\text{T}$	
Chaetognaths	$\text{Log (g) = -4.334}+0.138\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.553}+0.027\text{T}$	
Cnidarian	$\text{Log (g) = -0.482}+0.0424\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.306}+0.0457\text{T}$	
Eufausids	$\text{Log (g) = -2.196}+0.0587\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.405}+0.0337\text{T}$	Hirst et al (2003)
Ostracods	$\text{Log (g) = -1.717}+0.0178\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.405}+0.0337\text{T}$	
Salps	$\text{Log (g) = -1.406}+0.0326\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.067}+0.0206\text{T}$	
Siphonophores	$\text{Log (g) = -1.405}+0.0337\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.306}+0.0457\text{T}$	
Larvae decapod	$\text{Log (g) = -1.405}+0.0337\text{T}$ $\text{Log (g) = -1.779}+0.0364\text{T}$	

*T=Temperature (°C), BW=Body Weight (mg), Ca=Chlorophyll a (mg m⁻³).

Table- 2. Basic statistics of the oceanographic variables measured in for the time series (2002-2012) at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Mean \pm standard deviation (Sd), range of values (min–max) and Variation coefficient (CV) , n=125.

		TSM	SAL	ZET	OMZ	CHL a
Upwelling	Mean	12.37	34.19	0.53	31.45	169.15
	Min	11.69	34.58	0.33	23.71	95.88
	Max	13.43	33.10	0.72	52.82	237.82
	CV	4.90	1.65	28.65	34.52	38.91
Downwelling	Mean	12.40	33.50	0.09	47.08	49.88
	Min	11.90	32.20	(-0.2)	25.70	20.46
	Max	12.70	34.40	0.50	63.00	133.80
	CV	2.70	2.70	322.60	30.80	88.34



Table- 3. Basic statistics of the abundance and biomass of zooplankton obtained in the time series (2002-2012) at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Mean \pm standard deviation (Sd), n=125.

Taxa	Upwelling n=64		Downwelling n=61	
	Abundance Ind m ⁻³	Biomass mg m ⁻³	Abundance Ind m ⁻³	Biomass mg m ⁻³
Total	401.66 \pm 269.46	7.87 \pm 8.90	353.39 \pm 587.33	7.46 \pm 9.61
Small Copepods	269.46 \pm 364.07	1.00 \pm 1.40	302.73 \pm 558.56	1.18 \pm 2.42
Med. Copepods	23.93 \pm 35.32	0.36 \pm 0.48	10.12 \pm 12.20	0.16 \pm 0.18
Large Copepods	28.58 \pm 50.86	1.68 \pm 2.82	4.90 \pm 6.65	0.26 \pm 0.28
Eufausids	2.01 \pm 4.35	0.39 \pm 0.62	2.09 \pm 4.49	3.27 \pm 8.49
Larvae decapods	12.1 \pm 19.3	0.98 \pm 1.39	2.06 \pm 2.14	0.17 \pm 0.15
Ostracods	0.5 \pm 1.18	0.02 \pm 0.06	0.25 \pm 0.4	0.01 \pm 0.03
Amphipods	0.43 \pm 0.6	0.24 \pm 0.42	0.22 \pm 0.42	0.13 \pm 0.36
Cnidarian	0.79 \pm 0.67	0.66 \pm 2.18	0.87 \pm 1.29	0.47 \pm 1
Appendicularian	27.37 \pm 34.3	0.3 \pm 0.44	15.5 \pm 15	0.18 \pm 0.18
Siphonohores	15.52 \pm 28.3	0.29 \pm 0.31	7.31 \pm 9.95	0.43 \pm 0.97
Annelids	18.36 \pm 36.5	0.96 \pm 1.81	6.33 \pm 14.2	0.35 \pm 0.66
Chaetognaths	1.77 \pm 4	0.59 \pm 2.43	0.79 \pm 0.9	0.54 \pm 0.92

Table- 4. Statistics of the production and growth rates of zooplankton obtained in the time series (2002-2012) at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. Mean \pm standard deviation (Sd), n=125.

	Upwelling n=64		Downwelling n=61	
	Production rate mg C m⁻² d⁻¹	g d⁻¹	Production rate mg C m⁻² d⁻¹	g d⁻¹
Total	65.04 \pm 76	0.132 \pm 0.012	44.4 \pm 43.52	0.129 \pm 0.014
Small Copepods	12.8 \pm 21.76	0.146 \pm 0.051	6.24 \pm 8.64	0.074 \pm 0.044
Med. Copepods	2.64 \pm 4.48	0.085 \pm 0.03	0.56 \pm 0.88	0.058 \pm 0.125
Large Copepods	8.64 \pm 14.32	0.063 \pm 0.038	0.72 \pm 1.04	0.038 \pm 0.027
Eufausids	2.48 \pm 3.92	0.087 \pm 0.029	11.2 \pm 27.04	0.075 \pm 0.034
Larvae decapods	4.48 \pm 5.12	0.066 \pm 0.03	1.04 \pm 0.96	0.086 \pm 0.028
Ostracods	0.16 \pm 0.48	0.063 \pm 0.033	0.08 \pm 0.16	0.07 \pm 0.036
Amphipods	0.64 \pm 1.2	0.05 \pm 0.033	0.4 \pm 0.96	0.067 \pm 0.038
Cnidarian	5.36 \pm 18.56	0.1 \pm 0.011	3.84 \pm 8.56	0.11 \pm 0.03
Appendicurarian	16.96 \pm 25.44	0.686 \pm 0.054	10 \pm 10.08	0.687 \pm 0.042
Siphonohores	4.32 \pm 4.64	0.173 \pm 0.028	6.32 \pm 14.4	0.18 \pm 0.02
Annelids	4.64 \pm 7.52	0.07 \pm 0.026	1.68 \pm 3.04	0.069 \pm 0.027
Chaetognaths	2.32 \pm 11.92	0.028 \pm 0.028	1.84 \pm 4.24	0.035 \pm 0.029

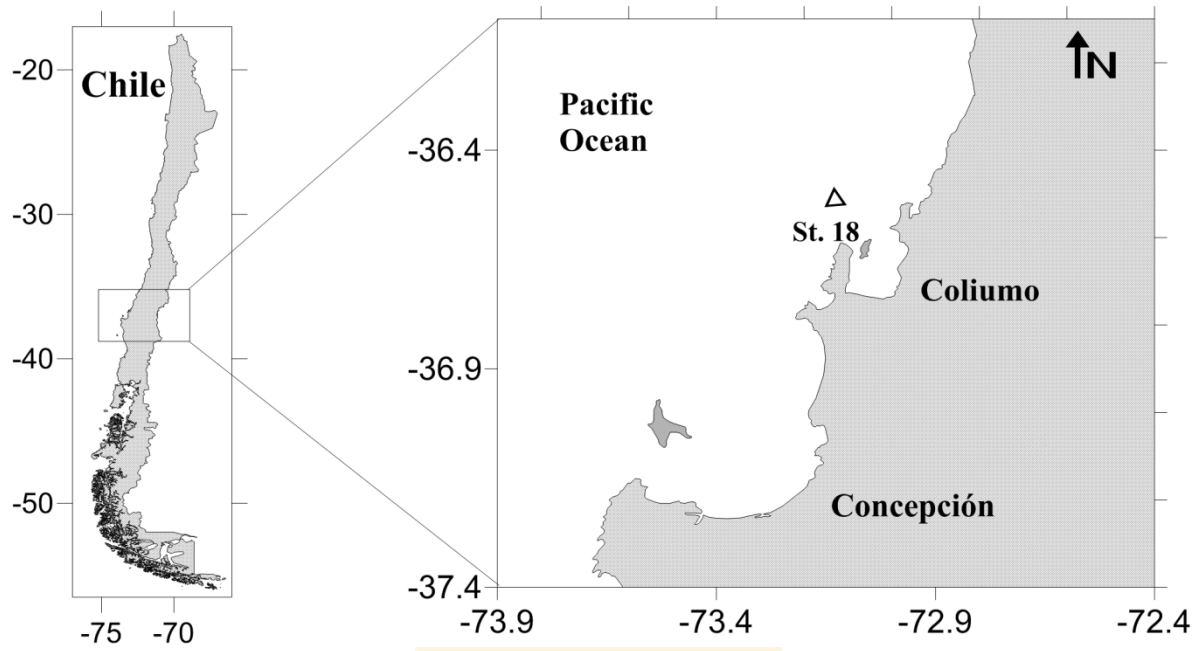


Figure- 1. The coastal upwelling zone off central/southern Chile, illustrating the study area with the location of Station 18, used for the 2002-2012 time series.



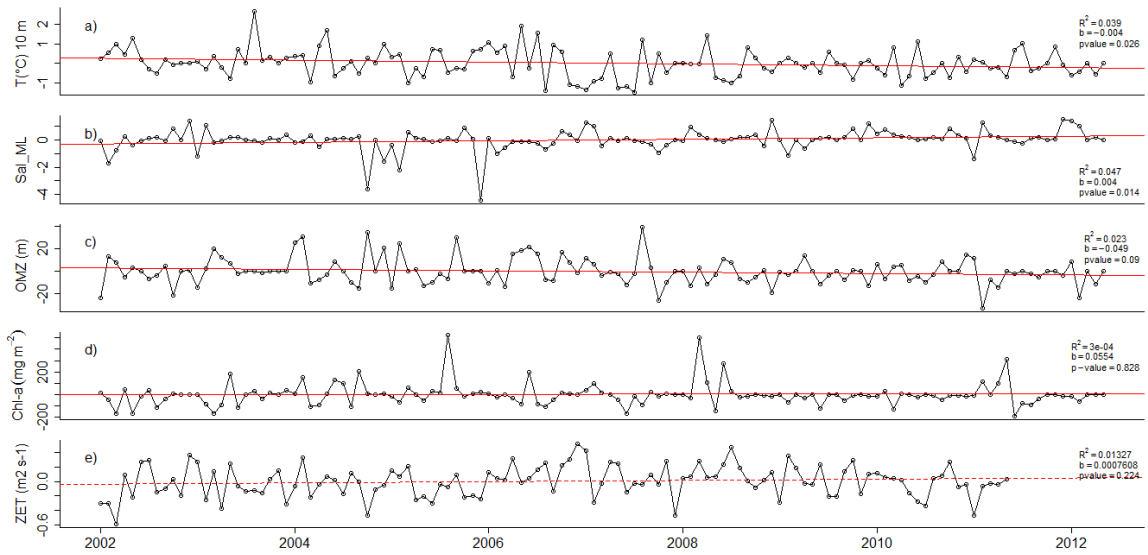


Figure- 2. Time series of residuals of oceanographic variables at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Temperature 10 m, b) Salinity of ML, c) Depth of the Oxygen Minimum Zone, d) Integrate Chlorophyll a (Chl-a), e) Zonal Ekman Transport ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$). The red lines show the linear trends.



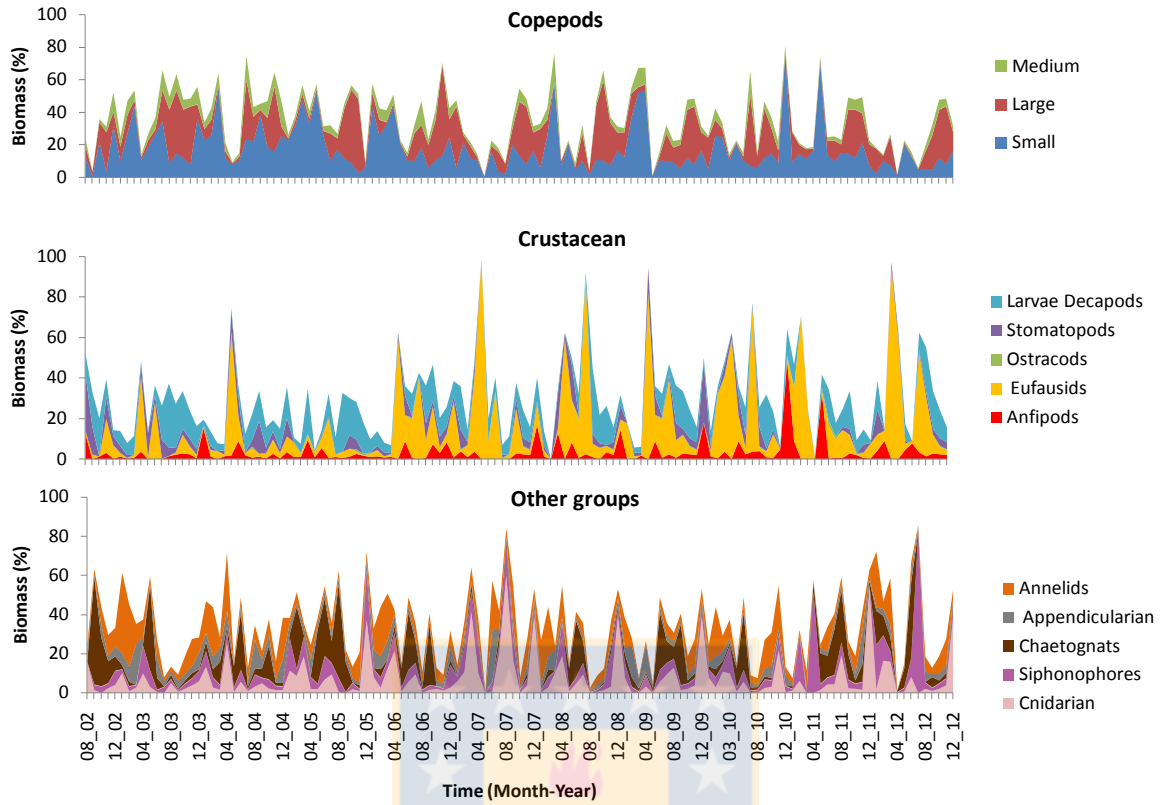


Figure- 3. Time series biomass of zooplankton by taxa at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Copepods, b) Other crustacean and c) other groups.

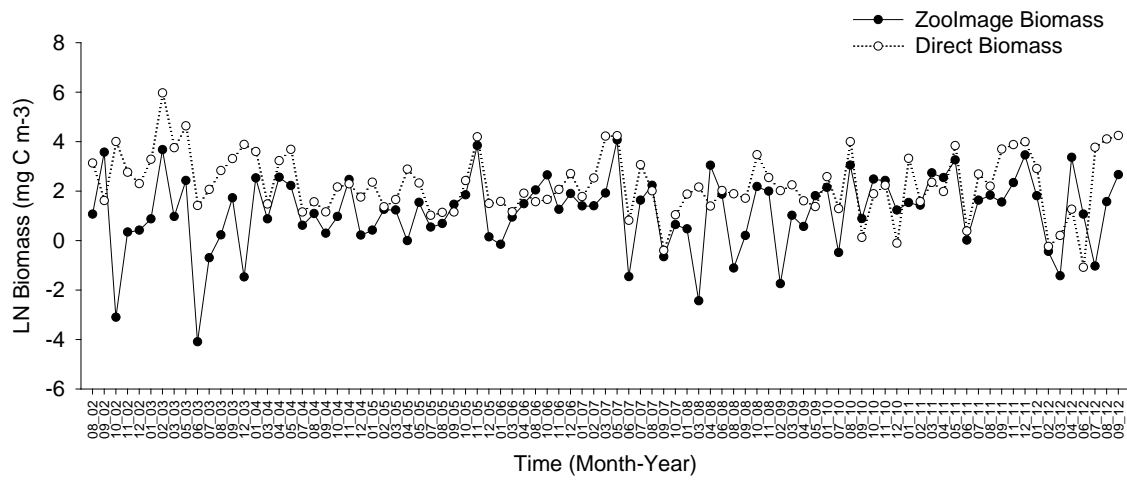


Figure- 4. Time series of zooplankton biomass measured directly and estimated by ZooImage at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile.



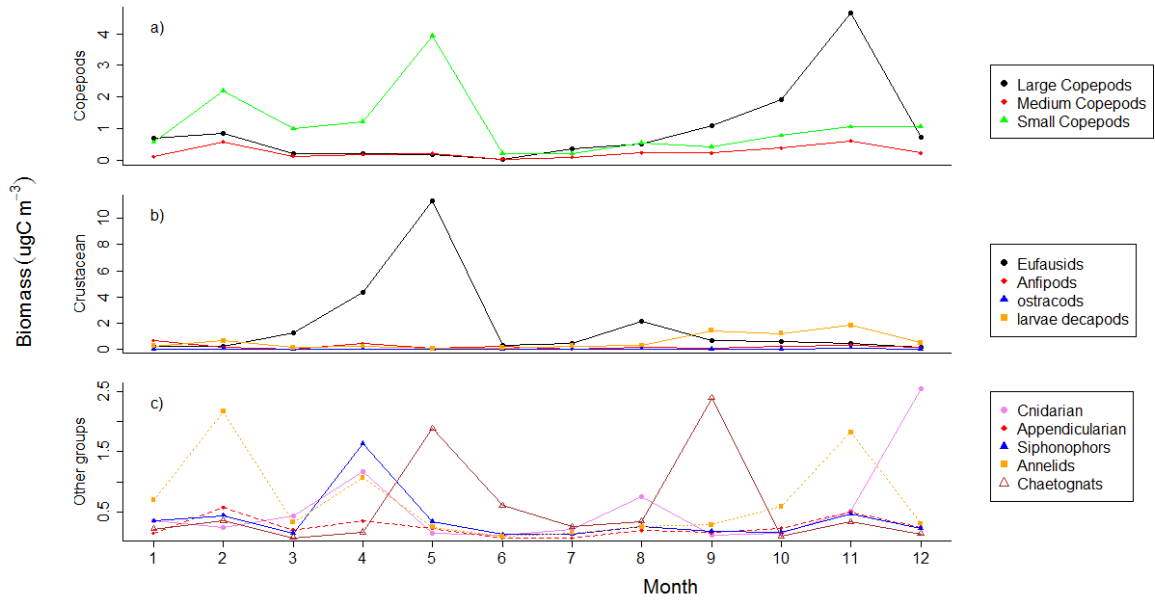
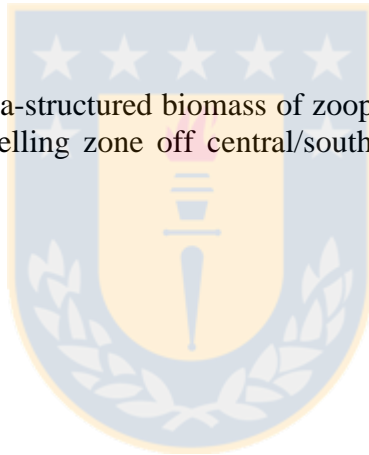


Figure- 5. Annual cycle of taxa-structured biomass of zooplankton estimated by ZooImage at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Copepods, b) Other crustacean and c) other groups.



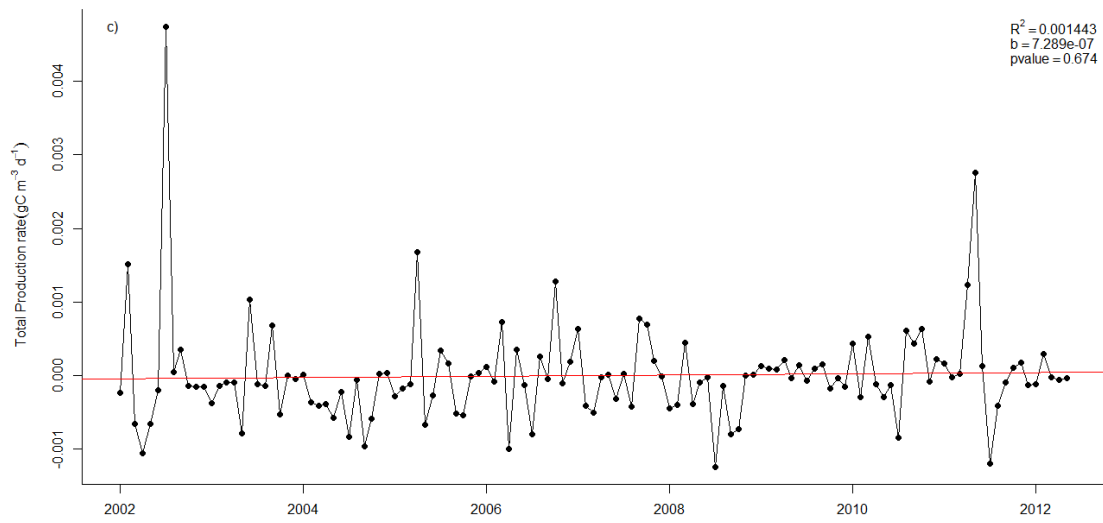


Figure- 6. Time series of Secondary Zooplankton Production rate at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. The red lines show the linear trends.



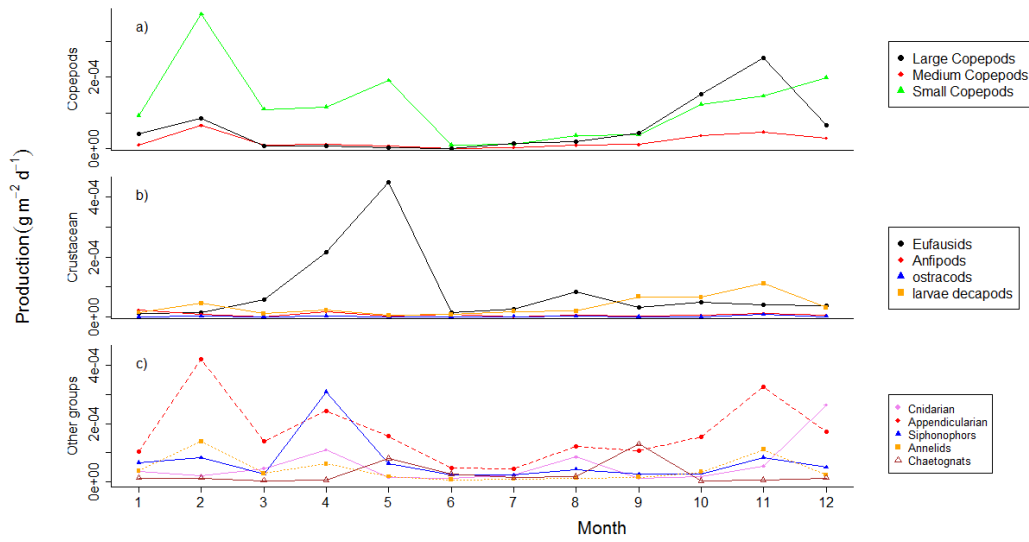


Figure- 7. Annual cycle of integrated production by taxa at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Copepods, b) Other crustacean and c) other groups.



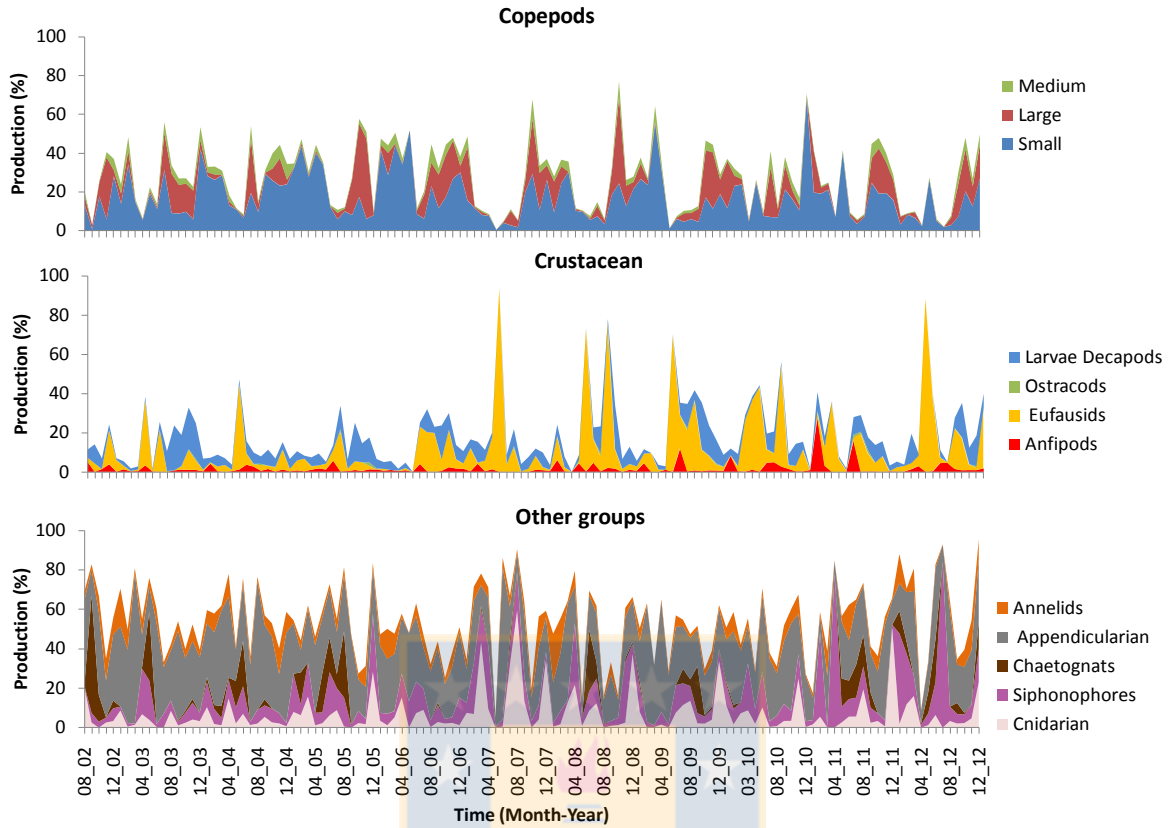


Figure- 8. Time series of contribution (%) to secondary production of zooplankton by different taxa at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile. a) Copepods, b) Other crustacean and c) other groups.

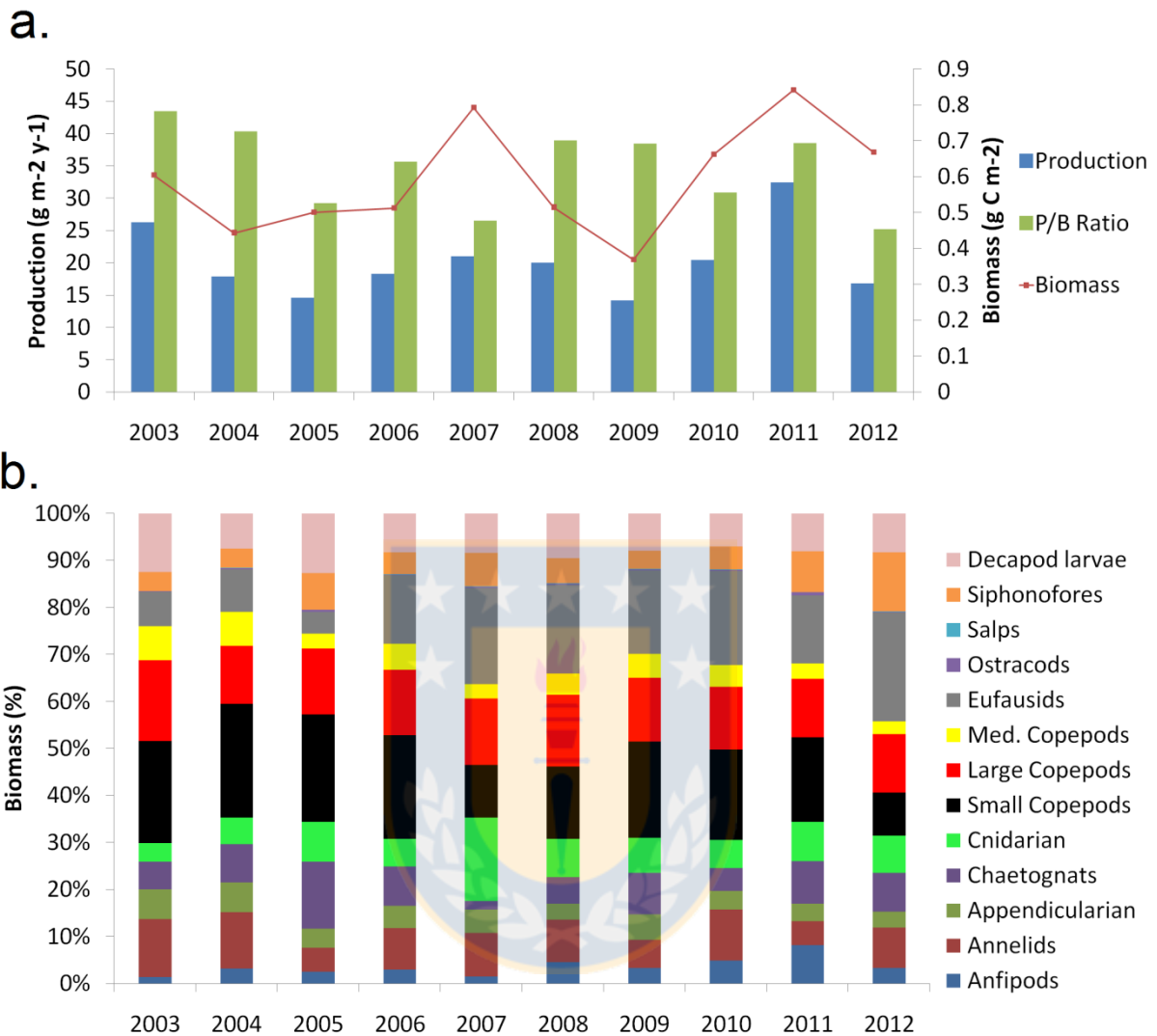


Figure- 9. a) Integrated annual production of zooplankton, mean annual zooplankton biomass and the annual P/B ratio, and b) Contribution (%) to mean annual zooplankton biomass by taxa at Station 18 in the coastal upwelling zone off central/southern Chile.

4. DISCUSIÓN

Es conocido que el aumento en la estratificación del océano es una consecuencia general del calentamiento global y las implicaciones para las tramas tróficas y ciclos biogeoquímicos han sido pobremente cuantificadas y poco entendidas en las escalas regionales y globales (Landry & Kishi, 2013). En el ecosistema de surgencia del centro-sur de Chile y en el sistema oligotrófico en el Mar Caribe colombiano la estratificación de la columna de agua presentó variaciones a nivel temporal y espacial, respectivamente y se evidenció su influencia sobre la abundancia, el espectro de tamaño, la composición taxonómica de grandes grupos y la diversidad de taxa y tamaños de la comunidad del zooplancton, especialmente en amplias escalas temporales.

La serie de tiempo de 10 años (2002-2012) registrada en el centro sur de Chile mostró fuertes cambios estacionales en las variables oceanográficas y variaciones significativas en la abundancia y el tamaño del zooplancton. Pendientes del espectro de tamaño más pronunciadas fueron registradas durante la surgencia, indicando mayor abundancia de organismos pequeños, y pendientes aplanadas durante el periodo de hundimiento mostrando mayor diversidad de tamaños y taxas. Es posible que la alta abundancia de pequeños tamaños durante la surgencia se origine por el predominio de estadios larvales de copépodos y otros organismos que desovan y se reproducen rápidamente. En esta región de surgencia la variación estacional del fitoplancton (Anabalón et al., 2007, Böttjer & Morales, 2007; Morales & Anabalón, 2012) considerado como un indicador del alimento disponible para el zooplancton puede influenciar la dinámica y estructura del zooplancton, cambiando la abundancia de especies (Vargas et al. 2010).

Estacionalmente, el evento de surgencia produce una ZMO más superficial, mayor transporte hacia el ecuador, generación de remolinos de mesoescala, advección fuera de la costa y más mezcla de la columna de agua (Escribano et al., 2009; Morales et a., 2010); . El ascenso del límite superior de la ZMO en la capa superficial puede reducir las concentraciones de oxígeno para el zooplancton dominante, como los copépodos (Escribano et al., 2009;Wishner et al., 2013), origina un hábitat comprimido a nivel superficial y esto hace que aumenten las

interacciones biológicas (e.g. depredación), también puede alterar la migración vertical y distribución del zooplancton aumentando la depredación y la mortalidad, esto podría afectar la transferencia trófica y el transporte de partículas hacia el océano profundo (Escribano et al., 2009; Wishner et al., 2013). Además, el ascenso de agua fría, proveniente de la surgencia puede reducir las tasas de crecimiento y desarrollo (Escribano et al., 2014). En las zonas de surgencia, la temperatura está sujeta a variaciones de alta frecuencia y el zooplancton debe adaptarse a esas fluctuaciones (Peterson, 1998). En la escala estacional no es fácil detectar cuál es el factor clave que maneja los cambios observados en la estructura del zooplancton, probablemente la mezcla de muestras de ambos periodos y la transición entre estos enmascaren las respuestas de la comunidad, es posible que estas respuestas obedezcan a múltiples efectos sobre diferentes procesos y niveles taxonómicos de la comunidad.

En la escala interanual se evidenciaron cambios en la estructura de tamaños y taxonómica del zooplancton durante el segundo periodo de la serie de tiempo, los copépodos pequeños (< 1.5 mm) disminuyeron su abundancia, siendo reemplazados por copépodos grandes (> 2.0 mm) y medianos ($> 1.5 - < 2.5$ mm), mientras los eufáusidos, larvas de decápodos, larváceos y ostrácodos aumentaron su abundancia, estos cambios fueron atribuidos posiblemente a la intensificación de la surgencia, puesto que al final de la serie de tiempo se registró disminución en la estratificación y temperatura y aumento en la salinidad. Es posible que las condiciones de alimento cambien debido al cambio en las condiciones oceanográficas o disponibilidad de nutrientes sobre la producción primaria, no obstante, estas variaciones no fueron evidentes en la concentración de clorofila a y no se encontró una relación entre la concentración de clorofila a y los copépodos. Entonces las condiciones de alimento, al menos en términos de cantidad no fueron un factor determinante para las respuestas del zooplancton, descartando un posible control bottom-up sobre esta comunidad. Vargas et al. (2010) sugieren que en este sistema de surgencia el zooplancton se adapta a la alternancia y modificación de la dieta dependiendo de la oferta de alimento disponible. Incluso puede sustentar la reproducción, desarrollo de cohortes y crecimiento continuo durante el año (Escribano et al., 2014). Por otra parte, se encontró una relación lineal positiva entre la abundancia de los gelatinosos (quetognatos, cnidarios y sifonoforos) como depredadores carnívoros y copépodos como presas sugiriendo co-ocurrencia más que un control desde arriba ("*top-down*"). Verheye

et al. (1992) aseguran que los controles "*top-down*" no actúan individualmente y la complejidad de las interacciones presa - depredador en la comunidad del zooplancton no son fácilmente discernibles. Además, cambios importantes en la estructura de las comunidades pelágicas pueden resultar de la combinación de controles "*top down*" y "*bottom up*" (Schmoker & Hernández-León, 2013).

Las variaciones significativas de la diversidad de taxas y tamaños en la serie de tiempo 2002-2012 coinciden con cambios registrados en las especies dominantes de copépodos al inicio y final de la serie (2002 y 2012) (Pino-Pinuer et al., 2014). En el Atlántico Norte el calentamiento global y el aumento en la estratificación produjeron una reorganización de la comunidad del zooplancton con un aumento en la diversidad de fitoplancton y zooplancton acompañado de una reducción en el tamaño (Beaugrand et al. 2010). Posiblemente un enfriamiento gradual sobre una escala interanual podría tener un efecto acumulativo sobre la dinámica de la población que es reflejada en su estructura después de varios años. Tendencias de largo plazo pueden reflejar mejor cambios graduales en tamaño y diversidad. Existen respuestas biológicas de gran escala en el océano a las variaciones climáticas de baja frecuencia, no obstante, los mecanismos por los cuales el clima ejerce esta influencia varían como componentes del ecosistema y son forzados por diferentes factores ambientales limitantes. Además, conclusiones de un sistema no necesariamente pueden extrapolarse a otros sistemas y predecir los efectos de los cambios ambientales a escala global en los ecosistemas es una tarea difícil de analizar (Cury et al., 2003).

Se estableció la influencia de los procesos físicos sobre la estructura de la comunidad del zooplancton, pero además se deben considerar los factores biológicos (depredación, alimento, mutualismo, comensalismo) que no fueron considerados en detalle en esta investigación y la dinámica misma de los taxa del zooplancton. En la serie de tiempo 2002-2012 se evidenció que las tasas de producción por taxa cambiaron estacionalmente y esto puede determinar la abundancia y biomasa. En cierto periodo predominan unos grupos taxonómicos u otros dependiendo de sus tasas productivas.

En el caso del sistema oceánico oligotrófico del Caribe colombiano se encontraron diferencias espaciales de la estratificación y las variables oceanográficas en los sectores estudiados, las cuales influenciaron la abundancia del zooplancton, no obstante, estos cambios no fueron registrados en el espectro de tamaño, la composición de grandes grupos taxonómicos y la diversidad. No obstante, al efectuar un análisis de las especies de copépodos en algunas estaciones del primer periodo de muestreo (mayo-junio 2008) se encontraron especies características en cada sector estudiado (norte, centro y sur), pero debido al bajo número de estaciones analizadas las diferencias espaciales tampoco fueron evidentes. Durante el mismo periodo Lozano-Duque et al. (2010) registraron que el fitoplancton presentó similitud en las especies, especialmente de diatomeas centrales y cambio en la proporción de la abundancia de los dinoflagelados en la zona nororiental (mezclada) y diatomeas pennales en la zona suroccidental (estratificada). Entonces, probablemente el nivel de identificación analizado en este estudio enmascare resultados importantes en la escala espacial que muestran relación directa con la estratificación. En las aguas oceánicas la influencia de las corrientes principales y la alta actividad de mesoescala pueden transportar y dispersar el zooplancton en toda la región.

En el Caribe colombiano cambios en las variables ambientales y en la estructura de la comunidad del zooplancton fueron evidentes en escala temporal y posiblemente estén relacionados con los siguientes factores:

- 1) El evento de surgencia moderada en la zona nororiental durante mayo-Junio de 2008, el cual se identificó por las condiciones de menor estratificación (mezcla) y temperatura y mayor densidad, salinidad y concentración de clorofila-a, en este periodo se registraron altas abundancias y diversidad de zooplancton.
- 2) La influencia de los eventos La Niña y El Niño durante el 2008 y 2009 respectivamente, que al parecer influyeron en la precipitación, las descargas continentales, los vientos locales y la actividad de mesoescala. En las zonas central y suroccidental del Caribe colombiano, la variabilidad de estos factores pueden originar cambios en la estratificación, temperatura,

aporte de nutrientes, sedimentos y salinidad, originando un cambio en el alimento y al parecer dominancia de zooplancton de menor tamaño con menor diversidad.

3) La variabilidad de los procesos de mesoescala es la variable más importante en la estructuración del zooplancton en aguas oceánicas. Se observaron cambios entre las épocas estudiadas que posiblemente se relacionen con la influencia del ENSO y los vientos locales. Poveda y Mesa (1999) encontraron que la corriente de viento de bajo nivel del Chorro del Choco es más débil durante El Niño e intensifica su actividad en La Niña, es posible que durante el evento La Niña se presente mayor actividad de mesoescala. Los procesos de mesoescala tales como los eddies, filamentos y meandros transportan y dispersan nutrientes, plancton y diversidad entre las zonas costera y oceánica.

Al efectuar una comparación de la abundancia, espectro de tamaño y diversidad del zooplancton entre la condición mezclada y estratificada de la columna de agua en los dos sistemas estudiados (Mar Caribe y Océano Pacífico) se encontraron algunas coincidencias:

La columna de agua mezclada por los forzantes que generan la surgencia (vientos, línea de costa, advección) en la zona nororiental del Mar Caribe Colombiano, así como, el aumento en la surgencia durante el segundo periodo de la serie de tiempo en el centro-sur de Chile (2008-2012) mostraron alta abundancia de zooplancton, pendientes aplanadas del espectro que indican la presencia de varias clases de tamaño y alta diversidad de taxa y tamaños. El patrón de circulación que genera el proceso de surgencia en el océano y el aumento en la productividad permiten que el zooplancton sea transportado y distribuido en la zona haciendo que aumente la abundancia y diversidad.

La estratificación de la columna de agua en la zona suroccidental del Caribe colombiano a causa de las descargas continentales que son transportadas por la corriente Caribe y distribuidas por la circulación del Giro Panamá Colombia y la mayor estabilidad de la columna de agua evidenciada durante el primer periodo de la serie 2002-2007, también mostraron alta abundancia pero con dominancia de organismos pequeños (pendientes pronunciadas del espectro de tamaño) y baja diversidad de taxa y tamaños. El aumento en la temperatura de la capa superficial del océano produce un aumento en la estratificación, limita

la entrada de nutrientes a la superficie y disminuye la productividad biológica (Doney, 2006), esto hace que dominen organismos fitoplanctónicos de pequeño tamaño (pico y nano) que son más eficientes para tomar los nutrientes y zooplancton pequeño depredando sobre estos, se produce entonces una reorganización de la trama trófica marina. Los resultados de la serie de tiempo coinciden con Pino-Pinuer et al (2014) quienes encontraron durante el primer periodo de la serie de tiempo (2002-2004) alta abundancia relativa de copépodos pequeños (<1 mm) y durante el segundo periodo (2010-2012) predominio de las clases de tamaño mayores (2 - 3 mm). A nivel espacial las diferencias de la estructura de la comunidad entre la zona nororiental y suroccidental son reveladas por los resultados obtenidos en la identificación de especies de copépodos con especies de menor tamaño en el ambiente estratificado de la región suroccidental, así como las diferencias de la comunidad del fitoplancton registradas por Lozano-Duque et al (2010) entre estas dos zonas.

Por otra parte, en el Océano Pacífico del centro-sur de Chile este patrón no fue evidente en la escala estacional (upwelling-downwelling), se presentó lo contrario, en la condición de mezcla durante el periodo de surgencia activa (primavera-verano) pendientes más negativas (organismos pequeños) y baja diversidad y en la estratificada durante el periodo de no surgencia pendientes menos negativas (mas clases de tamaño). Es posible estos resultados estén enmascarados por el nivel de identificación analizado (grandes grupos) y la confusión entre copépodos pequeños y estadios larvales haciendo que el espectro de tamaño cambie. Por otra parte, existen otros mecanismos biológicos como los controles top-down o bottom-up que pueden alterar la estructura de la comunidad del zooplancton haciendo que este patrón cambie, por ejemplo, Schmoker y Hernández-León (2013) en la corriente de Canarias durante los periodos de alta estratificación de la columna de agua registraron la disminución de la abundancia de picoplancton en lugar de un aumento, explican este resultado por un posible control top-down y por el éxito de los dinoflagelados en condiciones de limitación de nutrientes.

Como ha sido descrito en la literatura las condiciones oceanográficas se ven alteradas por la presencia de los eventos ENSO (El Niño/La Niña) modificando la estructura de la comunidad del zooplancton (Peterson et al 2002; Escribano et al., 2004; Collins et al., 2010). Durante la

serie de tiempo analizada 2002-2012 se presentó mayor frecuencia de eventos El Niño moderados durante el primer periodo de la serie (2002-2007) y de eventos La Niña durante el segundo periodo (2008-2012) (NWS-NOAA, 2015), que probablemente están relacionados con el cambio en la estratificación de la columna de agua y el aumento de la surgencia. Es posible que los eventos La Niña tengan influencia directa sobre la producción secundaria del zooplancton y por ende de los niveles tróficos superiores, puesto que durante los años con fuertes eventos La Niña (2007-2008 y 2011-2012) mostraron una disminución en la producción integrada anual y la proporción P/B que están asociados con cambios en la biomasa por taxa, evidenciando una disminución de los copépodos y un aumento de los cnidarios y eufáusidos. No obstante es necesario realizar más estudios para obtener una conclusión más acertada.

En Colombia en los años con influencia de La Niña se ha registrado aumento en las precipitaciones, descargas continentales e inundaciones, así como la intensificación de la corriente de viento de bajo nivel del Chorro del Choco y durante El Niño el patrón contrario (Poveda y Mesa, 1999; Ruíz-Ochoa, 2011). Es posible que durante el evento La Niña se genere mayor actividad de remolinos de mesoescala, como se describió en el presente estudio durante el primer muestreo. Hormazabal et al. (2004) en la zona de transición costera fuera de Chile registraron que la variabilidad de baja frecuencia de Energía Cinética de Eddies (EKE) está fuertemente modulada por los ciclos El Niño/La Niña. En el Caribe colombiano en octubre, el mes con mayor precipitación se ha registrado mayor (EKE) (Andrade y Barton, 2000). En el Caribe colombiano estos eventos pueden influenciar la actividad de remolinos de mesoescala y la estratificación al aumentar las descargas continentales, como se ha registrado estas dos variables son determinantes en la estructuración de las comunidades planctónicas en el océano.

Que queda pendiente?. 1) Para esclarecer un poco más la influencia de las interacciones biológicas en el sistema pelágico sería bueno analizar el zooplancton y el alimento desde otra perspectiva diferente a la clorofila a que involucre los diferentes tamaños del fitoplancton (pico, nano y micro) y el microzooplancton. 2). Analizar el zooplancton y seleccionar predadores como gelatinosos y peces de importancia comercial, como las larvas de peces o los

peces zooplanctófagos que son importantes para el sistema de surgencia del Centro-Sur de Chile.



5. CONCLUSIONES

A partir de los análisis y discusión expuesta en este trabajo, se acepta la hipótesis general planteada y además se concluye lo siguiente:

1. En la zona de surgencia del centro-sur de Chile las condiciones oceanográficas cambiaron durante la década 2002-2012, la columna de agua fue menos estratificada, más salina y fría, la capa de mezcla fue más profunda y la ZMO más superficial durante la segunda mitad de la serie de tiempo.
2. Durante el segundo periodo de la serie (2008-2012) los copépodos pequeños (< 1.5 mm) disminuyeron en abundancia y fueron reemplazados por copépodos grandes (> 2.0 mm) y medianos ($> 1.5 - < 2.5$ mm); además, los eufáusidos, larvas de decápodos, larváceos (apendicularios) y ostrácodos aumentaron en abundancia.
3. Condiciones estacionales e interanuales afectaron la estructura de la comunidad del zooplancton y las variables claves están relacionadas con la estratificación, temperatura, salinidad y profundidad de la Zona Mínima de Oxígeno.
4. En la zona centro-sur de Chile (Estación 18) se encontró relación entre la clorofila-a, el estrato de profundidad y las condiciones día vs noche sobre el tamaño y estructura taxonómica del zooplancton, pero si se evidenciaron cambios significativos en la abundancia, puesto que el zooplancton puede depender fuertemente de las condiciones del día y su distribución en profundidad.
5. Forzamiento sobre la surgencia inducido por el clima puede alterar las condiciones oceanográficas y por lo tanto modificar la estructura del zooplancton en este altamente productivo sistema de surgencia con potencial consecuencia para el funcionamiento de las tramas tróficas marinas.

6. Se estableció la influencia de los procesos físicos sobre la estructura de la comunidad del zooplancton, pero además se deben considerar los factores biológicos (depredación, alimento, mutualismo, comensalismo) que no fueron incluidos en detalle en esta investigación y la dinámica misma de los taxa del zooplancton. Puesto que las tasas de producción cambiaron estacionalmente y esto puede determinar la abundancia y biomasa, en cierto periodo predominan unos grupos taxonómicos u otros dependiendo de sus tasas productivas.
7. En las aguas oceánicas del Caribe colombiano se evidenciaron cambios espaciales y temporales en las variables oceanográficas, relacionados con el patrón de vientos y descargas continentales (estacionalidad), orientación de la línea de costa y extensión de la plataforma continental, así como la influencia del forzamiento climático derivado de la presencia de los evento El Niño/La Niña durante los periodos de estudio.
8. El tamaño y estructura taxonómica del zooplancton es similar entre las zonas estudiadas en aguas oceánicas del Caribe colombiano y caracteriza las masas de agua estudiadas como resultado del patrón de corrientes principales (Corriente Caribe y Panamá - Colombia) y la actividad de mesoescala.
9. Durante las épocas climáticas de transición y lluvias se encontraron cambios espaciales y temporales en la estructura de taxa y tamaños de la comunidad de zooplancton y en la variabilidad en la actividad de mesoescala, relacionados con la moderada surgencia costera y la influencia de los eventos ENOS.
10. En términos de condiciones oceanográficas, la estratificación de la columna de agua, oxígeno disuelto y clorofila-a fueron los mejores predictores de la abundancia, pendientes del espectro de tamaño y diversidad del zooplancton.

6. REFERENCIAS

- Alder, V. & C. Morales. 2009. Manual de métodos para el estudio de sistemas planctónicos marinos. Eudeba, Buenos Aires. 272 p.
- Anabalón, V., C.E. Morales, R. Escribano & M. A. Varas. 2007. The contribution of nano- and micro-planktonic assemblages in the surface layer (0–30 m) under different hydrographic conditions in the upwelling area off Concepción, central Chile. *Progress in Oceanography*, 75:396–414.
- Andrade C.A. & E.D. Barton. 2000. Eddy development and motion in the Caribbean Sea. *Journal of Geophysical Research*, 105(C11):26.191–26.201.
- Andrade-Amaya C.A. & E.D. Barton. 2005. The Guajira Upwelling System. *Continental Shelf Research*, 25:1003-1022.
- Andrade-Amaya, C.A. 2001. Las corrientes superficiales en la Cuenca de Colombia observadas con boyas de deriva. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 25(96):321-335.
- Beaugrand, G., Edwards, M., Legendre, L., 2010. Marine biodiversity, ecosystem functioning, and carbon cycles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 10120-10124.
- Behrenfeld, M. J., R. T. O'Malley, D. A. Siegel, C. R. McClain, J. L. Sarmiento, G. C. Feldman, A. J. Milligan, P. G. Falkowski, R. M. Letelier y E. S. Boss. 2006. Climate-driven trends in contemporary ocean productivity. *Nature*, 444: 752-755.
- Bernal, A. 2000. Die struktur der zooplanktongemeinschaft im neritischen Bereich des Kolumbianischen karibischen meeres. Justus-Liebig-Universitat GieBen. Alemania. Tesis de Doctorado. 142 p.
- Bernal, A. & S. Zea. 2000. Estructura taxonómica y trófica de la comunidad de zooplancton bajo un régimen alternante entre descarga continental y afloramiento costero en Santa Marta, Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 29: 3-26.
- Bernal, A., B. Werding & S. Zea. 2004. Variación espacial y temporal de biomasa zooplanctónica en el sector nerítico del mar Caribe colombiano. 187-196. En: Campos, N. H. y A. Acero (Eds.) *Contribuciones en ciencias del mar en Colombia Investigación*

- y desarrollo de territorios promisorios. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 262 p.
- Böttjer, D. & C. E. Morales. 2007. Nanoplanktonic assemblages in the upwelling area off Concepción (~36°S), central Chile: Abundance, biomass, and grazing potential during the annual cycle. *Progress in Oceanography*, 75:415–434.
- Bouman, H., O. Ulloa, R. Barlow, W. Li, T. Platt, K. Zwirgmaier, D. J. Scanlan, & S. Sathyendranath. 2011. Water-column stratification governs the community structure of subtropical marine picophytoplankton. *Environmental Microbiology Reports*, 3(4):473-482.
- Bouman, H., T. Platt, S. Sathyendranath, W.K.W Li, V. Stuart, C. Fuentes-Yaco, H. Maass, E. Horne, O. Ulloa, V. Lutz & M. Kyewalyanga. 2003. Temperature as indicator of optical properties and community structure of marine phytoplankton: implications for remote sensing. *Marine Ecology Progress Series*. 258: 19–30.
- Camacho, J. & R.V. Solé, 2001. Scaling in ecological size spectra. *Europhysics Letters* 55: 774-780.
- Campos, N. H., & J. Plata. 1990. Crustáceos epiplanctónicos de la Región de Santa Marta, Caribe Colombiano. *Memorias VII Seminario Nacional de Ciencias y Tecnologías del Mar*. Comisión Colombiana de Oceanografía. 255 – 264 p.
- Cañón, M., T. Vanegas, M. Gavilán & L. Morris. 2005. Dinámica planctónica, microbiológica y fisicoquímica en cuatro muelles de la bahía de Cartagena y buques de tráfico internacional. *Boletín Científico CIOH*. 23: 46-59.
- Cury, P., Shannon, L., Shin, Y.-J., 2003. The functioning of marine ecosystems: a fisheries perspective. *Responsible fisheries in the marine ecosystem*, 7:103-123. En: Sinclair & Valdimarsson, G. (Eds). *Responsible fisheries in the marine ecosystem*. Fisheries Research, FAO, 413 p.
- Cushing, D.H. 1989. A difference in structure between ecosystems in strongly stratified waters and in those that are only weakly stratified. *Journal of Plankton Research*. 11: 1–13.
- Doney, S. 2006. Plankton in a warmed world. *Nature*, 444: 695 - 696.

- Escritano, R., Hidalgo, P., Valdés, V., Frederick, L., 2014. Temperature effects on development and reproduction of copepods in the Humboldt Current: the advantage of rapid growth. *Journal of Plankton Research*, 36, 104-116.
- Escritano, R., P. Hidalgo, H. González, R. Giesecke, R. Riquelme-Bugueño & K. Manríquez. 2007. Seasonal and inter-annual variation of mesozooplankton in the coastal upwelling zone off central-southern Chile. *Progress in Oceanography*, 75(3): 470-485.
- Escritano, R., P. Hidalgo, M. Fuentes & K. Donoso. 2012. Zooplankton time series in the coastal zone off Chile: Variation in upwelling and responses of the copepod community. *Progress in Oceanography*, 97-100:174-186.
- Escritano, R., Hidalgo, P., Krautz, C., 2009. Zooplankton associated with the oxygen minimum zone system in the northern upwelling region of Chile during March 2000. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56, 1083-1094.
- Franco – Herrera, A., & L. Londoño-Lara. 2000. Referencia preliminar para el reporte del zooplancton superficial, sector "Plataforma Chuchupa b" departamento de La Guajira, Caribe Colombiano. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Bogotá. *Geotrópica* No. 5.
- Franco – Herrera, A., L. Castro & P. Tigreros. 2006. Plankton Dynamics in the South-Central Caribbean Sea: Strong Seasonal Changes in a Coastal Tropical System. *Caribbean Journal of Science*, 42(1):24-38.
- Franco, A., D. Avendaño, W. Bernal & M. Uribe. 1992. Contribución al conocimiento del plancton de Isla Tesoro, Parque Nacional Natural Corales del Rosario Caribe Colombiano. *Memorias VIII Seminario Nacional de Ciencias y Tecnologías del Mar. Congreso Centroamericano y del Caribe de Ciencias del mar. Tomo II: 754 – 762.*
- Garreaud, R. & Falvey, M. 2008. The coastal winds off western subtropical South America in future climate scenarios. *International Journal of Climatology*. 29(4): 543-554.
- Giraldo, R. & S. Villalobos, 1983. Anotaciones sobre la distribución de zooplancton superficial de San Andrés y Providencia. *Boletín Facultad de Biología Marina*. 1: 6.
- Gómez -Canchong, P. 2011. Estabilidad y resiliencia en comunidades marinas: un enfoque alométrico. Universidad de Concepción. Chile. Tesis de Doctorado. 250 p.
- Grosjean, P. & K., Denis. 2007 a. ZooImage users manual. www.sciviews.org/zooimage.
- Gutiérrez, J.M. 2011. Estructura vertical del zooplancton oceánico del mar Caribe colombiano. Universidad Nacional de Colombia. Tesis de Maestría. 101 p.

- Hernández-León, S., Montero, I., 2006. Zooplankton biomass estimated from digitalized images in Antarctic waters: A calibration exercise. *Journal of Geophysical Research*, 111.
- Hidalgo, P., R. Escribano, M. Fuentes, E. Jorquera & O. Vergara. 2012. How coastal upwelling influences spatial patterns of size-structured diversity of copepods off central-southern Chile (summer 2009). *Progress in Oceanography*, 92 -95: 134- 145.
- Invemar, 2006. Ordenamiento ambiental de la zona costera del departamento del Atlántico. Informe final componente físico. Barranquilla, 108 p.
- Iriarte, J.L., C. A. Vargas, F. J. Tapia, R. Bermúdez & R. E. Urrutia. 2012. Primary production and plankton carbon biomass in a river-influenced upwelling area off Concepción, Chile. *Progress in Oceanography*, 92 -95:97–109.
- Karp-Boss, L., E. Boss, H. Weller, J. Loftin & J. Albright. 2009. Teaching Physical Concepts in Oceanography. An Inquiry-Based Approach. The Oceanography Society. 48 p.
- Kerr, S.R. 1974. Theory of size distribution in ecological communities. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 31: 1859-1862.
- LaBarbera, 1989. Analyzing Body Size as a Factor in Ecology and Evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 97-117.
- Lalli, C. & T. Parsons. 1997. *Biological Oceanography: an introduction*. Elsevier, Amsterdam. 313 p.
- Landry, M.R., Kishi, M.J., 2013. Introduction: Sensitivities of marine food webs and biogeochemical cycles to enhanced ocean stratification. *Progress in Oceanography*, 119.
- Lenz, 2000. Introduction. 1 - 32. En: Harris, R., Wiebe, P. Lenz, J. Skjoldal, H. y Huntley M. (ed.). *ICES Zooplankton Methodology Manual*. Academic Press. 684 p.
- Li, W.K.W. 2002. Macroecological patterns of phytoplankton in the northwestern North Atlantic Ocean. *Nature* 419: 154–157.
- Longhurst, A.R. 1985 a. Relationship between diversity and the vertical structure of the upper ocean. *Deep Sea Research*, 32:1535-1570.
- Longhurst, A.R. 1985 b. The structure and evolution of plankton communities. *Progress in Oceanography*, 15:1-35.

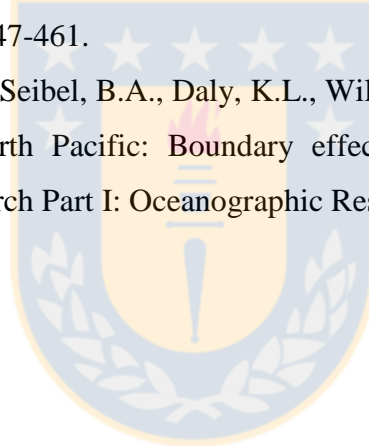
- Lozano, F. 1991. Contribución al conocimiento de la comunidad zooplanctónica nerítica de la Bahía de Santa Marta, Colombia. *Trianea (Act. Cient. Tecn. INDERENA)*, 4: 459-470.
- Lozano-Duque, Y., Vidal, L., Navas, G., 2010. La comunidad fitoplanctonica en el mar Caribe Colombiano. 87-118. INVEMAR (Ed.). Biodiversidad del margen continental del Caribe colombiano. Serie de Publicaciones Especiales.
- Manjarrés, L. A. Vergara, J. Torres, G. Rodríguez, E. Arteaga, J. Viaña, J. Arévalo & R. Galvis. 2005. Evaluación de peces demersales e ictioplancton en el Mar Caribe de Colombia, incluyendo condiciones oceanográficas. Parte 1. Crucero INPA-VECEP/UE/DEMER/9507 (Julio de 1995). *Revista Intropica*. 2:51-86.
- Mann, K.H. & Lazier, J.R. 1991. *Dynamics of Marine Ecosystem. Biological-Physical Interactions in the Oceans*. Blackwell Scientific Publications, Inc. Boston, 459 p.
- Manríquez, K., R. Escribano & P. Hidalgo. 2009. The influence of coastal upwelling on the mesozooplankton community structure in the coastal zone off Central/Southern Chile as assessed by automated image analysis. *Journal of Plankton Research*, 31(9), 1075-1088.
- Manríquez, K., R. Escribano & R. Riquelme-Bugueño. 2012. Spatial structure of the zooplankton community in the coastal upwelling system off central-southern Chile in spring 2004 as assessed by automated image analysis. *Progress in Oceanography*, 92-95: 121-133.
- Margalef, R. 1979. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanol Acta* 1: 493-509.
- Marino, S. & J. Merchán. 1993. Estimación cuantitativa y descripción cualitativa del zooplancton del noreste de La Guajira (Puerto Estrella Punta Espada) y su relación con parámetros físico - químicos del agua. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Santa Marta. Tesis de Grado (Biólogo Marino). 156 p.
- Marquet, P., R. A. Quiñones, S. Abades, F. Labra, M. Tognelli, M. Arim & M. Rivadeneira. 2005. Review Scaling and power-laws in ecological systems. *The Journal of Experimental Biology*, 208: 1749-1769.
- Martínez-Barragán, M., A. Franco-Herrera, J. Medina-Calderon & A. Santos Martínez. 2008. La comunidad de Copépodos en las islas de providencia y Santa Catalina (Caribe

- colombiano) durante el periodo lluvioso (octubre) 2005. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 38(1):85-103.
- McManus, M., O. Cheriton, P. J. Drake, D. V. Holliday, C. Storlazzi, P. Donaghay, & C. Greenlaw. 2005. Effects of physical processes on structure and transport of thin zooplankton layers in the coastal ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 301: 199-215.
- Medellín-Mora, J. & O. Martínez- Ramírez. 2010. Distribución del mesozooplankton en aguas oceánicas del mar Caribe colombiano durante mayo y junio de 2008. 119-148 p. En: *En Invemar (Eds.). 2010. Biodiversidad del margen continental del Caribe colombiano. Serie de Publicaciones Especiales, Invemar No. 20 p. 458.*
- Medellín-Mora, J., Escribano, R., 2013. Análisis automático de zooplancton utilizando imágenes digitalizadas: estado del conocimiento y perspectivas en Latinoamérica. *Latin american journal of aquatic research*, 41, 1-28.
- Michele, H. & M. Foyo. 1976. Studies of Caribbean Zooplankton. *Cooperative Investigations of the Caribbean and Adjacent Regions- II. Symposium on Progress in Marine Research in the Caribbean and Adjacent Regions. FAO Fisheries Report. 200: 275-289.*
- Morales, C.E., Anabalón, V., 2012. Phytoplankton biomass and microbial abundances during the spring upwelling season in the coastal area off Concepción, central-southern Chile: Variability around a time series station. *Progress in Oceanography*, 92, 81-91.
- NOAA, 1995 - 2007. Upwelling Index. Pacific Fisheries Environmental Laboratory. National Oceanic and Atmospheric. <http://www.pfeg.noaa.gov/products/PFEL/modeled/indices/upwelling/upwelling.html> (Fecha de consulta: septiembre de 2012)
- Park, T. 1970. Calanoid copepods from the Caribbean Sea and Gulf of Mexico. 2. New species and new records from plankton samples. *Bulletin of Marine Science*, 20(2): 472 . 546.
- Peters, R. H. 1983. *The ecological implications of body size.* Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Peterson, W., 1998. Life cycle strategies of copepods in coastal upwelling zones. *Journal of Marine Systems*, 15, 313-326.

- Pino-Pinuer, P., Escribano, R., Hidalgo, P., Riquelme-Bugueño, R., Schneider, W., 2014. Copepod community response to variable upwelling conditions off central-southern Chile during 2002-2004 and 2010-2012. *Marine Ecology Progress Series*, 515: 83-95.
- Platt, T. & Denman, K. L. 1977. Organization in the pelagic ecosystem. *Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 30: 575-581.
- Platt, T. & Denman, K. L. 1978. The structure of pelagic marine ecosystems. *Rapports et Procès-Verbaux des Réunions du CIESM*, 173: 60-65.
- Pond, S. & G. Pickard. 1983. *Introductory Dynamical Oceanography*. Second Edition. Pergamon Press. 329 p.
- Posada, B.O & W. Henao. 2006. Diagnostico de la erosión en la zona costera del Caribe colombiano. *Invemar. Serie de Publicaciones Especiales*, 13: 35- 38 p.
- Poveda, G., & O. Mesa. 1999. La corriente de chorro superficial del Oeste (“del Chocó”) y otras dos corrientes de chorro en Colombia: climatología y variabilidad durante las fases del ENSO”, *Revista Académica Colombiana de Ciencia*, 23(89), 517-528.
- Preisser, E. L., & J. L. Orrock. 2012. The allometry of fear: interspecific relationships between body size and response to predation risk. *Ecosphere*. 3(9):77.
- Quiñones, R.A., T. Platt & J. Rodríguez . 2003. Patterns of biomass-size spectra from oligotrophic waters of the Northwest Atlantic. *Progress in Oceanography*, 57: 405–427.
- Rendón, R., T. Vanegas & P. Tigreros. 2003. Contaminacion de la bahía de Cartagena por aguas de lastre de los buques. *Boletín Científico CIOH*.
- Revsbech N. P., L.H. Larsen, J. Gundersen, T. Dalsgaard, O. Ulloa, B. Thandrup. 2009. Determination of ultra-low oxygen concentrations in oxygen minimum zones by the STOX sensor. *Limnology and Oceanography Methods*, 7:371-381
- Richardson, A.J., 2007. In hot water: zooplankton and climate change. *ICES Journal of Marine Science*, 65:279–295.
- Riquelme-Bugueño, R., S. Núñez, E. Jorquera, L. Valenzuela, R. Escribano & S. Hormazábal. 2012. The influence of upwelling variation on the spatially-structured euphausiid community off central-southern Chile in 2007–2008. *Progress in Oceanography*, 92 -95: 146- 165.

- Robson, B., L. Barmuta & P. Fairweather. 2005. Methodological and conceptual issues in the search relationships between animal body-size distribution and benthic habitat architecture. *Marine Freshw Research*. 56:1-11.
- Rodríguez J. 2005. La estructura de tamaños del plancton: un tópico interdisciplinar y Margalefiano. *Ecosistemas*, 1: 1-11.
- Romagnan, J-B. 2007. Vertical habitat shift of meso- zooplankton assemblages in the California current. Université Pierre et Marie Curie. Paris, France. 39 p.
- Rothschild B.J. & T.R. Osborn. 1988. Small-scale turbulence and plankton contact rates. *Journal of Plankton Research*, 10:465-474.
- Schmoker, C., Hernández-León, S., 2013. Stratification effects on the plankton of the subtropical Canary Current. *Progress in Oceanography*, 119, 24-31.
- Sevadjan, J. C., M. A. McManus & G. Pawlak. 2010. Effects of physical structure and processes on thin zooplankton layers in Mamala Bay, Hawaii. *Marine Ecology Progress Series*, 400: 95-106.
- Sheldon, R. W., Sutcliffe, W. H. & Paranjape, M. A. 1977. Structure of pelagic food chain and relationship between plankton and fish production. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 34: 2344-2355.
- Shin, Y., M. Rochet, S. Jennings, J.G. Field & H. Gislason. 2005. Using size-based indicators to evaluate the ecosystem effects of fishing. *ICES. Journal of Marine Science*, 62:384-396.
- Smith, P. & S., Richardson. 1979. Técnicas modelo para prospecciones de huevos y larvas de peces pelágicos, FAO, Doc. Tec. Pesca. 175: 1 - 107.
- Sobarzo, M., L. Bravo, D. Donoso, J. Garces-Vargas & W. Schneider. 2007. Coastal upwelling and seasonal cycles that influence the water column over the continental shelf off central Chile. *Progress in Oceanography*, 75: 363-382.
- Sokal, R. & J. Rohlf. 1995. *Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biology Research*. Third Edition. W.H. Freeman and Company. 887 p.
- Solé, R., V., Alonso, D., Bascompte, J. y Manrubia, S. C. 2001. On the fractal nature of ecological and macroevolutionary dynamics. *Fractals* 9: 1-16.
- Ulloa, O. & S. Pantoja. 2009. The Oceanography of the Eastern South Pacific II: The Oxygen Minimum Zone. *Deep Sea Research II*. 56 (16), 987-1136.

- Vargas, A., R. Martínez, L.A. Cuevas, M. Pavés, C. Cartes, H. González, R. Escribano & G. Daneri. 2007. The relative importance of microbial and classical food webs in a highly productive coastal upwelling area. *Limnology and Oceanography*, 52(4):1495–1510.
- Vargas, C., Martínez, R., Escribano, R., Lagos, N., 2010. Seasonal relative influence of food quantity, quality, and feeding behaviour on zooplankton growth regulation in coastal food webs. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90: 1189-1201.
- Verheye, H., Hutchings, L., Huggett, J., Painting, S., 1992. Mesozooplankton dynamics in the Benguela ecosystem, with emphasis on the herbivorous copepods. *South African Journal of Marine Science*, 12: 561-584.
- Visser, A. 2007. Motility of zooplankton: fitness foraging and predation. *Journal of Plankton Research*, 29(5):447-461.
- Wishner, K.F., Outram, D.M., Seibel, B.A., Daly, K.L., Williams, R.L., 2013. Zooplankton in the eastern tropical north Pacific: Boundary effects of oxygen minimum zone expansion. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 79: 122-140.



7. ANEXOS

Anexo 1.

Lat. Am. J. Aquat. Res., 41(1): 29-41, 2013
DOI: 103856/vol41-issue1-fulltext-2

29

Review

Análisis automático de zooplancton utilizando imágenes digitalizadas: estado del conocimiento y perspectivas en Latinoamérica

Johanna Medellín-Mora¹ & Rubén Escribano²

¹Programa de Doctorado en Oceanografía, Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile

²Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile

RESUMEN. Los estudios de comunidades de zooplancton son de gran importancia para la biología, ecología y conservación del ecosistema marino. Sin embargo, estas investigaciones implican un proceso de alto costo en términos de tiempo y esfuerzo, requiriendo personal entrenado para la identificación, conteo y medición de numerosos grupos taxonómicos, así como para la estimación de biomasa. Actualmente, existe un creciente interés por la implementación de nuevas técnicas que permitan automatizar los análisis, incorporando tecnología informática aplicada al examen automático de imágenes digitalizadas. En este trabajo se revisa el estado del conocimiento de algunas metodologías, basadas en el estudio de imágenes digitalizadas de zooplancton. Se presenta una descripción general de los métodos conocidos, tales como ZooScan-ZooProcess y ZooImage, se analizan sus resultados para la identificación de distintos zooplancteres, se comparan con el método tradicional y se hacen propuestas para mejorar su aplicación. Adicionalmente, se resumen las experiencias con estos sistemas en el análisis de patrones de variabilidad espacial y temporal de la comunidad zooplanctónica, basados en el espectro de tamaño y pruebas para la estimación de biomasa de zooplancton. Finalmente, se elabora un listado de capacidades y limitaciones registradas en la bibliografía reciente, y se discute sobre las perspectivas de desarrollo y aplicación que ofrece esta metodología para la comunidad científica en Latinoamérica.

Palabras clave: zooplancton, identificación automática, análisis digital, estado del conocimiento, ZooImage, ZooScan.

Automatic analysis of zooplankton using digitized images: state of the art and perspectives for Latin America

ABSTRACT. The study of zooplankton communities is very important in the context of the biology, ecology, and conservation of the marine ecosystem. However, research on zooplankton implies a highly costly process in terms of time and effort, requiring trained personnel for identification, counting and measuring of various taxonomic groups, including biomass estimates. At present, there is an increasing interest for implementing new techniques allowing automatic analyses of zooplankton by means of informatics technology and assessment of digitized images. In this work, the state of the art of some methodologies applied to digital images of zooplankton is revised describing the general methods used, such as ZooScan-ZooProcess and ZooImage, and an analysis of their results for identification, a comparison with traditional methods, and recommendations to improve the identification process. Additionally, a brief summary of the experiences with these systems is presented, focused on the analysis of spatial and temporal variability of the zooplankton community by means of its size spectrum and tests for deriving biomass estimates. Finally, a list of capacities and limitations of the methods is discussed using recent literature, as well as the perspectives of development and applications of this new technology can offer to the scientific community of the Latin American region.

Keywords: zooplankton, automatic identification, digital analysis, state of the art, ZooImage, ZooScan.

Corresponding author: Rubén Escribano (rescribano@udec.cl)

A partir del año 2000 se observó una mayor eficiencia en la producción y análisis de imágenes, en términos de tiempo y esfuerzo para el conteo, medición y clasificación de partículas dentro de categorías taxonómicas de zooplancton con el diseño de equipos como el ZooScan, elaborado por el laboratorio de Oceanografía de Villefranche-sur-Mer, France (www.zooscan.com) (Gorsky & Grosjean, 2003). Este equipo en su versión comercial está compuesto por una cámara con fondo de vidrio impermeable para contener las muestras de zooplancton y un sensor de escáner convencional que digitaliza imágenes en alta resolución (2400 dpi) (Fig. 1a). Estas imágenes son analizadas con el programa de uso público ZooProcess, el cual es un conjunto de rutinas integradas con un programa de procesamiento de imagen digital llamado Image J (Picheral, 2010).

Por su parte el programa de uso público Zoo/FitoImage desarrollado por University of Mons-Hainaut en Bélgica, está construido a partir de varios programas tales como Image J, R o XnView, integrados en la plataforma "R". El programa es de código abierto, que permite importar imágenes desde cualquier dispositivo digital (*i.e.*, escáner convencional o cámara), analizarlas y exportar los resultados desde y hacia varios sistemas. Se diseñó para operar con el sistema Windows XP pero se puede adaptar a Linux, Unix o Mac Osx (Grosjean & Denis, 2007).

ZooImage utiliza características como forma, tamaño, entre otras, para clasificar organismos planctónicos con una exactitud del 70-80%, cuando se trabaja con 10-20 categorías taxonómicas mayores (no específicas), usando una serie de algoritmos de aprendizaje supervisados, funciones discriminantes y otros clasificadores (Benfield *et al.*, 2007; Grosjean & Denis, 2007). Cuando se incorpora el conocimiento de los expertos en la verificación de la clasificación, la exactitud aumenta (Fig. 1b) (Bell & Hopcroft, 2008; Gislason & Silva, 2009). Este programa se puede adaptar a los requerimientos del usuario y reconfigurar. Actualmente ha sido adaptado para trabajar además con imágenes obtenidas a partir de micro y macrofotografía y también se ha modificado para procesar imágenes de FlowCAM y ZooScan (MacLeod *et al.*, 2010).

De una manera general con estos métodos se requieren tres pasos para el análisis de las muestras e imágenes de zooplancton (Fig. 2):

Adquisición y análisis de la imagen: para esto se digitaliza (escanea) la muestra, se importa y procesa la imagen por medio de la creación de viñetas que son sub-imágenes de cada partícula extraída de la imagen

original con su respectiva escala de medida. Durante este procedimiento se analiza individualmente la partícula, se obtienen todas sus características y se registra la información relevante en un archivo de metadatos. Las muestras se pueden escanear con el equipo ZooScan que puede generar imágenes en escala de grises de hasta 2400 dpi, aunque el uso de un escáner convencional no constituye una limitación en términos de calidad de la imagen. Un escáner convencional típicamente permite obtener imágenes de entre 600 a 1200 dpi en escala de colores verdaderos.

Reconocimiento automático de partículas: las viñetas y metadatos son analizados según características potenciales para discriminar creando un Entrenador de datos o "training set" que es un organizador de categorías taxonómicas y partículas no identificadas en carpetas que deben ser verificadas por el usuario. El programa usa una variedad de algoritmos clasificadores que aprenden a identificar imágenes desconocidas por construcción de mecanismos de decisión asociados a las características extractadas de las imágenes y metadatos con la información proporcionada por el taxónomo. Los errores son evaluados por medio de una matriz de confusión, la cual es una herramienta de verificación que compara los grupos taxonómicos identificados manualmente con los clasificados automáticamente. Este análisis considera el conteo de objetos de cada grupo por cada método (manual y automático), muestra un valor de coincidencia entre estos en una matriz de celdas en diagonal, destacado con un color, y cuando se presenta un valor de no coincidencia por fuera de la diagonal en otro color (Fig. 2).

Análisis de series para información biológica y ecológica: los programas desarrollan estándares para la representación de metadatos, los cuales son utilizados también para producir informes de abundancia de taxa, clases de tallas para obtener área corporal, el Diámetro Circular Equivalente (ECD), espectro de tamaño y biomasa de cada muestra sobre la base de relaciones alométricas. Esta información en el caso del ZooImage puede ser exportada a archivos Excel o Matlab. La versión actualizada de los manuales para su uso específico pueden ser consultados en internet: *ZooImage* versión en inglés y español: <http://www.sciviews.org/zooimage>; <http://www.sciviews.org/zooimage/docs/ZooPhytoImageManualSpanish.pdf>; ZooScan: <http://www.obsvlfr.fr/LOV/ZooPart/ZooScan/>.

Avances recientes en el desarrollo del método

Gorsky & Grosjean (2003) y Grosjean *et al.* (2004) describieron el procesamiento de imágenes con el

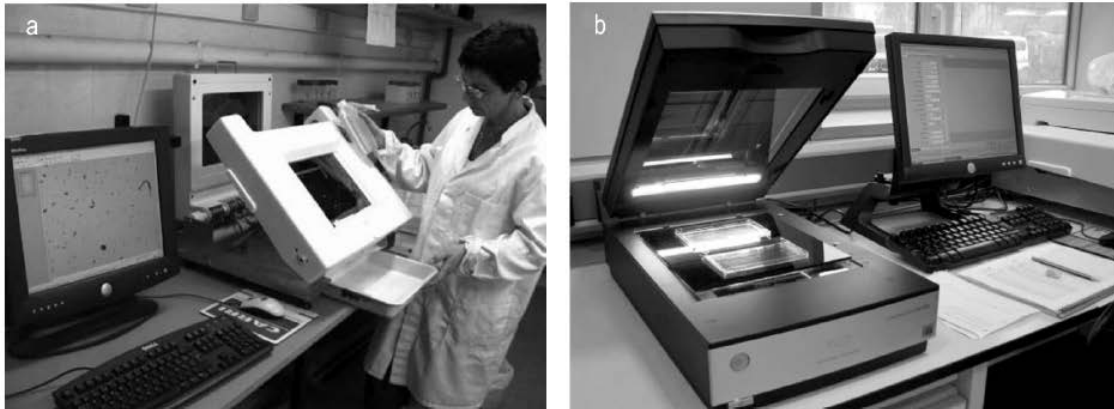


Figura 1. a) ZooScan y computador con el programa ZooProcess, b) Escáner convencional y computador con el programa Zoolmage (Tomado de Gorsky *et al.*, 2010; Bachiller & Fernandes, 2011).

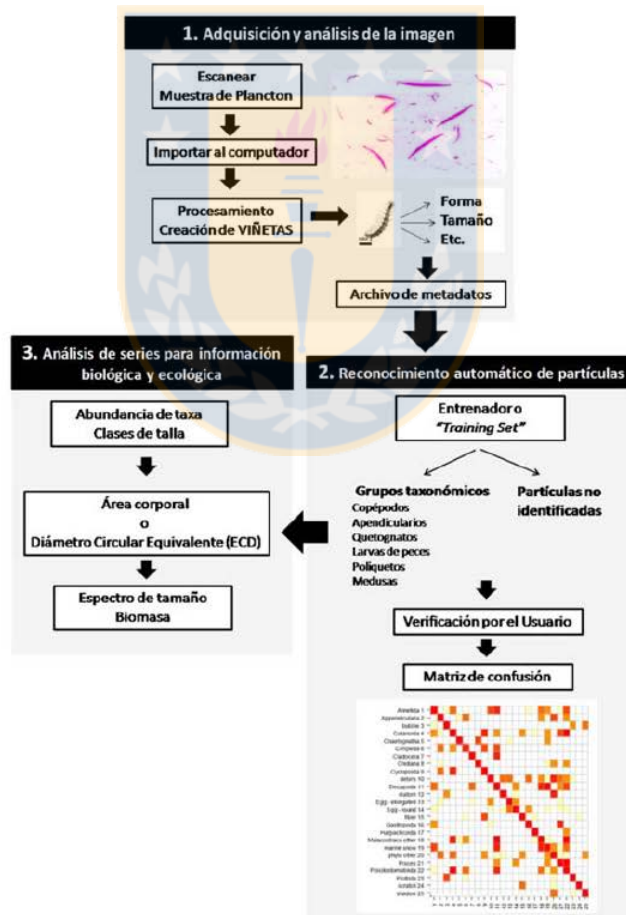


Figura 2. Esquema general de los pasos metodológicos para el análisis de las imágenes digitales de zooplankton.

ZooScan y los resultados de identificación con varios algoritmos para el aprendizaje de máquina. Ellos sugieren analizar varias sub-muestras y separar los organismos en dos o tres categorías de tamaño. También encontraron que la validación del Entrenador (“training set”) por parte de un experto aumenta de 70 a 85% la exactitud de la identificación.

En el 2005 en Villefranche-sur-Mer en Francia se realizó un taller sobre el análisis de imágenes y del conteo e identificación del zooplancton. En esta reunión el programa ZooImage fue presentado como plataforma de trabajo. Se divulgó la iniciativa RAPID (Research on Automated Plankton Identification) con un amplio apoyo de la comunidad científica en el campo del plancton, diseñada para ampliar y adaptar las capacidades de ZooImage y convertirlo en un sistema de libre disposición, altamente flexible y potente, para procesar y clasificar los conjuntos de datos de imágenes planctónicas. Paralelamente, se inició el desarrollo de la investigación sobre algoritmos de clasificación, formas de cuantificar y reducir las fuentes de error por los seres humanos y máquinas, el desarrollo de bases de datos de alta calidad y distribución, y la exploración de las características taxonómicas basadas en las propiedades intrínsecas de la imagen (ICES, 2006).

En los años 2007 y 2011 se efectuaron el cuarto y quinto Simposio Internacional de Producción de Zooplancton, en los cuales se dedicaron sesiones y grupos de trabajo a discutir sobre los avances en la tecnología de imágenes y su aplicación para el conteo e identificación de plancton y el estudio de su distribución. Se presentaron varias ponencias que describieron las experiencias con los métodos ZooScan y ZooImage (Dagg *et al.*, 2008), así como, la propuesta de herramientas para mejorar la exactitud y la confiabilidad de las medidas de zooplancton (*i.e.*, remoción de los apéndices de la elipse ajustando a la línea del cuerpo), como el programa *Plancton J* desarrollado por medio de ZooImage e Image J (Benfield *et al.*, 2007). Se efectuaron otras ponencias más específicas que serán comentadas en cada uno de los temas que se describen a continuación.

Identificación y conteo de zooplancton: comparación entre los métodos tradicional y automático

El análisis automático de imágenes digitales logra clasificar el zooplancton en las principales entidades taxonómicas como Clase, Familia o Género. El enfoque tradicional aún es necesario para explicar la estructura, desarrollo e historia de vida de la comunidad zooplanctónica (Benfield *et al.*, 2007; Gislason & Silva, 2009), así como las migraciones verticales que realizan algunos organismos en la

columna de agua, que pueden afectar la estructura espacial de la comunidad (Manríquez *et al.*, 2012). Por su parte Gorsky *et al.* (2010) afirman que con este método se obtienen buenos resultados para la estimación del espectro de tamaño y la biomasa. Estos autores concluyen que lo más importante para la identificación es establecer correctamente el Entrenador, confirmando los resultados de la clasificación y la compilación de viñetas por parte de un especialista (método semi-automático). Además, se ha demostrado que estos métodos reconocen con buena exactitud las partículas no biológicas (*i.e.*, nieve marina, fibras, materiales no orgánicos) (Culverhouse *et al.*, 1994; Bell & Hopcroft, 2008).

En varias investigaciones se han efectuado comparaciones entre la exactitud lograda en la identificación a través de los métodos tradicional y automático, encontrando valores similares (Bell & Hopcroft, 2008; Gorsky *et al.*, 2010; Di Mauro *et al.*, 2011). No obstante, Manríquez *et al.* (2009) encontraron diferencias de casi un orden de magnitud en algunos taxa, pero afirman que en general la dominancia de los grupos se mantiene. Por su parte, Bell & Hopcroft (2008) encontraron que la clasificación por tamaño aumentó la exactitud, los copépodos de talla media fueron mejor identificados (73%), en comparación con los copépodos pequeños (62,5%) y grandes (54,9%). De igual forma, Di Mauro *et al.* (2011) registraron 100% de exactitud en la identificación de huevos de peces y valores bajos cuando el número de viñetas es reducido en el Entrenador (*i.e.*, poliuretano, anfípodos, decápodos y larvas de peces). Su estudio se enfocó en tres categorías de copépodos: ciclopoidea, calanoida grandes y calanoida pequeños, en las cuales se obtuvo una exactitud de 85,7; 79,5 y 85,7%, respectivamente.

Se ha encontrado que la exactitud de la identificación por el método automático depende de la naturaleza y el número de viñetas en cada clase (Gislason & Silva, 2009). Estudios detallados como el de Gorsky *et al.* (2010) han demostrado que el número óptimo de viñetas por categoría es entre 200 y 300 y el mejor método de clasificación es el “Random forest algorithm”, el cual ha mostrado buenos resultados en todos los estudios revisados. Por su parte, Chang *et al.* (2012) sugieren un clasificador balanceado con el mismo número de viñetas en cada categoría, si el objetivo de la investigación es identificar correctamente categorías raras en adición a grupos dominantes.

Otro factor influyente en la exactitud es la subestimación de la abundancia de un taxon raro debido a la presencia de otro muy abundante, o la confusión en la identificación de organismos muy

pequeños, incluso con una resolución de 2400 dpi (Gorsky *et al.*, 2010). Por ejemplo, Gislason & Silva (2009) encontraron una subestimación mínima de la abundancia de calanoideos pequeños (<1 mm) que fueron identificados como nauplios o copépodos ciclopoideos del género *Oithona*. También se tiende a subestimar *Oithona*, y a sobre-estimar a *Oncaea*, debido a que el programa no puede diferenciar entre estos dos grupos. Asimismo, los quetognatos son incorrectamente identificados como larvacea. Di Mauro *et al.* (2011) al examinar la clasificación automática del *ZooImage* encontraron que la identificación de pequeños copépodos ciclopoidea y calanoidea no es acertada. Esto sugiere que cuanto mayor sea el número de categorías, más difícil es la optimización del clasificador.

Teniendo en cuenta la distribución de las masas de agua, Chang *et al.* (2012) en el Mar Este de China, analizaron los aspectos específicos de la construcción de un Entrenador y su influencia en la capacidad para relacionar la variación de la composición taxonómica del zooplancton con la heterogeneidad de las propiedades hidrográficas. Determinaron que la precisión y exactitud de un entrenador diseñado con información de una masa de agua específica disminuye, cuando es usado en otras regiones con características hidrográficas diferentes. Para este fin se debería crear un clasificador global que abarque la variabilidad de diferentes subregiones.

Evaluación de metodologías para mejorar la identificación automática del zooplancton

Se ha evidenciado dificultad en el reconocimiento y clasificación automáticos debido a la selección del número de clases (Tabla 1). Por esta razón Fernandes *et al.* (2009), sugirieron un método que ayuda a balancear el aumento de categorías y el rendimiento (exactitud, correcta identificación), por medio del agrupamiento de categorías que son evaluadas y finalmente aceptadas por el investigador. Según Di Mauro *et al.* (2011) para aumentar el rendimiento en la clasificación de algunas categorías de mayor tamaño, se debería aumentar el número de viñetas en el Entrenador o modificar la alicuota correspondiente, para obtener más viñetas de los organismos erróneamente clasificados.

Recientemente, Bachiller & Fernandes (2011), propusieron una nueva metodología para el control interno del método que permite detectar cualquier error durante el procesamiento de imágenes para obtener una calidad de chequeo segura para los procedimientos de los análisis de identificación de zooplancton. La metodología consiste en adicionar previamente una cantidad conocida de esferas de

control de resina (Amberlite Polymeric Adsorbent) a la muestra de zooplancton, para detectar anomalías durante el proceso. Se espera tener un determinado rango de abundancia de estas esferas en las submuestras (Fig. 3). Esta técnica permite evaluar si el volumen de la submuestra es suficiente para organismos raros, o de otra manera si el porcentaje de partículas sobrepuestas es razonable, y si el Entrenador es igual de efectivo en todas las muestras.

La acción de aumentar la resolución de la imagen puede mejorar la clasificación produciendo un Entrenador más definido, el cual proporcionaría una mejor identificación de las categorías y mayor calidad de las viñetas en el entrenamiento. La clasificación manual se haría más fácil y rápida, reduciendo el error, ya que se podrían identificar organismos pequeños de zooplancton (Fig. 4). No obstante, una mayor resolución implica más tiempo en el proceso de digitalización y mayor espacio en el computador para almacenar las imágenes. Por esta razón el investigador debe definir bien el objetivo del estudio. Por ejemplo, para estudios enfocados en una categoría taxonómica es importante mejorar la resolución, para poder detectar otras características de interés taxonómico de los organismos como antenas, anténulas y mejorar el reconocimiento de plancton gelatinoso (Bachiller *et al.*, 2012).

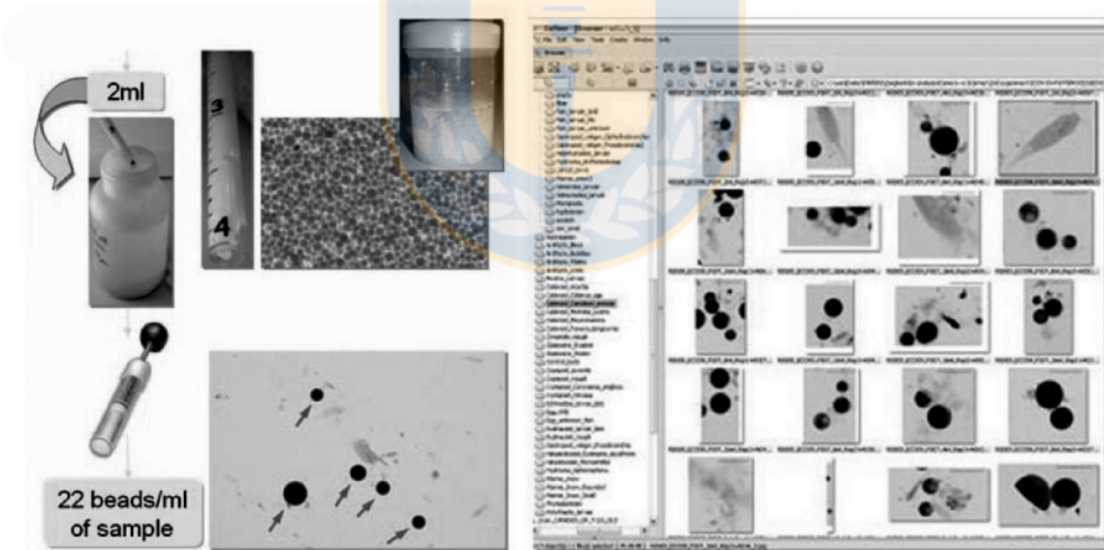
En las investigaciones revisadas se encontraron varios valores de resolución de la imagen obtenidas con el *ZooScan* y escáner convencional que van desde 600 hasta 4800 dpi (Tabla 1). Según Bachiller *et al.* (2012) la obtención de imágenes con una cámara digital ha mostrado mejores resultados en comparación con el escáner en términos de exactitud en la identificación taxonómica y costo, además de permitir un amplio rango de resoluciones (Fig. 4).

Adicionalmente, Fernandes (2010) recomienda teñir la muestra con eosina o rosa de bengala por 24 h antes de escanear, la primera sustancia tiene afinidad por el citoplasma y las proteínas del músculo, y la segunda tiene afinidad por los lípidos. Este proceso facilita la tarea de identificación del zooplancton al reducir el número de partículas no vivas entre un 50 y 75%. La mayoría de los estudios han adoptado el uso de la eosina, la cual al parecer ha dado buenos resultados y sería adecuada para las formas gelatinosas puesto que estos organismos en su contenido bioquímico presentan un alto contenido proteico (Lucas, 2009). No obstante se podrían hacer ensayos con los dos tipos de tinción puesto que presentan una tonalidad similar.

Para disminuir el tiempo de preparación de la muestra para escanear y mejorar la resolución, Bell & Hopcroft (2008) sugieren hacer pruebas acoplando al

Tabla 1. Comparación de metodologías entre los diferentes autores.

Autor	Programa	Número de muestras analizadas	Número categorías o clases	Número viñetas	Resolución de la imagen	Tipo de tinción	Exactitud (%)
Bell & Hopcroft (2008)	ZooImage	53	53	100	2400	Ninguna	85,0
Gislason & Silva (2009)	ZooImage	17	25	16 - 208	2400	Ninguna	75,0
Irigoien <i>et al.</i> (2009)	ZooImage	4124	17	12 - 228	600	Eosina	88,2
		-	37	8 - 50	-		64,7
Fernandes <i>et al.</i> (2009)	ZooImage	-	24	12 - 3043	600	Eosina	85,7
		-	30	12 - 2288	2400		82,0
Manríquez <i>et al.</i> (2009)	ZooImage	44	16	50	800	Rosa de Bengala	-
Gorsky <i>et al.</i> (2010)	ZooScan	-	20	200 - 300	2400	Ninguna	80,0
Di Mauro <i>et al.</i> (2011)	ZooImage	18	13	200 - 600	1200	Rosa de Bengala	83,9
Chang <i>et al.</i> (2012)	ZooScan	-	29	200 - 300	2400	Ninguna	-
Bachiller <i>et al.</i> (2012)	ZooImage	-	28	30	4800	Eosina	72,6
Manríquez <i>et al.</i> (2012)	ZooImage	-	29	50	800	Rosa de Bengala	-

**Figura 3.** Esquema de la metodología de control interno adicionando perlas de resina (Modificado de Bachiller & Fernandes, 2011).

escáner una celda fija con facilidad para la evacuación de la muestra con el fin de distribuir el zooplancton directamente sobre el vidrio. Escanear la muestra en placas separadas dificulta la manipulación para muestras grandes y aumenta el tiempo de obtención de las imágenes.

Ejemplos de aplicación

Patrones de variabilidad espacial y temporal de zooplancton uso del tamaño

Diversos estudios han evidenciado que el uso del ZooImage ofrece buenos resultados para evaluar los

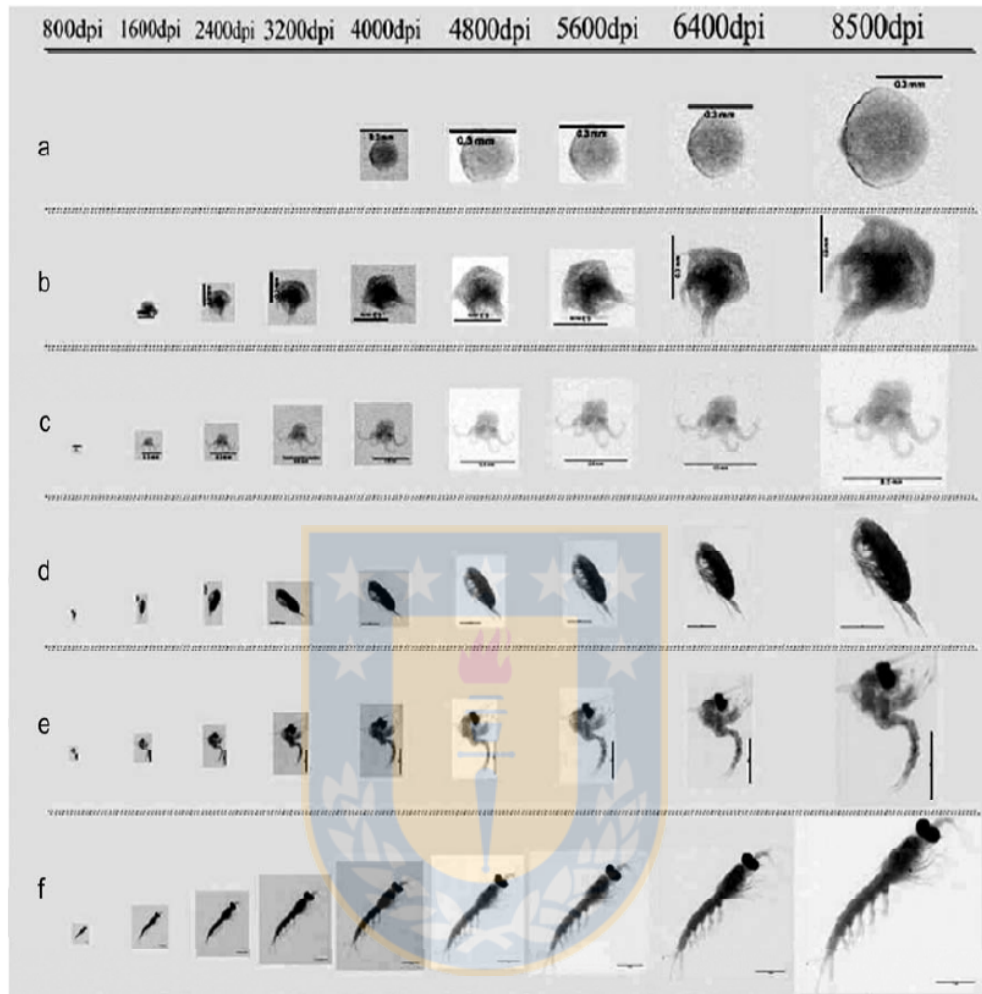


Figura 4. Viñetas en diferente calidad de resolución de cinco categorías de mesozooplankton a) Larva de bivalvo, b) nauplio de cirripedio, c) larva de cefalópodo, d) copépodo, e) larva de decápodo y f) eufáusido (Modificado de Bachiller *et al.*, 2012).

patrones espacio-temporales de la comunidad zooplanctónica. Según Manríquez *et al.* (2009) e Irigoien *et al.* (2009), este método permite una rápida evaluación de la estructura de tamaños representada por el espectro normalizado y sus pendientes asociadas. Las variaciones en la pendiente de los espectros permiten inferir cambios en la estructuración espacial de las comunidades y la influencia de factores ambientales en la distribución del zooplancton.

Este método ha resultado ser una herramienta apropiada para analizar los patrones temporales y espaciales de zooplancton en un sistema de surgencia. Tal es el caso del ecosistema de surgencia frente a la bahía de Concepción, donde el Centro de Inves-

tigación Oceanográfica en el Pacífico Sur Oriental-COPAS realiza el seguimiento hidrográfico de una serie de tiempo en una estación fija (Estación 18; 36°30,80'S, 73°7,75'W). En esta estación se estudió la comunidad de mesozooplankton durante los años 2002-2005. La pendiente del espectro de tamaño fue altamente variable en el tiempo y sus cambios se atribuyeron a las variaciones estacionales en la intensidad de la surgencia y la Zona de Mínimo Oxígeno (ZMO). De esta forma, se determinó que, cuando la surgencia era activa, la ZMO era más superficial y la pendiente del espectro de tamaños del zooplancton se incrementó (más positiva), tal que la regresión lineal se volvía menos pronunciada, en una

condición de una distribución más uniforme de las clases de tamaños. En contraste, durante el periodo de no surgencia, cuando la ZMO era más profunda, dominaban las clases de tamaño menores, el zooplancton de mayor tamaño era más escaso y la regresión lineal manifestaba mayor inclinación (Manríquez *et al.*, 2009).

En la misma zona de Concepción, durante el periodo de surgencia de 2004 se realizó un muestreo en 29 estaciones distribuidas en la zona costera y oceánica. En la zona costera se presentaron valores altos de clorofila, una pendiente del espectro de tamaño negativa mostrando valores bajos de diversidad y abundancia de zooplancton. La comunidad estuvo mejor representada en la zona del frente de surgencia, donde se registraron valores moderados de clorofila, una mayor profundidad de la ZMO, una pendiente del espectro más positiva con muchas clases de tamaño. Los frentes de surgencia se caracterizan por congregar alimento y zooplancton. En la zona oceánica se presentaron valores bajos de clorofila y al igual que en la costa, una pendiente negativa, representada en pocas clases de tamaño. No obstante, los cambios espaciales del espectro de tamaño también pueden ocurrir por variaciones temporales como la migración diurna vertical de algunos copépodos y eufausiáceos (Manríquez *et al.*, 2012).

Por otra parte, en la bahía de Biscay localizada entre España y Francia en el Océano Atlántico oriental, Irigoien *et al.* (2009) analizaron durante la primavera una serie de zooplancton de ocho años de 1998-2006. Según este estudio la estructura de la comunidad zooplancónica mostró un patrón recurrente de variaciones espaciales año tras año, con elevados valores de biomasa de organismos pequeños (<1 mm ECD) en la zona costera y organismos grandes (>1 mm ECD) en la plataforma media y talud. Estos resultados fueron corroborados con la pendiente del espectro que fue menos empinada en el talud y en áreas oceánicas.

Irigoien *et al.* (2009) también estudiaron la relación entre la biomasa de mesozooplancton y el reclutamiento de la anchoveta, un importante recurso pesquero, encontrando relaciones negativas entre ambos. La falta de relación mostró que no existía un control *top down* por parte de los adultos de anchoveta sobre el mesozooplancton.

Biomasa de zooplancton

Las medidas de biomasa de zooplancton son necesarias para cuantificar los flujos de energía hacia los niveles tróficos superiores. Sin embargo, este procedimiento analítico es dispendioso y toma mucho tiempo y además requiere la destrucción de la muestra

para obtener el peso húmedo o seco, así como análisis elementales de carbono y nitrógeno (Alcaraz *et al.*, 2003). Al respecto, Lehette & Hernández-León (2009) han realizado estimaciones de la biomasa de zooplancton a partir de imágenes digitalizadas, usando el área de los organismos, relacionando sus resultados con registros analíticos de biomasa en peso seco. Los autores encontraron buenos resultados con los crustáceos zooplancónicos, pero hallaron diferencias significativas con el grupo de los gelatinosos (quetognatos, salpas y sifonóforos), enfatizando la necesidad de discriminar entre ambos grupos.

En el norte del Mar Argentino, Di Mauro *et al.* (2011) aplicaron nuevos cálculos y ecuaciones que incluyen parámetros alométricos para obtener el biovolumen, el cual se puede transformar a otras unidades de biomasa usando factores de conversión obtenido en estudios previos. La estimación del biovolumen utiliza el ECD (mm) e involucra el largo y ancho del animal. Esto permite involucrar la variabilidad espacial y temporal en la talla de copépodos de aguas templadas en los cálculos de biovolumen como parte de la aplicación reciente del programa. Los parámetros alométricos podrían ser extendidos a otros grupos de zooplancton.

Ventajas y limitaciones

A continuación se presenta un resumen de algunas capacidades y limitaciones que han surgido de la experiencia del uso del método de análisis de zooplancton a partir de imágenes escaneadas registrada por varios autores.

Ventajas

- Rápido y no destructivo, realiza conteo y medición, el usuario puede seleccionar el método para analizar las imágenes, que puede ser automático o semiautomático. El investigador puede revisar las viñetas y modificar su identificación, aumentando la exactitud a un 85% (Grosjean *et al.*, 2004).
- Permite construir bases de datos para futuras series de tiempo; los metadatos son útiles para organizar la información y las muestras (Gorsky & Grosjean, 2003; Grosjean *et al.*, 2004).
- Las comparaciones efectuadas de los conteos taxonómicos y biomasa con métodos tradicionales y automáticos han evidenciado una buena relación, no obstante todavía se presentan algunas inconsistencias (Bell & Hopcroft, 2008).
- Permite obtener el tamaño de los organismos que es una de las variables que requieren más tiempo cuando se analizan las muestras mediante el método tradicional. Con esta variable se puede

calcular el Diámetro Circular Equivalente (ECD) y con éste el tamaño del espectro de cada muestra. La abundancia y el ECD se normalizan con logaritmo y el tamaño del espectro se construye por medio de una regresión lineal simple. Se usa la pendiente de esta regresión para describir el espectro de la comunidad (Manríquez *et al.*, 2012).

- El espectro de tamaño obtenido por el *ZooImage* es una herramienta útil para observar variabilidad espacial y temporal en la estructura del zooplancton en zonas de surgencia (Manríquez *et al.*, 2009, 2012) y otras regiones marinas.

Limitaciones

- Hasta el momento la identificación es adecuada para grupos faunísticos y taxa mayores. No obstante, se requiere perfeccionar la identificación para niveles taxonómicos de género y especie, por esta razón no es útil para colecciones biológicas (Gorsky & Grosjean, 2003; Grosjean *et al.*, 2004). En este sentido, se recomienda hacer análisis tradicionales simultáneos de las muestras, haciendo énfasis por ejemplo en cierto tipo de organismos que presentan migración vertical diurna-nocturna, dado que esta conducta puede afectar la estructura espacial de la comunidad de mesozooplancton (Manríquez *et al.*, 2009).
- El reconocimiento automático del zooplancton es difícil para todos los métodos, puesto que la diversidad de los grupos es alta y cualquier método debe reconocer diferentes formas, orientación del cuerpo, extensión de los apéndices, daño en los apéndices, formas amorfas y agregadas, entre otros (Gorsky *et al.*, 2010). Por estas razones el entrenamiento se puede contaminar con errores en el reconocimiento manual (Grosjean *et al.*, 2004).
- Se ha identificado limitaciones cuando el número de taxa aumenta y/o el número de viñetas cada taxón disminuye (Grosjean *et al.*, 2004).
- Para estimar la biomasa de imágenes digitalizadas se debe diferenciar crustáceos y formas gelatinosas. El biovolumen presenta algunos errores y problemas debido a que los apéndices de los copépodos se incluyen en el cálculo de la elipse y a que los organismos gelatinosos poseen baja biomasa por unidad de área por la alta cantidad de agua, variabilidad en el contenido orgánico de sus tejidos y dificultad del programa para detectar con precisión los bordes de estos organismos transparentes. Se ha encontrado diferencias significativas entre los parámetros de regresión de salpas, quetognatos y sifonóforos. Por esta razón, una relación general entre área y biomasa no puede ser aplicada para el grupo de gelatinosos (Lehette & Hernández-León, 2009).
- Puede existir sobre-estimación de la abundancia de los taxa raros debido a una marcada diferencia entre categorías dominantes y raras (Bell & Hopcroft, 2008; Gislason & Silva, 2009; Gorsky *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2012). No obstante, la fusión de categorías podría ayudar a mejorar la sobre-estimación (Fernandes *et al.*, 2009).
- Se ha evidenciado ciertas inconsistencias en la identificación detallada de algunos organismos, como pequeños copépodos, que confunden el algoritmo de reconocimiento automático, debido posiblemente a un umbral de tamaño bajo y que el escáner no captura suficiente detalle en términos del número de píxeles. Copépodos de los géneros *Pseudocalanus*, *Metridia* y *Oithona* fueron erróneamente clasificados como restos, así como huevos de eufausiáceos, nauplios de copépodos y cirripedios (Bell & Hopcroft, 2008). También se han registrado confusiones entre pequeños calanoideos y ciclopoideos (Di Mauro *et al.*, 2011).
- Mientras la resolución de las imágenes no pueda ser aumentada considerablemente estos métodos son incapaces de identificar el microzooplancton. Sin embargo, con la nueva tecnología de FlowCAM y el código abierto del *ZooImage* es posible incorporar y procesar imágenes de protozoos y nauplios de copépodos, entre otros.
- Según Chan *et al.* (2012) si se desea mantener la resolución taxonómica mientras se minimiza la contaminación probablemente se necesita incluir nuevas características para identificar el zooplancton (con y sin apéndices y forma del rostro, etc.), entonces es necesario mejorar la resolución de la imagen para extraer más características.
- Bell & Hopcroft (2008) encontraron que el programa reduce su eficiencia cuando se analizan muestras de campo recientes con un clasificador diseñado a partir de muestras preservadas por mayor tiempo.

Perspectivas de aplicación y estudios futuros

Teniendo en cuenta la alta importancia del zooplancton, se espera con estos métodos obtener datos de composición, abundancia, distribución y biomasa de manera rápida y con la mayor exactitud para la comprensión de la comunidad y de su aplicabilidad como indicador de variabilidad ambiental, cambio climático, pesquerías y ciclo del carbono.

Sin embargo, la mayor limitación de los análisis automáticos de imágenes es lograr la correcta identi-

ficación de los organismos, particularmente en el caso de los gelatinosos. Los taxónomos aún son esenciales para identificar las especies, incluso en la técnica del ADN, el código de barras no es útil hasta que no haya sido identificada la especie (MacLeod *et al.*, 2010).

Los Investigadores de la ecología del zooplancton en oceanografía requieren identificar cientos de especies, los sistemas automatizados aún no están capacitados a este nivel de diversidad. Estos sistemas por ahora identifican objetos entre 2 a 30 categorías y entregan identificación coherente, rápida y exacta con métodos semi-automáticos (MacLeod *et al.*, 2010) proponen el uso del ZooImage como un proyecto para ser desarrollado con la comunidad científica logrando cooperación para el análisis de imágenes de zooplancton.

Una concertada investigación interdisciplinaria y desarrollo de esfuerzos en la siguiente década podrían impulsar el desarrollo de sistemas automáticos capaces de obtener una alta eficiencia en la identificación de cientos o miles de categorías vivientes o no vivientes. Como punto de partida los taxónomos deben trabajar con especialistas en patrones de reconocimiento, aprendizaje de máquinas e inteligencia artificial, ingenieros, diseñadores de programas de computación y matemáticos. Actualmente, la iniciativa de la comunidad científica Research on Automated Plankton Identification (RAPID) propone realizar esfuerzos para el desarrollo de programas e integración de los paquetes existentes de análisis de imagen, mejora de hardware, series de entrenamiento verificadas taxonómicamente que se puedan utilizar para la evaluación de clasificadores existentes o nuevos y estudios psicológicos diseñados para comprender cómo los seres humanos y computadoras clasifican imágenes (Benfield *et al.*, 2007; MacLeod *et al.*, 2010).

La identificación automática liberaría a los taxónomos de la monotonía de las identificaciones y acumulación de muestras, esto les permitiría a los ecólogos centrarse en preguntas más difíciles conceptualmente de descubrir, describir y revisar los conceptos de una especie, y de establecer cómo las especies funcionan dentro de los sistemas naturales.

En Latinoamérica Chile, Argentina y Brasil han sido los primeros en implementar este tipo de metodologías para el estudio del zooplancton, resultando una herramienta valiosa para el análisis de algunos aspectos de la estructura de comunidad. No obstante, por el momento debe ser utilizado en conjunto con los análisis tradicionales que entregan o complementan la investigación en términos de diversidad. Todavía existe una dependencia con los avances del diseño de esta tecnología, que podría ser

mejorada creando un grupo interdisciplinario en cada centro de investigación a nivel latinoamericano, en continua comunicación y capacitación con los expertos internacionales. Una extensión colaborativa podría ser por ejemplo la creación de una base de datos merísticos y morfométricos de la información publicada de las especies descritas, y que forman parte de las claves taxonómicas, y de alguna forma incluirla en los cálculos que efectúa el programa para mejorar la identificación. Esto sin dejar de considerar que como fin último lo importante es mejorar los resultados, teniendo en cuenta las experiencias registradas sobre la base de estudios previos, sin dejar de lado el uso e implementación con equipos de última tecnología.

AGRADECIMIENTOS

La implementación de estos métodos en Chile ha sido el resultado de la colaboración internacional con investigadores como P. Grossjean, P. Culverhouse and X. Irigoien y nacionales como G. Claramunt, L. Castro, P. Hidalgo, K. Manríquez y varios entusiastas estudiantes. Los estudios de zooplancton con aplicaciones del método han sido financiados por el Centro COPAS y Fondecyt 1110539. Estudios de graduación de J. Medellín-Mora son apoyados por Fondecyt 1120478. Este trabajo es una contribución para el desarrollo de Proyecto Fondecyt 1110539 que ha financiado la gestación y elaboración de esta revisión.

REFERENCIAS

- Alcaraz, M., E. Saiz, A. Calbet, I. Trepas & E. Broglio. 2003. Estimating zooplankton biomass through image analysis. *Mar. Biol.*, 143: 307-315.
- Bachiller, E. & J.A. Fernandes. 2011. Zooplankton image analysis manual: automated identification by means of scanner and digital camera as imaging devices. *Rev. Invs. Mar.-ATZI, Tecnalia*, 18(2): 16-37.
- Bachiller, E., J.A. Fernandes & X. Irigoien. 2012. Improving semiautomated zooplankton classification using an internal control and different imaging devices. *Limnol. Oceanogr. Methods*, 10: 1-9.
- Beaumont, C., P.C. Reid, F. Ibañez, J.A. Lindeley & A. Edwards, 2002. Reorganization of north Atlantic marine copepod biodiversity and climate. *Science*, 295: 1692-1694.
- Bell, J. & R.R. Hopcroft. 2008. Assessment of *ZooImage* as a tool for the classification of zooplankton. *J. Plankton Res.*, 30(12): 1351-1367.

- Benfield, M., P. Grosjean, P.F. Culverhouse, X. Irigoien, M.E. Sieracki, A. Lopez-Urrutia, H.G. Dam, Q. Hu, C. Davis, A. Hansen, C.H. Pilskaln, E.M. Riseman, H. Schultz, P.E. Utgoff & G. Gorsky. 2007. Research on Automated Plankton Identification (RAPID). *Oceanography*, 20(2): 172-187.
- Boistel, R., J. Swoger, U. Krzic, V. Fernandez, B. Gillet & E.G. Reynaud. 2011. The future of three-dimensional microscopic imaging in marine biology. *Mar. Ecol.*, 32: 438-452.
- Chang, Ch-Y., P.-Ch. Ho, A.R. Sastri, Y.-Ch. Lee, G.-Ch. Gong & Ch.-H. Hsieh. 2012. Methods of training set construction: towards improving performance for automated mesozooplankton image classification systems. *Cont. Shelf Res.*, 36(2): 19-28.
- Chavance, Y. 2011. Tara Sciences 1: Definition of Plankton. *Tara Oceans*. <http://oceans.taraexpeditions.org/en/tara-sciences-1-definition-of-plankton.php?id>. Reviewed: 1 June 2012, pp. 876.
- Culverhouse, P.F., R.E. Ellis, R.G. Simpson, R. Williams, R.W. Pierce & T.W. Turner. 1994. Categorization of 5 species of *Cymatocylis* (Tintinnidae) by artificial neural network. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 107: 273-280.
- Culverhouse, P.F., R. Williams, M. Benfield, P.R. Flood, A.F. Sell, M.G. Mazzocchi, I. Buttino & M. Sieracki. 2006. Automatic image analysis of plankton: future perspectives. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 312: 297-309.
- Dagg, M., S. Uye, L. Valdés & R. Harris. 2008. Human and climate forcing of zooplankton populations: Introduction. *ICES J. Mar. Sci.*, 65(3): 277-278.
- Di Mauro, R., G. Cepeda, F. Capitanio & M.D. Viñas. 2011. Using *ZooImage* automated system for the estimation of biovolume of copepods from the northern Argentine Sea. *J. Sea Res.*, 66: 69-75.
- Fernandes, J.A., X. Irigoien, G. Boyra, J.A. Lozano & I. Inza. 2009. Optimizing the number of classes in automated zooplankton classification. *J. Plankton Res.*, 31(1): 19-29.
- Fernandes, J.A. 2010. Data analysis advances in marine science for fisheries management: Supervised classification applications. PhD. Tesis Computer Science. University of the Basque Country, San Sebastian, 169 pp.
- Gislason, A. & T. Silva. 2009. Comparison between automated analysis of zooplankton using *ZooImage* and traditional methodology. *J. Plankton Res.*, 31(12): 1505-1516.
- Gorsky, G. & P. Grosjean. 2003. Qualitative and quantitative assessment of zooplankton samples. *Globec Int. Newsl. Plymouth*, 5 pp.
- Gorsky, G., M. Ohman, M. Picheral, S. Gasparini, L. Stemmann, J.-B. Romagnan, A. Cawood, S. Pesant, C. García-Comas & F. Prejger. 2010. Digital zooplankton image analysis using the *ZooScan* integrated system. *J. Plankton Res.*, 32(3): 285-303.
- Grosjean, P. & K. Denis. 2007. *ZooImage* users manual. www.sciviews.org/zooimage.
- Grosjean, P., M. Picheral, C. Warembourg & G. Gorsky. 2004. Enumeration, measurement, and identification of net zooplankton samples using the *ZooScan* digital imaging system. *ICES J. Mar. Sci.*, 61: 518 -525.
- International Council for the Exploration of the Sea (ICES). 2006. Report of the Working Group on Zooplankton Ecology (WGZE), 27-30 March 2006, Villefranche, France. *ICES CM 2006/OCC*, 03: 53 pp.
- Irigoien, X., J.A. Fernandes, P. Grosjean, K. Denis, A. Albaina & M. Santos. 2009. Spring zooplankton distribution in the Bay of Biscay from 1998 to 2006 in relation with anchovy recruitment. *J. Plankton Res.*, 31(1): 1-17.
- Lehette, P. & S. Hernández-León. 2009. Zooplankton biomass estimation from digitized images: a comparison between subtropical and Antarctic organisms. *Limnol. Oceanogr. Methods*, 7: 304-308.
- Lucas, C.H. 2009. Biochemical composition of the mesopelagic coronate jellyfish *Periphylla periphylla* from the Gulf of Mexico. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 89(1): 77-81.
- MacLeod, N., M. Benfield & P. Culverhouse. 2010. Time to automate identification. *Nature*, 467: 154-155.
- Manríquez, K., R. Escribano & P. Hidalgo. 2009. The influence of coastal upwelling on the mesozooplankton community structure in the coastal zone off Central/Southern Chile as assessed by automated image analysis. *J. Plankton Res.*, 31(9): 1075-1088.
- Manríquez, K., R. Escribano & R. Riquelme-Bugueño. 2012. Spatial structure of the zooplankton community in the coastal upwelling system off central-southern Chile in spring 2004 as assessed by automated image analysis. *Prog. Oceanogr.*, 92-95: 121-133.
- Picheral, M. 2010. *ZooProcess* manual. Laboratoire d'Océanologie de Villefranche-sur Mer (updated for version 6.16), pp. 106.
- Sieracki, M.E., M. Benfield, A. Hanson, C. Davis, C.H. Pilskaln, D. Checkley, H.M. Sosik, C. Ashjian, P. Culverhouse, R. Cowen, R. Lopes, W. Balch, X. Irigoien. 2010. Optical plankton imaging and analysis systems for ocean observation. In: J. Hall, D.E. Harrison & D. Stammer (eds.). *Proceedings of ocean*

Obs '09: sustained ocean observations and information for society, Venice, 21-25. September 2009, ESA Publication WPP-306. doi:10.5270/OceanObs 09.

Suthers, I. & D. Rissik. 2009. Plankton: a guide to their ecology and monitoring for water quality. CSIRO Publishing, Australia, 249 pp.

Received: 15 June 2012; Accepted: 26 February 2013



