# Métodos.

## Área de estudio.

El Distrito Nacional de Manejo Integrado (DNMI) Cabo Manglares, Bajo Mira y Frontera, se encuentra ubicado en el municipio de Tumaco, departamento de Nariño delimitado entre las latitudes 1°29'44” N y 1°40'04” N; y las longitudes 78°53'11 W y 79°09'40 W. En este distrito se ubica la desembocadura del río Mira y se caracteriza por ser un amplio sistema deltaico que abarca desde la bahía de Tumaco hasta la bahía de Ancón de Sardinas entre la frontera de Ecuador y Colombia.

Los regímenes mareales de esta área se caracterizan por tener amplitudes que pueden llegar hasta los 4 metros (Polo, et al., 2008), esto hace que en el área se presenten amplio planos lodoso y extensas áreas intermareales donde se ubican bosques de manglar (*e.g Rhizophora spp.*) principalmente (Zambrano-Ortiz, et al., 2014).

En esta última bahía se ubicaron 18 estaciones de muestreo (Tabla 1) que se distribuyeron en grupos de 6 estaciones separadas en 2, 5 y 10 millas de la costa (Figura 1).

## Fase de Campo.

## Se realizaron muestreos en cada una de las estaciones en la fase diurna de la marea alta y la marea baja de los días 25 al 30 de noviembre de 2018. En cada estación se registró la transparencia del agua por medio de un disco Secchi, la temperatura y la salinidad por medio de un perfilador CTD 19 PLUS y se colectaron muestras de agua a nivel superficial para la realización de los análisis químicos con una botella Niskin de 5L, las cuales fueron preservadas y transportadas al laboratorio del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico – CCCP para posteriormente ser procesadas y analizadas.

Las muestras de plancton se colectaron con redes de arrastre utilizando una red cónica de 30 cm de diámetro y de 53 µm de poro de malla para el fitoplancton y una red tipo bongo de 50 cm de diámetro con 300 y 500 µm de poro de malla para el zooplancton; cada una de las redes contaba con un flujómetro mecánico marca *General Oceanic®* para los posteriores cálculos de volumen de agua filtrado. Se realizaron arrastres superficiales de 5 minutos aproximadamente a una velocidad de dos nudos desde un bote tipo *Zodiac*®, luego de esto se preservó 1 litro de cada tipo de muestra de plancton, con formol buferizado al 4% y se transportaron al laboratorio para su posterior análisis.

Control de Calidad

El control de calidad de la toma de muestra se garantizó siguiendo los protocolos de toma de muestras de Sistema de Gestión del Laboratorio se llevó a cabo siguiendo los protocolos internacionales descritos en Rice et al. (2017), tanto para la obtención de muestras con redes como con botellas. Cada lance se registró meticulosamente en la bitácora de crucero, y los datos fueron verificados en cubierta por al menos dos investigadores, y en cabina por otro. Si surgía alguna discrepancia en los pasos del muestreo o si los datos recolectados eran imprecisos o dudosos, se repetía el proceso.

En el laboratorio, la revisión de las muestras de fitoplancton se realizó conforme a la metodología detallada en el manual de fitoplancton de Edler y Elbrächter (2010). Al finalizar cada jornada de trabajo, los resultados se documentaban en formato físico y digital. Cualquier incertidumbre en la identificación de especies era abordada mediante una revisión conjunta por parte de los investigadores responsables del componente.

Para calcular la abundancia, se aplicaron las fórmulas pertinentes, las cuales fueron revisadas por al menos dos investigadores diferentes a los que identificaron las muestras. Estas fórmulas fueron evaluadas según las directrices establecidas en los manuales de fitoplancton, incluyendo el de Edler y Elbrächter (2010).

Con respecto a la organización, unificación y actualización de la taxonomía, se llevó a cabo una verificación de los nombres con la información del Registro Mundial de Especies Marinas – WoRMS (WoRMS Editorial Board, 2019). Durante este proceso, se corrigieron nombres mal escritos, se actualizaron sinonimias y se eliminaron términos desactualizados.

Por último, se realizó un control de calidad de la estructura de la base de datos, asegurándose de que cumpliera con los estándares del Darwin Core, utilizando la herramienta de publicación integrada – IPT.

## Fase de Laboratorio.

De las muestras de agua colectadas se realizaron análisis químicos para determinar el pH, las concentraciones de solidos suspendidos y nutrientes como el amonio, nitritos, nitratos, fosfatos y silicatos. La determinación del amonio se realizó siguiendo el método colorimétrico del azul de indofenol descrito por Strickland y Parsons (1972) para nitritos se aplicó el método colorimétrico descrito por Bendschneider y Robinson (1952), para los nitratos el método colorimétrico de reducción con cadmio-cobre publicado por Strickland y Parsons (1972), para fosfatos el método del ácido ascórbico de Murphy & Riley (1958) y para silicatos el método del metol-sulfito descrito por Strickland & Parson (1972).

De las muestras biológicas colectadas se determinó el número de géneros y abundancia de células de fitoplancton por litro por medio de la toma de alícuotas y el posterior conteo en una cámara Sedgwick-Rafter de 1 ml de volumen. Junto a esto se determinó la concentración de clorofila –a utilizando el método tricromático 10200 H descrito en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater* (American Public Health Association (APHA), 2005). De las muestras de zooplancton se extrajeron todos los estadios de las larvas de peces y se calculó su abundancia. Posterior a esto, de la muestra restante de zooplancton se separaron alícuotas de ½ (500 ml) por medio de un fraccionador Folsom. Una de las alícuotas fue destinada para el cálculo de la productividad secundaria de la comunidad zooplanctónica, exceptuando las larvas de peces. La otra alícuota fue preservadas para posteriores análisis de la comunidad zooplanctónica que serán tratados en otras publicaciones.

## Análisis de Datos.

En total se obtuvieron datos para 26 variables que se dividieron en 2 físicas (temperatura superficial del mar (°C) y transparencia medida en metros), 8 químicas (solidos suspendidos (mg/L), salinidad (PSU), amonio (µM), nitritos (µM), nitratos (µM), fosfatos (µM), silicatos (µM) y pH) y 16 variables biológicas obtenidas de la comunidad fitoplanctónica y zooplanctónica. A partir de la primera se midió la diversidad (Índice de Shannon (H’) e índice de Simpson (D)), abundancia (Células/Litro), Número de géneros y equidad (Índice de equidad de Pielou). Como indicador de la productividad primaria se obtuvo la concentración de clorofila superficial. A partir de la comunidad del zooplancton se midió la productividad secundaria representada por el biovolúmen, el peso húmedo, el peso seco y el peso sin ceniza.

Para evaluar si existieron diferencias significativas para las 26 variables medidas entre las dos mareas, se realizó una prueba de rangos de Wilcox debido a que no fue posible la normalización de los datos con las transformaciones que se les aplicaron.

Se realizó una matriz de correlación múltiple con el coeficiente de correlación de Spearman (ρ) para evaluar la magnitud de la relación entre las variables, enfocándose sobre todo entre las variables de clorofila y biomasa con las variables fisicoquímicas.

Para estudiar el tipo de distribución que presentaron las variables entre las mareas y la existencia de autocorrelación espacial en cada una de ellas, se calculó a través del programa R el I de Moran y se evaluó con un test de Monte Carlo con un nivel de significancia de α=0.01, calculando la matriz de pesos de distancia inversa a partir de las posiciones geográficas de las estaciones de muestreo. Se realizaron mapas de distribución con el programa ArcGIS®, calculados con el método de interpolación de *Kriging* para tener un referente visual de la distribución de las variables.