



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

**VARIABILIDAD ESPACIAL Y  
CALCIFICACION DE LAS  
COMUNIDADES DE  
COCOLITOFORIDOS EN EL SISTEMA  
DE AFLORAMIENTO COSTERO  
FRENTE AL CALLAO-PERÚ**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS DEL MAR**

**DIANA ANGELICA ALVITES GUTIERREZ**

**LIMA-PERÚ**

**2016**



**ASESORA DE LA TESIS**

**Dra. Michelle Graco**

Profesora principal Programa de Maestría en Ciencias del Mar (UPCH)

Investigadora del Instituto del Mar del Perú (IMARPE)

**CO-ASESOR DE LA TESIS**

**Dr. Luc Beaufort**

Director de investigación del Equipo de Bioindicadores y trazadores  
paleoambientales

Centro Europeo de Investigación y Enseñanza de Geociencias del medio ambiente

(CEREGE-CNRS)

## **DEDICATORIA**

*A mis padres por su apoyo incondicional.*

*A mi hija y esposo por su amor, paciencia y comprensión.*

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, la realización y culminación de esta tesis fueron posibles gracias a la beca de financiamiento para estudios de posgrado otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC) del Ministerio de Educación del Perú en el marco de la Cátedra CONCYTEC en Ciencias del Mar.

Debo agradecer principalmente al proyecto - Estudio integrado del Afloramiento costero frente a Perú a cargo de la DGIOCC-IMARPE, sin los cuales no hubiera sido posible la obtención de las muestras presentadas en esta tesis. Asimismo, la realización de la investigación y pasantía de capacitación de dos meses en el año 2015 en el Centro Europeo de Investigación y Enseñanza de Geociencias del medio ambiente – CEREGE, de la Universidad de Aix-Marseille (Aix-en-Provence, Francia) y la visita al Laboratorio de Oceanografía y Clima - LOCEAN (París, Francia) fueron posibles gracias al financiamiento del proyecto Francés-ANR CALHIS (Calcification History of pelagic environment during the last 300 years) y LMI DISCOH (Dinámicas del Sistema de la Corriente de Humboldt) ambos proyectos cuentan con el financiamiento y el asesoramiento internacional del equipo del Instituto de Investigación para el Desarrollo de Francia (IRD).

Mi profundo agradecimiento a la Dra. Michelle Graco, asesora de esta tesis, por su apoyo, comprensión y guía continua en el desarrollo de esta investigación. Muchas gracias por todo esto y más. Al Dr. Luc Beaufort, co-asesor de esta tesis, por la guía y enseñanzas dadas a lo largo de la investigación pero sobre todo por la confianza, paciencia y la hospitalidad brindada, tanto por él como por su familia, durante mi estancia en Francia.

A la Dra. Diana Ruiz-Pino por las enseñanzas y hospitalidad que me brindaron, tanto ella como su esposo durante mi permanencia en París. A Doriane Delanghe por su gran hospitalidad, amistad y momentos compartidos. Muchas gracias.

A todos los profesores principales e invitados del programa de Maestría en Ciencias del Mar de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, por las enseñanzas y la formación brindada a lo largo de estos dos años arduos de estudio.

Muchas gracias Miguel Sarmiento, Avy Bernales y Mari Carmen por las contribuciones enriquecedoras dadas a este trabajo. A todos mis amigos de la maestría en Ciencias del Mar por su amistad y apoyo a lo largo de estos dos años de estudios.

Por último, muchas gracias a mis padres y hermanas, quienes me apoyaron y aprendieron a comprenderme a lo largo de mi vida académica y me insistían en todo momento, a su manera, en la conclusión de este trabajo. A mi esposo porque siempre me dio fuerzas y ánimos y lo sigue haciendo. Muchas gracias en verdad.

## RESUMEN

Por primera vez en Perú se estudió la composición, distribución, abundancia y grado de calcificación de la comunidad de cocolitofóridos. Este estudio se realizó en una transecta frente a Callao (12°S) desde la costa hasta las 50 mn, entre 2014 y 2015. Se determinó un total de 21 especies con dominancia de *Emiliania huxleyi* tipo A (76 % hasta  $548 \times 10^3$  cel/L), seguida por *Ophiaster* spp. (16%) y *Florisphaera profunda* (5%). Tres morfotipos de *E. huxleyi* fueron identificados: i) ligeramente calcificado L (40%), ii) medianamente calcificado M (35%) y iii) sobrecalcificado OC (25%). Los morfotipos e índices de calcificación mostraron diferencias costa-océano. Cocósferas de menor tamaño y un mayor índice RTW (grado de calcificación) caracterizó a las formas OC y M que predominaron en la costa en condiciones de afloramiento costero de Aguas Costeras Frías (ACF) y bajo pH. El patrón inverso se observó en la parte oceánica donde el morfotipo L dominó en condiciones de aguas cálidas ASS, mayor estratificación y pH. Este estudio evidencia la alta sensibilidad del grado de calcificación y distribución de cocolitofóridos a la intensidad del afloramiento costero y la distribución de las masas de agua que modifican factores claves como la temperatura, pH, oxígeno y nutrientes.

### **Palabras clave:**

Cocolitofóridos, calcificación, afloramiento costero, Perú

## ABSTRACT

For the first time in Peru composition, distribution, abundance and degree of calcification of the coccolithophorids community was studied. This work was conducted in a transect off Callao (12 ° S) from the coast to 50 nm, between 2014 and 2015. A total of 21 species dominated by *Emiliana huxleyi* type A (76% to  $548 \times 10^3$  cel/L) was determined, followed by *Ophiaster* spp. (16%) and *Florisphaera profunda* (5%). Three morphotypes of *E. huxleyi* were identified: i) slightly calcified L (40%), ii) moderately calcified M (35%) and iii) over-calcified OC (25%). Morphotypes and calcification rates showed differences between the coastal and oceanic areas. Coccospheres smaller and higher rate RTW (degree of calcification) characterized the OC and M forms characteristics under coastal upwelling conditions of Cold Coastal Waters (ACF) and low pH. The opposite pattern was observed in the oceanic part where the morfotipo L coexist with warm water conditions ASS, greater stratification and pH. This study demonstrates the high sensitivity of the coccolithophorids degree of calcification and distribution related with the intensity of coastal upwelling and the distribution of water masses that modify key factors such as temperature, pH oxygen and nutrients.

### **Key words:**

Coccolithophorids, calcification, upwelling, Peru.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Página</b>
<b>I. INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Planteamiento del problema.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2 Marco teórico.....</b>	<b>6</b>
2.2.1. Cocolitofóridos, generalidades.....	6
2.2.2. Reproducción y ciclos de vida.....	8
2.2.3. Ecología y distribución de cocolitofóridos.....	9
2.2.4. Calcificación de cocolitofóridos, mecanismos y factores que la modifican.....	11
2.2.5. Cocolitofóridos y acidificación del océano.....	15
2.2.6. Cocolitofóridos y sistemas de afloramiento costero.....	16
<b>2.3 Justificación del estudio.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4 Objetivos.....</b>	<b>22</b>
2.4.1. Objetivo general.....	22
2.4.2. Objetivos específicos.....	22
<b>2.5 Hipótesis.....</b>	<b>23</b>
<b>III. METODOLOGÍA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Área de estudio.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Operacionalización de las variables.....</b>	<b>25</b>

3.2.1.	Variables dependientes:.....	25
3.2.2.	Variables independientes:.....	25
<b>3.3</b>	<b>Enfoque metodológico.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4</b>	<b>Muestreo.....</b>	<b>27</b>
3.4.1.	Variables oceanográficas.....	27
3.4.2.	Fitoplancton.....	27
3.4.3.	Cocolitofóridos.....	28
<b>3.5</b>	<b>Montaje de muestras.....</b>	<b>29</b>
3.5.1.	Montajes en stub de aluminio.....	29
3.5.2.	Montajes en lámina.....	29
<b>3.6</b>	<b>Datos y Análisis.....</b>	<b>30</b>
3.6.1.	Variables oceanográficas y comunidad fitoplanctónica.....	30
3.6.2.	Determinación de la composición de los ensambles de cocolitofóridos.....	31
3.6.3.	Determinación de las abundancias relativas de cocolitofóridos.....	32
3.6.4.	Identificación de morfotipos.....	34
3.6.5.	Mediciones morfométricas.....	35
<b>3.7</b>	<b>Estadística.....</b>	<b>37</b>
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>38</b>
<b>4.1</b>	<b>Condiciones oceanográficas, comunidad fitoplanctónica y cocolitofóridos.....</b>	<b>38</b>
4.1.1.	Condiciones oceanográficas.....	38

4.1.2.	Grupos fitoplanctónicos dominantes.....	43
<b>4.2</b>	<b>Composición y abundancia de cocolitofóridos.....</b>	<b>47</b>
4.2.1	Variabilidad espacial.....	49
4.2.2	Variabilidad temporal.....	52
4.2.3	Distribución vertical de especies de cocolitofóridos.....	56
4.2.4	Variables ambientales, y abundancia de los cocolitofóridos.....	59
<b>4.3</b>	<b>Morfotipos, biometría y calcificación de <i>E. huxleyi</i>.....</b>	<b>62</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Morfotipos de <i>E. huxleyi</i> presentados.....</b>	<b>62</b>
4.3.2	Biometría de <i>Emiliana huxleyi</i> .....	66
4.3.3	Índice de grado de calcificación a través del RTW.....	69
<b>4.4</b>	<b>Análisis de correspondencia canónica (CCA).....</b>	<b>76</b>
<b>V.</b>	<b>DISCUSION.....</b>	<b>81</b>
<b>5.1</b>	<b>Ecología de cocolitofóridos en el Sistema de Afloramiento Costero frente al Perú Central durante las condiciones cálidas de 2014 y 2015.....</b>	<b>81</b>
<b>5.2</b>	<b>Estructura y preferencias ecológicas del ensamble de cocolitofóridos en el Sistema de Afloramiento Costero frente a Perú.....</b>	<b>89</b>
<b>5.3</b>	<b>Condiciones de calcificación de <i>Emiliana huxleyi</i> en el Sistema de Afloramiento costero frente a Perú.....</b>	<b>94</b>
<b>5.4</b>	<b>Caracterización de ambientes de distribución, abundancia y calcificación de cocolitofóridos en el sistema de afloramiento costero frente a Perú.....</b>	<b>99</b>

<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>103</b>
<b>VII.RECOMENDACIONES.....</b>	<b>105</b>
<b>VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>106</b>
<b>IX. ANEXOS.....</b>	<b>114</b>

## LISTA DE FIGURAS

### Página

**Figura 1.** Descripción general de los principales procesos oceánicos y atmosféricos asociados con la producción primaria de los cocolitofóridos. Debido al crecimiento (fotosíntesis) y muerte (remineralización) los cocolitofóridos interactúan con la bomba global de carbono y debido a la producción y la pérdida de cocolitos con la bomba mundial carbonato de calcio (tomado de Köbrich, 2008).....7

**Figura 2.** Zonas biogeográficas para los cocolitofóridos en los océanos Atlántico y Pacífico redibujado de McIntyre y Bé (1967) y Okada y Honjo (1973), respectivamente. 1=Subártica, 2=Moderada(Transición), 3=subtropical (Central), 4=Tropical (ecuatorial) y 5=regiones subárticas (tomado de Winter *et al.*, 1994).....10

**Figura 3.** Representación gráfica de los principales formas de vida del fitoplancton en un espacio ecológico definido por la concentración de nutrientes y turbulencia. (Tomado de Margalef, 1978).....11

**Figura 4. Modelo para flujos de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{HCO}^{3-}$  y  $\text{H}^+$  durante la calcificación en cocolitofóridos.** Absorción de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{HCO}^{-3}$  dentro de un compartimento derivado de Golgi conduce a la producción de  $\text{CaCO}^3$  y  $\text{H}^+$  durante la

precipitación de calcita. Producción  $H^+$  se puede utilizar para contrarrestar el efecto alcalinizante de la producción de  $CO_2$  de  $HCO_3^-$  en el cloroplasto (verde) y la eliminación de  $CO_2$  mediante la fotosíntesis (tomado de Brownlee y Taylor 2002).....14

**Figura 5.** Mapa resumen del Pacífico Ecuatorial y Suroriental en el que se muestra cada una de las zonas biogeográficas por el promedio de los distintos porcentajes correspondientes a los taxones más abundantes (tomado de Saavedra-Pellitero *et al.*, 2007).....19

**Figura 6.** Ubicación de las Estaciones Fijas Callao (50 mn).....25

**Figura 7.** Kit de filtración equipado con filtros de nitrato de celulosa (0.45  $\mu m$ ).....28

**Figura 8.** Esquema para el conteo y determinación de especies de cocolitofóridos.....32

**Figura 9.** Esquema para el montaje y análisis de las muestras. (i) La cuarta parte de la membrana se coloca siguiendo la numeración de la lámina, esta numeración indica las profundidades de menor a mayor (por ejemplo 1=0m, 2=10m, 3=15m, etc.). (ii) Se observa las 7 láminas que presentan las 7 estaciones, estas son observadas con el microscopio de luz polarizada (PM).....33

**Figura 10.** (a) Diagrama esquemático de un cocolito de *Emiliana huxleyi*. (b) sección transversal de Tipo A y R; (c) sección transversal de *E. huxleyi* var. corona; (d) sección transversal de Tipo B, B/C; (e) sección transversal del Tipo O. Tomado de Hagino *et al.*, (2011).....34

**Figura 11.** Parámetros morfométricos medidos. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de un cocolito de *Emiliana Huxleyi* en vista distal. Tomado de Young *et al.*, 2014.....35

**Figura 12.** Distribución vertical de temperatura (°C), pH, oxígeno disuelto (mL/L), y silicatos (µM) frente al Callao, durante los tres periodos estudiados: CRIO1404 (otoño 2014), CRIO1412 (primavera 2014) y CRIO1504 (otoño 2015).....42

**Figura 13.** Abundancias totales ( $\times 10^3$  cel/L) de grupos fitoplanctónicos dominantes a 10 metros de profundidad en las estaciones 2, 5 y 7 para los tres periodos de estudio frente al Callo.....45

**Figura 14.** Composición de especies de cocolitofóridos en los tres periodos observados.....47

**Figura 15.** Promedio de las abundancias totales en todas las estaciones durante el periodo (a) otoño 2014 (CRIO1404), (b) primavera 2014 (CRIO1412) y (c) otoño 2014 (CRIO1404), (d) promedio de las abundancias durante los tres periodos de estudio.....49

**Figura 16.** Diagrama de cajas de la variación espacial de la abundancias totales ( $\times 10^3$  cel/L).....50

**Figura 17.** Promedio de las abundancias totales ( $\times 10^3$  cel/L) en la zona costera, intermedia y oceánica.....51

**Figura 18.** Abundancias relativas de las especies de la zona “costera”, “intermedia” y “oceánica”.....52

**Figura 19.** Promedio de las abundancias ( $\times 10^3$  cel/L) para los tres periodos de estudio.....53

**Figura 20.** Abundancias relativas de las especies para los tres periodos estudiados.....54

**Figura 21.** Cambios espacio-temporales de abundancias relativas de las especies durante todo el estudio.....55

**Figura 22.** Distribucion vertical de las abundancias ( $\times 10^3$  cel/L) de las principales especies de cocolitoforidos (*Emiliana huxleyi*, *Florisphaera profunda* y *Ophiaster* spp.), en los tres periodos de estudio.....58

**Figura 23.** Regresión lineal del oxígeno disuelto, pH, temperatura, salinidad, fosfatos y silicatos entre abundancia total de cocolitofóridos ( $\times 10^3$  cel/L). Línea de regresión (línea roja).....61

**Figura 24.** Cambios espaciales dentro de la transecta frente al Callao de los morfotipos ligeramente calcificado (L), medianamente calcificado (M) y sobrecalcificado (OC), durante el estudio.....64

**Figura 25.** Cambios espacio-temporales en las abundancias relativas de los morfotipos ligeramente calcificado (L), medianamente calcificado (M) y sobrecalcificado (OC), durante otoño-primavera (CRIO1404-CRIO1412) del 2014 y otoño del 2015 (CRIO1504).....65

**Figura 26.** Diagrama de cajas de los principales parámetros morfométricos medidos a nivel espacial desde la estación 3 a la estación 7.....66

<b>Figura 27.</b> Diagrama de cajas de los principales parámetros morfométricos medidos a nivel temporal en cada periodo.....	67
<b>Figura 28.</b> Diagrama de cajas del diámetro de la cocósfera en la zona costera, intermedia y oceánica para los tres periodos de estudio (CRIO1404, CRIO1412 y CRIO1504).....	68
<b>Figura 29.</b> Índice de grado de calcificación. Variación del RTW a partir de las cocósferas de <i>E. Huxleyi</i> analizadas durante el estudio frente a Callao.....	69
<b>Figura 30.</b> Histogramas de frecuencias del RTW a nivel total y en las diferentes estaciones.....	70
<b>Figura 31.</b> Diagrama de cajas de la variación del índice RTW de la estación 3 (st3) a la estación 7 (st7), en la transecta frente al Callao.....	71
<b>Figura 32.</b> Histogramas de frecuencias del RTW a nivel espacial (total y estaciones).....	72
<b>Figura 33.</b> Diagrama de cajas de la variación del índice RTW a nivel temporal (CRIO1404, CRIO1412 y CRIO1504).....	72

**Figura 34.** Diagrama de cajas del índice RTW a nivel espacio-temporal de las estaciones (st3 a st7) en los tres periodos de estudio (CRIO1404, CRIO1412 y CRIO1504).....74

**Figura 35.** Análisis de correspondencia canónica (CCA) de las principales especies de cocolitofóridos con las variables ambientales. Variables ambientales: TEM = temperatura, SAL = salinidad, OXI = oxígeno disuelto, pH, FOS = fosfatos, SIL = silicatos, NITRA = nitratos, NITRI = nitritos, CHL = clorofila, N.P = N/P. Variables bióticas: EH = *E. huxleyi*, OPHI = *Ophiaster* sp., FP = *F. profunda*, GO = *G. oceánica*, CAL = *C. leptoporus* y HC = *H. carteri*.....78

**Figura 36.** Análisis de correspondencia canónica (CCA) de los morfotipos de *E. huxleyi* con las variables ambientales. Variables ambientales: TEM = temperatura, SAL = salinidad, OXI = oxígeno disuelto, pH, FOS = fosfatos, SIL = silicatos, NITRA = nitratos, NITRI = nitritos, CHL = clorofila, N.P = N/P. morfotipos de *E. huxleyi*: ligeramente calcificado (tipo.L), medianamente calcificado (tipo.M) y sobrecalcificado (tipo.OC).....80

**Figura 37.** Serie de la ATSM Índice LABCOS (Quispe y Vásquez, 2015), Región 1+2, ICEN (Takahashi, 2013) durante el año 2014 y 2015. Las barras celestes marcan los periodos estudiados.....83

**Figura 38.** Representación esquemática de los escenarios de la distribución de especies y morfotipos de *E. huxleyi* con los factores ambientales que determina esta distribución.....102

## LISTA DE TABLAS

### Página

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de morfotipos de <i>Emiliana huxleyi</i> . Tomado de Hagino <i>et al.</i> , (2011).....	34
<b>Tabla 2.</b> Parámetros ambientales y la abundancia total de los principales grupos fitoplanctónicos (microfitoplancton y nanofitoplancton) a 10 m de profundidad en las estaciones 2, 5 y 7 para los tres periodos de estudio.....	46
<b>Tabla 3.</b> Coeficientes de correlación. Una matriz de coeficientes de correlación de spearman entre la abundancia total de cocolitofóridos ( $\times 10^3$ cel/L) y los parámetros ambientales.....	60
<b>Tabla 4.</b> Morfotipos de <i>E. huxleyi</i> encontrados en las estaciones durante los tres periodos estudiados. Morfotipo tipo A (ligeramente calcificados (L), medianamente calcificado (M) y sobrecalcificados (OC)).....	63
<b>Tabla 5.</b> Coeficientes de correlación. Una matriz de coeficientes de correlación de spearman entre el RTW y los parámetros ambientales.....	75

## I. INTRODUCCION

Los océanos tienen la capacidad de absorber grandes cantidades de CO<sub>2</sub> ya que se disuelve y reacciona con el agua para formar bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y protones (H<sup>+</sup>). Alrededor de un tercio del CO<sub>2</sub> antropogénico es absorbido por los océanos. Esto determina un aumento de los iones hidronio, y en consecuencia la disminución del pH, proceso que actualmente se conoce como acidificación oceánica. Estas condiciones afectan el ecosistema marino en todos los niveles y en particular a los organismos calcificantes, como corales, foraminíferos y cocolitofóridos (Raven *et al.*, 2005; Fabry *et al.*, 2008; Kroeker *et al.*, 2013).

Los cocolitofóridos son organismos unicelulares, de 2 a 20 μm de tamaño y son uno de los principales productores de carbonato biogénico moderno. Así, son un componente clave en el ciclo del carbono (Beaufort *et al.*, 2011). Por su parte, a pesar de haberse observado preferentemente en condiciones oligotróficas, aguas cálidas y estratificadas; en estudios recientes se ha evidenciado que muestran una amplia distribución, tendiendo a incrementarse incluso hacia los polos, esto último asociado probablemente al calentamiento global (Winter *et al.*, 2013).

Las condiciones ambientales afectan la abundancia y la distribución del fitoplancton. En el caso de los cocolitofóridos se reconocen como factores claves la intensidad lumínica, los nutrientes, la temperatura, la salinidad y el pastoreo por el zooplancton (Shiraiwa 2003, Silva *et al.*, 2008). Las condiciones ambientales también se reconocen claves en aspectos de calcificación para estos organismos (Paasche, 1998), siendo el pH un factor clave.

Numerosos estudios experimentales sobre la fisiología y calcificación de los cocolitofóridos, han sido realizados tanto en laboratorio como en ambientes naturales (Meyer y Riebesell, 2015). Experimentos en laboratorio relacionados a la acidificación oceánica, muestran que la disminución del pH del agua de mar podría tener un mayor impacto negativo sobre la calcificación que la temperatura, y a su vez afectar la tasa de crecimiento reduciéndola (Riebesell *et al.*, 2000, Delille *et al.*, 2005, De Bodt *et al.*, 2010). Sin embargo, en otros experimentos las respuestas han sido diferentes y en consecuencia generan contradicción (Iglesias-Rodríguez *et al.*, 2008). Se ha observado que en el ecosistema marino el grado de calcificación puede variar entre especies, incluso entre morfotipos. Esta diferenciación se atribuye a la química de carbonatos en el océano (Beaufort *et al.*, 2011). También puede haber una respuesta fisiológica al entorno cambiante sin embargo esta no sería tan importante como la respuesta ecológica (Meier *et al.*, 2014). Siendo muy complejas las respuestas a la calcificación, es necesario considerar la interacción con otros estresores como el oxígeno, nutrientes, la estratificación, que igualmente podrían afectar la fisiología y calcificación de estos organismos.

Los sistemas de afloramiento costero se caracterizan por presentar características químicas particulares; pueden comportarse como fuentes o sumideros de carbono, caracterizándose por bajos valores de pH y por la deficiencia de oxígeno en la capa subsuperficial (Chavéz *et al.*, 2009). El sistema de afloramiento costero peruano además de ser un sistema de alto CO<sub>2</sub> representando todo el año una fuente de CO<sub>2</sub> para la atmósfera (Friederich *et al.*, 2008) presenta un bajo valor de pH (< 8.8, León *et al.*, 2011) y una de las más intensas y someras zonas de

mínima de oxígeno ZMO (Ledesma *et al.*, 2011). El bajo pH y la hipoxia, son considerados estresores del cambio climático (Gruber, 2011) y podrían tener una fuerte influencia en los procesos de calcificación de los cocolitofóridos y en su abundancia y distribución. Así, el afloramiento costero peruano constituye un laboratorio natural único para estudiar el impacto de estos estresores y mejorar la predicción de escenarios futuros asociadas a la acidificación y desoxigenación del océano.

En este contexto, conocer las comunidades de cocolitofóridos que se desarrollan en zonas de afloramiento costero y estudiar la calcificación de estos organismos resulta clave para comprender la vulnerabilidad y resiliencia de los organismos frente a la variabilidad ambiental y el cambio climático.

En el presente estudio se enfocará en caracterizar las comunidades de cocolitofóridos que prevalecen frente al Callao en su composición y abundancia. Así como conocer los diferentes morfotipos de la especie *Emiliana huxleyi* y estimar su grado de calcificación. Además establecer si su distribución y variabilidad espacio-temporal está relacionada con el gradiente de condiciones ambientales características del sistema de afloramiento costero peruano.

## II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.1 Planteamiento del problema

En las últimas décadas las emisiones de CO<sub>2</sub> de carácter antropogénico, se han incrementado. Actualmente la concentración media de CO<sub>2</sub> en la atmósfera es de 400 partes por millón (ppm), un 43% más alto que el nivel pre-industrial de 280 ppm. La mitad de este aumento se ha producido en los últimos 30 años. Un tercio de las emisiones de CO<sub>2</sub> antropogénico ha sido captado por los océanos, repercutiendo en su dinámica y conduciendo progresivamente a su acidificación, siendo esta condición una amenaza para los ecosistemas marinos y afectando particularmente a organismos calcificantes como son los cocolitofóridos (Raven *et al.*, 2005).

En un escenario de alto CO<sub>2</sub> y bajo pH se espera que la producción de carbonato de calcio por parte de los cocolitofóridos disminuya (Kroeker *et al.*, 2013). Diferentes experimentos en laboratorio con condiciones variadas de CO<sub>2</sub> se han realizado sobre poblaciones de cocolitofóridos (Meyer y Riebesell, 2015). Los ensayos muestran que los cocolitofóridos exhiben distintas respuestas de calcificación entre especies. Incluso estas respuestas varían entre algunos morfotipos de una misma especie, como *Emiliana huxleyi*, que presentan cambios en el espesor y peso de sus cocolitos (Beaufort *et al.*, 2011). Otros estudios muestran una mayor inversión de energía en la calcificación con disminución de su tasa de desarrollo (Iglesias-Rodríguez *et al.*, 2008).

Sin embargo en el ambiente marino las respuestas pueden ser más variables e incluso diferentes que en el laboratorio. Existen pocos trabajos *in situ* asociados a

cocolitofóridos y a la calcificación, siendo en su mayoría de carácter biogeográfico (Gravalosa *et al.*, 2005; Saavedra-Pellitero *et al.*, 2007) y/o para la reconstrucción del clima a partir de archivos sedimentarios. Estudios en el sistema de surgencia frente a Concepción (Chile) revelan una alta variabilidad regional en la calcificación de cocolitofóridos asociada a cambios en los parámetros ambientales (Beaufort *et al.*, 2008).

El sistema de afloramiento costero peruano frente a Callao (12°S) se caracteriza por un afloramiento costero casi permanente, asociado a una ZMO (Ledesma *et al.*, 2011), con un bajo valor de pH (< 8, León *et al.*, 2011). Además, presenta un gradiente costa-océano de estas condiciones ambientales asociado a factores regionales y locales que repercuten en las comunidades biológicas. Estas condiciones oceanográficas abren la posibilidad de obtener respuestas particulares y hacen del área de Callao un ambiente ideal para estudiar las comunidades de cocolitofóridos tanto en especies y morfotipos, como también su calcificación en ambientes naturalmente “ácidos” y sometidos a una alta deficiencia en oxígeno.

**Pregunta central:**

¿Existen cambios en la composición, distribución, abundancia de especies y morfotipos, así como en el grado de calcificación de las comunidades de cocolitofóridos en relación a un gradiente costa-océano de estratificación, pH, nutrientes y Oxígeno en el sistema de afloramiento costero frente al Perú central?

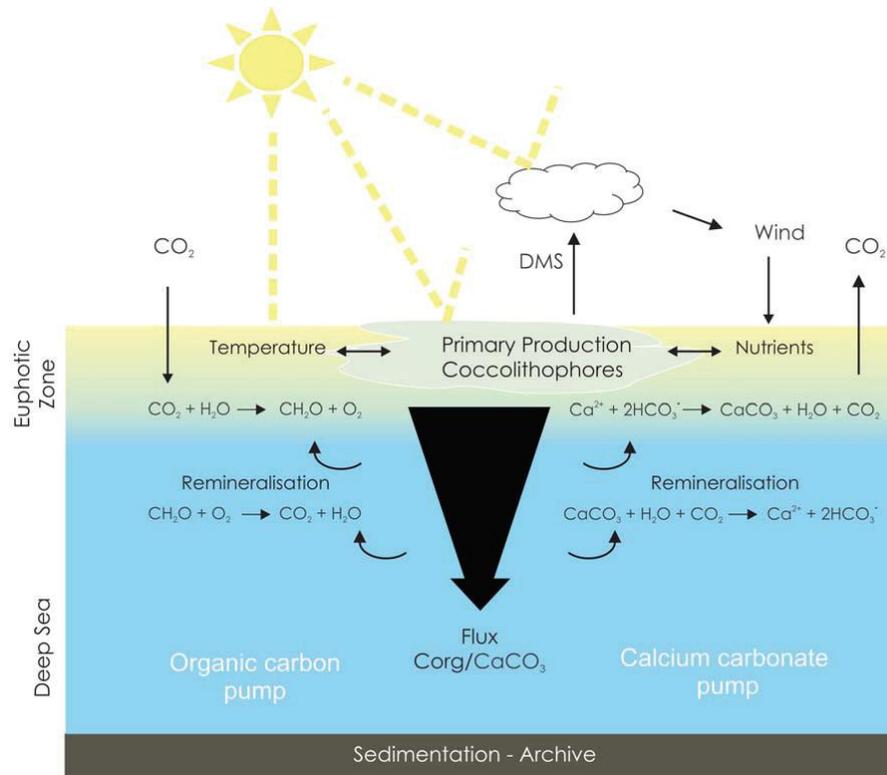
## 2.2 Marco teórico

### 2.2.1. Cocolitofóridos, generalidades

Los cocolitofóridos son organismos típicamente marinos, unicelulares, eucariontes, planctónicos, biflagelados, su tamaño aproximado es de 2 a 20  $\mu\text{m}$ , y se distinguen por producir en alguno de sus estados unas estructuras calcáreas formadas por carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) denominadas “cocolitos”. Estas estructuras son una de las características más importantes al momento de clasificar las especies. El conjunto de cocolitos que envuelven a la célula se denominada cocósfera, esta estructura le ofrece al organismo protección contra el pastoreo, regulación de la profundidad en la columna de agua, o modificación de las propiedades ópticas que favorecen la fotosíntesis. También poseen una estructura denominada “haptonema” que le da el nombre a la división a la que pertenece, Haptophyta. Los cocolitofóridos son uno de los mayores formadores de sedimentos oceánicos así como responsables de una gran parte de la producción de  $\text{CaCO}_3$ , tanto actualmente como en el pasado.

Los cocolitofóridos, son susceptible a multiplicarse en grandes cantidades en condiciones apropiadas, formando grandes floraciones mono-específicas llamadas “mareas blancas” (Cross *et al.*, 2000). Al morir se hunden y transportan carbonatos al fondo del océano; jugando un rol importante en la biogeoquímica marina del carbono (Beaufort *et al.*, 2011). A su vez, algunos cocolitofóridos pueden emitir Dimetil sulfonio propionato (DMSP) que oxida el Dimetil sulfuro (DMS) actuando como núcleos de condensación,

provocando la formación de nubes y aumentando el efecto albedo, de esta manera también forman parte del ciclo del azufre (Strom *et al.*, 2003) (Figura 1).



**Figura 1.** Descripción general de los principales procesos oceánicos y atmosféricos asociados con la producción primaria de los cocolitofóridos. Debido al crecimiento (fotosíntesis) y muerte (remineralización) los cocolitofóridos interactúan con la bomba global de carbono y debido a la producción y la pérdida de cocolitos con la bomba mundial carbonato de calcio (tomado de Köbrich, 2008).

Además, los cocolitofóridos comprenden uno de los más abundantes y completos registros estratigráficos para cualquier grupo fósil y proporcionan registros geológicos clave para la reconstrucción paleoceanográfica, biológica y eventos ambientales. A su vez, cierto grupo de cocolitofóridos es

productor de una amplia gama de alquenonas (hidrocarburos de cadena larga), que se conservan en el registro sedimentario; y han sido utilizados como biomarcadores orgánicos y paleoproxies geoquímicas para el cambio ambiental del pasado (proxies paleoclimáticos). Existe buena evidencia de que la composición de alquenonas de las poblaciones de cocolitofóridos varía con la temperatura superficial del mar (Grossi *et al.*, 2000), lo que permite estudios de abundancia y paleotemperatura.

### **2.2.2. Reproducción y ciclos de vida**

Estos organismos pueden presentar una forma desnuda (sin cocolitos) o cubierta (con cocolitos). Dentro de su ciclo de vida los cocolitofóridos poseen dos fases, uno haploide y otro diploide, en ambos estados la reproducción dominante es la mitosis (división binaria asexual). La transición de la fase diploide a haploide se produce a través de la meiosis, que implica la división celular, mientras que la transición de la fase haploide a diploide se produce a través de la singamia, con la fusión de dos células (Young y Henriksen, 2003).

Ambas fases suelen producir cocolitos pero a través de diferentes procesos de biomineralización que claramente resulta en consistentes diferencias estructurales. A través de estudios de microscopia se han podido identificar dos clases distintas de cocolitos. Los holococolitos son estructuras de un cristal simple dispuestos en orden regular, que en su mayoría presentan forma romboédrica o prismática, mientras que los heterococolitos son estructuras de múltiples componentes y son generalmente más grandes que las anteriores (Young *et al.*, 1999). La fase haploide, que es móvil, se cubre de

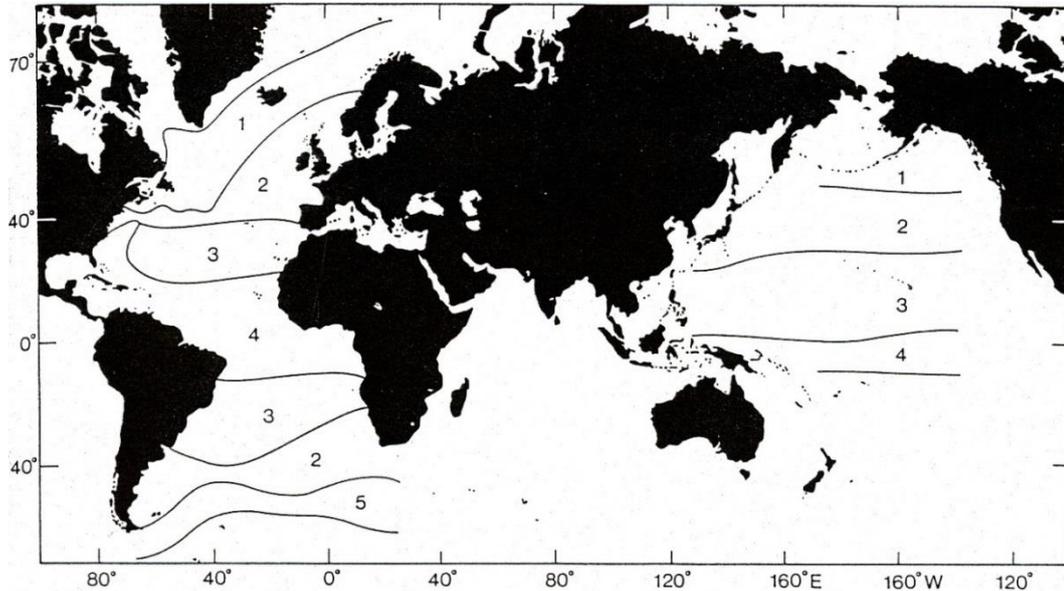
holococolitos que se producen fuera de la membrana celular; mientras que la fase diploide se cubre de heterococolitos que son producidos intracelularmente en vesículas cocolíticas (Geisen *et al.*, 2002).

Por lo general una sola clase de cocolitos suelen constituir toda la cocósfera, aunque no son raros las especies y géneros que presentan más de un tipo de cocolitos en diferentes partes de la cocósfera. Ciertas especies, por ejemplo *Coccolithus pelagicus*, presentan dos fases productoras de holococolitos y heterococolitos; mientras que otros, como *E. huxleyi*, producen sólo heterococolitos (Brownlee y Taylor 2002).

Sin embargo, se ha observado cierta transición entre las etapas del ciclo de vida. La transición entre estas fases es rara y se evidencia a través de la combinación de la cocósfera, teniendo como característica observable cocolitos de ambas etapas (Armstrong y Brasier 2005).

### **2.2.3. Ecología y distribución de cocolitofóridos**

Los cocolitofóridos son considerados uno de los grupos fitoplanctónicos más abundantes de los océanos (Lalli y Pearson 1997; Cross *et al.*, 2000; Raven *et al.*, 2005; Reynolds, 2006).

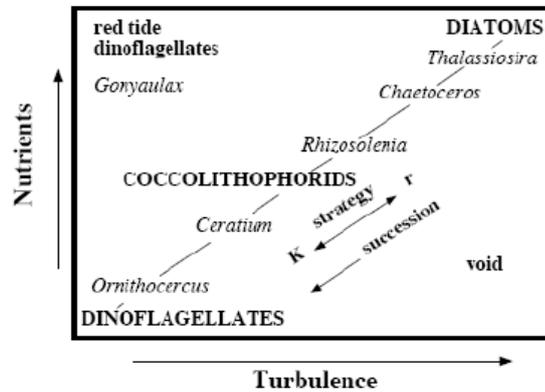


**Figura 2.** Zonas biogeográficas para los cocolitofóridos en los océanos Atlántico y Pacífico redibujado de McIntyre y Bé (1967) y Okada y Honjo (1973), respectivamente. 1=Subártica, 2=Moderada(Transición), 3=subtropical (Central), 4=Tropical (ecuatorial) y 5=regiones subárticas (tomado de Winter et al., 1994).

Mientras las diatomeas (r-estrategas) afloran en zonas de mezcla, turbulentas y ricas en nutrientes. Los dinoflagelados (K-estrategas) dominan en aguas estables y estratificadas (Margalef, 1978). Entre estas dos preferencias ecológicas se encuentran los cocolitofóridos, que ocurren en aguas de mediana turbulencia y disponibilidad de nutrientes intermedia (Figura 3).

Gran parte de los cocolitofóridos prefieren condiciones oligotróficas en aguas cálidas y estratificadas que son características de regiones de latitudes medias y bajas. Con excepción de *E. huxleyi*, la mayoría de cocolitofóridos experimenta foto-inhibición por lo que prosperan en capas profundas con una baja intensidad lumínica. Algunas especies se encuentran muy bien adaptadas

a condiciones de baja luz, incluso alcanzan su máxima abundancia a 100 m de profundidad, como es el caso de *Florisphaera profunda* (Brand, 2014).



**Figura 3.** Representación gráfica de las principales formas de vida del fitoplancton en un espacio ecológico definido por la concentración de nutrientes y turbulencia. (Tomado de Margalef, 1978)

Los cocolitofóridos son marcadores importantes de los cambios oceanográficos, ya que parecen ser indicadores sensibles de las condiciones de las aguas superficiales donde prosperan, particularmente la temperatura. Cada especie de cocolitofórido tiene una distribución espacial y temporal específica de las aguas superficiales donde se encuentran (Silva *et al.*, 2008). Los factores más importantes que controlan la dinámica estacional de los principales grupos de cocolitofóridos son la surgencia, la intensidad lumínica, nutrientes, temperatura, salinidad y pastoreo por el zooplancton.

Una de las especies mejor estudiada es *Emiliania huxleyi*, considerada una especie cosmopolita debido a que encuentra en casi todos los océanos, incluidas actualmente las regiones polares (Winter *et al.*, 2013). La densidad de *E. huxleyi* dentro de los primeros 200m superiores del océano tiene un

promedio de 1000 células por litro (Okada y Honjo, 1973; Emiliani, 1993). Es uno de los principales calcificantes del océano pelágico. Es la especie de cocolitofóridos más eurihalina (11-41‰), euriterma (1-30°C). El 60 a 80% de las asociaciones totales encontradas pertenecen a esta especie (Winter *et al.*, 2013). Es también conocida por desencadenar las famosas mareas blancas o floraciones que se generan en verano y principios de otoño en aguas templadas de latitudes altas a lo largo del borde de la plataforma continental, en particular en el Atlántico Norte, conteniendo 1-10 millones de células por litro. Estas floraciones alcanzan cierta importancia a escala regional como fuente de calcita y DMS (Brown y Yoder, 1994).

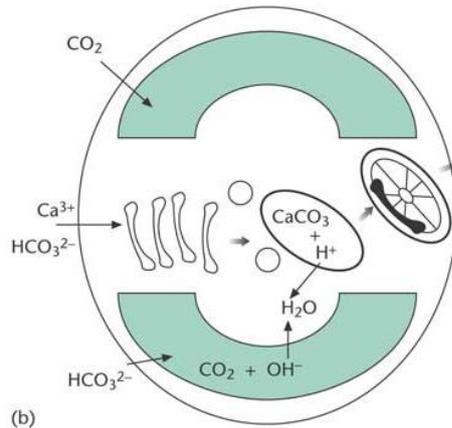
La fenología y patrones de distribución espacial están siendo alterados por el efecto del cambio climático. Esta situación se da en la distribución latitudinal de *E. huxleyi* que se ha expandido en los últimos años incluso hacia los polos (Winter *et al.*, 2013).

#### **2.2.4. Calcificación de cocolitofóridos, mecanismos y factores que la modifican**

La calcificación es la capacidad de algunos organismos de acumular sales de calcio en tejidos del cuerpo, esqueletos, conchas y caparazones. Esto implica la precipitación de  $\text{CaCO}_3$  desde iones de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{CO}_3^{3-}$  en solución, generándose microambientes que permiten la sobresaturación de  $\text{CaCO}_3$ . En organismos calcificadores marinos, la calcificación resulta predominantemente en estructuras de carbonato de calcio que están hechos de calcita o aragonita (Brownlee y Taylor, 2002).

Los cocolitofóridos, son considerados unos de los principales organismos productores de  $\text{CaCO}_3$  pelágico en los océanos, siendo cruciales en el ciclo global del carbono a través del consumo de  $\text{CO}_2$  durante la fotosíntesis y la generación de  $\text{CO}_2$  durante la calcificación (Westbroek *et al.*, 1993). La disminución de la  $\text{pCO}_2$  en la zona eufótica superior se da a través de la fijación fotosintética de  $\text{CO}_2$  en moléculas orgánicas, que luego serán remineralizadas a un nivel más profundo como el plancton y la dispersión de los desechos derivados de este a través de la columna de agua. Este proceso, conocido como “bomba biológica de  $\text{CO}_2$ ”, bombea  $\text{CO}_2$  desde la superficie hasta aguas más profundas, disminuyendo así la  $\text{pCO}_2$  atmosférica. Mientras que el incremento de la  $\text{pCO}_2$  en aguas superficiales y la atmósfera se da a través de la formación de cocolitos, este proceso conocido como “bomba biológica de carbonatos” disminuye la alcalinidad de la superficie, conduciendo el  $\text{CO}_2$  a la atmósfera. Parte de este  $\text{CaCO}_3$  se disuelve en columna de agua sedimentos superiores, el resto se conserva en sedimentos profundos (Marsh, 2003). Es decir, un aumento o disminución significativa en la producción global de cocolitos (ya sea por una variación en el número de cocolitofóridos o el cambio en los niveles de producción de  $\text{CaCO}_3$ ) podría contribuir con el tiempo, en aumentar o reducir significativamente la  $\text{pCO}_2$  atmosférica.

El cuerpo de Golgi, el cuerpo reticular y el núcleo, todos tienen un papel decisivo en la formación de los cocolitos. El método más simple de calcificación parece ser la secreción de escalas y cocolitos en el cuerpo de Golgi seguido de extrusión a la superficie celular (Figura 4).



**Figura 4. Modelo para flujos de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^{2-}$  y  $\text{H}^+$  durante la calcificación en cocolitofóridos.** Absorción de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{HCO}_3^{2-}$  dentro de un compartimento derivado de Golgi conduce a la producción de  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{H}^+$  durante la precipitación de calcita. Producción  $\text{H}^+$  se puede utilizar para contrarrestar el efecto alcalinizante de la producción de  $\text{CO}_2$  de  $\text{HCO}_3^{2-}$  en el cloroplasto (verde) y la eliminación de  $\text{CO}_2$  mediante la fotosíntesis (tomado de Brownlee y Taylor 2002).

En la formación de holococolitos, primero se producen escalas en el cuerpo de Golgi, se extruyen y luego se forman los sitios de nucleación para el desarrollo posterior de los holococolitos entre la membrana celular y un pedículo orgánica que se desarrolla alrededor de la célula. Los heterococolitos se desarrollan dentro de vesículas intracelulares, adyacente al núcleo y el cuerpo reticular por la precipitación de calcita, controlado por una matriz orgánica. Mientras el cocolito madura, la vesícula se mueve hacia la periferia de la célula. Una vez maduro el cocolito, este en un solo evento de exocitosis se une a la superficie celular externa. Las estimaciones de formación de cocolitos en *E. huxleyi* han mostrado que aproximadamente se forma un cocolito por hora (Brownlee y Taylor 2002).

Dentro de los factores extrínsecos que modifican la calcificación tenemos a la temperatura, nutrientes, etc. En pruebas de laboratorio se observó un incremento en la producción de cocolitos de *E. huxleyi*, frente a condiciones favorables de nutrientes (alta concentración de bicarbonato de sodio y por el agotamiento de fosfato). Este estímulo de la calcificación fue acompañado de una supresión del número de células y un aumento del volumen celular. En condiciones desfavorables de nutrientes se incrementa la tasa de crecimiento, encontramos células pequeñas y con pocos o ningún cocolito. Por lo tanto, el aumento de la población de células podría ser desencadenada por un suministro adecuado de nutrientes para mejorar el crecimiento de algas y la calcificación posteriormente podría ser estimulada cuando los nutrientes se agotan por el crecimiento sustancial de algas (Shiraiwa, 2003).

#### **2.2.5. Cocolitofóridos y acidificación del océano**

La mayoría de los estudios predicen una disminución en calcificación de diferentes organismos frente a una eventual acidificación del océano (Kroeker *et al.*, 2013). Experimentos en mesocosmos con diferentes presiones parciales de CO<sub>2</sub> fueron realizadas sobre floraciones de *E. huxleyi*, para evaluar su producción primaria y la calcificación. Evidenciando un retraso en el inicio de la calcificación en 24 a 48 horas, reducción de la duración de la fase de calcificación en el curso de la floración y una disminución del 40% de la calcificación de la comunidad neta (Delille *et al.*, 2005).

Otros experimentos en laboratorio han demostrado que la calcificación y la producción primaria neta de la especie *E. huxleyi* se incrementan

significativamente en presencia de altas presiones parciales de CO<sub>2</sub>. Esto se relaciona con muestreos *in situ* que indica que durante los últimos 220 años ha habido un aumento del 40% en la masa media de cocolitos, probablemente como respuesta adaptativa a las crecientes presiones parciales de CO<sub>2</sub> atmosférico. (Iglesias-Rodríguez *et al.*, 2008). Estudios experimentales demuestran que *E. huxleyi* es sensible a cambios en pCO<sub>2</sub> y temperatura, demostrando una tendencia a la reducción de tamaño de las cocósferas con el aumento de la pCO<sub>2</sub> y la temperatura. La morfología de los cocolitos muestra cierto deterioro que es evidenciado por un contenido de calcita inferior en condiciones de pCO<sub>2</sub> futuras; mientras que esto no se observó en la exposición a un incremento de la temperatura.

Mientras algunos resultados sugieren que la acidificación de los océanos podría tener un impacto negativo mayor sobre la calcificación de los cocolitofóridos que el calentamiento de las aguas superficiales (De Bodt *et al.*, 2010), experimentos en laboratorio, antes mencionados, muestran respuestas contradictorias respecto a la calcificación frente a condiciones acidificantes he incluso diferencias entre especies y algunos morfotipos de *E. huxleyi*. Estudios *in situ* revelaron que las especies y morfotipos con diferentes grados de calcificación están distribuidos en el océano de acuerdo a la química del carbonato.

#### **2.2.6. Cocolitofóridos y sistemas de afloramiento costero**

Los sistemas de afloramiento costero son considerados como las regiones más productivas del planeta. La producción nueva representa el 11% de la

producción nueva mundial aunque estas regiones solo constituyan menos del 1% del océano global. Esta producción nueva es estimada en  $6-8 \times 10^8$  toneladas de Carbono por año en regiones costeras y  $22-26 \times 10^8$  toneladas de Carbono por año en el océano abierto sur tropical. Esta alta productividad es sustentada por la surgencia de aguas sub-superficiales ricas en nutrientes que son gatilladas por el esfuerzo del viento (Messié *et al.*, 2009).

Los sistemas de afloramiento costero, o Sistemas de Borde Oriental con su sigla en inglés EBU se caracteriza por una alta productividad y una alta remineralización de materia orgánica que genera aguas con un alto carbono inorgánico disuelto generándose diferentes comportamientos en relación al intercambio de carbono océano-atmosfera ya sea como fuente o sumidero. Mientras a bajas latitudes predomina una alta producción de  $\text{CO}_2$  con un flujo de carbono promedio hacia la atmósfera y en consecuencia una fuente de  $\text{CO}_2$ , a altas latitudes se comportan como sumideros (Friederich *et al.*, 2008).

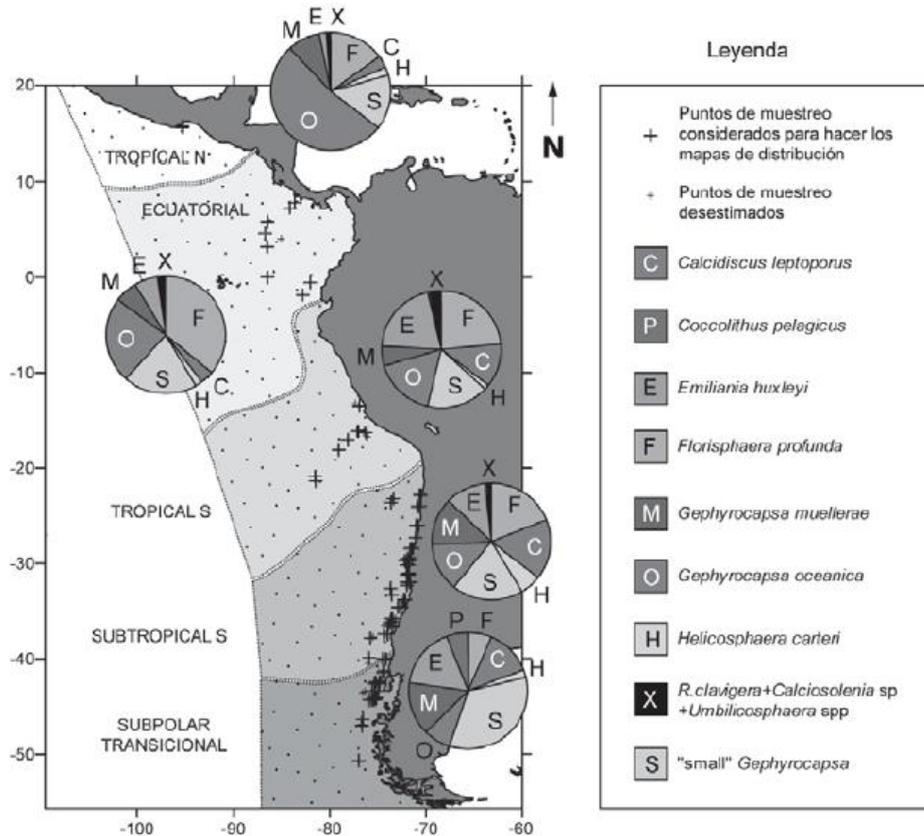
El sistema de afloramiento costero frente a Perú se caracteriza por eventos de surgencia costera durante todo el año variando estacionalmente su intensidad, determinando el ascenso de masas de agua sub-superficiales frías con una gran disponibilidad de nutrientes. Estas aguas fertilizan la capa eufótica durante todo el año y determina que las aguas costeras frente a Perú se encuentren entre las más productivas del planeta, con tasas de producción primaria del orden de los  $3-4 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  (Chávez y Messié, 2008). Esta alta productividad genera un gran aporte de materia orgánica sumado esto a una circulación lenta favorece el consumo de oxígeno determinando concentraciones menores a 0.5

mL/L, lo que permite la presencia de una Zona de Mínimo Oxígeno (ZMO). La ZMO frente a Perú es una de las más intensas y extensas en el mundo (Paulmier *et al.*, 2011; Ledesma *et al.*, 2011).

Por su parte la ZMO ha sido reconocida por una intensa actividad biogeoquímica y ser una importante fuente de CO<sub>2</sub>, gas de efecto invernadero (Friederich *et al.*, 2008), mostrando un alto contenido de carbono inorgánico disuelto que a su vez se asocian con valores bajos de pH. Estos niveles de pH que pueden llegar a 7.6 son inferiores al promedio estimado para el océano mundial (pH 8.1) y en consecuencia se denominan como aguas corrosivas presentando horizontes de calcificación más someros que en otras partes del mundo (León *et al.*, 2011).

En relación a los cocolitofóridos y áreas de afloramiento costero, en particular el sistema de afloramiento costero Perú Chile, existen pocos estudios. Con respecto a su distribución se realizaron estudios en el Pacífico Ecuatorial y Suroriental que generaron mapas con patrones de distribución de distintas especies de cocolitofóridos (Figura 5). Se determinaron las especies *F. profunda*, *Calcidiscus leptoporus* y *Helicosphaera carteri* dentro de la asociación subtropical sur frente a Chile y *F. profunda*, *Gephyrocapsa oceanica*, «pequeña», *C. leptoporus*, *E. huxleyi* y *G. muellerae* dominan dentro de la asociación tropical sur para Perú. Además se establecieron asociaciones de cocolitofóridos con parámetros físicos como temperatura y salinidad y se determinaron zonas biogeográficas como la ecuatorial, tropical norte y sur, subtropical y transicional (Saavedra-Pellitero *et al.*, 2007).

Este trabajo se evidencia a los cocolitofóridos como indicador de las condiciones ambientales, como la temperatura y la distribución de masas de agua superficiales, y además la productividad a escala global, permitiendo reconstruir el clima del pasado y los cambios ambientales.



**Figura 5.** Mapa resumen del Pacífico Ecuatorial y Suroriental en el que se muestra cada una de las zonas biogeográficas por el promedio de los distintos porcentajes correspondientes a los taxones más abundantes (tomado de Saavedra-Pellitero et al., 2007).

En relación a la calcificación, destaca el descubrimiento de un morfotipo de *E. huxleyi* muy calcificado en aguas del sistema de afloramiento costero frente a Chile (70°-80°W) con pH por debajo de 7.8 (Beaufort et al., 2008), lo cual

destaca la complejidad de las respuestas a nivel de ensamble forzado por los factores ambientales (Beaufort *et al.*, 2011).

Es por ello que las investigaciones en sistemas de bajo pH como los sistemas de afloramiento costero, aunque muy escasos en la actualidad, son importantes a fin de comprender la ecología, distribución y calcificación de estos organismos y las respuestas adaptativas frente a los cambios.

En efecto, en el contexto del cambio global se prevén grandes cambios a escala global y regional. En este caso, la acidificación, el calentamiento y la desoxigenación actúan en sinergia, siendo los grandes estresores y determinando que regiones como los sistemas de afloramiento costero sean ecosistemas vulnerables (Gruber, 2011). Por estas razones, el sistema de afloramiento costero peruano proporciona una ventana única, de cómo el medio marino responderá a mayores niveles de CO<sub>2</sub> en el futuro, haciendo de estas áreas zonas prioritarias de investigación y laboratorios únicos para la ciencia.

### 2.3 Justificación del estudio

La acidificación de los océanos es un proceso asociado al cambio climático que preocupa a la comunidad científica y a las diversas economías del planeta por tener repercusión en diferentes recursos marinos y organismos calcificantes. Los cocolitofóridos son responsables de una gran parte de la producción moderna de carbonato oceánico, siendo cruciales en el ciclo del carbono. A su vez, contribuyen con el ciclo del azufre a través de la producción de Dimetil sulfuro (DMS), que es un gas que contrarresta el efecto invernadero (Malin y Steinke, 2004).

Existen pocos trabajos *in situ* asociados a cocolitofóridos y calcificación (Triantaphyllou *et al.*, 2010) y la mayoría son de carácter biogeográfico y de reconstrucción del clima a partir del sedimento (Saavedra-Pellitero *et al.*, 2007). Por su parte los sistemas de afloramiento costero presentan características naturales como un bajo pH, el déficit de oxígeno y una importante variabilidad temporal y espacial que hacen de estos sistemas laboratorios óptimos para evaluar el efecto de los estresores asociados con el cambio climático.

En consecuencia, estudiar la ecología, abundancia y calcificación, de los cocolitofóridos, en sistemas de afloramiento costero representa una oportunidad para profundizar en las variables que afectan a estos organismos, su capacidad de adaptación y sus posibles respuestas en otros ambientes ante la acidificación de los océanos.

## **2.4 Objetivos**

### **2.4.1. Objetivo general**

Determinar la composición, distribución, abundancia y grado de calcificación de las comunidades de cocolitofóridos en relación a un gradiente costa-océano de condiciones ambientales (estratificación, pH, nutrientes y oxígeno) asociadas al sistema de afloramiento costero frente al Perú central.

### **2.4.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar la comunidad de cocolitofóridos, considerando especies y morfotipos.
- Caracterizar la comunidad fitoplanctónica asociada a las comunidades de cocolitofóridos.
- Conocer y estudiar las variables que explican los cambios espaciales de la distribución de abundancias (especies y morfotipos) y el grado de calcificación de los cocolitofóridos en relación a un gradiente de condiciones ambientales costa-océano.
- Caracterizar ambientes, de las preferencias ecológicas de especies y morfotipos a partir de las abundancias, grado de calcificación y condiciones ambientales.

## 2.5 Hipótesis

En los sistemas de afloramiento costero, entre la costa y la parte oceánica se observa un gradiente en las condiciones ambientales asociado al efecto del afloramiento costero, caracterizado por aguas advectadas hacia la superficie que determinan una menor estratificación, condiciones de bajo oxígeno, bajo pH y altos nutrientes que contrasta con condiciones oceánicas de mayor estratificación, pH, oxígeno y menores nutrientes. En este contexto se plantea la siguiente hipótesis:

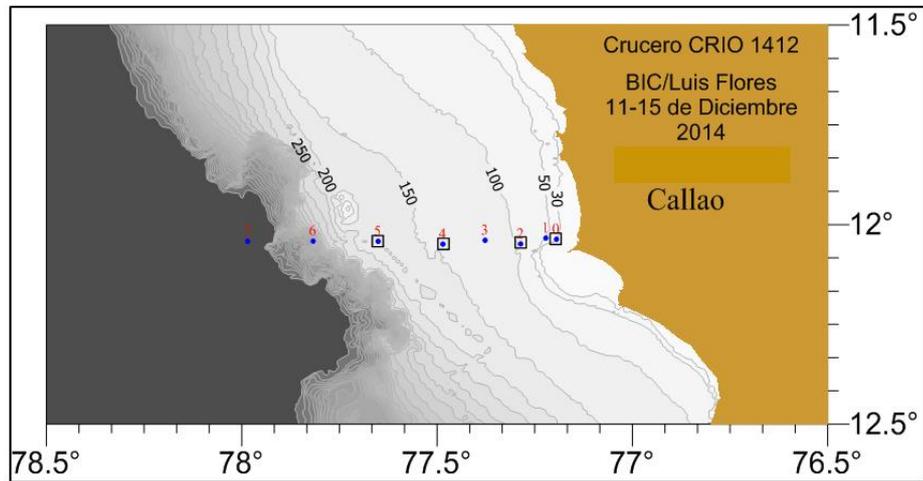
*“Existe un incremento en la abundancia y grado de calcificación de la comunidad de cocolitofóridos en un gradiente en dirección costa-océano frente al Callao asociado a los cambios en la estratificación, pH, nutrientes y oxígeno”*

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1 Área de estudio

El área de estudio (Figura 4) comprende un transecto perpendicular a la costa de Perú frente a Callao (12°S), este transecto está compuesto por 7 estaciones desde la costa hasta aproximadamente las 50 millas náuticas. El transecto frente a Callao, Línea Callao, es parte de la serie de tiempo que se ejecuta bimestralmente en el marco del Proyecto de investigación de Estudio Integrado del Afloramiento Costero frente a Perú parte de la Línea de Investigación III.2. Investigaciones en Procesos Oceanográficos y Ecosistémicos a Mesoescala y a Microescala de la Dirección General de Oceanografía y Cambio Climático (DGIOCC) del Instituto del Mar del Perú (IMARPE). Frente a Perú, se reconocen diferentes centros de afloramiento costero a lo largo de la costa en los 4-6° S, 7-9° S, 11-13° S y 14-16° S (Zuta y Guillen 1970; Rojas de Mendiola y Gómez 1981). Desde el punto de vista de las masas de agua, existen diferencias a lo largo de Perú. Al norte de los 6° S los afloramientos costeros se alimentan de aguas relativamente oxigenadas de la Extensión Sur de la Corriente Subsuperficial de Cromwell (ESCSC); aguas deficientes en oxígeno de la Corriente Subsuperficial Perú-chile (CSPCh) que va hacia el polo al norte de los 12° S y en ocasiones un poco más al sur, y finalmente de la mezcla de Aguas Subantárticas (ASAA) y Aguas Ecuatoriales Subsuperficiales (AESS) al sur de los 14° S (Zuta y Guillen 1970; Morrón, 2011). Por su parte frente a Callao se observa la distribución de una intensa Zona de Mínimo Oxígeno (Gutiérrez *et al.*, 2009, Ledesma *et al.*, 2011) y condiciones de bajo pH (León *et al.*, 2011) condiciones claves para los cocolitofóridos.

En el marco de esta tesis se colectaron muestras e información durante los cruceros intensivos oceanográficos (CRIO) en abril y diciembre del 2014 (CRIO1404, CRIO1412) y en abril del 2015 (CRIO1504).



*Figura 6. Ubicación de las Estaciones Fijas Callao (50 mn).*

### 3.2 Operacionalización de las variables

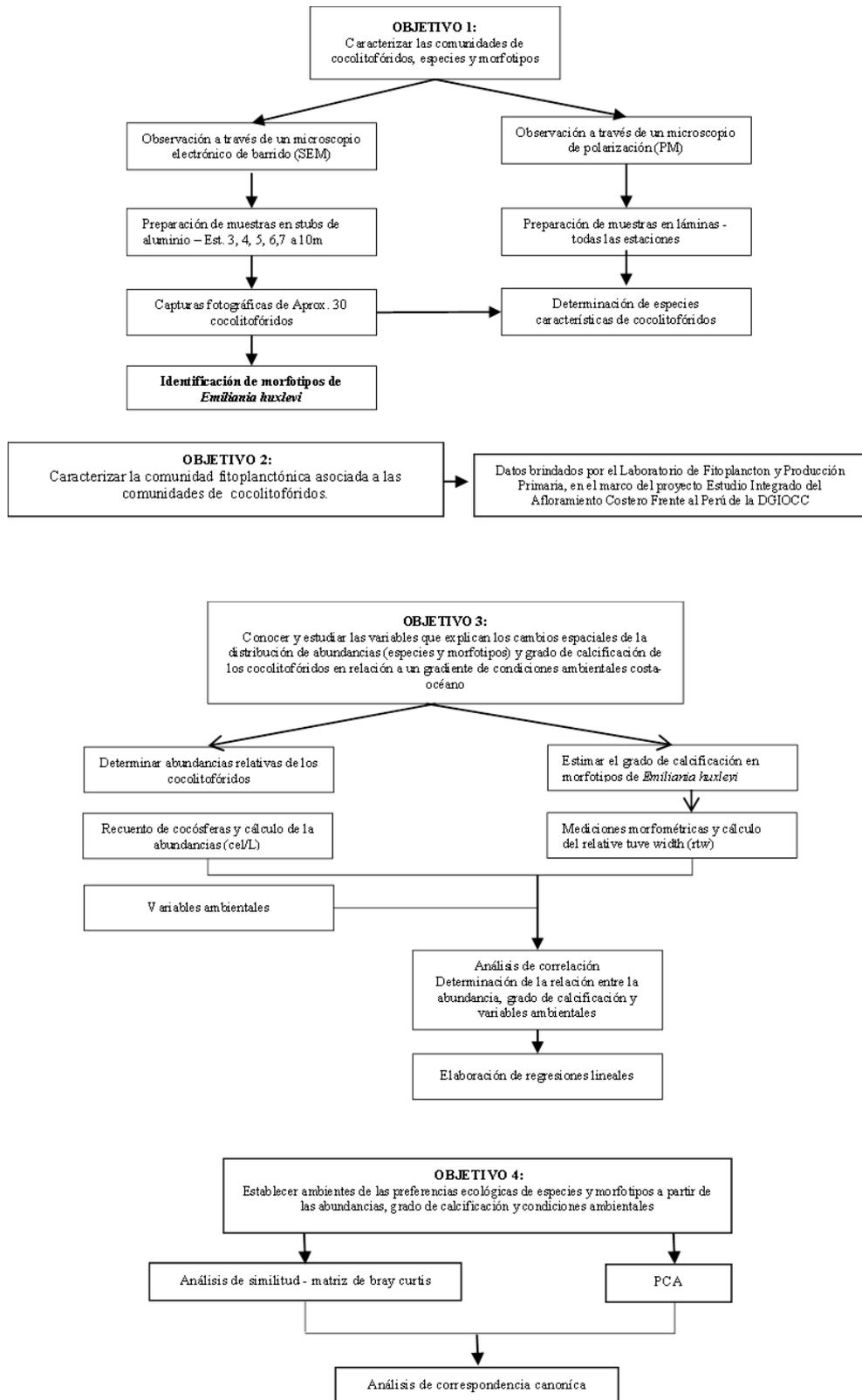
#### 3.2.1. Variables dependientes:

- Abundancia relativa de cocolitofóridos (cel/L)
- Grado de calcificación ( a través del índice RTW)

#### 3.2.2. Variables independientes:

- Temperatura superficial del mar (TSM) (°C)
- Temperatura en la columna de agua (°C)
- Salinidad (ups)
- Oxígeno disuelto (mL/L)
- pH
- Nutrientes (µM)
- Profundidad (m)
- Coordenadas geográficas (latitud-longitud)

### 3.3 Enfoque metodológico



### **3.4 Muestreo**

#### **3.4.1. Variables oceanográficas**

Se efectuaron perfiles hidrográficos con un CTD Seabird equipado con sensores de temperatura, salinidad y oxígeno. Paralelamente a los lances de CTD, se colectaron muestras de agua a profundidad estándar con roseta oceanográfica (equipadas con botella Niskin de 5L). Estas muestras de agua fueron colectadas para los análisis de oxígeno, pH, clorofila-a, nutrientes. Algunas de estas muestras fueron analizadas *in situ* y otras fueron preservadas en congelación hasta su análisis correspondiente en la sede central del IMARPE.

#### **3.4.2. Fitoplancton**

Muestras superficiales de agua fueron colectadas por arrastre superficial en círculos durante 5 minutos mediante una red standard de 75 $\mu$ m en todas las estaciones. Además, se colectaron muestras de agua en columna mediante lances de roseta oceanográfica equipadas con botella Niskin de 5L. Estas muestras fueron colectadas en las estaciones 2, 5 y 7 del perfil Callao a diferentes profundidades (10, 20, 30, 50, 75 metros) para realizar análisis cuantitativos en el gradiente costa-océano de la distribución vertical de fitoplancton.

### 3.4.3. Cocolitofóridos

Para el estudio de cocolitofóridos se colectaron muestras de agua a profundidades de 0, 10, 20, 30, 50, 60 y 100 metros. Las muestras fueron procesadas por filtración, aproximadamente entre 0.5 y 4 L de agua de mar fueron filtrados mediante un kit de filtración (Figura 7). Para ello se utilizó una membrana de nitrato de celulosa (diámetro 25 mm) con tamaño de poro de 0.8 micras. Después de la filtración las membranas fueron secadas rápidamente en una estufa a 50 °C (para evitar la contaminación por hongos) y luego se almacenó a temperatura ambiente con baja humedad.



*Figura 7. Kit de filtración equipado con filtros de nitrato de celulosa (0.45  $\mu\text{m}$ )*

### **3.5 Montaje de muestras**

#### **3.5.1. Montajes en stub de aluminio**

Se cortó un pedazo de la muestra y se fijó en un porta muestra o stub con ayuda de la cinta adhesiva doble faz. Luego, se colocó el stub dentro de un rociador o Sputter coater para el recubrimiento con plasma compuesto de oro y paladio (Au-Pd) durante 20 segundos. Finalmente la muestra se encuentra lista para su observación con el microscopio electrónico de barrido (SEM).

#### **3.5.2. Montajes en lámina**

Para el montaje de la lámina (esta lamina incluye todas las muestras por estación), se cortó la cuarta parte de una membrana de nitrato celulosa. Esta se colocó con mucho cuidado y con ayuda de pinzas en un portaobjetos (siguiendo la secuencia de la figura 9). Luego se agregó una gota de Norland Optical Adhesive (NOA74) y se cubrió con una pequeña laminilla (cubreobjetos) dando unos pequeños toques para fijarla. El uso del NOA74 es para que la membrana pueda ser ópticamente transparente. Finalmente se dejó secar durante un minuto en una lámpara UV, y se almacenó para su posterior observación con ayuda de un microscopio de luz polarizada (PM).

### **3.6 Datos y Análisis**

#### **3.6.1. Variables oceanográficas y comunidad fitoplanctónica**

Los datos de las variables oceanográficas y la comunidad fitoplanctónica utilizadas en este estudio fueron proporcionadas por la Unidad de Investigaciones en Oceanografía Química y Geología– Laboratorio de Hidroquímica y el Laboratorio de Fitoplancton y Producción Primaria, en el marco del proyecto Estudio Integrado del Afloramiento Costero Frente al Perú de la DGIOCC.

El oxígeno disuelto se analizó de manera inmediata durante el muestreo de campo por el tratamiento de fijación y titulación, aplicando el método tradicional de Winkler modificado por Carrit y Carpenter (1966). Para estimar el pH se empleó el método de electrodo combinado de Dickson (1993) utilizando buffers para agua de mar (Tris, Dickson). Los nutrientes, nitratos, silicatos y fósforos, se analizaron por el método de Strickland y Parson (1972). La clorofila-a se analizó siguiendo los métodos de Holm-Hansen (1965) modificado por Carrit y Carpenter (1966).

Para el análisis cuantitativo de las comunidades de fitoplancton se utilizó la metodología de Utermöhl (Utermöhl 1958, IOC UNESCO 2010), para lo cual se sedimentó cada muestra en cámaras provistas de cilindros de 50 mL por 24 a 48 horas. Transcurrido dicho tiempo, se realizó el conteo con microscopio invertido con objetivo de 40 X (400 aumentos) para especies del nanofitoplancton (fitoflagelados y cocolitofóridos) y con objetivo de

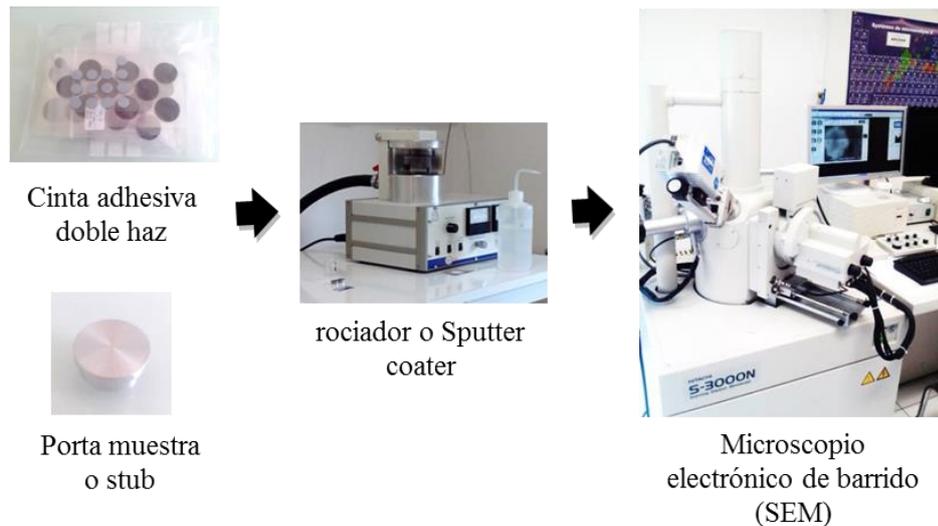
16 X (160 aumentos) o de 20 X (200 aumentos) para especies del microfitoplancton.

### **3.6.2. Determinación de la composición de los ensambles de cocolitofóridos**

Para la identificación de la composición de los ensambles de cocolitofóridos se determinó utilizando un microscopio electrónico de barrido HITACHI S-3000N con un aumento de alrededor de 6000X y un microscopio de polarización LEICA DM4500 P con un aumento de 1000X.

#### **D) Identificación de especies y morfotipos**

Se colocó la muestra dentro del microscopio electrónico de barrido y se procede a tomar fotos para la diferenciación de morfotipos de *E. huxleyi* e identificación de otras especies. Se tomaron 30 fotos como mínimo por muestra. Las muestras seleccionadas para la toma fotográfica fueron las de 10 metros de profundidad, debido a que en ellas se observó mayor abundancia relativa de cocolitofóridos. Estas imágenes fueron usadas para trabajos morfométricos y para estimar grado de calcificación de *E. huxleyi*.



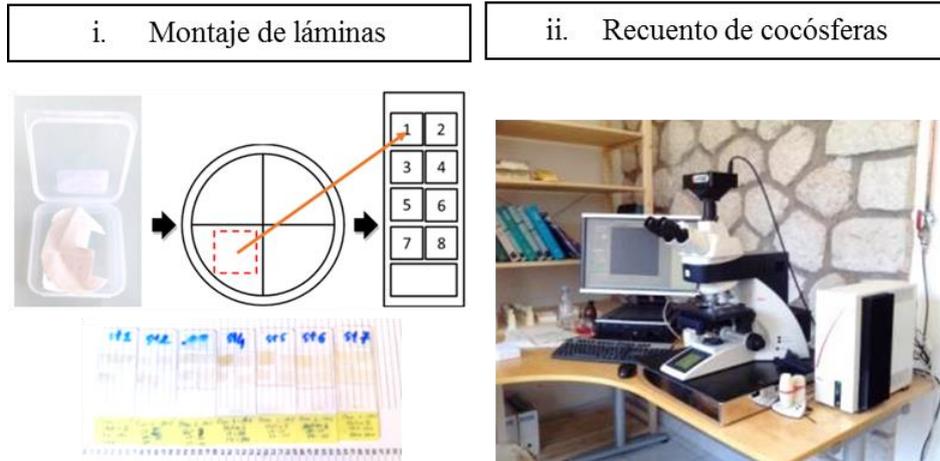
*Figura 8. Esquema para el conteo y determinación de especies de cocolitofóridos*

### 3.6.3. Determinación de las abundancias relativas de cocolitofóridos

Las abundancias de cocolitofóridos se estimaron mediante el recuento de cocósferas por campo en microscopio de luz polarizada LEICA DM6000B con un aumento de 1000X.

#### I) Recuento de cocósferas:

Las abundancias se determinaron con ayuda de un microscopio de polarización (PM) a un aumento de 1000X. Se procedió al recuento de cocósferas (especies), se observaron 150 campos por muestra. Si el número de cocósferas era muy abundante al llegar a 300 cocósferas se detuvo el conteo y se anotó el número de campos observados; si el recuento es menor a 1 cocósfera por campo, solo se contaban 100 campos y se detuvo la búsqueda.



**Figura 9.** Esquema para el montaje y análisis de las muestras. (i) La cuarta parte de la membrana se coloca siguiendo la numeración de la lamina, esta numeración indica las profundidades de menor a mayor (por ejemplo 1=0m, 2=10m, 3=15m, etc ). (ii) Se observa las 7 láminas que presentan las 7 estaciones, esta son observadas con el microscopio de luz polarizada (PM).

II) Cálculo de las abundancias:

El número de células de cocolitofóridos en un litro de agua fue calculado usando la siguiente ecuación:

$$CD = \frac{A * N}{a * v}$$

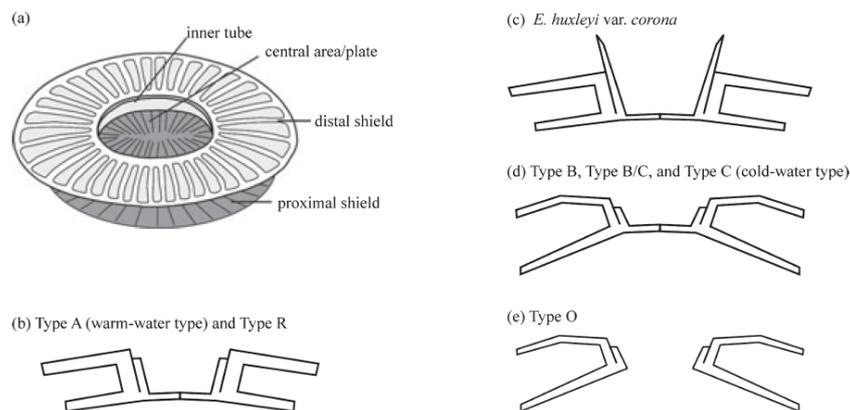
donde **CD** es la abundancia de células (cel/L), **A** es el área de filtración, es **N** el número total de células contadas, **a** es el área analizada, y **v** es el volumen de agua filtrado en litros.

### 3.6.4. Identificación de morfotipos

La identificación de los morfotipos de *E. huxleyi* fue realizada siguiendo las características morfológicas de la placa distal, el área central (plato), el interior del tubo y la longitud de la placa distal descritas en Hagino *et al.*, (2011) (Tabla 1; Figura 10). Además, se consultó la guía “A guide to extant coccolithophore taxonomy” (Young *et al.*, 2003).

Morphotype in this study	Morphology of distal shield	Morphology of central area	Length of distal shield	Comparable morphotypes in literature
Type A	Moderate-heavily calcified elements	Grill	<4 $\mu\text{m}$	Warm type (McIntyre and Bé 1967)
Type B	Lightly calcified elements	Solid plate	$\geq 4 \mu\text{m}$	Type B (Young et al. 2003)
Type B/C	Lightly calcified elements	Solid plate	<4 $\mu\text{m}$	Type B/C (Young et al. 2003)
Type C	Lightly calcified elements	Solid plate	<3.5 $\mu\text{m}$	Cold type (McIntyre and Bé 1967)
Type O	Lightly calcified elements	Open	Varied in size	Type C (Young et al. 2003) Subarctic type (Okada and Honjo 1973)
Type R	<i>Reticulofenestra</i> -like heavily calcified distal shield elements	Grill	<4 $\mu\text{m}$	Type B (Hagino et al. 2005) Type R (Young et al. 2003)
var. <i>corona</i>	Moderately calcified elements with elevated central tube	Grill	3.5–4.5 $\mu\text{m}$	var. <i>corona</i> (Okada and McIntyre 1977)

**Tabla 1.** Clasificación de morfotipos de *Emiliania huxleyi*. Tomado de Hagino *et al.*, (2011)



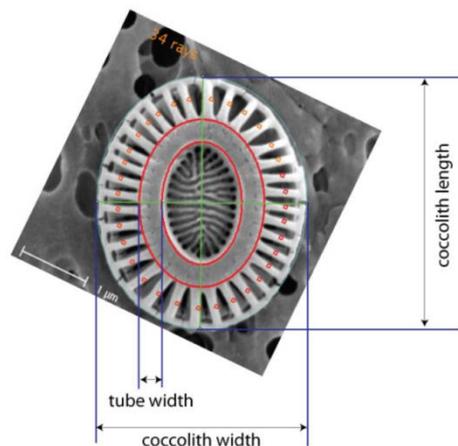
**Figura 10.** (a) Diagrama esquemático de un cocolito de *Emiliania huxleyi*. (b) sección transversal de Tipo A y R; (c) sección transversal de *E. huxleyi* var. *corona*; (d) sección transversal de Tipo B, B/C; (e) sección transversal del Tipo O. Tomado de Hagino *et al.*, (2011).

### 3.6.5. Mediciones morfométricas

Para las mediciones morfométricas se utilizó el programa Image J para el trabajo morfométrico (Schneider *et al.*, 2012). El cálculo se basa en la observación de que la geometría del cocolito se aproxima mucho a un conjunto de elipses paralelas coaxiales (Young *et al.*, 2014).

#### I) Principales parámetros morfométricos:

Para cada imagen se midió el diámetro de la cocósfera. Además, se eligió un cocolito de la cocósfera que fuera claramente visible y se midió su longitud y ancho. Para esto se arrastró una elipse alrededor del perímetro del cocolito. Otro parámetro morfométrico medido fue el ancho del tubo, que fue calculado arrastrando una elipse alrededor del borde exterior del tubo y otra alrededor del borde interior del tubo, luego se midió la distancia entre estas dos elipses por el lado del ancho del cocolito para determinar el ancho del tubo (Figura 11).



**Figura 11.** *Parámetros morfométricos medidos. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de un cocolito de Emiliana Huxleyi en vista distal. Tomado de Young et al., 2014.*

II) Estimación del grado de calcificación a través del cálculo del RTW:

Además, se utilizó el ancho relativo del tubo (RTW) para medir el grado de variación de la calcificación, debido a que el RTW varía significativamente entre cocolitos de *E. huxleyi*. En cocolitos ligeramente calcificados se presenta una zona central amplia y el ancho del tubo es estrecho. Por otra parte en cocolitos severamente calcificados la zona central se encuentra casi cerrada (Young *et al.*, 2014). El ancho relativo del tubo fue calculado usando la siguiente ecuación:

$$RTW = \frac{2 \times TW}{WD}$$

Donde el ***RTW*** es el ancho relativo del tubo, el ***TW*** es el ancho del tubo y el ***WD*** es el ancho del cocolito.

### 3.7 Estadística

El análisis estadístico se realizó mediante el uso del software R Project versión 3.2.0. Se realizó análisis exploratorios de agrupamiento (análisis clúster) basado en una matriz Bray-Curtis de disimilaridad para buscar diferencias en la composición de las comunidades de cocolitofóridos en relación a la abundancia de especies con las estaciones y niveles de profundidad.

Las posibles diferencias entre las estaciones y los periodos estudiados, se definieron a través de un análisis de varianza y pruebas no paramétricas de Kruskal-wallis con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ . Luego se realizó un test de comparaciones múltiples mediante la prueba de Bonferroni. También se realizaron correlaciones de Spearman entre las abundancias y el índice de calcificación con las variables ambientales. Asimismo, se hicieron graficas de regresiones lineales de las abundancias con las variables ambientales para denotar la influencia estas variables sobre las abundancias totales.

Se realizó un análisis de correspondencia canónica (ACC) para examinar la relación entre las especies de cocolitofóridos y las variables ambientales (Ter Braak, 1986). Para esto se hicieron 2 matrices. La matriz biológica (la suma de todas las abundancias de cada especie por cada estación durante los tres periodos), fue transformada usando raíz cuadrada para su normalización. La matriz de las variables ambientales fue estandarizada usando la función "scale". Se utilizaron pruebas de permutación Monte Carlo (999 permutaciones de libre disposición,  $p < 0,05$ ) para evaluar la significación global de la ordenación y la significancia del primer eje.

## **IV. RESULTADOS**

### **4.1 Condiciones oceanográficas, comunidad fitoplanctónica y cocolitofóridos**

#### **4.1.1. Condiciones oceanográficas**

##### **I) Temperatura**

En la figura 12 se presenta la distribución de temperatura, pH, oxígeno y silicatos en la transecta de estudio frente Callao para los períodos de muestreo. En relación a la temperatura, el otoño del 2014 (CRIO1404) se caracterizó por un gradiente térmico de 20 a 16°C, disminuyendo desde la parte oceánica hacia la costa. Se observa una buena estratificación con una isoterma de 15°C, uno de los indicadores de la presencia de Aguas Costeras Frías (ACF), relativamente profunda que se distribuyó entre los 40 y 60 m por fuera de las 20 mn mientras en la zona costera alcanzó los 90 m indicando la presencia de flujos hacia el sur. La salinidad (no se muestra) indicó el acercamiento inusual de las Aguas Subtropicales Superficiales (ASS) hacia la costa con isohalinas de 35.1 y 35.2, mientras el predominio de las ACF con salinidades de alrededor de 35.0 se limitó a las primeras estaciones muy costeras (<20 mn). En la primavera del 2014 (CRIO1412) se observó igualmente un gradiente térmico entre los 21 a 14°C, alcanzando mayores temperaturas en la zona oceánica y una capa estratificada de más de 100 m mientras en las primeras mn se observa el ascenso de aguas frías. La presencia de la isoterma de 15°C se registró por debajo de los 100 m en la parte oceánica que se superficializa en la costa, asociada a una reactivación aunque muy costera del afloramiento

costero. Las ASS caracterizadas por las isohalinas de 35.1 y 35.2 se observaron hasta las 25 mn de la costa, mientras en el litoral se registraron las ACF con salinidades de alrededor de 35.0.

Finalmente en otoño del 2015 mientras en la parte oceánica se mantienen las altas temperaturas ( $> 21^{\circ}\text{C}$ ) y salinidades, también se observan en la costa alcanzando valores mayores a  $18^{\circ}\text{C}$ . La isoterma de  $15^{\circ}\text{C}$  se observa profunda  $> 100$  m en todo el transecto indicando posiblemente un período de relajamiento posterior a un activo afloramiento costero y cierta influencia de las ASS por fuera de las 30 mn.

## **II) pH, Oxígeno disuelto y nutrientes**

Con respecto a los valores de pH frente a Callo se observaron valores entre 8.3 y 7.6. Los menores valores se registraron en la costa primeras 10 mn y por debajo de los 50 m. Durante el otoño del 2014 (CRIO1404) mientras las primeras 20 mn presentaron valores entre 7.7 y 7.9 por fuera se observaron valores entre 7.9 y 8.0. Observándose una disminución en estaciones intermedias y el incremento hacia afuera. Estas condiciones se distribuyeron en los primeros 20 m por debajo se observan valores bajos y condiciones menores a 7.7, característica de las ACF. En la primavera del 2014 (CRIO1412) se observan altos valores, mayores a 8.1 dominando los primeros 40 m en las estaciones oceánicas e intermedia mientras en las estaciones costeras esto se restringe a los primeros metros aunque manteniendo valores altos. Los valores menores a 7.7 se distribuyeron desde los primeros 10 m en las estaciones costeras hasta las 15 mn aproximadamente y por debajo de los

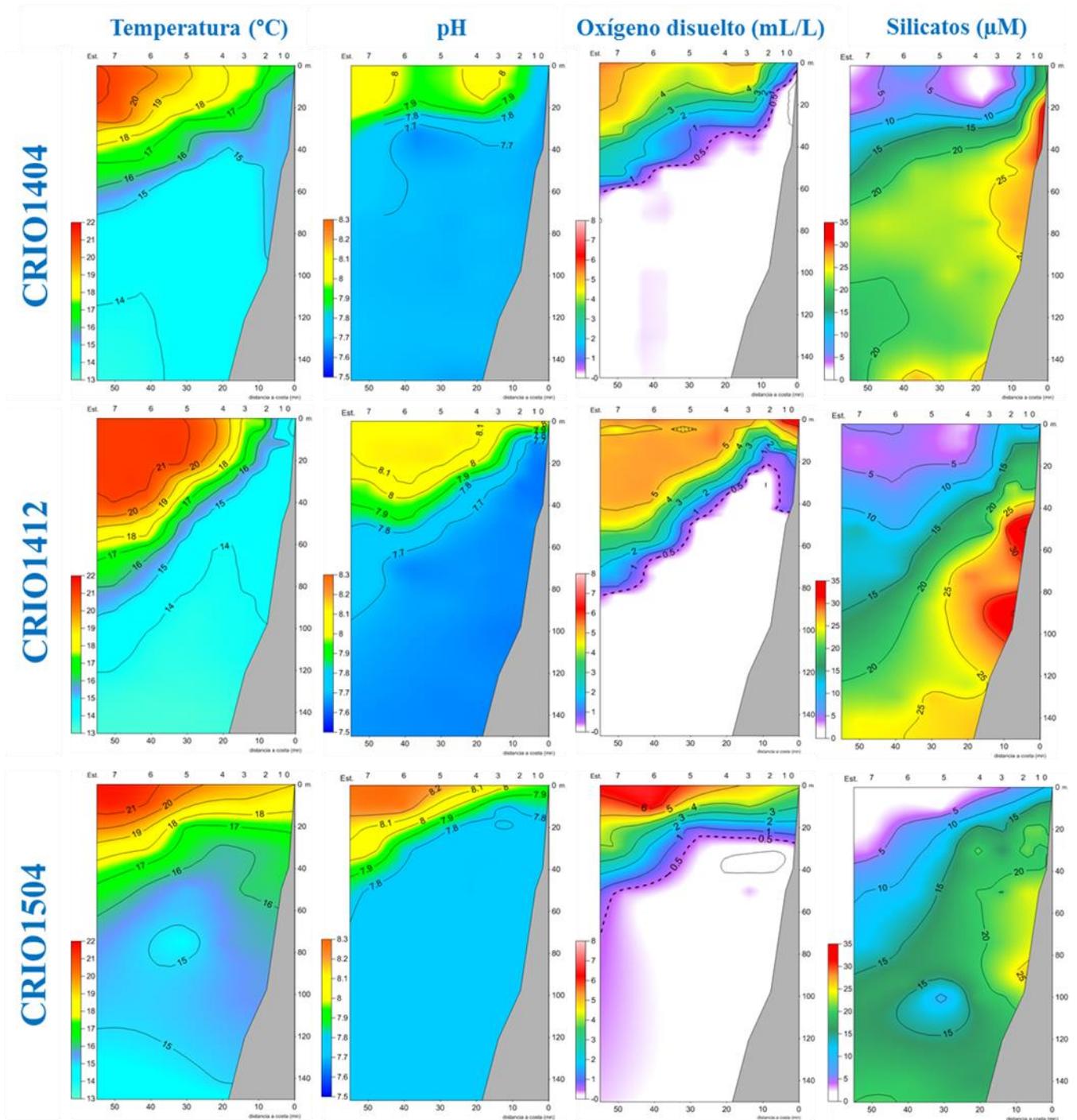
60 y 100 metros a las 40 y 50 mn respectivamente. En otoño del 2015 (CRIO1504) si bien se observan mayores valores ( $> 8.2$ ) en la parte oceánica y no se observan valores menores a 7.7, la distribución de valores bajos 7.8-7.9 se observan más someros por encima de los 30 m en las estaciones costeras e intermedias ( $<30$  mn).

La distribución del oxígeno disuelto sigue la distribución de la temperatura y en consecuencia la distribución de las masas de agua y del afloramiento costero. Valores bajos de oxígeno se observan muy cerca de la costa incrementándose aguas afuera en presencia de masas de agua cálidas y de mayor salinidad, ASS con lo cual se asocia la profundización de la Zona de Mínimo Oxígeno que se observa (Figura 20). En el 2014 en primavera valores de oxígeno disuelto superficial mayores a 5 mL/L y la mayor profundización de la ZMO, a más de 100 m en la parte oceánica. Hacia la costa se superficializa la iso-oxígena de 0.5 mL/L alcanzando en la estación, 2-3 aproximadamente los 20 m para luego profundizarse en las primeras mn por efecto del flujo hacia el sur. En otoño 2015 los primeros 40 m muestran altos oxígenos, alcanzando valores mayores a 6 mL/L por fuera de las 40 mn que coincide con altas temperaturas y salinidades características de las ASS.

Finalmente los nutrientes, se presentan los silicatos ( $\mu\text{M}$ ) en la Figura 20. En otoño y primavera 2014 se observa en toda la capa de 0 a 20 m concentraciones de silicatos menores a 5  $\mu\text{M}$  con excepción de las primeras 8 mn que presentan valores de 20  $\mu\text{M}$  evidenciando el afloramiento costero. Por su parte a mayor profundidad se observan concentraciones mayores a 15  $\mu\text{M}$

que se incrementan sobre la plataforma, que coincide con un alto déficit de nitratos que se extiende en la columna de agua (no se presentan datos). En otoño 2015, se observa un mayor déficit de silicatos en superficie desde las 10 mn hacia la parte oceánica y menores concentraciones sobre la plataforma comparada con el año anterior.

La estimación de la razón de Nitrógeno/Fósforo (N/P) presentó un rango de 2 a 8  $\mu\text{M}$ , significativamente menor al de Redfield (16 N/P) en un gradiente costa océano. Valores muy bajos costeros se registraron en la primavera que alcanzaron a 10 en la parte oceánica. En el 2015, los valores del N/P se incrementaron, tanto en la costa donde alcanzaron valores de 10 y en las estaciones más oceánicas donde llegaron a valores de 15 similares a Redfield (16), lo cual indica la disponibilidad de nitratos o un menor reciclaje de los mismos.



*Figura 12. Distribución vertical de temperatura (°C), pH, oxígeno disuelto (mL/L), y silicatos (µM) frente al Callao, durante los tres periodos estudiados: CRIO1404 (otoño 2014), CRIO1412 (primavera 2014) y CRIO1504 (otoño 2015).*

#### **4.1.2. Grupos fitoplanctónicos dominantes**

La Figura 13 muestra las abundancias totales de los grupos fitoplanctónicos dominantes mientras en la Tabla 2 se puede observar los parámetros ambientales y las abundancias totales de los grupos fitoplanctónicos a 10 m de profundidad en las estaciones 2, 5 y 7 para los tres periodos de estudio.

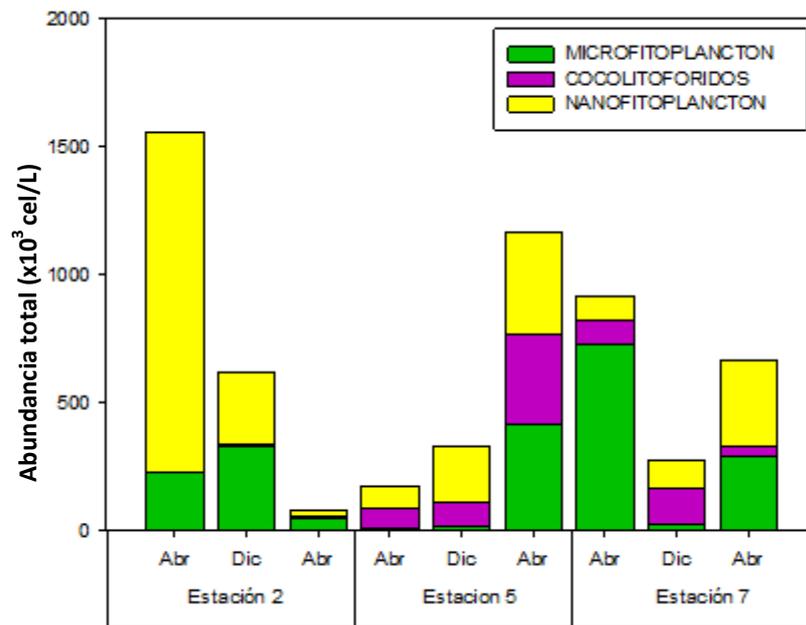
En la estación costera, estación 2, se observó la mayor abundancia de todo el estudio en otoño del 2014 (abril) asociada al nanofitoplancton que representó más del 86%. Las abundancias disminuyeron en primavera 2014 y otoño 2015 observándose cierto incremento del microfitoplancton aunque el nanoplancton mantuvo más del 40%.

En la estación 5, a 30 mn, las abundancias se incrementaron hacia el otoño del 2015, lo opuesto a lo observado en la costa. La dominancia del nanofitoplancton fue del 98 y 97% respectivamente en el 2014; disminuyendo a 64% en otoño del 2015. A diferencia de la estación 2, se observa la contribución del grupo de cocolitofóridos que alcanzaron las abundancias más altas  $346 \times 10^6$  cel/L en otoño 2015. Finalmente la estación más oceánica, a 50 mn, el otoño 2014 tuvo un predominio de diatomeas con un 79%, mientras el nanoplancton predominó en primavera con un 93% y en el 2015 con un 56%. La mayor contribución de cocolitofóridos se observó en la estación intermedia y el menor aporte en la parte oceánica.

En relación a las abundancias totales (Figura 13), el nanofitoplancton presentó en la estación 2 la mayor abundancia en otoño del 2014, la cual se redujo hasta cinco veces en primavera del mismo año, y se redujo drásticamente en otoño del 2015 al igual que todo el fitoplancton. En la estación 5 y 7 se presentó un incremento en sus abundancias desde otoño del 2014 hasta el siguiente otoño del 2015.

Con respecto al microfitoplancton las concentraciones fueron menores que en relación al nanoplancton. En la estación 2 las abundancias aumentan ligeramente desde otoño a primavera del 2014, y disminuyen en otoño del 2015. En la estación 5, para otoño y primavera del 2014 las abundancias se reducen drásticamente para aumentar en otoño del 2015. Por su parte en la estación más oceánica en otoño 2014 alcanza los mayores valores, y los mínimos ocurren en primavera 2014.

Los cocolitofóridos, componente del nanoplancton, en la estación 2 estuvieron prácticamente ausentes. En la estación 5 aumenta su abundancia desde otoño del 2014 a otoño del 2015, mientras que en la estación más oceánica se observa el aumento de las abundancias desde otoño a primavera del 2014 mientras que en otoño disminuyen.



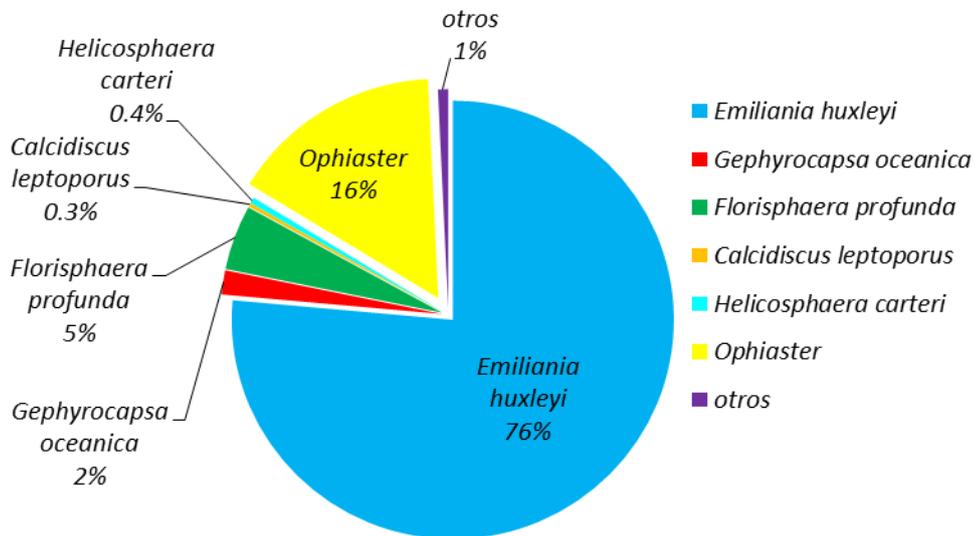
*Figura 13. Abundancias totales ( $\times 10^3$  cel/L) de grupos fitoplanctónicos dominantes a 10 metros de profundidad en las estaciones 2, 5 y 7 para los tres periodos de estudio frente al Callao.*

**Tabla 2.** Parámetros ambientales y la abundancia total de los principales grupos fitoplanctónicos (microfitoplancton y nanofitoplancton) a 10 m de profundidad en las estaciones 2, 5 y 7 para los tres periodos de estudio.

Est.	mes	Temp. (°C)	Sal.	OD (mL/L)	pH	Clorofila-a (µg/L)	Fosfatos (µM)	Silicatos (µM)	Nitratos (µM)	Nitritos (µM)	MICROFITOPLANCTON					NANOFITOPLANCTON					
											Diatomeas (cel/L)	Dinoflag. (cel/L)	Silicoflag. (cel/L)	ABUNDANCIA TOTAL (cel/L)	(%)	Coccolitofóridos (cel/L)	(%)	Fitoflag. (cel/L)	(%)	ABUNDANCIA TOTAL (cel/L)	(%)
2	Abr	16.83	34.93	1.97	7.93	2.76	1.53	6.41	1.47	0.30	218040	4120	1400	223560	14	292	0	1333000	100	1333292	86
	Dic	15.65	34.97	1.72	7.75	0.10	3.14	15.18	8.12	0.65	324160	3200	600	327960	53	4971	2	284280	98	289251	47
	Abr	17.00	35.00	1.19	7.18	0.83	2.51	13.31	18.57	0.97	29120	6240	10320	45680	57	6141	18	28000	82	34141	43
5	Abr	18.91	35.14	3.99	7.93	0.13	1.63	5.02	9.53	1.01	2820	40	60	2920	2	81729	48	90000	52	171729	98
	Dic	21.07	35.27	5.18	8.12	0.05	1.01	4.13	9.13	0.12	9260	1680	0	10940	3	99713	32	213160	68	312873	97
	Abr	19.33	35.22	3.83	8.20	3.87	0.50	1.88	7.40	0.71	367280	43260	6000	416540	36	346271	46	406040	54	752311	64
7	Abr	20.95	35.23	5.05	8.08		1.22	5.56	6.24	0.43	725040	400	80	725520	79	93988	49	96000	51	189988	21
	Dic	21.13	35.26	5.21	8.12	0.05	0.83	3.67	11.12	0.25	20100	0	0	20100	7	145500	57	108000	43	253500	93
	Abr	21.58	35.34	5.62	8.27	0.85	0.38	1.59	0.73	0.14	249720	38160	240	288120	44	36112	10	337000	90	373112	56

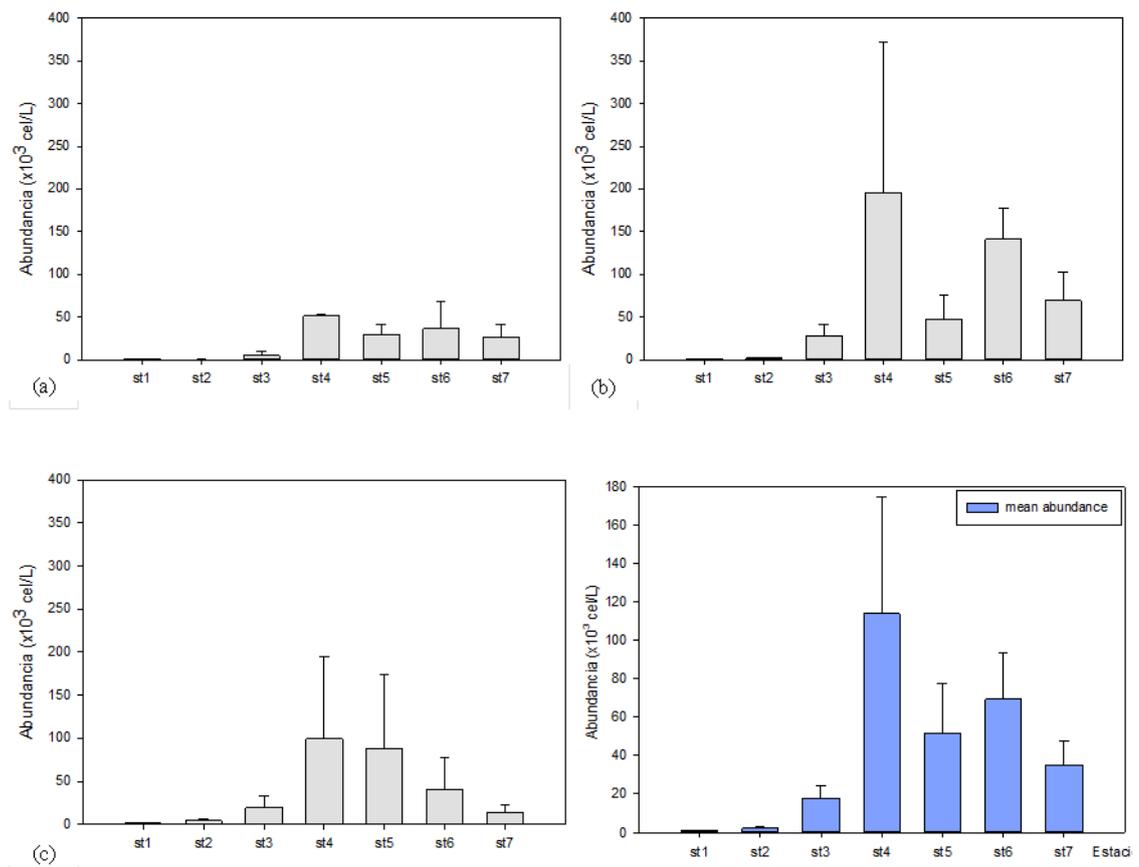
## 4.2 Composición y abundancia de cocolitofóridos

Se identificaron un total de 21 especies de cocolitofóridos, 10 especies a través del microscopio de luz polarizada y 11 con el microscopio electrónico. La composición total de especies identificadas se puede observar en el Anexo 1 y 6. La composición de los ensambles de cocolitofóridos se encontró dominada por las especies *Emiliana huxleyi* y *Ophiaster hydroideus* en un 76% y 16% respectivamente (Figura 14). En menor porcentaje se observó a *Florisphaera profunda* con un 5% y *Gephyrocapsa oceanica* con 2%. Aparecen con porcentajes inferiores al 1%: *Calcidiscus leptoporus*, *Helicosphaera carteri* y otras especies. En esta categoría se encontraron las especies *Michaelsarsia adriaticus*, *Acanthoica* sp., *Calciosolenia* sp., y *Syracosphaera* spp.



**Figura 14.** Composición de especies de cocolitofóridos en los tres periodos observados.

El promedio de las abundancias totales de cocolitofóridos fue de  $43.80 \times 10^3$  cel/L. El promedio de las abundancias de cocolitofóridos distribuidos entre la costa y el océano para cada periodo se presenta en la figura 12. Se observa en todos los periodos una menor abundancia en las estaciones 1, 2, incrementándose a partir de la estación 3; alcanzando las máximas abundancias en la estación 4 a 20 mn, abundancias intermedias se presentaron en las estaciones oceánicas. En otoño del 2014 las máximas abundancias fueron de  $51 \times 10^3$  cel/L en la estación 4, seguidas de la estación 6 con  $36 \times 10^3$  cel/L. en primavera del 2014 las máximas abundancias  $196 \times 10^3$  cel/L, seguidas de la estación 6 con  $140 \times 10^3$  cel/L. Por otra parte en otoño del 2015 las máximas abundancias se dieron en la estación 4 seguidas de la estación 5 con  $88 \times 10^3$  cel/L. Las abundancias totales por especie se pueden observar en el Anexo 2.



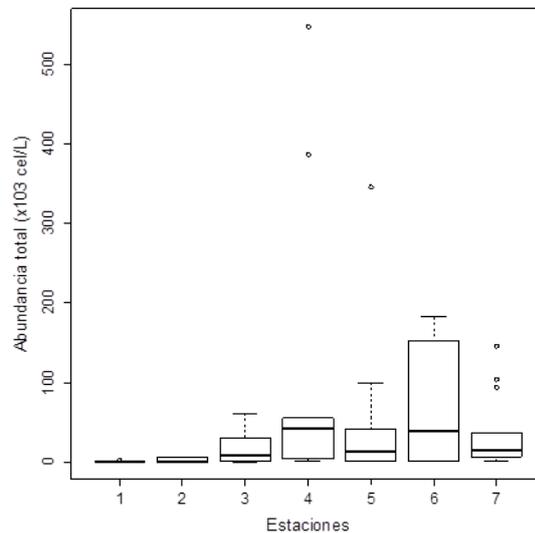
**Figura 15.** Promedio de las abundancias totales en todas las estaciones durante el periodo (a) otoño 2014 (CRIO1404), (b) primavera 2014 (CRIO1412) y (c) otoño 2014 (CRIO1404), (d) promedio de las abundancias durante los tres periodos de estudio.

#### 4.2.1 Variabilidad espacial

A fin de determinar el patrón espacial de la distribución, abundancia y otros análisis de cocolitofóridos se realizó un análisis de cluster sobre las abundancias promedio de los tres periodos que permitió clasificar en zonas la transecta de estudio (Anexo 4). Este análisis agrupó a las estaciones en tres zonas. La primera zona denominada “COSTERA” comprendió las estaciones 1, 2 y 3, la siguiente zona denominada “INTERMEDIA” fue

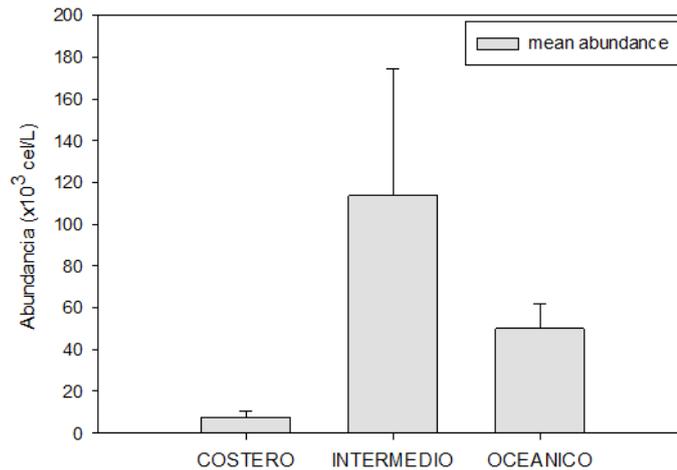
conformada únicamente por la estación 4 y por último, la zona “OCEÁNICA” que agrupo las estaciones 5, 6 y 7.

El análisis de la variación de las abundancias en la transecta (estaciones) frente a Callao se realizó a través de una prueba de Kruskal-Wallis (Figura 16). Este análisis demostró diferencias significativas entre las abundancias de las estaciones ( $p\text{-value} = 0.001$ ,  $\text{Sig.} < 0.05$ ). Mediante un test de comparaciones múltiples se determinó que la estación 1 se diferencia significativamente de las estaciones 4, 6 y 7, por lo que la prueba rechaza la hipótesis nula de que los datos provienen de la misma distribución. Lo mismo se dio entre la estación 2 y 4. Sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre la estación 3, 4, 5, 6 y 7.



**Figura 16.** Diagrama de cajas de la variación espacial de la abundancias totales ( $\times 10^3$  cel/L)

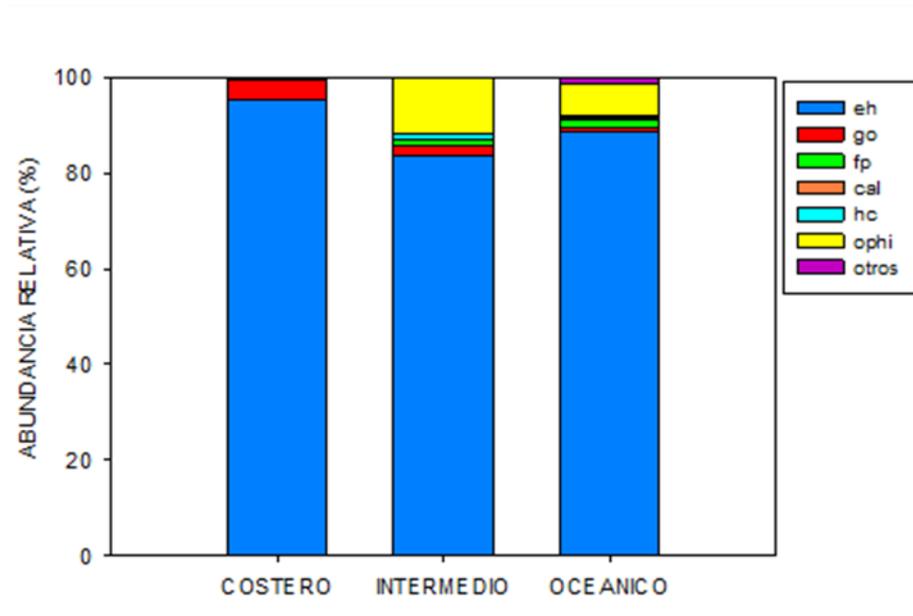
En la figura 17 se observó que la zona con mayor abundancia fue la intermedia con un promedio de  $113 \times 10^3$  cel/L, seguido de la zona oceánica con  $50 \times 10^3$  cel/L y la zona costera con  $7 \times 10^3$  cel/L.



**Figura 17.** Promedio de las abundancias totales ( $\times 10^3$  cel/L) en la zona costera, intermedia y oceánica.

Por su parte en las abundancias relativas se observó que la contribución de la especie *E. huxleyi* en la zona más costera fue de más del 95% seguida de *G. oceánica* con un 4%. La zona intermedia por su parte presentó una contribución del 84% de *E. huxleyi*, seguida de *Ophiaster* sp. con un 12% y en bajos porcentajes otras especies. La zona oceánica por su parte presentó una contribución de la *E. huxleyi* de 89% seguido al igual que en la zona intermedia por *Ophiaster* sp. con un 7%. Se puede observar que la contribución de *G. oceanica* va decreciendo conforme se aleja de zona costera mientras la contribución de *Ophiaster* sp. se observa en la zona

intermedia y oceánica (Figura 18). La diversidad de especies se incrementa en las estaciones oceánicas en relación a la zona costera.

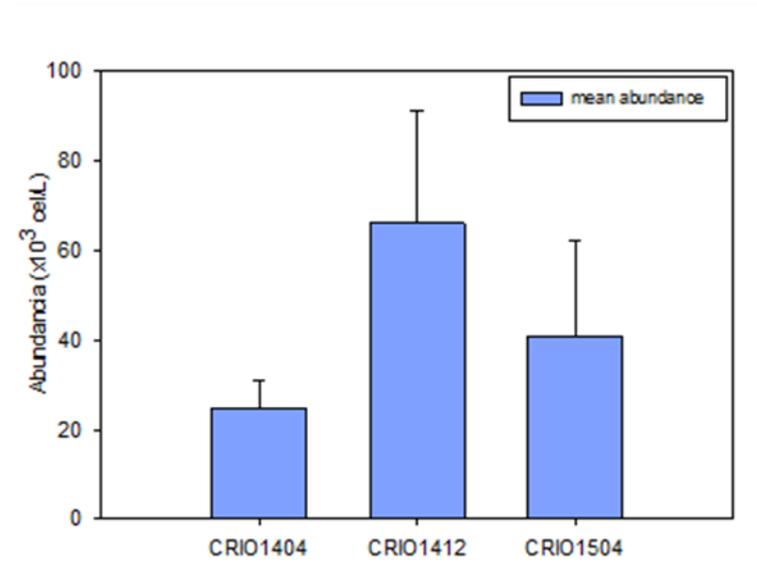


**Figura 18.** Abundancias relativas de las especies de la zona “costera”, “intermedia” y “oceánica”.

#### 4.2.2 Variabilidad temporal

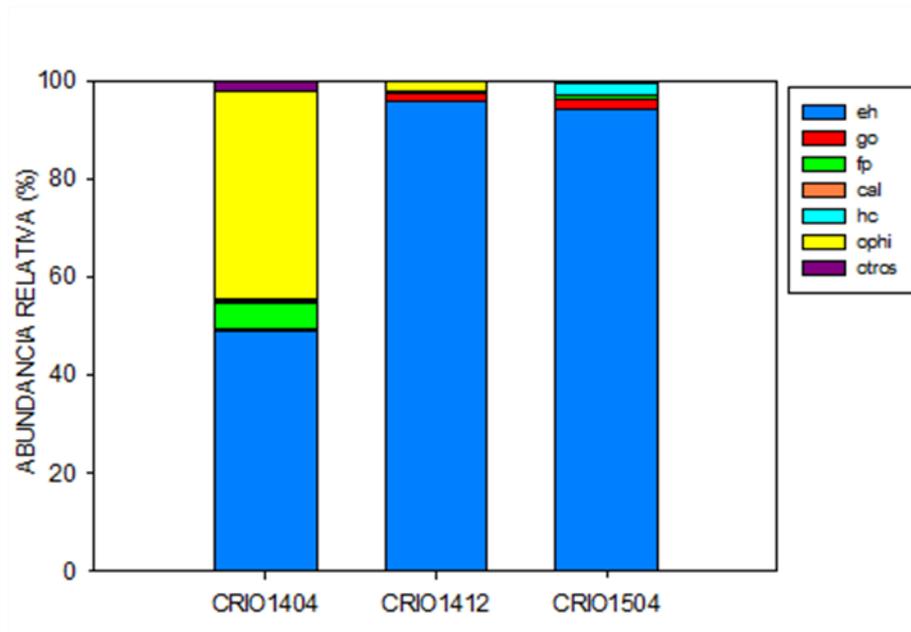
En relación a la escala temporal la Figura 19 muestra la variabilidad observada durante el estudio. En otoño del 2014 el valor promedio de las abundancias de cocolitofóridos fue de  $24.58 \times 10^3$  cel/L (CRIO1404), mientras que en otoño del 2015 las abundancias fueron casi duplicadas, alcanzando un valor de  $40.68 \times 10^3$  cel/L (CRIO1504). Los mayores valores se reportaron en primavera del 2014 con abundancias promedio de  $66.14 \times 10^3$  cel/L (CRIO1412). Por otra parte se realizó un análisis de varianza a nivel temporal de las abundancias a través de una prueba H. Este análisis no demostró diferencias significativas

entre las abundancias de los periodos estudiados (prueba H ,  $p = 0.2575$ , Sig.<0.05).



**Figura 19.** Promedio de las abundancias ( $\times 10^3$  cel/L) para los tres periodos de estudio.

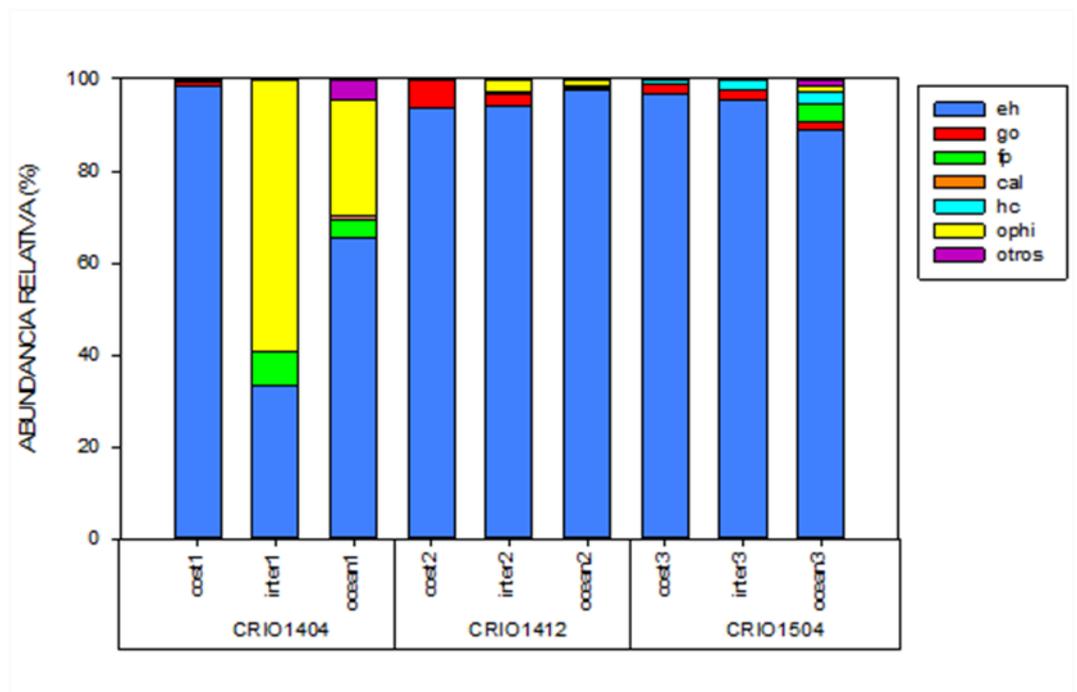
En relación a la distribución de especies la primavera de 2014 (CRIO1412) y otoño 2015 (CRIO1504) presentaron una dominancia de *E. huxleyi* con contribuciones de más del 90%. En primavera, las especies *Ophiaster* y *G. oceanica* contribuyeron con un 2% cada una y en otoño 2015 además de *G. oceanica* (3%) se observaron las especies *H. carteri* (2%), y *F. profunda* (1%). El otoño 2014 (CRIO1404) presentó una contribución significativamente menor de *E. huxleyi* que solo tuvo una contribución del 49%, mientras *Ophiaster* sp. contribuyó con un 43 %. *F. profunda* también se observó con un 6% (Figura 20).



*Figura 20. Abundancias relativas de las especies para los tres periodos estudiados.*

Por su parte en relación a los cambios espacio-temporales la figura 21 muestra entre la costa y el océano cambios significativos en la contribución de las diferentes especies en el tiempo. *E. huxleyi*, es la especie de cocolitofóridos dominante en el estudio con más del 90% en los diferentes períodos y estaciones con excepción del otoño del 2014 en que en la zona intermedia y oceánica *Ophiaster* sp. alcanza un aporte del 59% y 26% respectivamente mientras en los otros períodos si bien se mantiene en las estaciones oceánicas su contribución es menor al 5%. Por su parte *F. profunda* también se observa por fuera de la costa con una contribución de aproximadamente 10% desapareciendo en la primavera 2014 y reapareciendo en el 2015 en la estación oceánica pero con una menor contribución.

Por su parte, el análisis de las especies con menor contribución muestra igualmente cambios. La especie *H. carteri* solo se observa en el 2015 incrementándose desde la costa hacia las estaciones oceánicas. Por su parte en el caso de *G. oceanica* solo se observa en la costa durante el otoño del 2014, mientras en la primavera 2014 y otoño 2015 se incrementa en toda la transecta.



**Figura 21.** Cambios espacio-temporales de abundancias relativas de las especies durante todo el estudio.

#### 4.2.3 Distribución vertical de especies de cocolitofóridos

En cuanto a la distribución vertical de las especies más abundantes (*Emiliania huxleyi*, *Florisphaera profunda* y *Ophiaster* spp.), se observa en la figura 22 que *E. huxleyi* presentó sus mayores abundancias en diciembre 2014 ( $531 \times 10^3$  cel/L) y abril 2015 ( $374 \times 10^3$  cel/L) subsuperficiales pero dentro de los primeros 20 m de profundidad a las 20 mn aproximadamente, coincidiendo con una zona que podría asociarse al frente del afloramiento costero. Por dentro del afloramiento costero se observan menores concentraciones y por fuera se mantienen altas, tanto en superficie como a los 20 m para disminuir en las capas más profundas. En otoño 2014, además de observar una significativa disminución en las abundancias ( $70 \times 10^3$  cel/L) la distribución fue más superficial y desplazado hacia la parte oceánica.

En el caso de *F. profunda* como su nombre lo indica se observó a mayor profundidad, entre los 20 y 50 m. Las mayores abundancias se presentaron en otoño del 2014 entre las 30 y 40 mn de la costa. En la primavera 2014 y otoño 2015 disminuyeron significativamente, con una distribución más profunda en el 2014 y más oceánica en el 2015.

Por su parte *Ophiaster* spp., similar a *E. huxleyi*, se observa con mayor abundancia en la capa superficial en las estaciones entre las 20 y 40 mn. Sin embargo sus mayores abundancias se observaron en el otoño 2014 disminuyendo significativamente en la primavera 2014 y otoño 2015 cuando se profundiza y se aleja hacia la parte oceánica. Esta

disminución se observó también en *F. profunda* y es inverso al incremento que se observa en los biovolúmenes de *E. huxleyi*.

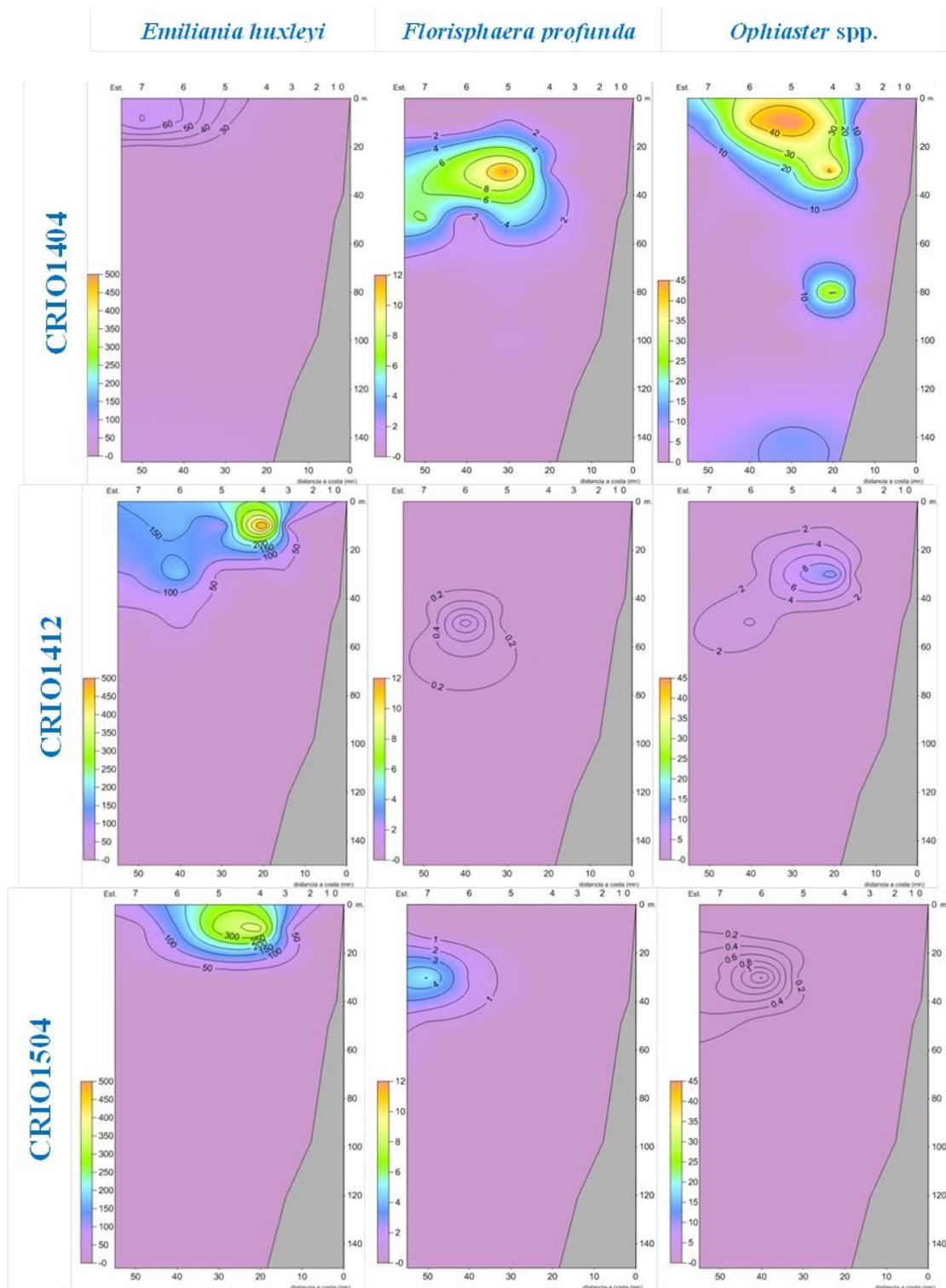


Figura 22. Distribucion vertical de las abundancias ( $\times 10^3$  cel/L) de las principales especies de cocolitofidos (*Emiliana huxleyi*, *Florisphaera profunda* y *Ophiaster spp.*), en los tres periodos de estudio.

#### 4.2.4 Variables ambientales, y abundancia de los cocolitofóridos

A fin de caracterizar la relación entre el ambiente y la abundancia total de los cocolitofóridos, se realizó una correlación de Spearman (Tabla 3). El análisis mostró una alta correlación positiva de la abundancia total de cocolitofóridos con el oxígeno disuelto ( $\rho=0.691$ ,  $p=0.00$ , Sig.<0.05), temperatura ( $\rho=0.654$ ,  $p=0.00$ , Sig.<0.05), pH ( $\rho=0.643$ ,  $p=0.00$ , Sig.<0.05) y salinidad ( $\rho=0.595$ ,  $p=0.00$ , Sig.<0.05); mientras que una alta correlación negativa se observó con los fosfatos ( $\rho=-0.517$ ,  $p=0.00$ , Sig. < 0.05) y silicatos ( $\rho=-0.650$ ,  $p=0.00$ , Sig. < 0.05).

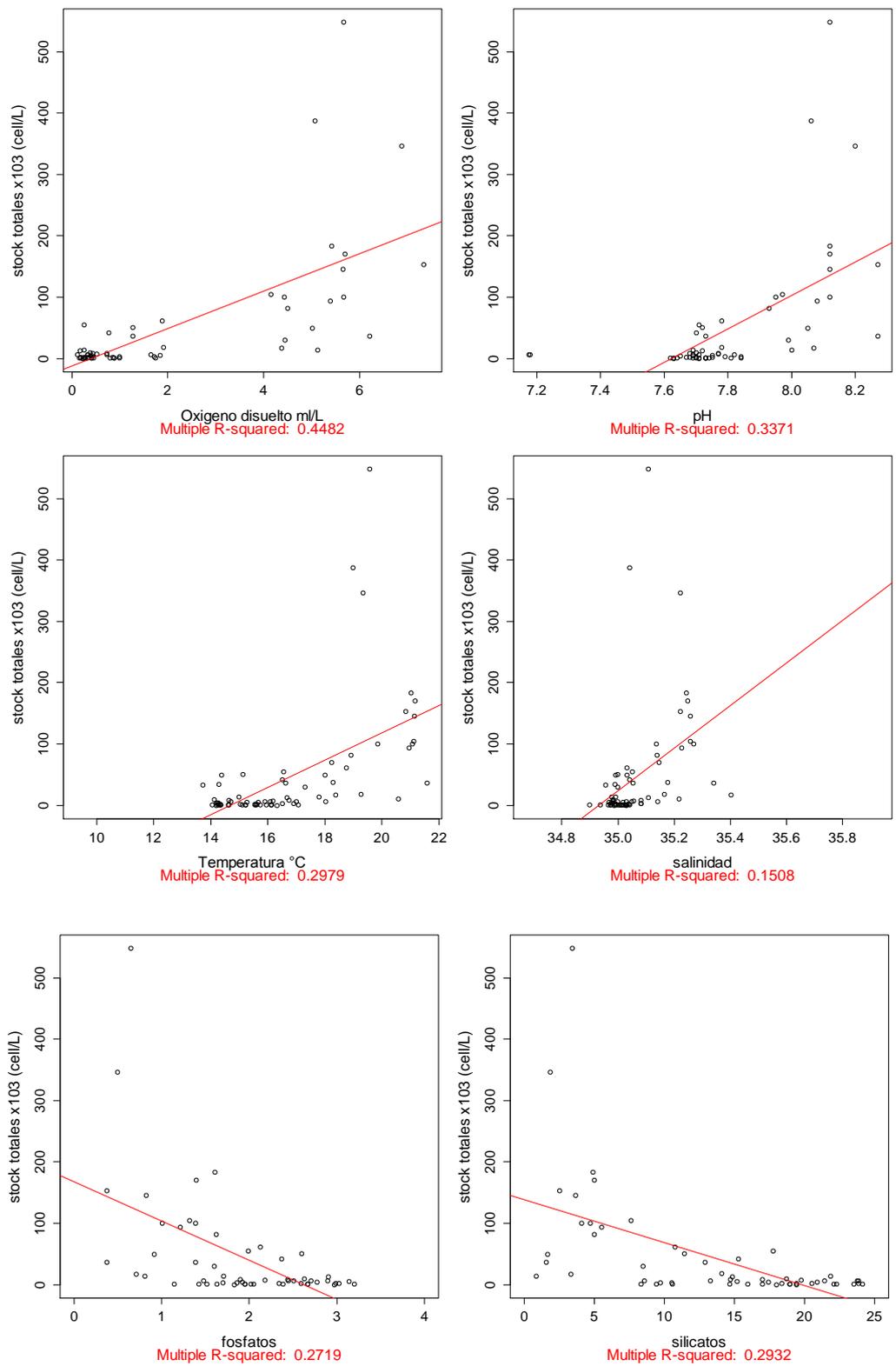
En la figura 23 se puede observar el análisis de regresión lineal, donde la relación entre el oxígeno disuelto y las abundancias totales alcanza un valor significativo de  $R^2 = 0.4482$  ( $p<0.001$ ), que muestra que el 45% de la varianza de la abundancia total es explicada por el oxígeno disuelto, mientras que el pH ( $R^2 = 0.3371$  ( $p<0.001$ )), explica el 34% de la varianza. Por su parte la temperatura ( $R^2 = 0.2979$  ( $p<0.001$ )) explica el 30% de la varianza y la salinidad ( $R^2 = 0.1508$  ( $p<0.001$ )) explicaría el 15% de la varianza total.

Por otra parte la correlación negativa entre los fosfatos ( $R^2 = 0.2719$  ( $p<0.001$ )) y silicatos ( $R^2 = 0.2932$  ( $p<0.001$ )) con la abundancia total explica el 27% y 29%, respectivamente, de la varianza total.

**Tabla 3.** Coeficientes de correlación. Una matriz de coeficientes de correlación de spearman entre la abundancia total de cocolitofóridos ( $\times 10^3$  cel/L) y los parámetros ambientales.

	TEMPERATURA	SALINIDAD	OXIGENO	pH	CLOROFILA	FOSFATOS	SILICATOS	NITRATOS	NITRITOS	N/P	ABUNDANCIA TOTAL
TEMPERATURA	1	0.841*	0.764*	0.822*	0.316*	-0.602*	-0.758*	-0.304*	-0.134	0.037	0.654*
SALINIDAD		1	0.567*	0.725*	0.089	-0.546*	-0.586*	-0.182	-0.214	0.198	0.595*
OXIGENO			1	0.791*	0.249	-0.681*	-0.878*	-0.350*	-0.118	0.144	0.691*
pH				1	0.248	-0.712*	-0.856*	-0.266*	-0.361*	0.076	0.643*
CLOROFILA					1	-0.092	-0.213	-0.423*	0.156	-0.347	0.144
FOSFATOS						1	0.786*	0.394*	0.117	-0.329	-0.517*
SILICATOS							1	0.303*	0.180	-0.197	-0.650*
NITRATOS								1	-0.367*	0.654	-0.203
NITRITOS									1	-0.244	-0.080
N/P										1	0.180
ABUNDANCIA TOTAL											1

\* La correlación es significativa al nivel 0,05.



**Figura 23.** Regresión lineal del oxígeno disuelto, pH, temperatura, salinidad, fosfatos y silicatos entre abundancia total de cocolitofóridos ( $\times 10^3$  cel/L). Línea de regresión (línea roja).

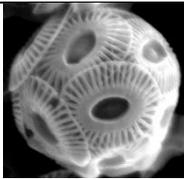
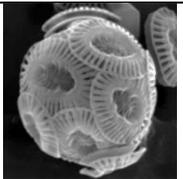
### **4.3 Morfotipos, biometría y calcificación de *E. huxleyi***

Se midieron un total de 376 cocósferas de *E. huxleyi* en los tres periodos estudiados, de los cuales se consideraron 344 cocósferas para el análisis de las mediciones morfométricas y el cálculo del índice de calcificación “relative tube width” (RTW).

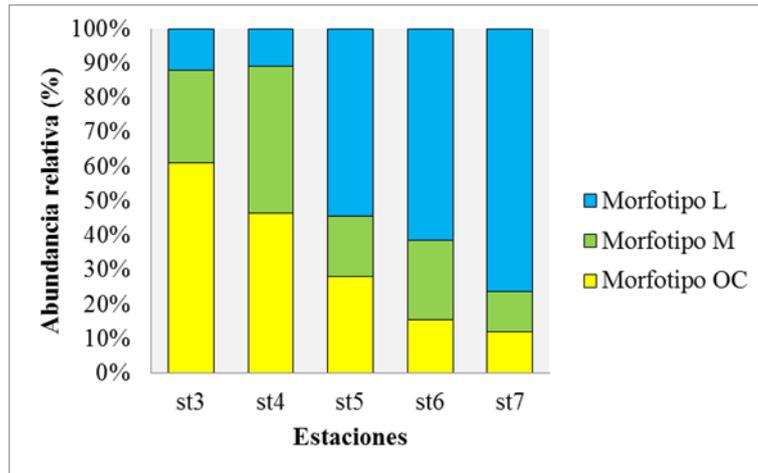
#### **4.3.1 Morfotipos de *E. huxleyi* presentados**

En la Tabla 4 podemos observar los morfotipos de *E. huxleyi* que se presentaron frente al Callao durante los periodos estudiados. El morfotipo tipo A dominó en todas las estaciones. Además, dentro de este morfotipo encontramos cocósferas con diferente grado de calcificación las cuales fueron denominadas como: morfotipo ligeramente calcificado (L), morfotipo medianamente calcificado (M) y morfotipo sobrecalcificado (OC). Los morfotipos L y OC dominaron la transecta en un 40% y 35% respectivamente, mientras el morfotipo M representó un 25%.

**Tabla 4.** Morfotipos de *E. huxleyi* encontrados en las estaciones durante los tres periodos estudiados. Morfotipo tipo A (ligeramente calcificados (L), medianamente calcificado (M) y sobrecalcificados (OC)).

MORFOTIPOS			A		
			L	M	OC
OPERACION	ESTACION	n			
CRIO1404	st3	24	3	0	21
	st4	25	7	7	11
	st5	17	10	4	3
	st6	20	12	6	2
	st7	17	13	4	0
CRIO1412	st3	30	4	16	10
	st4	29	2	21	6
	st5	28	27	1	0
	st6	28	27	1	0
	st7	30	30	0	0
CRIO1504	st3	28	3	6	19
	st4	28	0	7	21
	st5	23	0	7	16
	st6	17	1	8	8
	st7	12	2	3	7
<b>TOTAL</b>			165	49	121

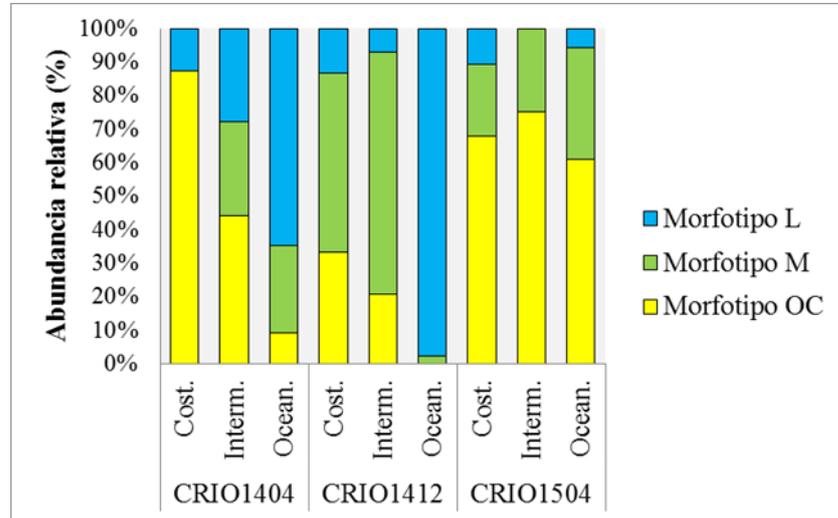
Con respecto a la variabilidad espacial costa-océano de los morfotipos de *E. huxleyi* (Figura 24), la estación más costera, 3, presentó predominantemente, alcanzando un 61%, el morfotipo OC, dominancia que fue disminuyendo hasta un 12% en las estaciones más oceánicas (st7). El morfotipo L presentó un gradiente opuesto alcanzando el 76% de la dominancia en la estación más oceánica (st7). El morfotipo M presentó su mayor dominancia en la estación intermedia, st 4, donde alcanzó un 43% seguido por el OC y una menor contribución del L.



*Figura 24. Cambios espaciales dentro de la transecta frente al Callao de los morfotipos ligeramente calcificado (L), medianamente calcificado (M) y sobrecalcificado (OC), durante el estudio.*

En relación a la variabilidad temporal de los morfotipos, otoño del 2014 (CRIO1404) se observó el predominio de los morfotipos L y OC. Mientras en la zona costera el morfotipo OC representó casi el 90% disminuyendo hacia la zona oceánica, el morfotipo L se incrementó hasta aprox. Un 60% (Figura 25). Por su parte el morfotipo M no se observó en la costa, y tuvo una contribución en la zona intermedia y oceánica del 20%. En primavera del 2014 (CRIO1412) disminuye considerablemente el morfotipo OC, aunque mantiene su gradiente decreciente entre la costa y la parte oceánica. Por su parte el morfotipo M domina en la zona costera e intermedia y en la parte oceánica el L alcanza más de un 90%. Por último en otoño del 2015 (CRIO1504) el morfotipo dominante fue OC en toda la transecta alcanzando un porcentaje mayor al 65%. La presencia del

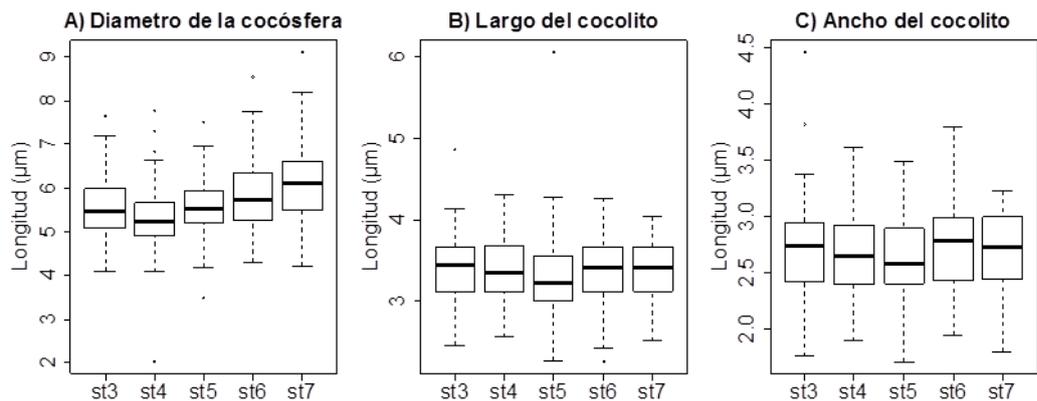
morfotipo L se ve significativamente disminuida en relación a los otros períodos, desapareciendo en la estación intermedia.



**Figura 25.** Cambios espacio-temporales en las abundancias relativas de los morfotipos ligeramente calcificado (L), medianamente calcificado (M) y sobrecalcificado (OC), durante otoño-primavera (CRIO1404-CRIO1412) del 2014 y otoño del 2015 (CRIO1504).

### 4.3.2 Biometría de *Emiliana huxleyi*

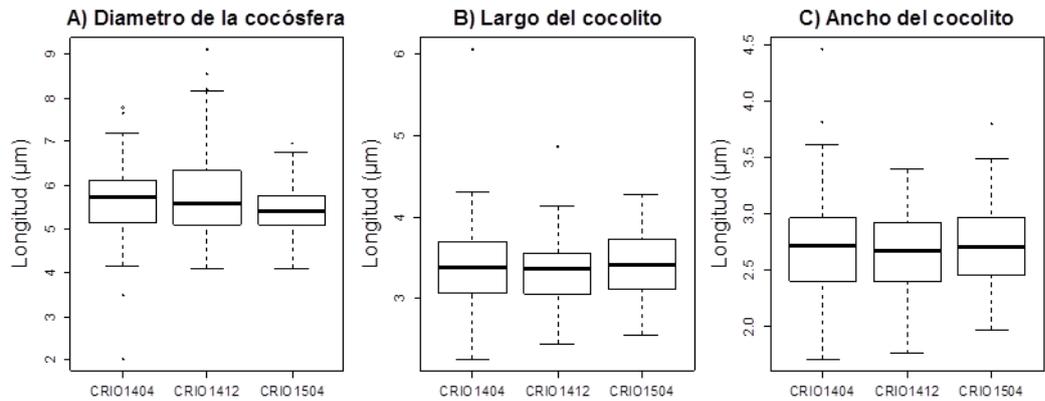
El rango del promedio del diámetro de la cocósfera (D) fue de 5.11 y 6.04  $\mu\text{m}$ , el largo del cocolito (DL) varió entre 3.1 y 3.65  $\mu\text{m}$ , mientras que el ancho del cocolito (DW) estuvo entre 2.42 y 2.95  $\mu\text{m}$  (Figura 26). El diámetro de la cocósfera de *E. huxleyi* mostró a escala espacial diferencias significativas ( $H=37.66$  (4 g.l.),  $p=0.00$ ), entre las estaciones 6 y 7 con respecto a las demás estaciones, siendo mayor en estas estaciones. El largo ( $H=4.32$  (4 g.l.),  $p=0.364$ ) y ancho ( $H=4.99$  (4 g.l.),  $p=0.288$ ) del cocolito fue estadísticamente similar en todas las estaciones respectivamente.



**Figura 26.** Diagrama de cajas de los principales parámetros morfométricos medidos a nivel espacial desde la estación 3 a la estación 7.

La variación temporal mostró un patrón similar con diferencias significativas en el diámetro de la cocósfera ( $H=7.16$  (2 g.l.),  $p=0.023$ ). Estas diferencias significativas se dieron entre la primavera del 2014 (CRIO1412) y otoño del 2015 (CRIO1504), mientras que otoño y primavera del 2014 no presentaron diferencias significativas. El largo

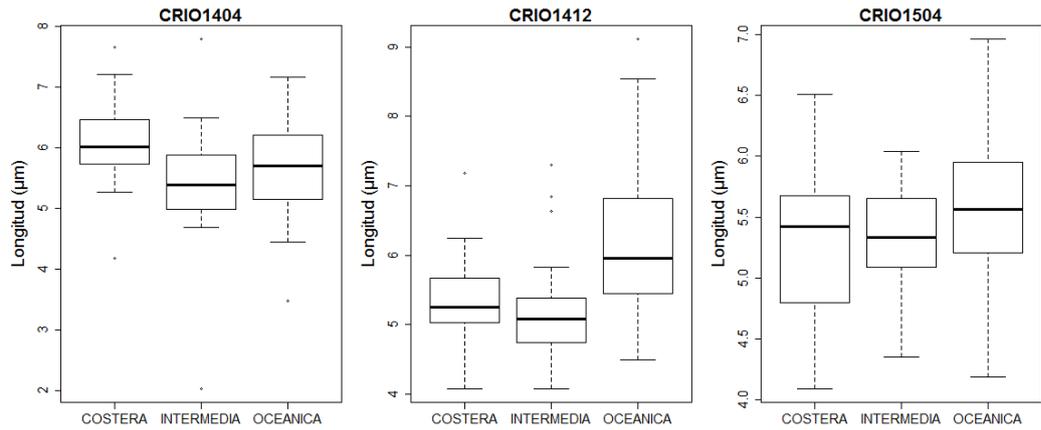
( $H=4.42$  (2 g.l.),  $p=0.109$ ) y ancho ( $H=1.67$  (2 g.l.),  $p=0.434$ ) del cocolito no mostraron diferencias significativas entre los periodos estudiados (Figura 27).



**Figura 27.** Diagrama de cajas de los principales parámetros morfológicos medidos a nivel temporal en cada periodo.

Además, se realizó un análisis de la variación espacio-temporal del diámetro de la cocósfera, debido a que este parámetro fue el que tuvo variaciones significativas a escala espacial y temporal (Figura 28). En el año 2014 se presentaron diferencias significativas el diámetro entre la zona costera, intermedia y oceánica a diferencia del año 2015. Mientras en otoño 2014 (CRI01404) las diferencias significativas ( $H=8.76$  (2 g.l.),  $p=0.013$ ) se presentaron entre la zona costera comparada con las otras dos zonas, presentando un mayor diámetro de la cocósfera en la costa. En la primavera del 2014 se observó un incremento significativo ( $H=31.98$  (2 g.l.),  $p=0.000$ ) del diámetro en la parte oceánica con respecto a otras zonas. Durante el otoño del 2015 no se observaron diferencias

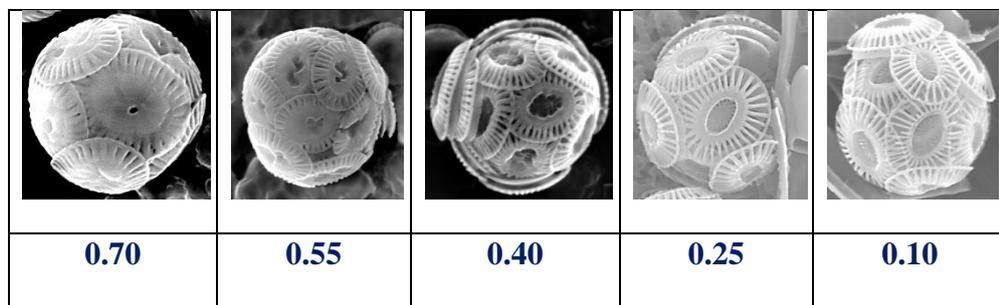
significativas ( $H=4.66$  (2 g.l.),  $p=0.097$ ) del diámetro de la cocósfera entre las zonas analizadas. La amplitud observada fue menor durante el 2014 comparado con el 2015.



**Figura 28.** Diagrama de cajas del diámetro de la cocósfera en la zona costera, intermedia y oceánica para los tres periodos de estudio (CRIO1404, CRIO1412 y CRIO1504).

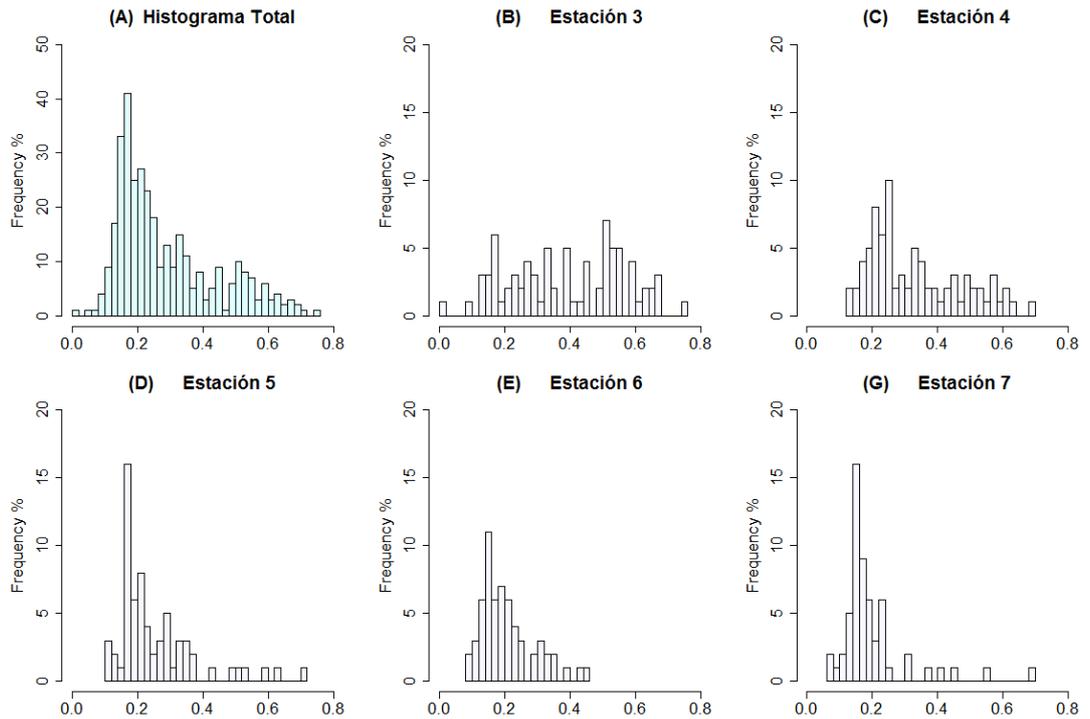
### 4.3.3 Índice de grado de calcificación a través del RTW

Se establece un índice del grado de calcificación a partir del “relative tube width” (RTW) de *E. Huxleyi*. En la figura 29 a partir de las cocósfemas analizadas se observa la escala de variación del RTW para el área de estudio que va desde un valor de 0.1 a 0.7; siendo este último el de mayor grado de calcificación.



*Figura 29. Índice de grado de calcificación. Variación del RTW a partir de las cocósfemas de E. Huxleyi analizadas durante el estudio frente a Callao.*

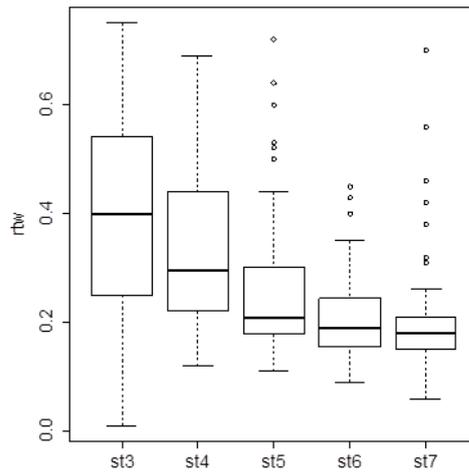
En la figura 30 se observa los histogramas de frecuencias del RTW para todo el muestreo a nivel espacial. Se observó que el histograma del RTW a nivel total (Figura 30 - A) tiene una distribución bimodal. Así también se observó que el rango de distribución del RTW es mayor en la estación costera (Figura 30 - B) y se hace más homogéneo con respecto se va alejando hacia las estaciones más oceánicas centrándose en valores cercanos a 0.2.



**Figura 30.** Histogramas de frecuencias de la variación del RTW a nivel total y en las diferentes estaciones.

El análisis de la variación del RTW en la transecta (estaciones) frente a Callao muestra un gradiente de disminución desde la estación costera (st 3), con un valor promedio de 0.4, hacia la estación más oceánica (st 7), donde alcanza su menor valor de calcificación de 0.2 (Figura 31). A través de una prueba de kruskal-wallis ( $H=87.24$  (4 g.l.),  $p=0.000$ ) se demostró diferencias significativas del RTW entre las estaciones y un test de comparaciones múltiples determinó que la estación 3 se diferencia significativamente de las estaciones 5, 6 y 7, por lo que la prueba rechaza la hipótesis nula de que los datos provienen de la misma distribución. Lo mismo se dio entre la estación 4

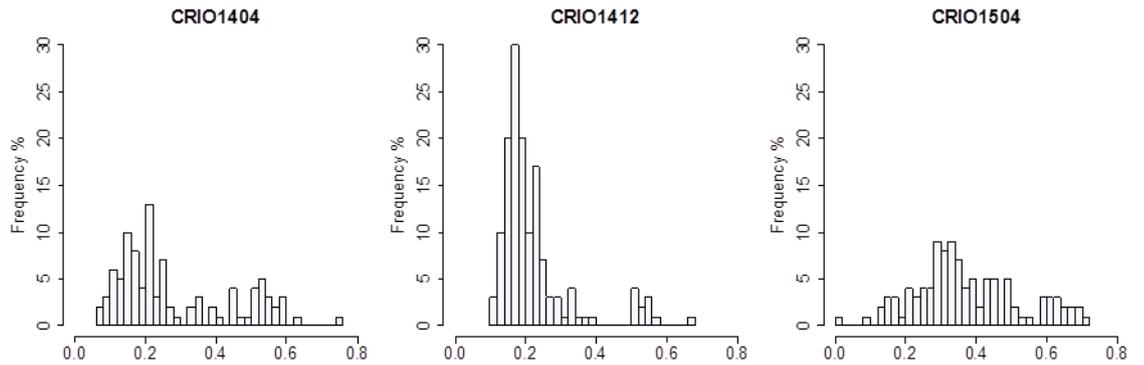
y las estaciones 5, 6 y 7. Sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre la estación 3 y la estación 4.



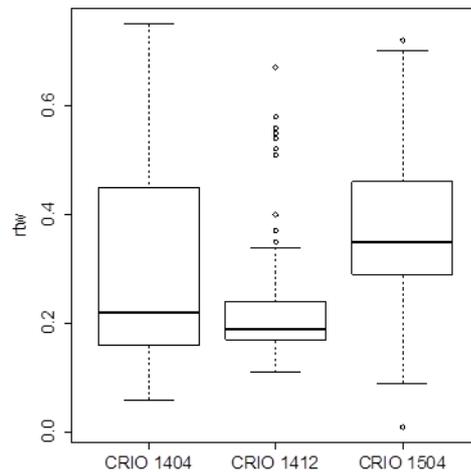
**Figura 31.** Diagrama de cajas de la variación del índice RTW de la estación 3 (st3) a la estación 7 (st7), en la transecta frente al Callao.

A nivel temporal, el análisis del RTW entre los periodos de estudio presentó diferencias significativas entre los tres periodos ( $H=68.12$  (2 g.l.),  $p=0.000$ ). Si bien se presentan individuos en todo el rango del RTW durante los tres periodos, la media en otoño y primavera del 2014 se encontró alrededor de un índice de 0.2, mientras que en otoño del 2015 se incrementó hasta un índice de 0.3. Por su parte el análisis de distribución de los datos muestra que durante el otoño de ambos años el rango de distribución es mucho mayor que durante la primavera del 2014 (CRIO1412) cuando se observa que el 50% de los datos se

agrupa alrededor de 0.2 reflejando un índice de calcificación homogéneo en la población de cocolitofóridos.

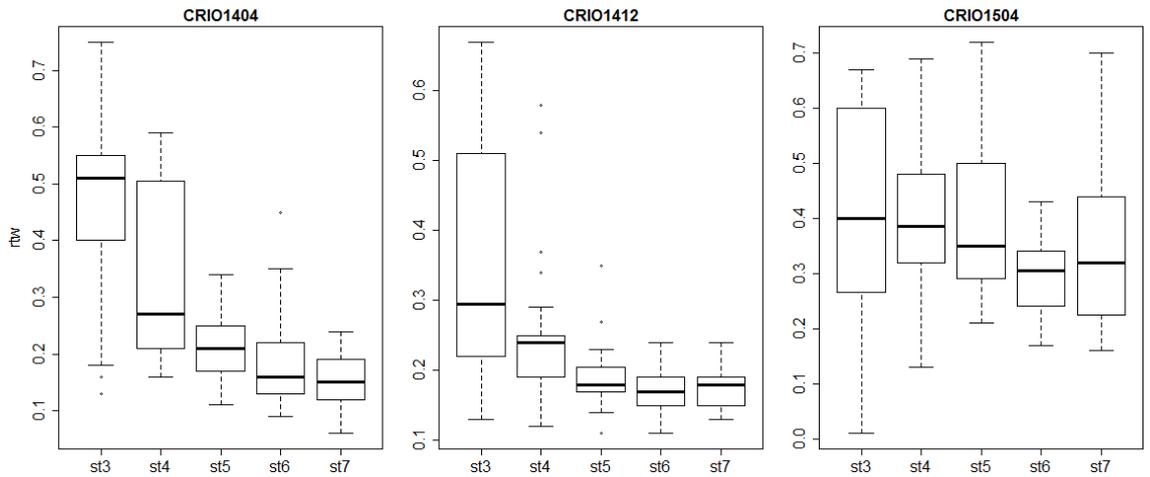


**Figura 32.** Histogramas de frecuencias del RTW a nivel espacial (total y estaciones).



**Figura 33.** Diagrama de cajas de la variación del índice RTW a nivel temporal (CRIO1404, CRIO1412 y CRIO1504).

Además, se realizó un análisis de la variación espacio-temporal para observar los cambios entre la costa y el océano en los diferentes períodos de estudio (Figura 34). Este análisis muestra que el grado de calcificación entre la costa y el océano presenta un gradiente para el año 2014 tanto durante otoño como primavera. La estación más costera presenta el mayor grado de calcificación alcanzando en otoño 2014 el mayor valor promedio (0.5) de todo el estudio, mientras en diciembre disminuyó a 0.3 disminuyendo hacia la parte oceánica donde en ambos períodos alcanza un valor promedio menor a 0.2. Un test de comparaciones múltiples determinó que en el año 2014, en ambos períodos, las estaciones costeras, 3 y 4, presentan diferencias significativas con respecto a las estaciones 5, 6, 7. Estos resultados sugieren que los datos entre la estación 3 y la estación 4 provienen de una misma distribución, y las estaciones 5, 6 y 7 provienen de una distribución diferente. Por su parte, en otoño de 2015 no se observan diferencias significativas entre las estaciones, manteniéndose en todas un índice de calcificación de valores promedio entre 0.3 y 0.4 no presentando el gradiente observado anteriormente. Esto resultaría de mayores valores de RTW, indicando un valor mayor calcificación en las estaciones oceánicas comparado con el año 2014.



**Figura 34.** Diagrama de cajas del índice RTW a nivel espacio-temporal de las estaciones (st3 a st7) en los tres periodos de estudio (CRI01404, CRI01412 y CRI01504).

A fin de caracterizar la relación entre el ambiente y el índice de grado de calcificación, se realizó una correlación de Spearman (Tabla 5). El análisis mostró una alta correlación positiva del índice de grado de calcificación (RTW) con la clorofila ( $\rho=0.868$ ,  $p=0.00$ ); mientras que una alta correlación negativa se observó con la temperatura ( $\rho= - 0.593$ ,  $p=0.00$ ) y salinidad ( $\rho= - 0.582$ ,  $p=0.00$ ).

*Tabla 5. Coeficientes de correlación. Una matriz de coeficientes de correlación de spearman entre el RTW y los parámetros ambientales*

	TEMPERATURA	SALINIDAD	oxi_CTD	OXIGENO	pH	CLOROFILA	FOSFATOS	SILICATOS	NITRATOS	NITRITOS	N/P	RTW
TEM	1.000	0.475	0.400	0.761	0.796	0.366	-0.672	-0.825	-0.372	-0.099	0.037	-0.593*
SALINIDAD		1.000	-0.466	0.185	0.408	0.535	-0.275	-0.345	-0.118	-0.152	0.198	-0.582*
oxi_CTD			1.000	0.581	0.264	-0.340	-0.394	-0.466	-0.176	0.085	0.117	-0.318
OXIGENO				1.000	0.736	0.262	-0.642	-0.854	-0.298	-0.127	0.144	-0.118
pH					1.000	0.299	-0.665	-0.809	-0.312	-0.257	0.076	-0.130
CLOROFILA						1.000	-0.201	-0.260	-0.523	0.109	-0.347	0.868*
FOSFATOS							1.000	0.721	0.344	0.131	-0.329	-0.255
SILICATOS								1.000	0.246	0.176	-0.197	-0.446
NITRATOS									1.000	-0.310	0.654	-0.319
NITRITOS										1.000	-0.244	-0.007
N/P											1.000	-0.007
RTW												1.000

\* La correlación es significativa al nivel 0,05.

#### 4.4 Análisis de correspondencia canónica (CCA)

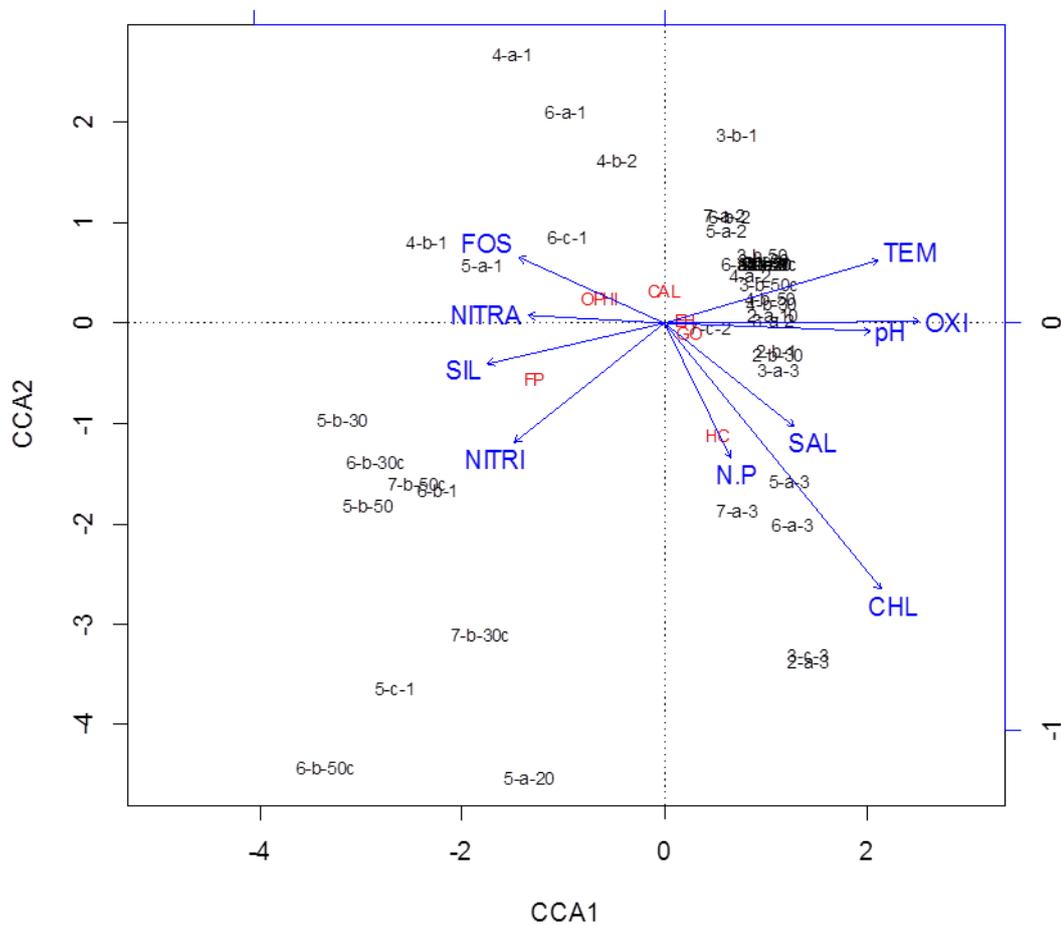
A partir de los resultados hallados del cálculo de abundancias, se ha trabajado un análisis de correspondencia canónica (CCA) para determinar las relaciones y comportamiento entre las variables ambientales y las variables bióticas (las abundancias de especies de cocolitofóridos encontrados). A continuación se detallan las variables que fueron seleccionadas para este análisis: Variables ambientales: temperatura (TEM), salinidad (SAL), oxígeno disuelto (OXI), pH (pH), fosfatos (FOS), silicatos (SIL), nitratos (NITRA), nitritos (NITRI), clorofila (CHL), la razón N/P (N.P). Variables bióticas (abundancia, cel/L): *Emiliania huxleyi* (EH), *Ophiaster hydroideus* (OPHI), *Florisphaera profunda* (FP), *Gephyrocapsa oceánica* (GO), *Calcidiscus leptoporus* (CAL) y *Helicosphaera carteri* (HC).

Los autovalores de los ejes 1 explican el 51% de la varianza mientras que el eje 2 explica el 22% de la varianza en los datos de las especies. La prueba de permutación asociada mostró que el eje 1 del CCA y todos los ejes canónicos explican una cantidad significativa de variación en los datos de las especies ( $p < 0,05$ ).

Los diagramas de ordenación que se muestran en los resultados del CCA se presentan en la Figura 35. Las posiciones de las estaciones sobre el triplot reflejan su composición de especies y la asociación con los factores ambientales (representado por las flechas). Del mismo modo se muestra la distribución de las especies con respecto a las diferentes variables ambientales.

La distancia entre los símbolos en el diagrama refleja la disimilitud en la distribución de la abundancia relativa de las especies a través de las muestras.

Basado sobre la intersección de las correlaciones las variables oxígeno, temperatura y pH están más fuertemente correlacionados con el eje 1, mientras que la clorofila y la razón N/P con el eje 2.

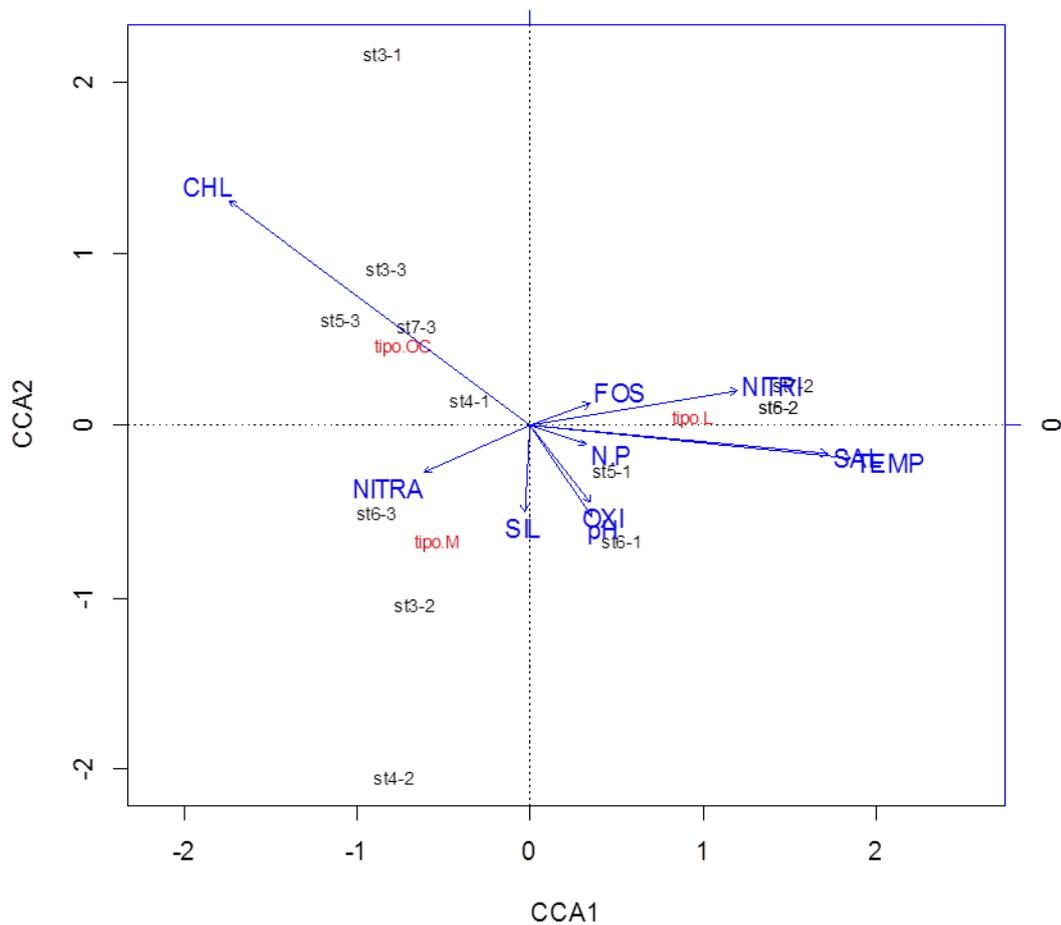


**Figura 35.** Análisis de correspondencia canónica (CCA) de las principales especies de cocolitofóridos con las variables ambientales. Variables ambientales: TEM = temperatura, SAL = salinidad, OXI = oxígeno disuelto, pH, FOS = fosfatos, SIL = silicatos, NITRA = nitratos, NITRI = nitritos, CHL = clorofila, N.P = N/P. Variables bióticas: EH = *E. huxleyi*, OPHI = *Ophiaster* sp., FP = *F. profunda*, GO = *G. oceánica*, CAL = *C. leptoporus* y HC = *H. carteri*.

Además, se realizó otro CCA (Figura 36) para determinar las relaciones y comportamiento entre las variables ambientales antes mencionadas y los morfotipos de *E. huxleyi* encontrados: ligeramente calcificado (L), medianamente calcificado (M) y sobrecalcificado (OC). Este CCA nos muestra que el primer eje explica el 76% de la varianza y el segundo eje explica el 23% de la varianza. La prueba de permutación asociada mostró que el eje 1 del CCA y todos los ejes canónicos explican una cantidad significativa de variación en los datos de las especies ( $p < 0,05$ ).

Los diagramas de ordenación que se muestran en los resultados del CCA se presentan en la Figura 36. Las posiciones de las estaciones sobre el triplot reflejan su composición de morfotipos y la asociación con los factores ambientales (representado por las flechas). Del mismo modo se muestra la distribución de los morfotipos con respecto a las diferentes variables ambientales.

Basado sobre la intersección de las correlaciones las variables clorofila, temperatura, salinidad, fosfatos, nitritos, nitratos y la razón N/P están más fuertemente correlacionados con el eje 1, mientras que el pH, oxígeno y silicatos con el eje 2.



**Figura 36.** Análisis de correspondencia canónica (CCA) de los morfotipos de *E. huxleyi* con las variables ambientales. Variables ambientales: TEM = temperatura, SAL = salinidad, OXI = oxígeno disuelto, pH, FOS = fosfatos, SIL = silicatos, NITRA = nitratos, NITRI = nitritos, CHL = clorofila, N.P = N/P. morfotipos de *E. huxleyi*: ligeramente calcificado (tipo.L), medianamente calcificado (tipo.M) y sobrecalcificado (tipo.OC).

## V. DISCUSION

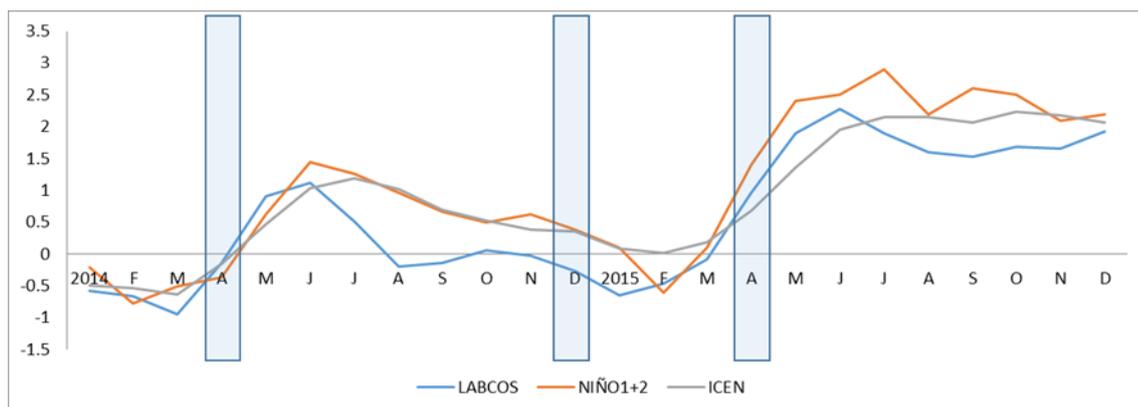
### 5.1 Ecología de cocolitofóridos en el Sistema de Afloramiento Costero frente al Perú Central durante las condiciones cálidas de 2014 y 2015.

Los sistemas de afloramiento costero se caracterizan por su alta producción nueva y su baja producción regenerada, donde las diatomeas más grandes se ven favorecidas y dominan la comunidad fitoplanctónica. Este predominio por parte de las diatomeas se debe a su rápida respuesta a la alta disponibilidad de nutrientes generando importantes floraciones y sustentando la alta productividad de estas regiones (Fawcett y Ward, 2011). El sistema de afloramiento costero frente a Perú además de su importante productividad presenta otras características, como la presencia de una intensa y somera Zona de Mínimo Oxígeno (<0.5 mL/L oxígeno) y asociado con ella un intenso reciclaje de nutrientes, una intensa pérdida de nitratos, un alto contenido de CO<sub>2</sub> y otros gases de efecto invernadero y una condición de muy bajo pH (Graco *et al.*, 2007, Chávez *et al.*, 2008, Ledesma *et al.* 2011, León *et al.*, 2011). Por su parte se ha descrito en el sistema de afloramiento costero frente a Perú que las condiciones de nutrientes cambian entre la costa, la plataforma interna y la zona del talud, existiendo un gradiente asociado al activo afloramiento en la parte costera que determina el cambio en la estructura física y química que se observa en la columna de agua (Graco *et al.*, 2007; Messié *et al.*, 2009; Chávez *et al.*, 2009; Franz *et al.*, 2012). Estos cambios en las concentraciones de nutrientes determinan diferentes razones N/P que a su vez está asociado por la intensa pérdida de nitratos que determina un comportamiento no-redfieldiano en el área (Franz *et al.*, 2012) y cambios en

las comunidades fitoplanctónicas debido a sus requerimientos metabólicos (Arrigo, 2005). Mientras que el microfitoplancton (diatomeas y dinoflagelados) domina en la zona costera, donde hay un mayor impacto del afloramiento costero y disponibilidad de nutrientes, el nanoplancton y picoplancton incrementan su contribución en aguas oceánicas (Franz *et al.*, 2012).

Por su parte las características descritas están inmersas en una alta variabilidad temporal a diferentes escalas, siendo la interanual, como El Niño una de las más importantes frente a Perú (Chávez *et al.*, 2009) modificando la física, química y la biología en el sistema. Una de las condiciones durante el Niño es una mayor oxigenación en la columna de agua, la profundización de la ZMO y el acercamiento de aguas más cálidas y salinas a la costa con lo cual cambia la productividad del sistema (Chávez *et al.*, 2008).

Durante el 2014 y 2015 frente a Perú, las condiciones no fueron las típicas del afloramiento costero, ya que estuvieron bajo la influencia de las condiciones El Niño (Figura 37). En efecto el año 2014 se identificó como un Niño costero de magnitud moderada (ENFEN, 2013-2014) mientras el 2015 fue de magnitud fuerte (ENFEN, Junio 2015) respectivamente. Estas condiciones se observaron frente a Callao y respondieron a cambios en el acoplamiento océano-atmósfera, cambios en el régimen de vientos, el arribo continuo de ondas de Kelvin frente a la costa peruana, la profundización de la termoclina, y el acercamiento de las Aguas Subtropicales Superficiales (ASS) a la costa.



**Figura 37.** Serie de la ATSM Índice LABCOS ( Quispe y Vásquez, 2015), Región 1+2, ICEN (Takahashi, 2013) durante el año 2014 y 2015. Las barras celestes marcan los periodos estudiados.

Este conjunto de factores puede haber influido en las propiedades del afloramiento costero en el área central de Perú (Callao 12°S) determinando cambios en la distribución de masas de agua observándose el ingreso de las ASS hacia la costa durante el otoño del 2014, que en la primavera del mismo se proyectó con mayor intensidad alcanzando las 20 mn mostrando un efecto más costero del afloramiento de las ACF. Por su parte en abril del 2015 las ASS, salinidades mayores a 35.2, se observaron en la parte oceánica (> 40 mn) mientras salinidades menores a 35.1 se distribuyeron en las primeras 20 mn indicando cierta reactivación del afloramiento costero y mayor influencia de las condiciones de las ACF, tal como lo referencian nuestros resultados. Los valores de pH y oxígeno disuelto, en particular la distribución de la ZMO (< 0,5 mL/L) y los nutrientes reflejaron los cambios en la distribución de masas de agua. En otoño de 2014, el pH en las primeras estaciones (10 mn) presentó valores bajos característicos del afloramiento costero (7.7 o menores, León *et al.*, 2011) y condiciones de bajo oxígeno (< 3 mL/L) mientras hacia la parte

oceánica se incrementaron alcanzando valores de pH mayores a 8.0 y la profundización de la ZMO entre 40 y 60 m.

En la primavera del 2014, el ingreso de las ASS se reflejó también en condiciones más alcalinas, con valores de pH mayores a 8.1 desde las 20 mn y valores de 8.0 desde la costa en la capa superficial. Condiciones de bajo pH (< 7.9) se observaron desde los 10 m en la costa, indicando la distribución de las ACC y se profundizó a 100 m en la parte oceánica. El oxígeno superficial alcanzó valores mayores a 4.0 mL/L en toda la transecta y la ZMO se profundizó hasta los 60 y 80 m por fuera de las 30 mn. Finalmente en otoño de 2015 se observaron altos pH por fuera de las 30 mn coincidiendo con un núcleo de altos valores de oxígeno disuelto (> 6.0 mL/L), generando un gradiente hacia la costa donde alcanzó valores menores a 7.9 pH y 3 mL/L de oxígeno que indican el efecto del afloramiento costero de las ACF en la costa y la mezcla en estaciones intermedias. Finalmente los nutrientes, silicatos, durante el estudio presentaron concentraciones superficiales menores a 5.0  $\mu\text{M}$  en toda la línea Callao, con excepción de las primeras estaciones bajo la influencia del afloramiento costero. Por su parte los nitratos que responden no solo a la actividad biológica sino también a la intensidad y posición de la ZMO, y presentó valores mayores a 10 $\mu\text{M}$  en toda la línea Callao, indicando durante el 2014 y otoño 2015 una mayor disponibilidad o/y menor consumo de este nutriente que podría asociarse con la profundización de la ZMO y menor reciclaje en condiciones de bajo oxígeno. Esta mayor disponibilidad de nitratos favoreció mayores valores de N/P, comparado con los esperados en

condiciones de intenso afloramiento costero e intensa ZMO que llegan a valores menores a 5 (Franz *et al.*, 2012; Graco *et al.*, 2007).

Por su parte en relación a la productividad, las concentraciones de clorofila-a superficial ( $\mu\text{g/L}$ ) a lo largo de la línea Callao fueron en promedio bajas, con valores menores a  $4,0\mu\text{g/L}$  (hasta  $1\mu\text{g/L}$ ) durante el período de estudio. Estos valores son significativamente menores a los esperados en esta área ( $> 10\mu\text{g/L}$ ) caracterizada por su alta productividad (Graco *et al.*, 2007; Messi y Chavez, 2009).

En estas condiciones se desarrolló una comunidad fitoplanctónica dominada por el nanofitoplancton tanto en la costa como en la parte oceánica seguido por las diatomeas que representaron menos del 20%, desapareciendo incluso en la estación intermedia durante el 2014. Solo las diatomeas fueron dominantes en la estación oceánica en abril 2015, Esto plantea una condición diferente al modelo clásico, en el cual el afloramiento costero se caracteriza por el predominio de grandes diatomeas en la zona costera y el nanoplancton en la parte oceánica (Franz *et al.*, 2012).

En relación una la comunidad de cocolitofóridos, este estudio presenta los primeros datos para Perú en cuanto a sus abundancias, distribución y calcificación. Frente a Perú, los cocolitofóridos no han sido reportados en forma precisa en los muestreos de fitoplancton ya que necesitan metodologías adecuadas y a su vez el factor de preservación puede llegar a sesgar su presencia y determinar un record pobre.

En este estudio la máxima densidad se registró en la primavera del 2014 con valores de  $548 \times 10^3$  cel/L. Estas abundancias fueron 5 y 2 veces más que las presentadas en otoño 2014 y 2015, que alcanzó valores de  $100 \times 10^3$  cel/L y de  $387 \times 10^3$  cel/L respectivamente. Las abundancias que se presentaron en la primavera del 2014 fueron comparables con otras zonas de afloramiento costero, como Benguela con  $466 \times 10^3$  cel/L a finales de verano (Giraudeau *et al.*, 1993; Giraudeau y Baley, 1995), en el sistema de California con  $620 \times 10^3$  cel/L durante primavera-verano (Winter, 1985) y en el afloramiento costero de Portugal con valores de  $695 \times 10^3$  cel/L en otoño y  $476 \times 10^3$  cel/L en primavera (Silva *et al.*, 2008). Por su parte en presencia de floraciones de diatomeas cercanos a la costa, los cocolitofóridos alcanzaron unas abundancias entre  $0-1 \times 10^6$  cel/L mar a fuera en Benguela (Henderiks *et al.*, 2012). Por otra parte, las densidades observadas en estos sistemas de afloramiento costero son mayores a las registradas en el mar Mediterráneo que alcanzan en primavera  $23 \times 10^3$  cel/L y disminuyen en otoño a  $2 \times 10^3$  cel/L (Triantaphyllou *et al.*, 2010).

Con respecto a la distribución de cocolitofóridos, en las estaciones costeras, 1-2, estuvieron prácticamente ausentes lo que coincidió con las estaciones de afloramiento costero activo, condiciones de mayor mezcla, bajo pH, y bajo N/P lo cual no favorecería a este grupo fitoplanctónico. Por su parte, la abundancia de cocolitofóridos se incrementó hacia las estaciones intermedias y oceánicas donde el pH alcanzó valores más alcalinos, la columna de agua presentó una mayor estratificación y aguas más cálidas y se incrementaron los valores de N/P.

Algunos estudios muestran que dentro de la sucesión fitoplanctónica existe una ventana temporal, verano, otoño-tardío y primavera, que favorece las floraciones del grupo fitoplanctónico del orden Isochrysidales a la cual pertenecen los cocolitofóridos. Estas aguas que se denominan aguas afloradas maduras, que se caracterizan por una menor turbulencia pero disponibilidad de nutrientes (Winter, 1985; Giraudeau, 1992; Ziveri *et al.*, 1995). Otros autores indican que las preferencias de este grupo se dan por aguas oligotróficas, en condiciones estratificadas y cálidas, observándose esto en aguas de latitudes bajas y medias (Honjo y Okada, 1974; Cortés *et al.*, 2001).

La variabilidad en las abundancias y distribución de cocolitofóridos se han asociado clásicamente a la temperatura y la salinidad (Baumann *et al.*, 2005) y como ha indicado Silva (2008) el afloramiento, nutrientes y luz también son factores que controlan la dinámica de las principales especies de cocolitofóridos. Los cambios en la abundancia de cocolitofóridos en relación a las variables ambientales en este estudio muestran una fuerte correlación positiva con la temperatura ( $\rho=0.654$ ) y salinidad ( $\rho=0.595$ ), pero además con el oxígeno disuelto ( $\rho=0.691$ ) y el pH ( $\rho=0.643$ ); y en forma negativa con los fosfatos ( $\rho= -0.517$ ) y silicatos ( $\rho= -0.650$ ). Esto nos indica por un lado la asociación existente con la distribución de las masas de agua, la cual se traza por la temperatura y salinidad y a su vez el oxígeno disuelto cuya ZMO indica el predominio de las ACF. También se asocia con la condición de pH, lo cual es un aspecto clave para un organismo calcificante y con la disponibilidad de nutrientes. En este punto, es importante considerar que las diferencias en los requerimientos y asimilación no-redfieldiano de nutrientes

podría explicar los cambios ecológicos observados en el fitoplancton y en la comunidad de cocolitofóridos, tanto a nivel de especies como de abundancias (Arrigo, 2005).

Las condiciones que se observan en la transecta frente a Callao, temperatura, salinidad, nutrientes, pH determina un hábitat para diferentes grupos de fitoplancton, alternando la dominancia y a su vez diferentes ensamblajes y morfotipos de cocolitofóridos.

## **5.2 Estructura y preferencias ecológicas del ensamble de cocolitofóridos en el Sistema de afloramiento costero frente a Perú**

Tanto el gradiente horizontal como vertical de las condiciones físicas y químicas tienen un impacto crucial en la composición taxonómica de la comunidad de fitoplancton mediante la selección de diferentes tipos de estrategias de crecimiento.

En el sistema de afloramiento costero frente a Callao (12° S) se encontraron 21 especies de cocolitofóridos, composición similar a la que describe Saavedra-Pellitero *et al.*, (2007) para la asociación tropical sur dentro de la franja 10°S a 20°S en el Pacífico suroriental.

Frente a Callao la especie dominante fue *E. huxleyi* seguida de *Ophiaster* spp y *F. profunda*, mientras que Saavedra-Pellitero *et al.*, (2007) encontró dominantes a *F. profunda*, seguida por *G. oceánica*, *C. leptoporus*, *E. huxleyi* y *Gephyrocapsa muelleriae*. Además, frente al Callao aparecen especies como *Michaelsarsia adriaticus*, *Acanthoica* sp., *Calciosolenia* sp., y *Syracosphaera* spp en la zona oceánica. Esta composición varía en los periodos de estudio y estaría respondiendo a las preferencias ecológicas de cada especie.

Estudios en el Pacífico (Okada y Honjo, 1973; Honjo y Okada, 1974; Honjo, 1977) han reconocido cuatro grupos con estrategias de crecimiento particulares. Las especies de estrategia r como *E. huxleyi* que se ha reconocido por dominar en ensambles de ambientes turbulentos, ricos en nutrientes como los afloramientos, áreas costeras y plataformas siendo incluso formadores de las floraciones y en este estudio aparece como la especie dominante en los

diferentes períodos y estaciones. Las formas umbeliformes, *Umbilicosphaera irregularis*, *U. tenuis*, estrategias K y se asocian a zonas oligotróficas baja turbulencia, que no se encontraron en el área de estudio durante el período analizado. Luego están las Floriformes como *F. profunda* que se asocia a zonas profundas 150-200, se establecen en ambientes con baja luz, estratificados con alto nutrientes y aparecen frente a Perú pero con una distribución más somera. Y luego un grupo misceláneo con especies que raramente dominan con tendencia a estrategias K débiles.

Durante los periodos de estudio, otoño - primavera 2014 y otoño 2015, la estructura del ensamble de cocolitofóridos cambió espacial y temporalmente respondiendo a las condiciones oceanográficas que se presentaron en cada periodo. Estas condiciones se ven reflejadas en las asociaciones de los cocolitofóridos que se encontraron comúnmente hasta los 80-100 m de profundidad, formándose una estructura de la comunidad diferente por encima y por debajo de los 20 m de profundidad. Esta asociación de cocolitofóridos incrementa su biodiversidad en estaciones más oceánicas.

### ***Emiliana huxleyi***

En el caso particular de *E. huxleyi*, reportó abundancia promedio de  $37 \times 10^3$  cel/L y dominó los ensambles de cocolitofóridos en los tres periodos de estudio. Presentó una distribución vertical que se dio entre los primeros 20 a 30 m de profundidad, en un rango de temperatura entre 14 a 21 °C y un pH entre 7.6 a 8.2, por encima de la ZMO. La máxima abundancia que alcanzó esta especie fue de  $531 \times 10^3$  cel/L durante la primavera del 2014. Estas

abundancias fueron mayores comparadas con las abundancias reportadas por Silva *et al.*, (2008) para el afloramiento costero de Portugal con  $156 \times 10^3$  cel/L; mientras que en el afloramiento costero de Benguela las máximas abundancias reportadas por Henderiks *et al.*, (2012) fueron el doble ( $1,052 \times 10^3$  cel/L) comparadas con las abundancias encontradas frente a Callao. Estas altas abundancias fueron asociadas al ingreso de ASS hacia la costa y la activación de un afloramiento muy costero, estas condiciones favorecieron el desarrollo y dominio de esta especie desde las 20 mn hacia mar afuera.

Esta especie ocurre en grandes concentraciones cuando los nutrientes son muy bajos y la temperatura son altas, siendo este último un factor que explicaría un 40% de la varianza como se observó en Cortes *et al.*, (2001). Sin embargo, en el ACC realizado en este estudio, mostró una mayor influencia de otras variables ambientales como el oxígeno disuelto y el pH. El análisis de regresión lineal realizado en este estudio mostró que el oxígeno disuelto explicaría más del 45% de la varianza, mientras que el pH explicaría el 34% de la varianza de las abundancias de *E. huxleyi* frente al Callao.

Por otra parte un aspecto interesante asociado con la ecología es el análisis de morfotipos de *E. huxleyi*. Frente a Callao *E. huxleyi*, presentó el morfotipo tipo A, que a su vez expuso 3 morfotipos claramente diferenciables: (1) El morfotipo ligeramente calcificado denominado tipo L, que ocurrió en todas las estaciones pero con dominancia en la zona oceánica, la que se encuentra expuesta al ingreso de ASS y condiciones de mayor pH entre 8 y 8.1. (2) Un morfotipo medianamente calcificado denominado M, que ocurrió en las

estaciones costera e intermedia; y finalmente el morfotipo sobrecalcificado denominado tipo OC (overcalcified) que dominó las estaciones costeras e intermedias cercanas al centro de la surgencia, caracterizado por la presencia de ACF, con un pH bajo entre 7.7 y 7.9 y altos nutrientes.

### ***Florisphaera profunda***

Otra de las especies que se observó en este estudio fue *F. profunda*. La literatura indica que es una especie que domina los ensambles de cocolitofóridos en la zona fótica inferior (>100m), adaptada a condiciones de baja luz y altos de nutrientes (Hagino *et al.*, 2000, Cortes *et al.*, 2001, Haidar y Thierstein, 2001). Frente al Callao si bien se observó a mayor profundidad que las otras especies no sobrepasó los 60 m, desplazándose sobre el Límite Superior de la Zona mínima de oxígeno y en consecuencia mucho más somera que lo reportado en otros ambientes. Su stock máximo se observó a los 30m y se dio en otoño del 2014. Por su parte en relación a su distribución costa océano se observó, a diferencia de *E. huxleyi*, desde las 30 mn hacia la zona oceánica. Los resultados del ACC mostraron una mayor correlación con los nutrientes como el silicato y nitratos respecto a los demás parámetros ambientales para esta especie, y este parámetro tiene un comportamiento claramente diferenciado en profundidad y en la zona costera. Se ha descrito en el caso de Callao un alto déficit de nitratos en la costa, en la zona de activo afloramiento y asociado a la ZMO mientras que aguas afuera se incrementa lo cual se refleja en una mayor razón N/P, cercana a 12.5 (Hamersley *et al.*, 2007). La disponibilidad de nitratos y la razón N/P podría ser un factor de

selectividad para esta especie comparado con *E. huxleyi* tal como se ha indicado de acuerdo al comportamiento no redfileano de Callao y las preferencias de los distintos grupos taxonómicos (Franz *et al.*, 2012).

### ***Ophiaster***

*Ophiaster* spp. es otra de las especies de cocolitofóridos que alcanza cierta abundancia. Esta especie muestra las características de las especies tipo k, siendo consistentemente más abundantes en las aguas oceánicas más o menos eutróficas, con una distribución vertical exterior que se extiende por debajo de la capa superficial rica en nutrientes (Guerreiro *et al.*, 2013). Frente al Callao mantuvo esta distribución vertical, encontrándose a partir de las 30 mn, más profunda que *E. huxleyi* con una distribución entre los 20 y 40 m. Su máxima abundancia al igual que para *F. profunda* se dio en el otoño de 2014, mientras que *E. huxleyi* se incrementó en la primavera 2014 y otoño 2015. El ACC mostró una mayor correlación de esta especie con los fosfatos.

### ***Gephyrocapsa oceanica***

*Gephyrocapsa* spp. al igual que *E. huxleyi*, son buenos proxies de productividad costera y disponibilidad de nutrientes (Giraudeau, 1992; Young, 1994; Ziveri *et al.*, 1995; Bollmann, 1997; Broerse *et al.*, 2000; Hagino *et al.*, 2000). Mientras que la especie *G. muelleriae* se ha reportado como indicador de aguas frías asociadas al inicio del afloramiento costero, *G. oceanica* se ha reconocido como una especie subtropical-tropical que prefiere aguas cálidas y poco turbulentas, que incrementa sus abundancias cuando disminuye la

intensidad del afloramiento costero que se asocia con veranos y periodos de mayor productividad (Ziveri y Thunell, 2000; Álvarez *et al.*, 2005).

Frente a Callao las máximas abundancias de *E. huxleyi* ( $531 \times 10^3$  cel/L) coincidieron con las máximas abundancias de *G. oceanica* que presento  $16 \times 10^3$  cel/L. Estos máximos se dieron en primavera del 2014 en la zona intermedia, este periodo fue caracterizado por el ingreso de ASS con temperaturas de hasta 21°C por fuera de las 20 mn y 20 m de profundidad. De igual manera se observan estas preferencias ecológicas en el afloramiento costero de Portugal que se indica en el trabajo de Silva *et al.*, 2008.

Además se observó la especie *H. carteri*, que al igual que *G. oceánica*, mostró un ligero incremento en sus abundancias con el ingreso de aguas cálidas en diciembre 2014 y otoño 2015. Análisis espectrales en sedimentos de la bahía de santa Bárbara, California, asocian el incremento de estas especies con el flujo de aguas cálidas asociadas a un evento El Niño (Grelaud *et al.*, 2009). Es necesario continuar estos estudios en condiciones de no Niño a fin de poder identificar los cambios en el ensamble ecológico frente a Callao.

### **5.3 Condiciones de calcificación de *Emiliana huxleyi* en el Sistema de afloramiento costero frente a Perú.**

El análisis morfométrico del diámetro de la cocósfera, largo y ancho del cocolito de *E. huxleyi* solo presentó diferencias significativas en el diámetro de la cocósfera. El diámetro de la cocósfera se vio incrementado desde la costa hacia la parte oceánica. Esta tendencia se presentó con mayor significancia en

primavera 2014 cuando se observa un marcado gradiente caracterizado por una afloramiento costero activo aunque muy costero en el cual los coccolitofóridos se caracterizaron por tener cocósferas más pequeñas y la presencia de aguas oceánicas muy cerca de la costa ASS, caracterizadas por mayores salinidades 35.2, temperaturas altas y pH más alcalino ( $> 8.1$ ) donde se desarrollan cocósferas más grandes. Estudios sobre la variabilidad morfológica estacional en el mar Mediterráneo (Triantaphyllou *et al.*, 2010), también revelan un patrón de incremento del diámetro de la cocósfera (incluyendo un adelgazamiento de los elementos del tubo interior), pero a diferencia de lo observado frente a Callao, el patrón se da en periodos de baja temperatura y productividad moderada. Estas diferencias probablemente se deban a una diferencia en el linaje de morfotipos de *E. huxleyi*. Hagino *et al.*, (2011) presenta dos linajes de morfotipos para esta especie, clado I procedentes de las masas de agua cálidas tropicales-templadas y clado II principalmente de las masas de agua más frías sub-árticas que podrían tener diferente respuesta frente a las condiciones ambientales.

Por su parte, el índice del grado de calcificación de *E. huxleyi*, obtenido a través de mediciones morfométricas, mostró una disminución en un gradiente costa-océano. Esto contrasta con la hipótesis planteada en este estudio de que el grado de calcificación sufría un incremento en un gradiente de condiciones ambientales en dirección costa-océano. La presencia de cocósferas con mayor calcificación se dio en la costa y fueron disminuyendo su presencia hacia la zona oceánica. Dentro de este patrón se observó la mayor variabilidad en las estaciones 3 y 4, cercanas al centro de surgencia o afloramiento costero. Por

otra parte, a nivel temporal, el mayor grado de calcificación se observó en otoño del 2015 que se diferenció significativamente de lo observado en el año 2014. En el 2014 tanto en otoño como en primavera se observó el gradiente costa-océano aunque con una menor variabilidad en la primavera. Por su parte en otoño del 2015 no se presentó ningún patrón costa-océano, observándose en estaciones costeras como oceánicas un índice alto de calcificación, mientras que el diámetro de la cocósfera no presentó variación significativa. Esto último podría asociarse a la reactivación del afloramiento costero y una mayor influencia del mismo con aguas de bajo pH que determinaron la presencia de un núcleo cálido más alejado ( $>50$  mn). Mientras en el 2014 se observa una mayor proyección a la costa de las ASS, y un foco de surgencia más costero que determinaría un gradiente más marcado en las condiciones ambientales, reflejándose en la calcificación y los morfotipos presentes que claramente se diferencian en las estaciones costeras de las oceánicas.

Este patrón del incremento hacia la costa del grado de calcificación concuerda con el observado por Beaufort *et al.*, (2008) donde la presencia de cocolitofóridos más calcificados se observaron al acercarse a la zona de afloramiento costero de Perú-Chile, siendo esta variabilidad regional del grado de calcificación fuertemente dependiente de los parámetros ambientales (esencialmente la química del carbonato y la temperatura). Además, este patrón del incremento se encuentra asociado a la dominancia de un determinado morfotipo.

En efecto, en Callao la especie *E. Huxleyi* presentó la dominancia de un morfotipo altamente calcificado OC en presencias de ACF, cercanas al centro de surgencia y expuestas a un bajo pH; mientras que el morfotipo ligeramente calcificado L dominó la zona expuesta al ingreso de ASS. Estas observaciones evidenciarían, más que una variabilidad estacional frente Callao, una variabilidad espacial dependiente de la distribución de masas de aguas predominante. Estudios en el afloramiento costero de Benguela muestran la dominancia de un morfotipo tipo A altamente calcificados en estaciones que se encuentran bajo la influencia de la surgencia, disminuyendo sus abundancias fuera de la costa donde otro morfotipo, menos calcificado, incrementa sus abundancias (Henderiks *et al.*, 2012). Por su parte un estudio en la bahía de Biscay revela una alternancia estacional entre un morfotipo ligeramente calcificado y otro altamente calcificado (Smith *et al.*, 2012), siendo el morfotipo altamente calcificado dominante en invierno, con condiciones de bajo pH y saturación de  $\text{CaCO}_3$ , y en primavera la dominancia fue dada por el morfotipo ligeramente calcificado.

Los resultados de las correlaciones realizadas en este trabajo nos indican que no existe un único factor clave responsable de los cambios observados en el grado de calcificación. Sin embargo, la fuerte correlación negativa con la temperatura ( $\rho = -0.593$ ) y la salinidad ( $\rho = -0.582$ ) nos revelarían esta dependencia con las masas de agua las cuales a su vez están caracterizadas por un determinado grado de estratificación, diferencias en pH, nutrientes disponibles que igualmente se han reconocidos como factores que afectan la calcificación y morfotipos presentes.

Estos resultados nos sugiere que existiría un fuerte control *in situ* de la variabilidad morfológica así como el grado de calcificación sobre los morfotipos de *E. huxleyi* frente al Callao, esto podría ser una respuesta fenotípica o una variación genotípica por parte de la especie *E. huxleyi*. Es decir: (1) existiría una sola población del morfotipo tipo A de *E. huxleyi* frente al Callao que mostrarían una potencial adaptación a las condiciones de bajo pH mediante dos ecomorfotipos uno ligeramente calcificado y otro altamente calcificado, o (2) existirían dos genotipos de *E. huxleyi*, uno ligeramente calcificado que domina en condiciones o periodos cálidos (activación de la surgencia - primavera) y otro con mayor calcificación que domina en condiciones o periodos fríos (relajación de la surgencia - otoño).

Respecto a una potencial adaptación de la especie *E. huxleyi* a una eventual acidificación de los océanos se han trabajado experimentos en laboratorio que muestran tasas de calcificación inferiores en condiciones de aumento de CO<sub>2</sub> (bajo pH) en cultivos adaptados y cultivos no adaptados (Lohbeck *et al.*, 2012), sin embargo en los cultivos adaptados las tasas de calcificación fueron hasta un 50% mayores que en cultivos no adaptados. Esta respuesta, sumada a experimentos, donde la exposición a una alta pCO<sub>2</sub> no indujera cambios moleculares y fisiológicos importantes, sugiere que esta especie puede tener la capacidad de adaptación a una futura acidificación de los océanos (Richier *et al.*, 2011). Otros experimentos, bajo diferentes niveles de CO<sub>2</sub> (500, 750, 1000 µatm), luz y temperatura, revelan también variación en el tamaño del cocolito y el grado de calcificación debido probablemente a una diferenciación

genotípica entre las poblaciones de la plataforma y las de océano abierto (Young *et al.*, 2014).

Un análisis genético de los diferentes morfotipos de *E. huxleyi* encontrados frente al Callao nos podrían indicar si estos morfotipos reflejan alguna variación genética o si son ecomorfotipos resultados de la adaptación a las condiciones ambientales típicas de la zona de surgencia.

#### **5.4 Caracterización de ambientes de distribución, abundancia y calcificación de cocolitofóridos en el sistema de afloramiento costero frente a Perú.**

A partir de todos los resultados obtenidos, de los análisis estadísticos y de la discusión descrita anteriormente, se han planteado 3 ambientes (Figura 38) en los cuales se indican las condiciones ambientales que caracterizan determinada abundancia y la distribución de cocolitofóridos, morfotipos (grado de calcificación de *E. huxleyi*) en el Sistema de Afloramiento costero frente a Perú Central Callao los cuales se presentan a continuación.

##### **Ambiente 1 - Afloramiento costero activo de ACF**

Este ambiente, que se reconoció en las primeras estaciones (st1 y st2) hasta las 10 mn frente a Callao, se caracterizó por la presencia de un activo afloramiento costero de ACF, caracterizadas por una baja temperatura y poca estratificación con una isoterma de 15°C superficial, un pH bajo (menor a 7.8 con valores hasta 7.6), una ZMO (0.5 mL/L) somera y una razón N/P menor a 3 que dominan en la columna de agua y las concentraciones de clorofila son

bajas ( $< 0.5 \text{ ug/L}$ ). En este ambiente encontramos alta productividad por parte del microfitoplancton y del nanofitoplancton mientras que la presencia de cocolitofóridos es escasa.

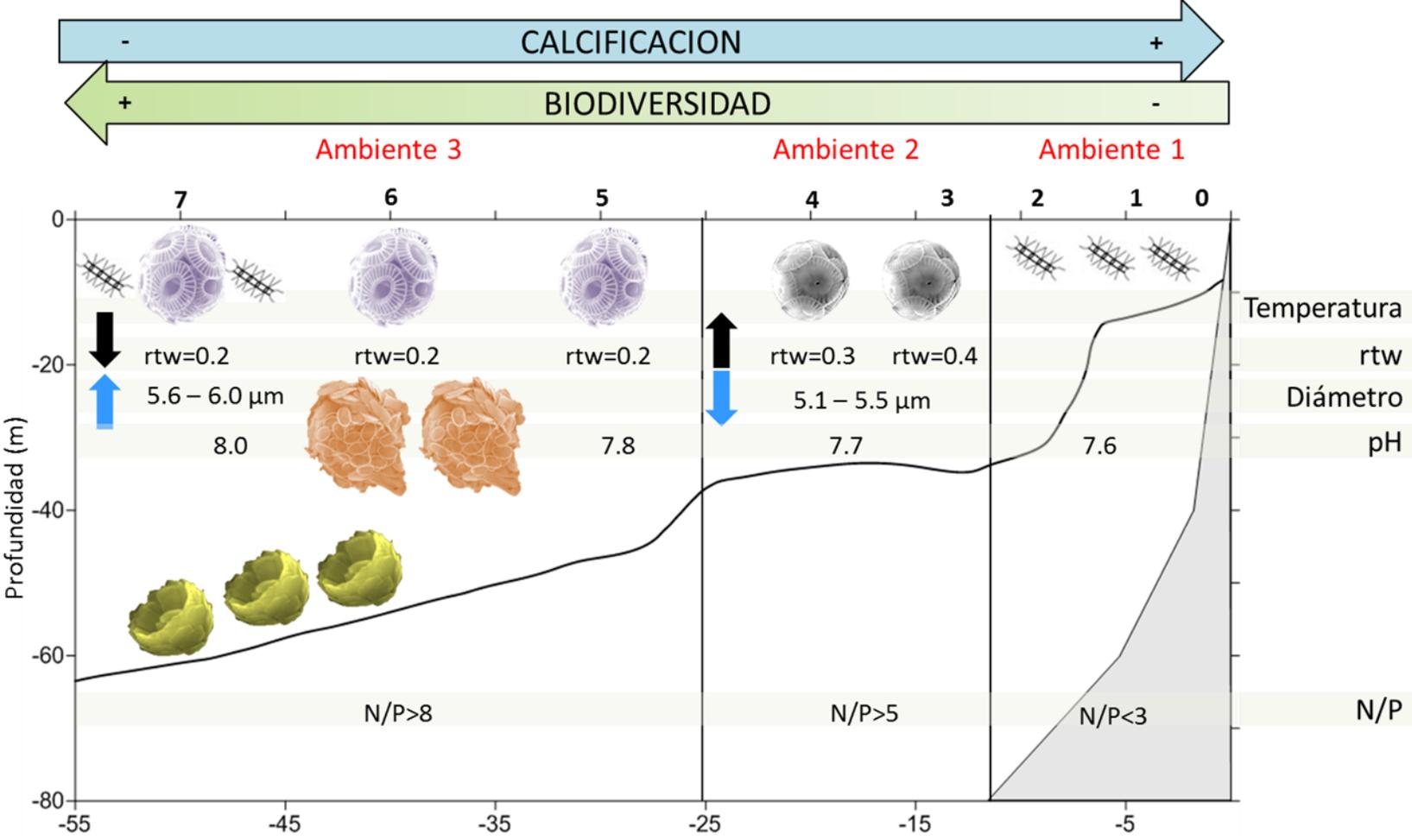
### **Ambiente 2 – Cerca del frente de afloramiento costero activo de ACF**

Este ambiente, que se ubicó entre las 10 y 25 mn (las estaciones 3 y 4), se caracteriza por la influencia del afloramiento costero con presencia de ACF y de mezcla con aguas oceánicas, que se refleja en una mayor estratificación en la columna de agua y la presencia de una isoterma de  $15^{\circ}\text{C}$  a mayor profundidad. Se mantienen valores bajos de pH (alrededor de 7.7), una ZMO ubicada entre los 30 y 40 m de profundidad y una razón N/P mayor a 5 dentro de los primeros 40 metros de profundidad. En estas estaciones se espera cierto incremento en la clorofila-a comparado con las estaciones asociadas directamente al núcleo del afloramiento costero, lo cual aunque con valores bajos ( $< 4 \text{ ug/L}$ ) se observó en este estudio. En este ambiente se observan las más altas abundancias de *E. huxleyi* ( $374\text{-}531 \times 10^3 \text{ cel/L}$ ), con presencia del morfotipo sobrecalcificado OC en forma dominante, aunque igualmente puede observarse el morfotipo moderadamente calcificado M. El índice RTW en este ambiente alcanza valores significativos entre 0.3 y 0.4 en promedio, mientras que el diámetro de especímenes de *E. huxleyi* fueron bajos entre 5.1 y  $5.5 \mu\text{m}$ , indicando formas más calcificadas pero de menor tamaño. En esta estación se observa la presencia de otras especies como *Ophiaster* spp. seguidas de *G. oceanica* y *H. carteri* en menor proporción.

### **Ambiente 3 – Condiciones oceánicas / condiciones cálidas EN**

Este ambiente, que se ubica entre las 25 y 50 mn (estaciones más oceánicas, st5, st6 y st7), presentó la influencia dominante de las ASS, caracterizadas por ser cálidas, de mayor temperatura y salinidad. La columna presenta una mayor estratificación, con una isoterma de 15°C en promedio por debajo de los 50 m. Las condiciones de pH son mayores a 7.9, observándose valores de hasta 8.2. La ZMO se profundiza por debajo de los 40 y 60 metros y se observó una razón N/P mayor a 8 dentro de los primeros 60 metros de profundidad. Las concentraciones de clorofila-a son menores a las observadas en el ambiente 2 y el componente de nanoplancton suele ser dominante en relación al microfitoplancton. En este ambiente se observan altas abundancias de la especie *E. huxleyi* distribuidas dentro de los 20 m pero del morfotipo L, indicando una condición ligeramente calcificado que alcanza un índice RTW bajo de 0.2 en promedio, mientras que el diámetro de los especímenes de *E. huxleyi* presentan diámetros altos entre 5.6 y 6.0  $\mu\text{m}$ . Esto indica que los organismos tienen una menor calcificación pero desarrollan mayores tamaños. Por otra parte entre los 10 y 30 m de profundidad se desarrolla *C. leptosporus*; entre los 20 y 40 metros de profundidad podemos observar el desarrollo de la especie *Ophiaster* spp. Mientras que entre los 40 y 60 metros de profundidad y por encima de la ZMO se observa el desarrollo de la especie *F. profunda*. La diversidad de especies de la comunidad de cocolitofóridos se incrementa en este ambiente y a su vez la dominancia del morfotipo L ligeramente calcificado que coincide con condiciones más favorables y menos corrosivas.

**Figura 38.** Representación esquemática de los escenarios de la distribución de especies y morfotipos de *E. huxleyi* con los factores ambientales que determina esta distribución.



## VI. CONCLUSIONES

Durante el estudio realizado frente a Callao, en otoño y primavera 2014 y otoño 2015 que se dieron bajo la influencia de condiciones El Niño costero moderado y fuerte respectivamente, se concluye:

- La composición del ensamble de cocolitofóridos frente al Callao está conformada por 21 especies, la especie dominante es *Emiliana huxleyi* tipo A, seguida por *Ophiaster hydroideus* y en menor porcentaje *Florisphaera profunda* y *Gephyrocapsa oceánica*, siendo la temperatura, el pH y el oxígeno los principales factores que explican las abundancias así como la distribución vertical de las especies.
- Existe un incremento en la abundancia y biodiversidad de cocolitofóridos en dirección costa-océano frente al Callao asociado al impacto del afloramiento costero y las condiciones oceánicas que resultan en una mayor estratificación oceánica, incremento del pH, profundización de la ZMO e incremento de la relación N/P.
- En relación a la calcificación de *E. huxleyi*, los diferentes morfotipos y variables morfométricas investigadas, diámetro de la cocósfera y grado de calcificación RTW, muestran que la calcificación disminuye en dirección costa-océano frente al Callao observándose morfotipos más calcificados hacia la costa (OC y M) y un morfotipo ligeramente calcificado (L) en la zona oceánica, y un mayor RTW (hasta 0.4) y cocósfera más pequeñas y compactas en la zona costera.

- El grado de calcificación y los morfotipos observados frente al Callao de la especie *E. huxleyi* muestra una importante correlación con la influencia del afloramiento costero, la presencia de aguas corrosivas, menor estratificación, menos productivas (clorofila-a y N/P).

## VII. RECOMENDACIONES

- Con el fin de mejorar la interpretación de la sucesión de los morfotipos de la especie *Emiliana huxleyi*, se deben ser realizar estudios durante el desarrollo de un evento de afloramiento costero y/o condiciones no El Niño a fin de poder contrastar los resultados obtenidos, tanto en aspectos ecológicos, abundancias, especies y calcificación de la comunidad de cocolitofóridos.
- Considerar la importancia de medir otras variables como la alcalinidad, cálculo de omega, para la mejor comprensión de la calcificación.
- Realizas otros análisis de cálculos de la calcificación y reforzar los cálculos obtenidos.
- Además, se recomienda realizar un análisis genético de sus diferentes morfotipos encontrados frente al Callao, para revelar el origen genético o fenotípico de la variabilidad morfológica y el grado de calcificación de la especie *E. huxleyi*.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alvarez MC, Flores JA, Sierro FJ, Molina-Cruz. Orbital control of the Peru upwelling dynamics during the last 800 Ky revealed by Coccolithophore assemblages. *Geogaceta*. 2005; 38(0):199-202.
- Armstrong H and Brasier MD. *Microfossils*. Malden, MA: Blackwell Pub. 2005.
- Arrigo KR. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature* 2005; 437(0):349-355.
- Baumann KH, Andruleit H, Bockel B, Geisen M and Kinkel H. The significance of extant coccolithophores as indicators of ocean water masses, surface water temperature, and palaeoproductivity: a review. *Palaeontologische Zeitschrift*. 2005; 79(1):93-112.
- Beaufort L, Barbarin N, Gally, Y. Optical measurements to determine the thickness of calcite crystals and the mass of thin carbonate particles such as coccoliths. *Nature protocols*. 2014; 9(3):633-642.
- Beaufort L, Couapel M, Buchet N, Claustre H, and Goyet C. Calcite production by coccolithophores in the south east Pacific Ocean. *Biogeosciences*. 2008; 5(0):1101-1117.
- Beaufort L, Probert I, Garidel-Thoron T, Bendif EM, Ruiz-Pino D, Metzl N, Goyet C, Buchet N, Coupel P, Grelaud M, Rost B, Rickaby REM, Vargas C. Sensitivity of coccolithophores to carbonate chemistry and ocean acidification. *Nature*. 2011; 476(0):80-83.
- Bollmann J. Morphology and biogeography of *Gephyrocapsa* coccoliths in Holocene sediments. *Marine Micropaleontology*, 1997; 29(0): 27-55.
- Brand LE. 1994. Physiological ecology of marine coccolithophores. In: Winter A, Siesser WG, (eds.). *Coccolithophores*. Cambridge University Press.
- Broerse ATC, Ziveri P, van Hinte JE and Honjo S. Coccolithophore export production, species composition, and coccolith-CaCO<sub>3</sub> fluxes in the NE Atlantic (34°N 21°W and 48°N 21°W). *Deep-Sea Research II*. 2000; 47(0):1877-1905.
- Brown CW and Yoder JA. Coccolithophorid blooms in the global ocean. *Journal of Geophysical Research*, 1994; 99(C4):7467-7482. doi:10.1029/93JC02156.
- Brownlee C and Taylor AR. Algal Calcification and Silification. *Encyclopedia of life sciences*. 2002 Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group.

Carrit DE and Carpenter JH. Comparison and evaluation of currently employed modifications of the Winkler method for determining dissolved oxygen in seawater. *J.Mar. Res.*, 1966; 24:286-318.

Chavez F and Messie M. A comparison of Eastern Boundary Upwelling Ecosystems. *Progress in Oceanography*. 2009; 83(0):80-96.

Chavez F, Bertrand A, Guevara-Carrasco R, Soler P, and Csirke J. The northern Humboldt Current System: Brief history, present status and a view towards the future. *Prog Oceanogr*. 2008; 79(0):95-105.

Cortés MY, Bollmann J, and Thierstein HR. Coccolithophore ecology at the HOT station ALOHA, Hawaii. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2001; 48(8-9):1957-1981.

Cros L, Klijne A, Zeltner A, Billard C, Young JR. New examples of holococcolith-heterococcolith combination coccospheres and their implications for coccolithophorid biology. *Marine micropaleontology*. 2000; 39(0):1-34.

De Bodt CN, Van Oostende N, Harlay J, Sabbe K, Chou L. Individual and interacting effects of pCO<sub>2</sub> and temperature on *Emiliana huxleyi* calcification: study of the calcite production, the coccolith morphology and the coccosphere size. *Biogeosciences*. 2010; 7(0):1401–1412.

Delille B, Harlay J, Zondervan I, Jacquet S, Chou L, Wollast R, Bellerby RGJ, Frankignoulle M, Vieira Borges A, Riebsell U, Gattuso JP. Response of primary production and calcification to changes of pCO<sub>2</sub> during experimental blooms of the coccolithophorids *Emiliana huxleyi*. *Global Biogeochem. Cycles*. 2005; 19(GB2023):1-14.

Dickson A. pH buffers for sea water media base on total hydrogen ion concentration scale. *Deep Sea Research*. 1993; 40(0):107-118.

Emiliani C. Viral extinctions in deep-sea species. *Nature*. 1993; 366(0): 217-218

ENFEN, 2013-2014. Informe técnico ENFEN periodo 2013-2014.[http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe\\_infctco\\_enfen\\_infor\\_tec2013\\_2014.pdf](http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe_infctco_enfen_infor_tec2013_2014.pdf)

ENFEN, junio 2015. Monitoreo y Pronóstico de El Niño y La Niña. Informe Técnico ENFEN – año 1, N°3, junio2015.[http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe\\_infctco\\_infor\\_tec\\_enfe\\_junio2015.pdf](http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe_infctco_infor_tec_enfe_junio2015.pdf)

Engel A, Zondervan I, Aerts K, Beaufort L, Benthien A, Chou L, Delille B, Gattuso JP, Harlay J, Heemann C, Hoffmann L, Jacquet S, Nejstgaard J, Pizay MD, RochelleNewall E, Schneider U, Terbrueggen A, Riebesell U. Testing the direct effect of CO<sub>2</sub> concentration on a bloom of the coccolithophorid *Emiliana*

*huxleyi* in mesocosm experiments, Limnology Oceanography. 2005; 50(0):493–507.

Fabry VJ, Seibel BA, Feely RA, and Orr JC. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. ICES Journal of Marine Science. 2008; 65(0):414-432.

Fawcett SE and Ward BB. Phytoplankton succession and nitrogen utilization during the development of an upwelling bloom. Mar. Ecol. Prog. Ser. 2011; 428(0):13-31.

Franz J, Krahnemann G, Lavik G, Grasse P, Dittmar T, Riebesell U. Dynamics and stoichiometry of nutrients and phytoplankton in waters influenced by the oxygen minimum zone in the eastern tropical Pacific. Deep-Sea Research I 2012; 62(0):20-31.

Friederich GE, Ledesma J, Ulloa O, Chávez FP. Air-sea carbon dioxide fluxes in the coastal southeastern tropical Pacific. Progress in Oceanography. 2008; 79(0):156-166.

Geisen M, Billard Ch, Broerse ATC, Cros L, Probert I, Young JR. Life-cycle associations involving pairs of coccolithophorid species: intraspecific variation or cryptic speciation?. European Journal Phycology. 2002; 37(4):531-550.

Giraudeau J and Bayley GW. Spatial dynamics of coccolithophore communities during an upwelling event in the Southern Benguela system. Continental Shelf Research, 1995;15(0):1825-1852.

Giraudeau J, Monteiro PMS, Nikodemus K.. Distribution and malformation of living coccolithophores in the northern Benguela system off Namibia. Marine Micropaleontology, 1993; 22(0):93-110.

Giraudeau J. Distribution of recent nannofossils beneath the Benguela system: Southwest African continental margin. Marine Geology, 1992; 108 (2): 219-237.

Guerreiro C, Oliveira A, Stigter H, Cachão M, Sá C, Borges C, Cros L, Santos A, Fortuño JM, Rodriguez A. Late winter coccolithophore bloom off central Portugal in response to river discharge and upwelling. Continental Shelf Research, 2013; 59: 65-83

Graco MI, Ledesma J, Flores G, and Girón M. Nutrientes, oxígeno y procesos biogeoquímicos en el sistema de surgencias de la corriente de Humboldt frente a Perú. Revista de Biología Peruana. 2007; 14(1):117-128.

Gravalosa JM., Flores J-A, Sierro FJ, and Gersonde R. Distribución espacial del coccolitofórido *Emiliana huxleyi* en el sector Pacífico del océano Antártico:

nuevos datos para la reconstrucción paleoambiental y caracterización de eventos bioestratigráficos. *Geogaceta*. 2005; 38(0):191-194.

Grelaud M, Schimmelmann A., and Beaufort L. Coccolithophore response to climate and surface hydrography in Santa Barbara Basin, California, AD 1917–2004. *Biogeosciences*. 2009; 6(0):2025-2039. doi:10.5194/bgd-5-4129-2008.

Grossi V, Raphel D, Aubert C, Rontan JF. The effect of growth temperature on the long-chain alkenes composition in the marine coccolithophorid *Emiliana huxleyi*. *Phytochemistry* 54 (2000):393-399.

Gruber N. Warming up, turning sour, losing breath: ocean biogeochemistry under global change. *Philosophical Transactions of the Royal Society a-Mathematical Physical and Engineering Sciences*. 2011; 369(1943), 1980–1996. doi:10.1098/rsta.2011.0003

Gutiérrez D, Sifeddine A, Field D, Ortlieb L, Vargas G, Chávez F, Velazco F, Ferreira V, Tapia P, Salvatelli R, Boucher H, Morales M, Valdés J, Reyss JL, Campusano A, Boussafir M, Mandeng-Yogo M, García M y Baumgartner T Rapid reorganization in ocean biogeochemistry off Peru towards the end of the Little Ice Age. *Biogeosciences*. 2009; 6(0):835-848.

Hagino K, Bendif EM, Young JR, Kogame K, Probert I, Takano Y et al. New evidence for morphological and genetic variation in the cosmopolitan coccolithophore *Emiliana huxleyi* (prymnesiophyceae) from the *cox1b-atp4* genes. *J. Phycol.* 2011; 47(0):1164–1176.

Hagino K, Okada H and Matsuoka H. Spatial dynamics of coccolithophore assemblages in the Equatorial Western-Central Pacific Ocean. *Marine Micropaleontology* 2000; 39(0):53–72

Haidar AT and Thierstein HR. Coccolithophore dynamics off Bermuda (N. Atlantic). *Deep-Sea Research II*. 2001; 48 (0):1925-1956.

Hamersley MR. Anaerobic ammonium oxidation in the Peruvian oxygen minimum zone. *Limnol. Oceanogr.* 2007; 52(0):923-933.

Henderiks J, Winter A, Feistel R, Van Der Plas A, Nausch, G., and Barlow R. Environmental controls on *Emiliana huxleyi* morphotypes in the Benguela coastal upwelling system (SE Atlantic). *Marine Ecology Progress Series*. 2012; 448(0):51–66. doi:10.3354/meps09535.

Holm-Hansen O, Lorenzen CJ, Holmes RW, and Strickland JD. Fluorometric determination of chlorophyll. *J. Cons. Cons. Int. Explor. Mer.* 1965; 30:3-15.

Honjo S and Okada H. Community structure of coccolithophores in the photic layer of the Mid-pacific. *Micropaleontology*, 1974; 29 (2): 209-230.

Honjo S. Biogeography and provincialism of living Coccolithophorids in the Pacific Ocean. In: Ramsey, A.T.S. (ed), *Oceanic Micropaleontology*. Academic Press, London, 1977, p. 951-972.

Iglesias-Rodriguez MD, Brown CW, Doney SC, Kleypas J, Kolber D, Koler Z, Hayes P, Falkowski G. Representing key phytoplankton functional groups in ocean carbon cycle models: Coccolithophorids. *Global Biogeochemical cycles*. 2002; 16(4):1100.

Iglesias-Rodriguez MD, Halloran PR, Rickaby REM, Hall IR, Colmenero-Hidalgo E, Gittins JR, Green DRH, Tyrrell T, Gibbs SJ, Dassow PV, Rehm E, Armbrust EV, Boessenkool KP. *Phytoplankton Calcification in a High-CO2 World*. Science. 2008; 320(0):336-340.

Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. Karlson, B., Cusack, C. and Bresnan E. (editors). *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Paris, UNESCO (IOC Manuals and Guides, N° 55). 2010. p. 110.

Köbrich MII. Seasonal dynamics and characterization of coccolithophore export production in two major upwelling regions, Cape Blanc (NW-Africa) & Chile (30°S). August, 2008; 138.

Kroeker KJ, Kordas RL, Crim R, Hendriks IE., Ramajo L, Singh GS, Duarte CM, Gattuso JP. Impacts of ocean acidification on marine organisms: quantifying sensitivities and interaction with warming. *Global Change Biology*. 2013; 19(0):1884-1896.

Lalli CM, Parsons TR. Chapter 3. Phytoplankton and primary production. En: (eds.) *Biological Oceanography: An Introduction* (2nd Ed). Elsevier, 1997. p. 39-73.

Ledesma J, Tam J, Graco M, León V, Flores G, Morón O. Caracterización de la Zona de Mínima de Oxígeno (ZMO) frente a la costa peruana entre los 3 y 14 S, 1999-2009. *Boletín Imarpe*. 2011; 26(1-2):49-58.

León V, Paulmier A, Ledesma J, Croot P, Graco M, Flores G, Morón O, Tenorio J. pH como un trazador de la variabilidad biogeoquímica en el Sistema de Humboldt. *Boletín del Instituto del Mar del Perú*. 2011; 26(1-2):19-24.

Lohbeck KT, Riebesell U, Reusch TBH. Adaptive evolution of a key phytoplankton species to ocean acidification. *Nature Geoscience*. 2012; 5, 346–351

Malin G and Steinke M. Dimethyl sulphide production: What is the contribution of the coccolithophores? In: Thierstein HR, Young JR (eds) *Coccolithophores: from molecular processes to global impact*. Springer, Berlin, 2004, p 127–164

- Margalef R. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta.*, 1978; 1 (4): 493-509.
- Marsh ME. Regulation of CaCO<sub>3</sub> formation in coccolithophores. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B, Biochemistry and Molecular Biology.* 2003; 136(4):743–754. doi:10.1016/S1096-4959(03)00180-5.
- Meier K, Beaufort L, Heussner S, Ziveri P. The role of ocean acidification in *Emiliana huxleyi* coccolith thinning in the Mediterranean Sea. *Biogeosciences.* 2014; 11(0):2857–2869.
- Messie M, Ledesma J, Kolber DD, Michisaki RP, Foley DG. Potential new production estimates in four eastern boundary upwelling ecosystems. *Progress in Oceanography.* 2009; 83(0):151–158
- Meyer J and Riebesell U. Reviews and Syntheses: Responses of coccolithophores to ocean acidification: a meta-analysis. *Biogeosciences.* 2015; 12(0):1671–1682.
- Morón O. Características del ambiente marino frente a la costa peruana. *Bol. Inst. Mar Perú.* 2000; 19 (1:2):179-204.
- Okada H and Honjo S. The distribution of oceanic coccolithophorids in the Pacific. *Deep Sea Research,* 1973; 20(0):355-374.
- Paasche E. Roles of nitrogen and phosphorus in coccolith formation in *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae). *European Journal of Phycology.* 1998; 33(1):33-42. DOI: 10.1080/09670269810001736513
- Paulmier A, Ruiz-Pino D and Garçon V. CO<sub>2</sub> maximum in the oxygen minimum zone (OMZ). *Biogeosciences,* 8, 239–252, 2011
- Quispe J y Vásquez L. Índice “LABCOS” para la caracterización de eventos El NIÑO y LA NIÑA frente a la costa del Perú, 1976-2015. *Boletín del Instituto del Mar del Perú. Boletín Trimestral Oceanográfico Vol. 1, N° 1-4,* 2015
- Raven JA, Caldeira K, Elderfield H, Hoegh-Guldberg O, Liss P, Riebesell U, Shepherd J, Turley C, et al. Chapter 3. Biological impacts: effects of changing ocean chemistry on organisms and populations. En: *Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide.* The Royal Society, London. 2005. p. 15-23.
- Reynolds CS. Chapter 7. Community assembly in the plankton: pattern, process and dynamics. En: *The Ecology of Phytoplankton.* Cambridge University press. 2006. p. 302-386.
- Richier S, Fiorini S, Kerros ME, Dassow PV Gattuso JP. Response of the calcifying coccolithophore *Emiliana huxleyi* to low pH/high pCO<sub>2</sub>: from physiology to molecular level. *Mar Biol.* 2011; 158:551-560.

- Riebesell U, Zondervan I, Rost B, Tortell PD, Zeebe RE, and Morel FM. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO<sub>2</sub>. *Nature*. 2000; 407(0):364–367.
- Rojas de Mendiola B, Ochoa N y Gómez O. Los dinoflagelados como indicadores biológicos de masas de agua. Fenómeno El Niño 1972. Memorias del Seminario sobre Indicadores Biológicos del Plancton, UNESCO, Montevideo. 1981, 54-73.
- Saavedra-Pellitero M, Flores JA, Sierro FJ. Nuevas aportaciones a la biogeografía de coccolitóforos en el Pacífico ecuatorial y suroriental. *Geogaceta*. 2007; 42(0):91-94.
- Schneider CA, Rasband W and Eliceiri K W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis, *Nature Methods*. 2012; 9(0): 671–675.
- Shiraiwa Y. Physiological regulation of carbon fixation in the photosynthesis and calcification of coccolithophorids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 136. 2003; 0(0):775-783.
- Silva A, Palma S, Moita MT. Coccolithophores in the upwelling waters of Portugal: Four years of weekly distribution in Lisbon bay. *Continental Shelf Research*. 2008; 28(0):2601-2613.
- Smith H, Tyrrella T, Charalampopoulou A, Dumousseauda C, Legge O, Birchenougha S, *et al.* Predominance of heavily calcified coccolithophores at low CaCO<sub>3</sub> saturation during winter in the Bay of Biscay. *PNAS*. 2012; 109(23):8845-8849.
- Strickland DH and Parsons TR. Practical handbook of seawater analysis. Fish. Res. Board of Canada, Ottawa. 1972. p. 310.
- Strom S, Wolfe G, Holmes J, Stecher H, Shimeneck C, Lambert S, Moreno E. Chemical defense in the microplankton I: Feeding and growth rates of heterotrophic protists on the DMS-producing phytoplankter *Emiliana huxleyi*. *Limnol. Oceanogr.* 2003; 48(1):217–229.
- Takahashi K, Mosquera K y Reupo, J. 2013. El Índice Costero El Niño. Estudio Nacional del Fenómeno El Niño (ENFEN).
- Ter Braak CJF . Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*. 1986; 67:1167–1179
- Triantaphyllou M, Dimiza M, Krasakopoulou E, Malinverno E, Lianou V, and Souvermezoglou E. Seasonal variation in *Emiliana huxleyi* coccolith morphology and calcification in the Aegean Sea (Eastern Mediterranean). *Geobios*. 2010; 43(1):99-110. doi:10.1016/j.geobios.2009.09.002.

Utermöhl H. Zur Vervollkommnung der quantitative Phytoplankton- Methodik. Mitt Int Ver Theor Angew Limnol. 1958; 9(0):1-38.

Westbroek P, Brown CW, Van Bleijswijk J, Brownlee C, Brummer G-JA, Conte M, Egge JK, Fernandez E, Jordan RW, Knappertsbuch M, Stefels J, Veldhuis MJW, Van der Wal P, Young JR. A model system approach to biological climate forcing. The example of *Emiliana huxleyi*. Global Planet Change 8:27-46.

Winter A, Henderiks J, Beaufort L, Rickaby REM, Brown CW. Poleward expansion of the coccolithophore *Emiliana huxleyi*. J. Plankton Res. 2013; 0(0):1-10.

Winter A, Jordan RW and Roth P. Biogeography of living coccolithophores in ocean waters. In: Winter A and Siesser WG. (eds.). Coccolithophores. Cambridge University Press, Cambridge, 1994, p. 161-177.

Young JR y Henriksen K. Chapter 7. Biomineralization within vesicles: The calcite of coccoliths. In: Dove PM, De Yoreo JJ, Weiner S, editors. Biomineralization. Reviews in mineralogy and geochemistry 54. Washington: Mineralogical Society Of America; 2003. P. 189-216.

Young JR, Poulton AJ, and Tyrrell T. Morphology of *Emiliana huxleyi* coccoliths on the northwestern European shelf – is there an influence of carbonate chemistry? Biogeosciences. 2014; 11(17):4771–82.

Young JR. The functions of coccoliths. In: Winter A. and Siesser WG (eds.), Coccolithophores. Cambridge University Press, Cambridge, 1994. 63-82.

Ziveri P and Thunell RC. Coccolithophore export production in Guaymas Basin, Gulf of California: response to climate forcing. Deep-Sea Research II, 2000; 47(0):2073-2100.

Ziveri P, Thunell R and Rio D. Export production of coccolithophores in an upwelling region: Results from San Pedro Basin, Southern California Borderlands. Marine Micropaleontology, 1995; 24(0):335-358.

Zuta S y Guillén OG. Oceanografía de las aguas costeras del Perú. Bol. Inst. Mar Perú, 1970, 2, 157-324.

## IX. ANEXOS

**ANEXO 1.** Lista de individual de cocolitofóridos encontrados en cada estación en los tres cruceros. La columna SEM corresponden a las especies encontradas mientras se hacia el fotografiado para el análisis biométrico de *Emiliana huxleyi* (10 m de profundidad).

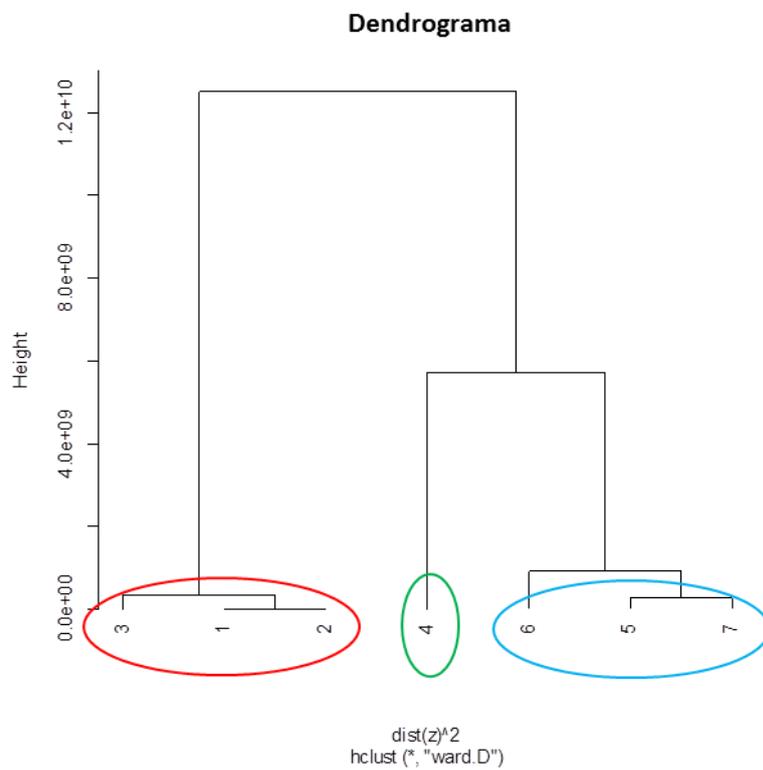
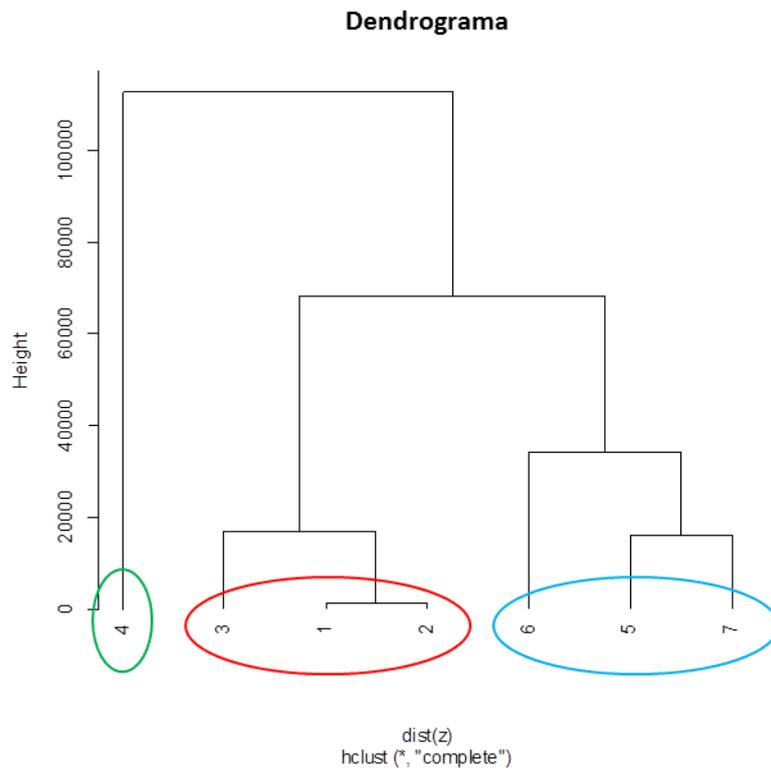
ESPECIES IDENTIFICADAS	PM							SEM						
	St1	St2	St3	St4	St5	St6	St7	St1	St2	St3	St4	St5	St6	St7
<i>Emiliana huxleyi</i>	42	196	1294	1468	1689	1890	2360							
<i>Gephyrocapsa oceanica</i>	1	14	68	48	41	11	25				1			5
<i>Florisphaera profunda</i>	0	0	0	10	226	44	279					4		
<i>Calcidiscus leptoporus</i>	0	0	3	4	9	1	15							4
<i>Helicosphaera carteri</i>	2	6	3	11	10	9	11			2	4	3	7	4
<i>Ophiaster sp</i>	0	0	1	745	594	220	260							
<i>Acanthoica sp</i>							16							
<i>Acanthoica quatropina</i>													2	8
<i>Anoplosolenia brasiliensis</i>													1	
<i>Calciosolenia</i>					1		57							
<i>Calciopappus rigidus</i>														1
<i>Gaardelia corolla</i>													1	
<i>Michaelsarsia adriaticus</i>							2							
<i>Ophiaster formosus</i>										2	3	3		
<i>Pappomonas sp. Type 3</i>													1	
<i>Polycrater sp.</i>													1	
<i>Reticulofenestra parvula</i>											4	4	1	
<i>Syracosphaera spp</i>					2		7							
<i>S. Anthos</i>							1							
<i>S. prolongata</i>							1							
<i>S. molischii</i>											2	1		
<b>TOTAL</b>														



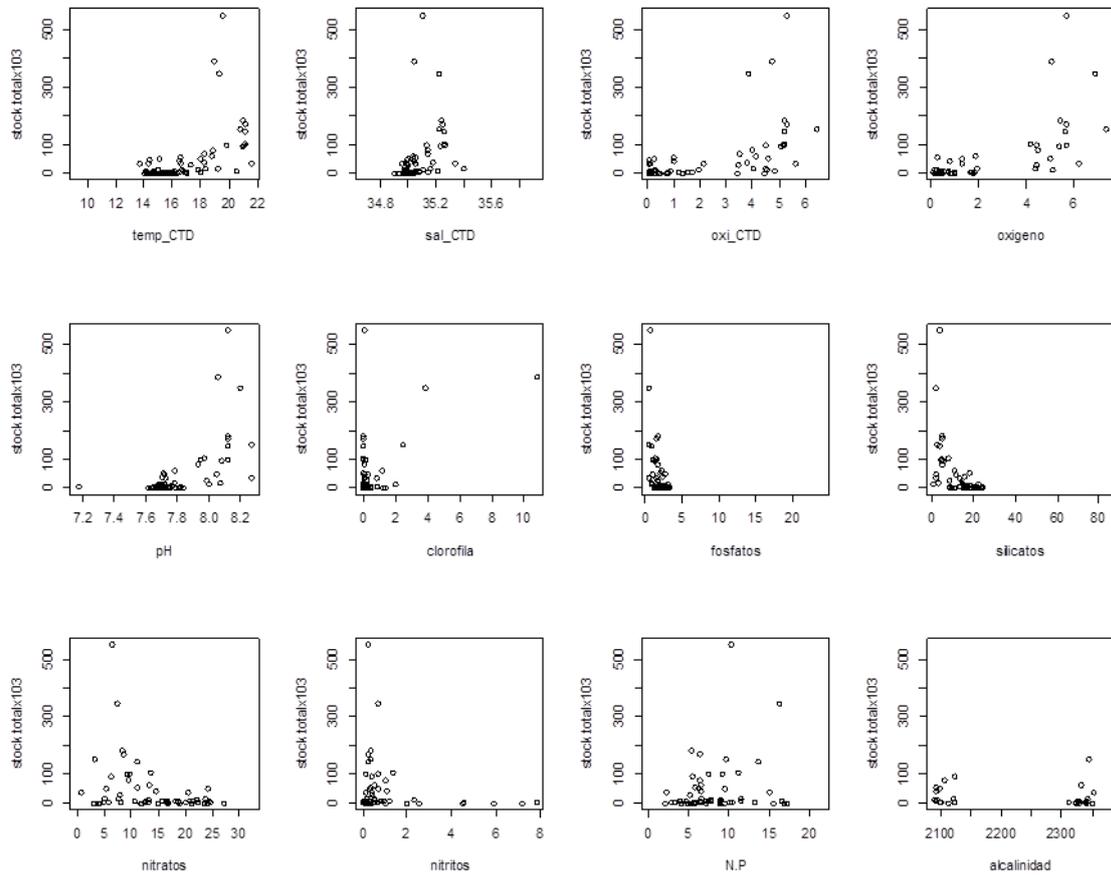
CRIO1412	-12.037	-77.976	7	-50	-50	17.59	15.19	0.00	0.06	0.00	0.00	2.35	0.00
CRIO1412	-12.037	-77.976	7	-50	-100	8.28	8.24	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.029	-77.214	1	-4	-5	2.92	2.49	0.15	0.00	0.00	0.29	0.00	0.00
CRIO1504	-12.029	-77.214	1	-4	-25	0.10	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.029	-77.214	1	-4	-40	0.10	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.041	-77.288	2	-8	-10	6.14	5.17	0.39	0.00	0.00	0.58	0.00	0.00
CRIO1504	-12.041	-77.288	2	-8	-30	0.88	0.49	0.39	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.041	-77.288	2	-8	-50	5.75	5.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.040	-77.376	3	-13	-10	60.92	59.70	1.02	0.00	0.00	0.20	0.00	0.00
CRIO1504	-12.040	-77.376	3	-13	-30	8.58	8.58	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.040	-77.376	3	-13	-50	6.92	6.82	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.040	-77.376	3	-13	-100	2.05	1.46	0.39	0.00	0.00	0.19	0.00	0.00
CRIO1504	-12.049	-77.485	4	-20	-10	387.01	374.11	2.58	0.00	0.00	10.32	0.00	0.00
CRIO1504	-12.049	-77.485	4	-20	-30	6.14	5.75	0.39	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.049	-77.485	4	-20	-50	2.14	2.05	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.049	-77.485	4	-20	-100	0.88	0.88	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.043	-77.656	5	-30	-10	346.27	327.80	11.54	0.00	0.00	6.93	0.00	0.00
CRIO1504	-12.043	-77.656	5	-30	-30	2.63	1.85	0.00	0.68	0.00	0.10	0.00	0.00
CRIO1504	-12.043	-77.656	5	-30	-50	0.68	0.68	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.043	-77.656	5	-30	-100	0.97	0.68	0.29	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.040	-77.839	6	-40	-10	153.00	148.41	0.00	0.00	0.00	4.59	0.00	0.00
CRIO1504	-12.040	-77.839	6	-40	-30	5.65	2.34	0.00	1.85	0.00	0.00	1.46	0.00
CRIO1504	-12.040	-77.839	6	-40	-50	0.78	0.29	0.00	0.49	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.040	-77.839	6	-40	-100	0.88	0.68	0.00	0.19	0.00	0.00	0.00	0.00
CRIO1504	-12.073	-77.988	7	-50	-10	36.11	29.09	3.36	0.15	0.00	0.88	0.15	2.49
CRIO1504	-12.073	-77.988	7	-50	-30	16.76	10.14	0.19	5.17	0.00	0.19	0.58	0.49
CRIO1504	-12.073	-77.988	7	-50	-50	2.73	1.36	0.00	0.68	0.00	0.00	0.29	0.39
CRIO1504	-12.073	-77.988	7	-50	-100	0.58	0.58	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00



**ANEXO 4.** Análisis de cluster que permiten agrupar las estaciones en zonas a fin de un mejor estudio de la transecta frente a Callao.



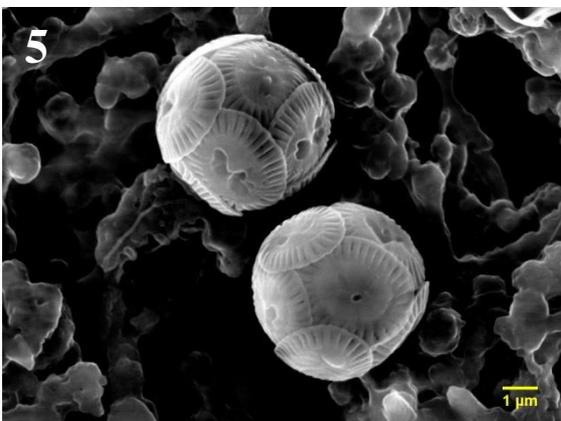
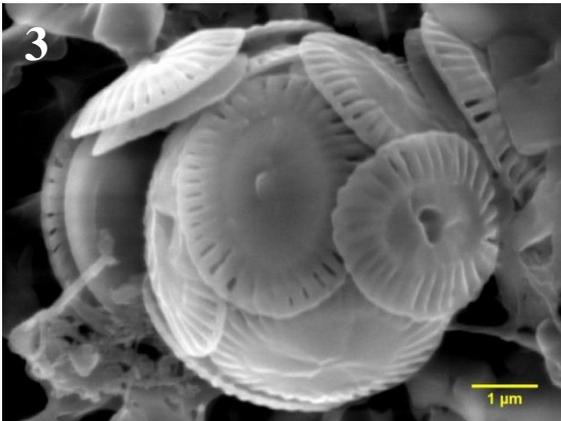
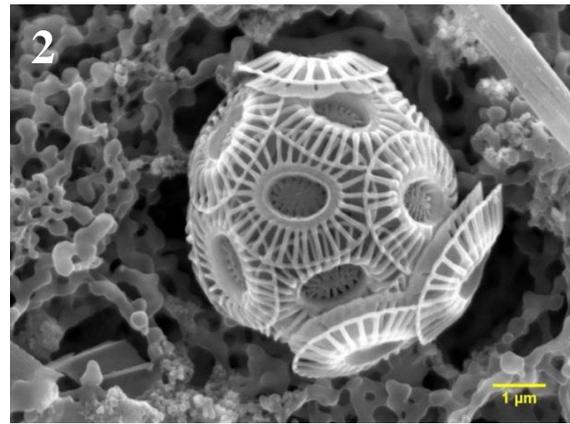
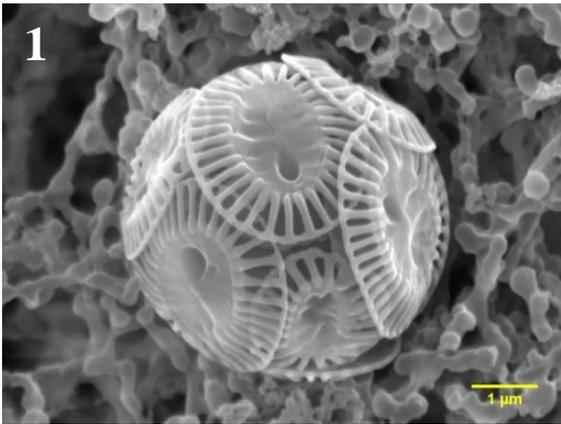
**ANEXO 5.** Distribución de todas las variables ambientales respecto al stock total ( $\times 10^3$  cel/L) de cocolitofóridos durante los tres periodos de estudio.



## ANEXO 6. Fotografías de cocolitofóridos con SEM

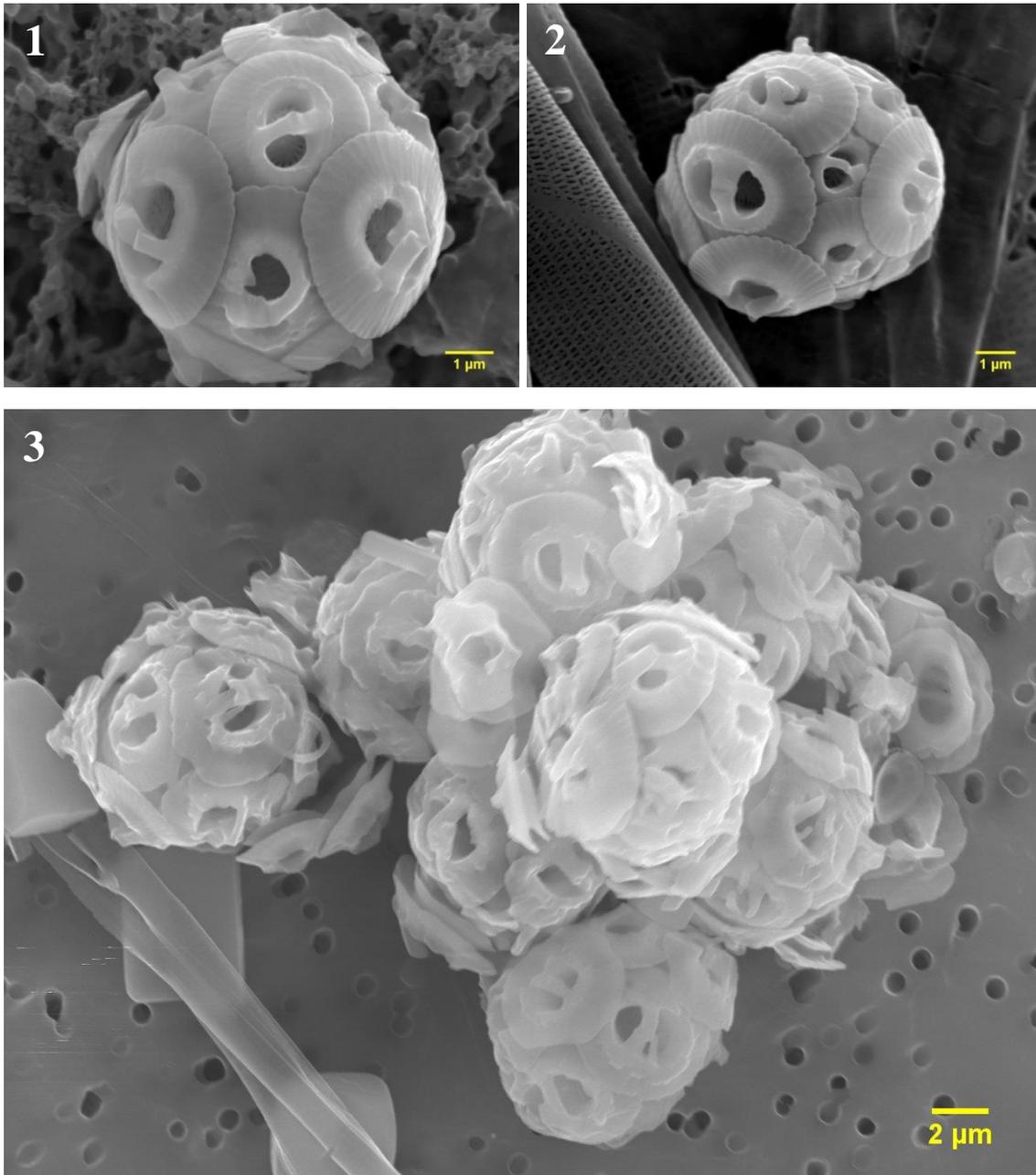
### *Emiliania huxleyi*

(1) Cocósfera completa mostrando el área central calcificada con el borde del disco externo ligeramente calcificado, CRIO1404, estación 4, 30 m. (2) Cocósfera completa mostrando los cocolitos ligeramente calcificados y un área central abierta, CRIO1404, estación 4, 30 m. (3) Cocósfera completa, mostrando cocolitos con una zona central y el disco externo sobrecalcificados, CRIO1412, estación 3, 10 m. (4) Cocósfera completa, mostrando cocolitos con una zona central y el disco externo sobrecalcificados, CRIO1412, estación 3, 10 m. (5) Dos cocósferas completas, con apariencia sobrecalcificada, CRIO1504, estación 5, 10 m.



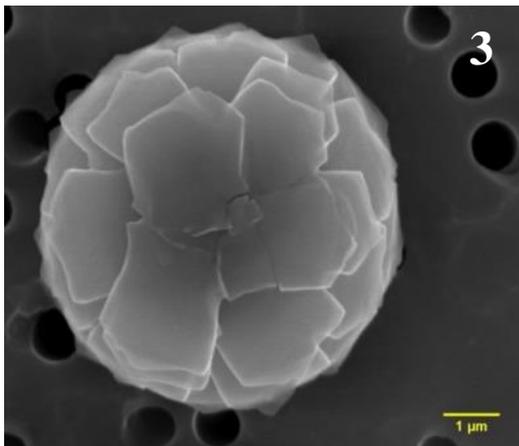
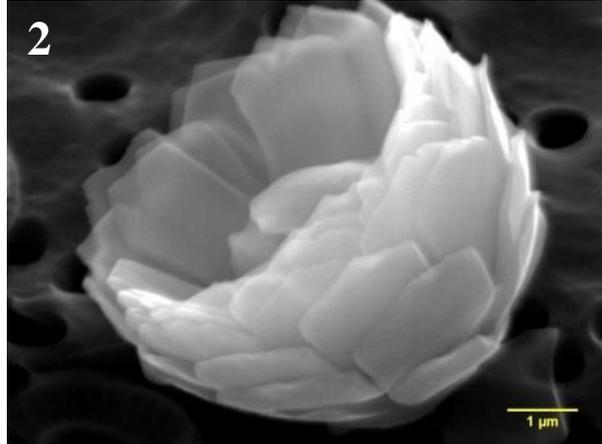
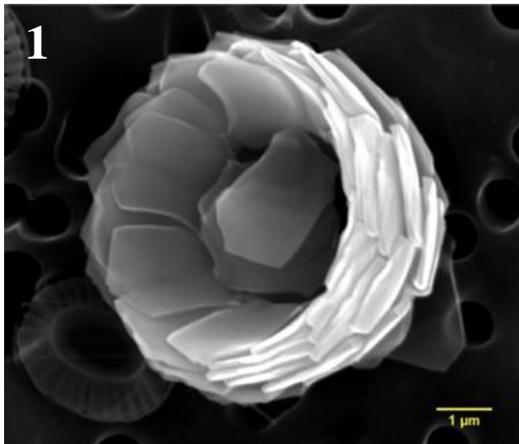
***Gephyrocapsa oceánica***

Cocósfera completa con grandes cocolitos que tienen una amplia zona central atravesada por un puente casi perpendicular al eje más largo del cocolito. (1) CRI01404, estación 7, 10m. (2) CRI01404, estación 4, 30m. (3) CRI01504, estación 7, 30m (st7-10m-11).



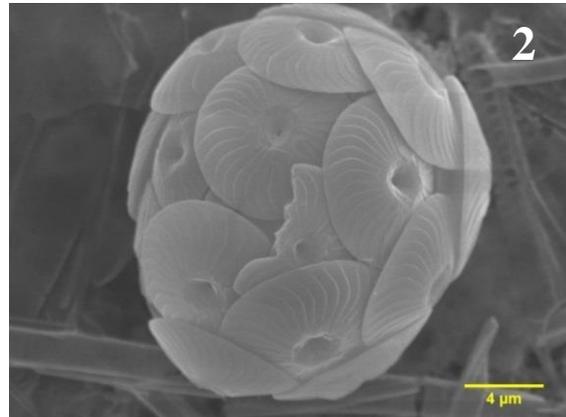
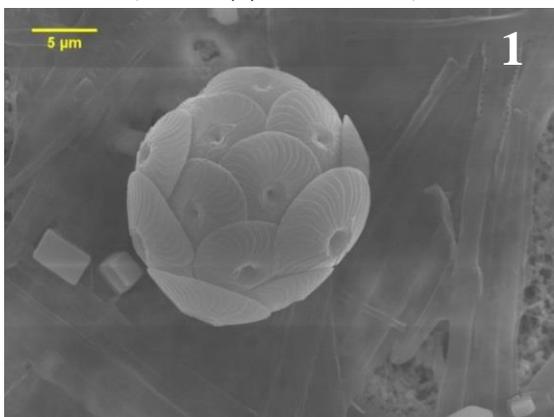
***Florisphaera profunda*** Okada y Honjo 1973

(1) Cocósfera completa, CRIO1504, estación 7, profundidad = 30m (st7-30m-03). (2) Cocósfera completa en vista lateral, CRIO1504, estación 7, profundidad = 30m (st7-30m-04). (3) Cocósfera completa en vista antapical, CRIO1504, estación 7, 30m (st7-30m-30). (4) Cocósfera completa en vista apical que muestra la disposición de los cocolitos como una flor, CRIO1404, estación 7, profundidad = 50 m.



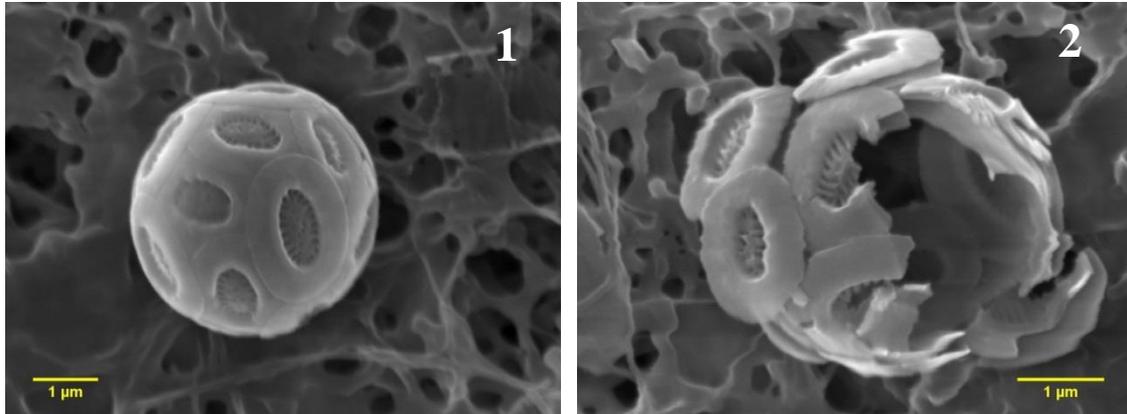
***Calcidiscus leptoporus***

Cocósfera subcircular mostrando cocolitos fuertemente entrelazados. (1) CRIO1404, estación 7, 10m. (2) CRIO1404, estación 7, 10m.



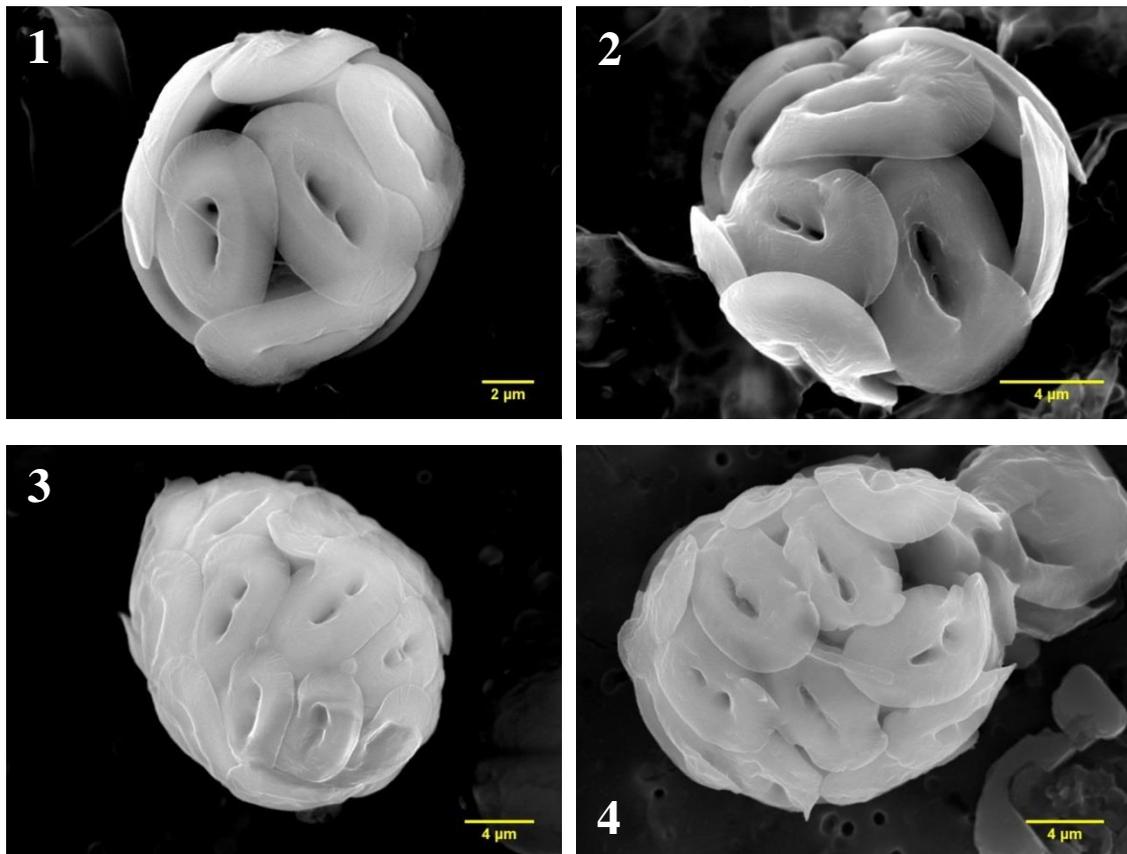
***Reticulofenestra parvula* var. *parvula***

Cocósfera completa con cocolitos que tienen un área central similar a *Emiliana* y *Gephyrocapsa* pero sin ningún elemento-T en la placa distal o un puente cruzando el área central. (1). Cocósfera completa, CRIO1404, estación 6, 10m. (2). Cocósfera colapsada, CRIO1404, estación 6, 10m.



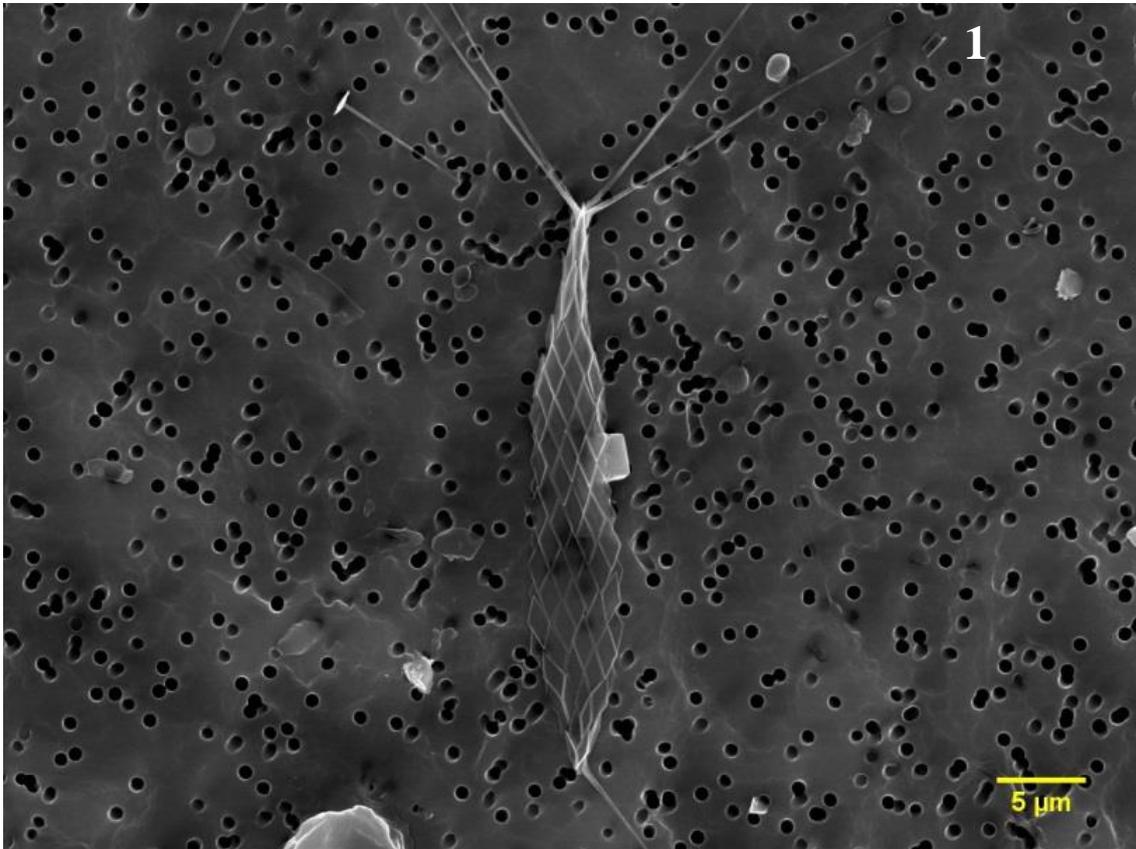
***Helicosphaera carteri* var. *carteri***

(1-2) Cocósferas completas, mostrando cocolitos con sus dos poros centrales. (1) CRIO1504, estación 3, 10m. (2) CRIO1504, estación 5, 10 m. (3-4) Cocósferas grandes de *H. carteri*. (3) CRIO1504, estación 6, 10m. (st6-10m-12). (4) CRIO1504, estación 6, 10m. (st6-10m-25).



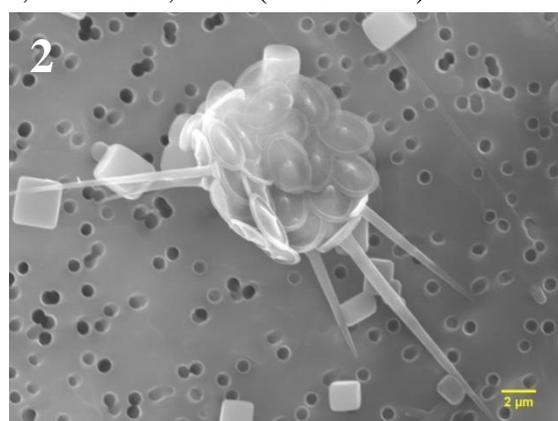
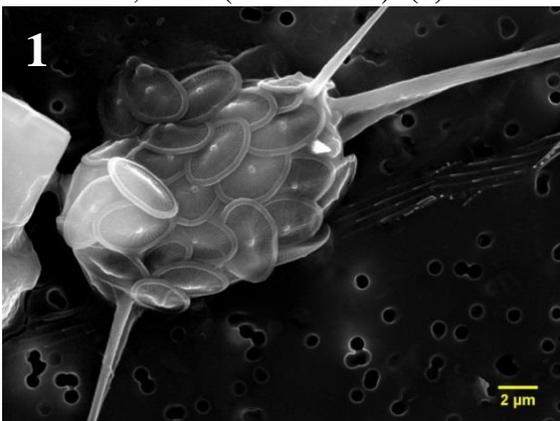
*Calciosolenia*

(1) Cocósfera completa con pocas espinas apicales. CRI01504, estación 7, 30m (st7-30m-29).



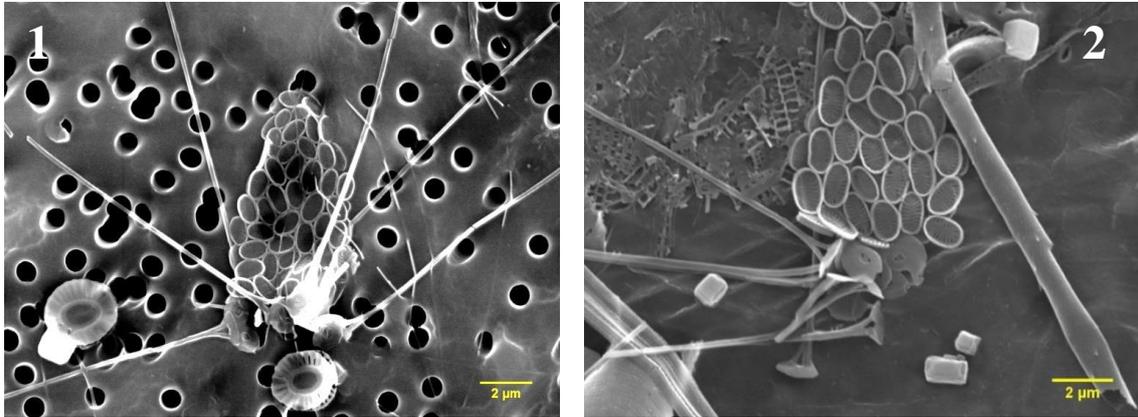
*Acanthoica quatros pina*

(1-2) Cocósferas completas con espinas en la disposición más característica: una espina larga y tres cortas en un polo y dos espinas largas en el otro polo. (1) CRI01504, estación 6, 10m. (st6-10m-21). (2) CRI01504, estación 7, 10m. (st7-10m-06).



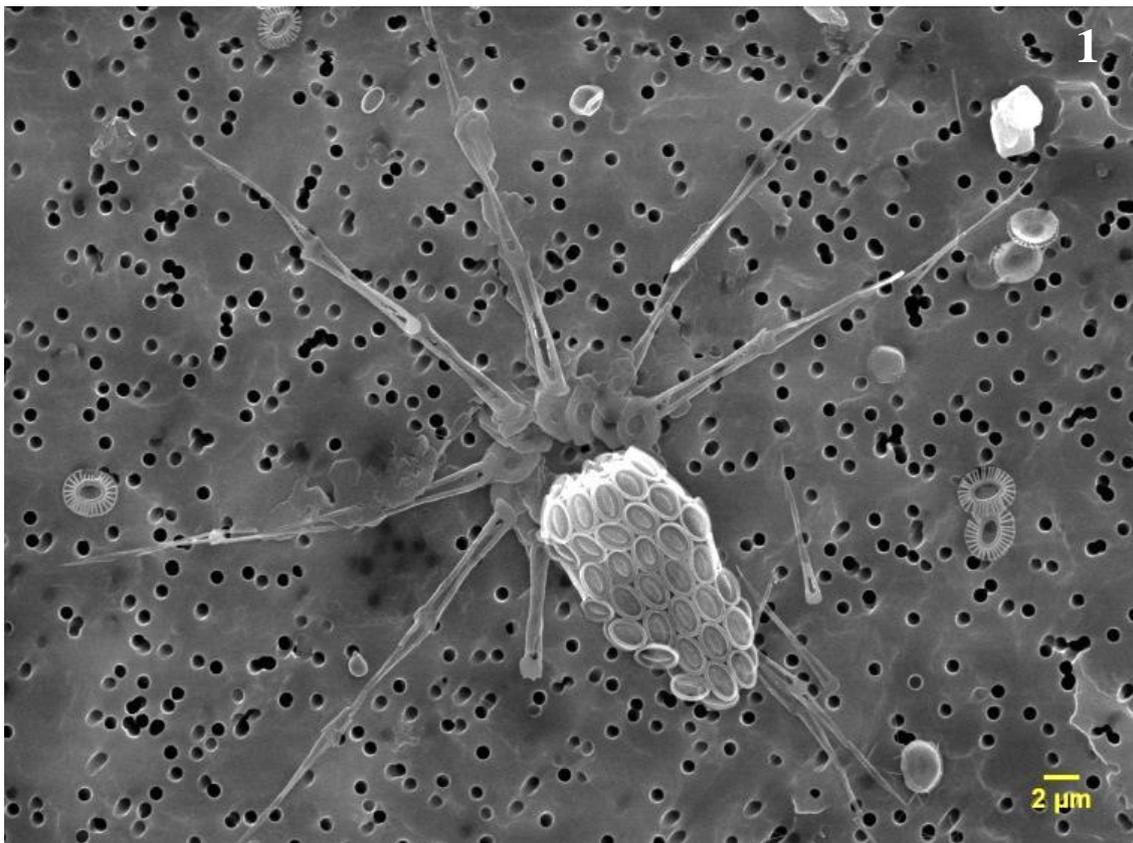
***Calciopappus rigidus***

Cocósfera completa. (1) CRI01504, estación 7, 30m (st7-30m-06). (2) CRI01404, estación 7, 10m.



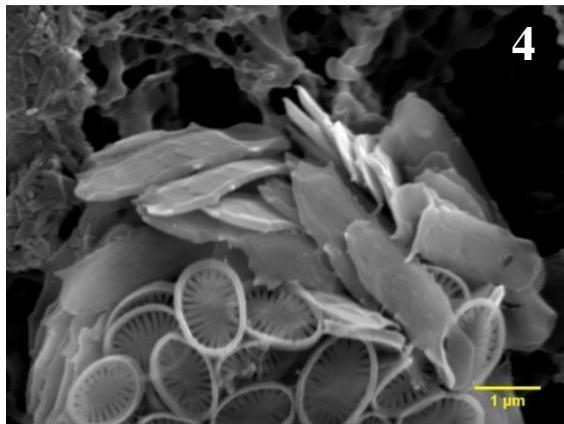
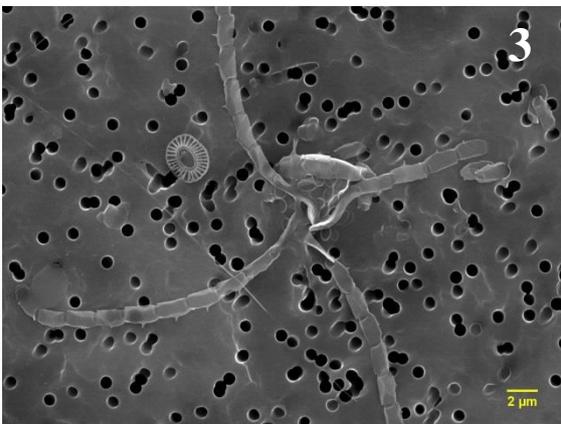
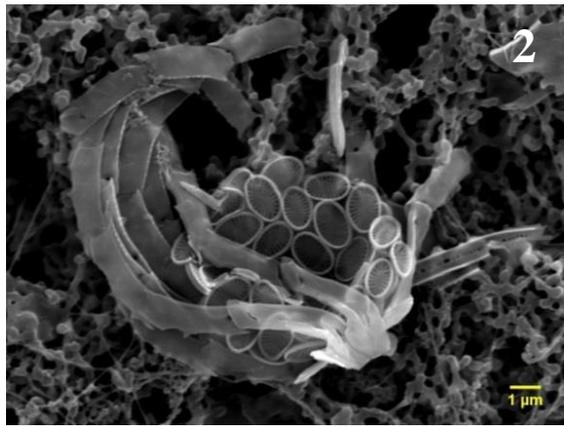
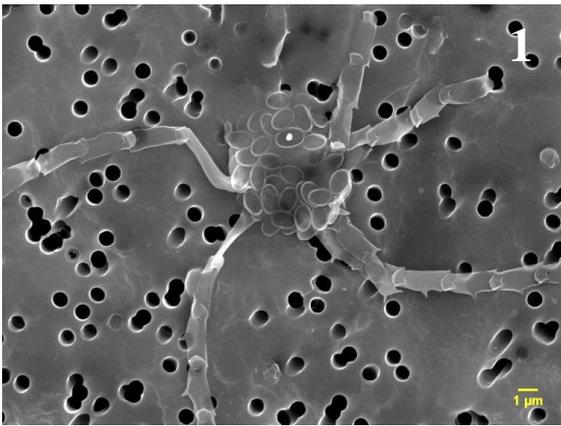
***Michaelsarsia adriaticus***

(1) Cocósfera completa alargada con apéndices. CRI01504, estación 7, 30m (st7-30m-17). CRI01404, estación 6, 10m.



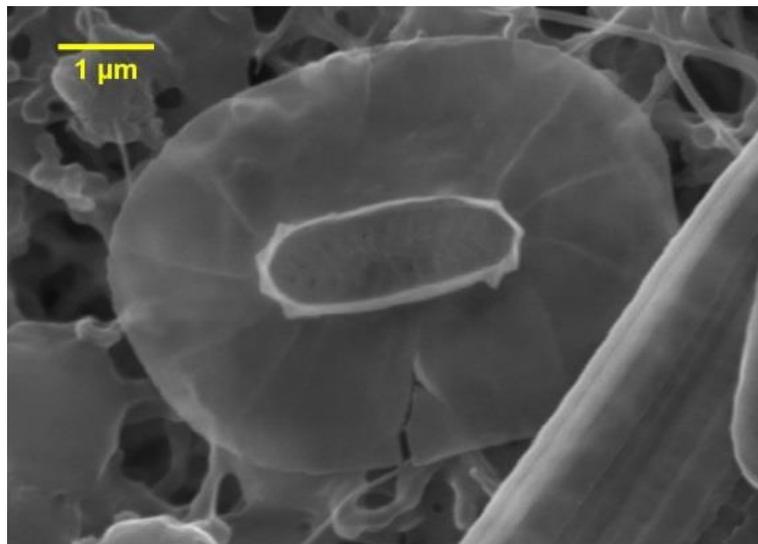
*Ophiaster formosus*

(1) Cocósfera completa con apéndices en vista apical, CRIO1504, estación 7, 30m (st7-30m-13). (2) Cocósfera completa en vista lateral mostrando los apéndices con brazos flexibles formadas de osteolitos: se observan osteolitos proximales ligeramente más grandes que los distales, CRIO1404, estación 4, 30m. (3) Cocósfera con apéndices en vista antiapical, mostrando los osteolitos proximales con un extremo más amplio donde se une a la cocósfera, CRIO1454, estación 7, 30m (st7-30m-24). (4) Cocolitos del cuerpo formados por murolitos elípticos débilmente calcificados, CRIO1404, estación 4, 30m.



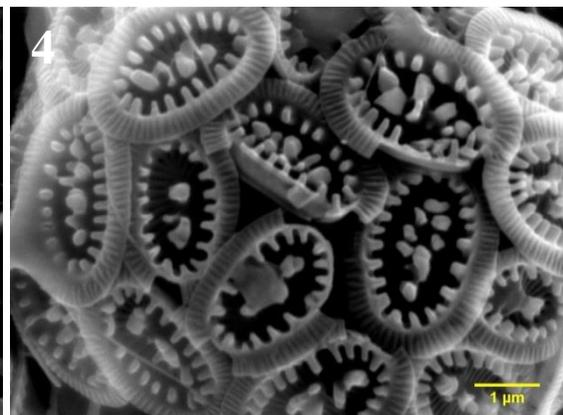
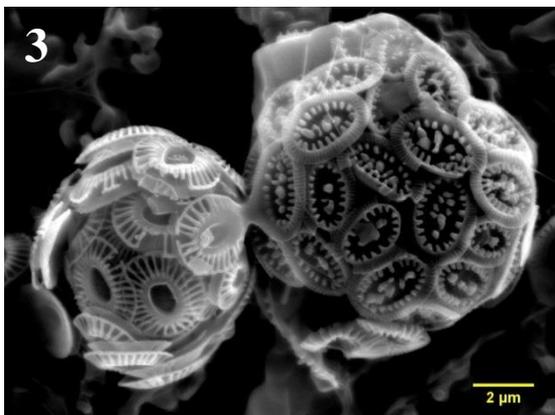
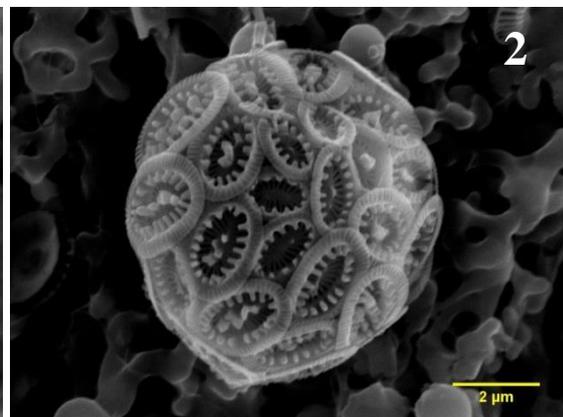
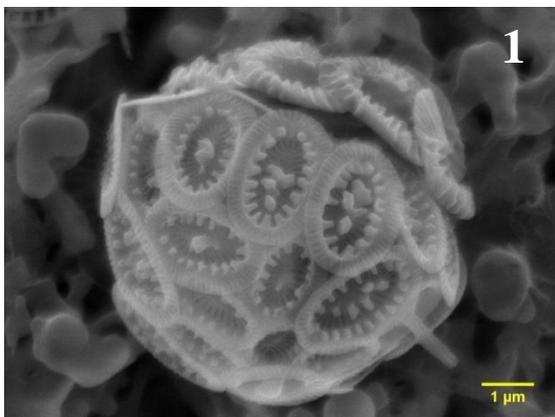
***Gaardelia corolla***

Cocolito exotecal en vista proximal (1) CRI01404, estación 6, 10.



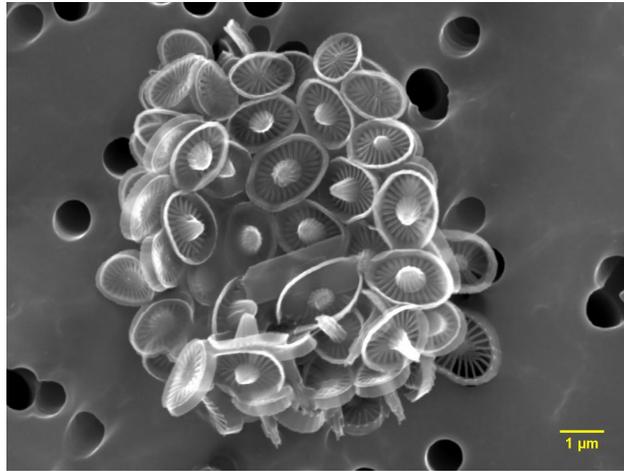
***Syracosphaera molischii***

Cocósferas completas. (1) CRI01412, estación 5, profundidad = 10 m. (2) CRI01412, estación 5, profundidad = 10 m. (3) Cocósfera completa de *S. molischii* junto a una cocósfera de *E. huxleyi* ligeramente calcificado, CRI01412, estación 6, profundidad = 10 m. (4) CRI01412, estación 6, profundidad = 10 m.



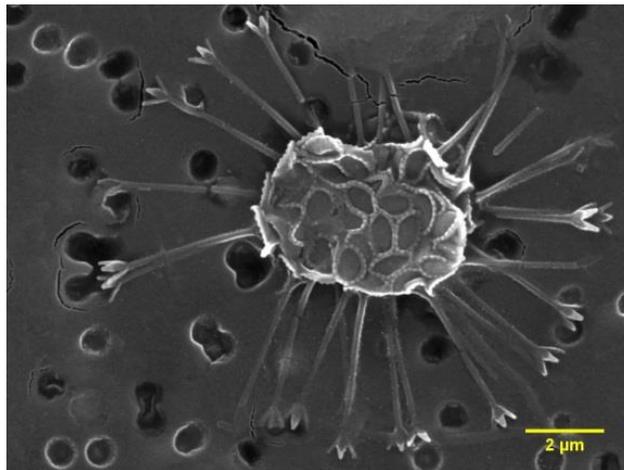
***Syracosphaera noroitica*** Knappertsbusch

Cocósfera completa con cocolitos elípticos con una pequeña protuberancia en el centro, borde del cocolito con zona central plana, CRIO1504, estación 7, 30m (st7-30m-18).



***Pappomonas sp. Type 3***

Cocósfera completa con papolitos varimórficos con una larga columna vertebral con un pequeño cáliz distal como una flor, CRIO1504, estación 6, 10m.



***Polycrater sp.***

Cocósfera con pequeños cocolitos dispuestos en filas ligeramente curvas, CRIO1404, estación 6, 10m (st6-10m-19).

