

CONTENIDO

Comunicación corta

Biotecnología

Efecto de los metabolitos de las raíces de *Avena sativa*, *Medicago sativa*, *Brachiaria decumbens* y *Brassica juncea* en la degradación de PCBs

7-13

Nancy J. Pino-Rodríguez, Luisa M. Muñera-Porras, Gustavo A. Peñuela-Mesa

Artículos científicos completos

Genética, Biología Celular y Molecular

El reto inmunológico con promastigotes de *Leishmania (Viannia) panamensis* en *Galleria mellonella* modula cambios en los perfiles de expresión de proteínas de bajo peso molecular

14-23

Isabel A. Patiño-Márquez, Marcela Manrique-Moreno, Laura Hernández-Villa, Blanca Ortíz-Reyes, Edwin Patiño-González

Evaluación de las variantes génicas en los genes *CYP2A6* y *CHRNA5* y de sus implicaciones en la adicción al tabaco en la población de Itagüí, Colombia

24-30

Estefanía Cardona-Villa, Juliana Martínez-Garro, Gloria Sierra-Hincapié, Yolanda Torres

Sistemática de la Diversidad Biótica

Una nueva especie de *Manekia* Trel. (Piperaceae) en el Noroccidente de Colombia

31-42

Daniel Silva-Sierra, Ricardo Callejas-Posada

Comparación morfológica y distribución geográfica de las especies *Tabellaria fenestrata* y *Tabellaria flocculosa* (Bacillariophyceae) en sistemas lóticos y lénticos de Colombia

43-50

Mario F. Medina-Tombé, Silvia E. Sala, Amelia A. Vouilloud, John J. Ramírez-Restrepo

Sección especial: Ecosistemas Lóticos Costeros.

Artículos sometidos a revisión por pares, seleccionados durante el 3er Congreso Latinoamericano de Macroinvertebrados de Agua Dulce (CLAMAD), Red MacroLatinos, Santa Marta (Colombia), 14-18 marzo 2016.

Editores temáticos invitados: Juan Felipe Blanco Libreros (Universidad de Antioquia), María del Carmen Zúñiga de Cardozo (Universidad del Valle) y Gabriel Antonio Pinilla Agudelo (Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá).

51-57

Composición y estructura de heterópteros (Hemiptera) en ecosistemas lóticos costeros del Pacífico colombiano

Dora Nancy Padilla-Gil

58-65

Comunidades de arañas ribereñas como indicadores de la condición de los ecosistemas fluviales en la cuenca del Río Piedras de Puerto Rico

Roberto Reyes-Maldonado, José A. Sánchez-Ruiz, Alonso Ramírez, Sean P. Kelly

66-74

Densidad, biomasa y hábitos alimentarios de *Anacroneturia* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) en un río tropical

Tatiana K. Sierra-Labastidas, Cesar E. Tamaris-Turizo, Shisley A. Reyes Picón, Guillermo Rueda-Delgado

75-81

Estado del conocimiento de los macroinvertebrados acuáticos de la isla La Española

Ruth H. Bastardo, América Sánchez-Rosario

82-100

Variación temporal de la diversidad taxonómica y rasgos funcionales de los macroinvertebrados acuáticos en ríos temporales en la isla de Providencia, Colombia

Ángela J. Motta Díaz, Magnolia Longo, Nelson Aranguren-Riaño

Otros

101-104

Instrucciones para los autores

109

Consideraciones éticas

Figuras de la portada

De izquierda a derecha, en el sentido de las manecillas del reloj

Figura 1. Apariencia de las larvas de *G. mellonella*. **A.** Larvas control PBS. **B.** Larvas retadas con 1×10^6 parásitos/mL. **C.** Larvas retadas con 1×10^7 parásitos/mL. **D.** Larvas retadas con 1×10^8 parásitos/mL (ver, *El reto inmunológico con promastigotes de Leishmania (Viannia) panamensis en Galleria mellonella modula cambios en los perfiles de expresión de proteínas de bajo peso molecular*; Isabel A. Patiño-Márquez, Marcela Manrique-Moreno, Laura Hernández-Villa, Blanca Ortiz-Reyes, Edwin Patiño-González, p. 14-23).

Figura 1. *Manekia betancurii*. **A.** Vista general de la planta y ramas simpodiales; la barra de escala corresponde a 5 cm. **B.** Detalle del margen peciolar sobre la base de la hoja; la barra de escala corresponde a 5 mm. **C.** Hoja de eje monopodial. **D.** Detalle de indumento sobre la superficie inferior de la hoja; la barra de escala corresponde a 3 mm. **E.** Diagrama floral. Todo ilustrado del espécimen Callejas et al. 2980, HUA (ver, *Una nueva especie de Manekia Trel. (Piperaceae) en el Noroccidente de Colombia*, Daniel Silva-Sierra, Ricardo Callejas-Posada, p. 31-42).

Figura 2. *Manekia betancurii*. **A.** Vista general de una planta individual. **B.** Vista cercana de las ramas simpodiales y las espigas. **C.** Detalle del indumento sobre el tallo. (i) indumento, (p) peciolo, (s) tallo. **D.** Detalle de la espiga en el fruto. (sfb) cicatriz de la base del filamento, (stg) estigma. Fotos de Paola Pedraza y Julio Betancur, tomadas en la localidad tipo en el noroeste de Colombia (ver, *Una nueva especie de Manekia Trel. (Piperaceae) en el Noroccidente de Colombia*, Daniel Silva-Sierra, Ricardo Callejas-Posada, p. 31-42).

Figura 3. *Tabellaria flocculosa*. **A.– G.** MO. **A.– D.** Valvas en vista valvar. **E.** y **F.** Frústulos en vista conectival (la flecha indica los septos). **G.** Banda conectival (las flechas indican que las bandas son cerradas y los septos). **H.– O.** MEB. **H.** Valva en vista externa. **I.** Centro de la valva en vista externa (las flechas indican la ubicación de la rimoportula y las espinas marginales). **J.** Campo de poros apical. **K.** Valva en vista interna. **L.** Zona central de la valva en vista interna (las flechas indican el área hialina y la rimoportula). **M.** Banda conectival (la flecha muestra las bandas cerradas y los septos). **N.** y **O.** hilera de pequeños poros en las bandas. Escala de la barra: 10 μ m (ver, *Comparación morfológica y distribución geográfica de las especies Tabellaria fenestrata y Tabellaria flocculosa (Bacillariophyceae) en sistemas lóticos y lénticos de Colombia*, Mario F. Medina-Tombé, Silvia E. Sala, Amelia A. Vouilloud, John J. Ramírez-Restrepo, p. 43-50).

Figura 6. Agrupación de las categorías de rasgos de macroinvertebrados en relación con la variación temporal en los ríos de estudio de la isla de Providencia, basado en el Análisis de Correlación fuzificado. Los cuadrados grandes representan los códigos de las categorías mencionados en la Figura 5 y los cuadrados pequeños señalan las estaciones. **1, 2, 3:** Lazy Hill en época seca; **4, 5, 6, 7:** Lazy Hill en época de lluvia; **8, 9, 10, 11, 12:** The Peak en época seca; **13, 14, 15:** The Peak en época de lluvia; **16, 17, 18:** Old Town en época seca; **19, 20, 21:** Old Town en época de lluvias. Porcentaje de inercia proyectado: eje 1 (37,77%), eje 2 (17,63%). (Para los códigos de los rasgos ver Figura 5). (ver, *Variación temporal de la diversidad taxonómica y rasgos funcionales de los macroinvertebrados acuáticos en ríos temporales en la isla de Providencia, Colombia*, Angela J. Motta Díaz, Magnolia Longo, Nelson Aranguren-Riaño, p. 82-100).

Actualidades Biológicas

Actual Biol; ISSN 0304-3584; ISSN e 2145-7166 se publica con el apoyo de:

- Instituto de Biología, Universidad de Antioquia
- Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia
- Comité para el Desarrollo de la Investigación – CODI-, Universidad de Antioquia
- Fondo de apoyo a revistas indexadas (Vicerrectoría de Investigación-Secretaría General), Universidad de Antioquia

TABLE OF CONTENTS

Short communication

Biotechnology

7-13

**PCBs Rhizoremediation assessment using *Avena sativa*,
Medicago sativa, *Brachiaria decumbens* and *Brassica juncea***

Nancy J. Pino-Rodríguez, Luisa M. Muñera-Porras, Gustavo A. Peñuela-Mesa

Full papers

Genetics, Cellular and Molecular Biology

14-23

***Galleria mellonella* immunological challenge with *Leishmania* promastigotes triggers changes on the profile expression of low molecular weight proteins**

Isabel A. Patiño-Márquez, Marcela Manrique-Moreno, Laura Hernández-Villa, Blanca Ortiz-Reyes, Edwin Patiño-González

24-30

Evaluation of gene variants in the *CYP2A6* and *CHRNA5* genes and their implications for addiction to tobacco in the population of Itagüí, Colombia

Estefanía Cardona-Villa, Juliana Martínez-Garro, Gloria Sierra-Hincapié, Yolanda Torres

Systematics of Biotic Diversity

31-42

A new species of *Manekia* Trel. (Piperaceae) in Northwest Colombia

Daniel Silva-Sierra, Ricardo Callejas-Posada

43-50

Morphological comparison and geographic distribution of the species *Tabellaria fenestrata* and *Tabellaria flocculosa* (Bacillariophyceae) in lotic and lentic systems in Colombia

Mario F. Medina-Tombé, Silvia E. Sala, Amelia A. Vouilloud, John J. Ramírez-Restrepo

Special section: Coastal Lotic Ecosystems

Research papers submitted for peer review, selected during the 3rd Latin American Congress of Macroinvertebrates of Fresh Water (CLAMAD), MacroLatinos Network, Santa Marta (Colombia), March 14-18, 2016.

Guest thematic editors: Juan Felipe Blanco Libreros (Universidad de Antioquia), María del Carmen Zúñiga de Cardozo (Universidad del Valle) y Gabriel Antonio Pinilla Agudelo (Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá).

Composition and structure of the heteropterans (Hemiptera) on coastal lotic ecosystems from Colombian Pacific

Dora Nancy Padilla-Gil

51-57

Riparian spider communities as indicators of stream ecosystem condition in the Río Piedras watershed of Puerto Rico

Roberto Reyes-Maldonado, José A. Sánchez-Ruiz, Alonso Ramírez, Sean P. Kelly

58-65

Density, biomass and feeding of *Anacroneuria* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) in a tropical river

Tatiana K. Sierra-Labastidas, Cesar E. Tamaris-Turizo, Shisley A. Reyes Picón, Guillermo Rueda-Delgado

66-74

State of knowledge of aquatic macroinvertebrates of Hispaniola island

Ruth H. Bastardo, América Sánchez-Rosario

75-81

Temporal variation of taxonomic diversity and functional traits of aquatic macroinvertebrates in temporary rivers on Old Providence Island, Colombia

Angela J. Motta Díaz, Magnolia Longo, Nelson Aranguren-Riaño

82-100

Others

○ **Submission guidelines**

105-108

○ **Ethical considerations**

110

Cover figures

Figure 1. Appearance of *G. mellonella* larvae. **A.** PBS control larvae. **B.** Larvae challenged with 1×10^6 parasites/mL. **C.** Larvae challenged with 1×10^7 parasites/mL. **D.** Larvae challenged with 1×10^8 parasites/mL (see, *El reto inmunológico con promastigotes de Leishmania (Viannia) panamensis en Galleria mellonella modula cambios en los perfiles de expresión de proteínas de bajo peso molecular*; Isabel A. Patiño-Márquez, Marcela Manrique-Moreno, Laura Hernández-Villa, Blanca Ortiz-Reyes, Edwin Patiño-González, p 14-23).

Figure 1. Manekia betancurii. **A.** General view of the plant and sympodial branches; scale bar equals 5 cm. **B.** Detail of petiolar margin above the leaf base; scale bar equals 5 mm. **C.** Leaf of monopodial axis. **D.** Detail of indumentum on lower surface of leaf; scale bar equals 3 mm. **E.** Floral diagram. All taken from Callejas et al. 2980, HUA (see, *A new species of Manekia Trel. (Piperaceae) in Northwest Colombia*, Daniel Silva-Sierra, Ricardo Callejas-Posada, p. 31-42).

Figure 2. Manekia betancurii. **A.** General view of an individual plant. **B.** Close view of sympodial branches and the spikes. **C.** Detail of indumentum on stem. (i) indumentum, (p) petiole, (s) stem. **D.** Detail of spike in fruit. (sfb) scar of filament base, (stg) stigmata. Photos by Paola Pedraza and Julio Betancur, taken at the type locality in NW Colombia (see, *A new species of Manekia Trel. (Piperaceae) in Northwest Colombia*, Daniel Silva-Sierra, Ricardo Callejas-Posada, p. 31-42).

Figure 3. Tabellaria flocculosa. **A.- G.** OM. **A.- D.** Valves in valve view. **E.** and **F.** Frustules in connective view (the arrow indicates the septae). **G.** Connective band (the arrows indicate that the bands are closed and the septa). **H.- O.** SEM. **H.** Valve in external view. **I.** Center of the valve in external view (the arrows indicate the location of the rimoportula and the marginal spines). **J.** Apical pore field. **K.** Valve in internal view. **L.** Central area of the valve in internal view (the arrows indicate the hyaline area and the rimoportula). **M.** Connective band (arrow shows closed bands and septae). **N.** and **O.** Row of small pores in the bands. Scale of the bar: 10 μm (see, *Comparación morfológica y distribución geográfica de las especies Tabellaria fenestrata y Tabellaria flocculosa (Bacillariophyceae) en sistemas lóticos y lénticos de Colombia*, Mario F. Medina-Tombé, Silvia E. Sala, Amelia A. Vouilloud, John J. Ramírez-Restrepo, p. 43-50).

Figure 6. Macroinvertebrate trait categories in relation to the temporal variation in the study rivers of Providencia Island, based on the Fuzified Correlation Analysis. The large squares represent the codes of the categories mentioned in Figure 5, and the small squares indicate the seasons. **1, 2, 3:** Lazy Hill in the dry season; **4, 5, 6** and **7:** Lazy Hill in the rainy season; **8, 9, 10, 11, 12:** The Peak in the dry season; **13, 14** and **15:** The Peak in rainy season; **16, 17** and **18:** Old Town in the dry season; **19, 20** and **21:** Old Town in the rainy season. Projected inertia percentage: axis 1 (37.77%), axis 2 (17.63%). (For feature codes see Figure 5). (see, *Temporal variation of taxonomic diversity and functional traits of aquatic macroinvertebrates in temporary rivers on Old Providence Island, Colombia*, Angela J. Motta Díaz, Magnolia Longo, Nelson Aranguren-Riaño, p. 82-100).

Actualidades Biológicas

Actual Biol; ISSN 0304-3584; ISSNe 2145-7166 is published with support from:

- Institute of Biology, Universidad de Antioquia
- Faculty of Exact and Natural Sciences, Universidad de Antioquia
- Committee for Research Development – CODI-, Universidad de Antioquia
- Universidad de Antioquia (Research and General Secretaries). Funding for supporting indexed journals

Efecto de los metabolitos de las raíces de *Avena sativa*, *Medicago sativa*, *Brachiaria decumbens* y *Brassica juncea* en la degradación de PCBs

PCBs Rhizoremediation assessment using *Avena sativa*, *Medicago sativa*, *Brachiaria decumbens* and *Brassica juncea*

Nancy J. Pino-Rodríguez^{1,2*}, Luisa M. Muñera-Porras¹,
Gustavo A. Peñuela-Mesa¹

Resumen

Este trabajo evaluó el efecto de los compuestos liberados durante la renovación de raíces de cuatro plantas: *Avena sativa*, *Brachiaria decumbens*, *Brassica juncea* y *Medicago sativa*, en la degradación de seis congéneres de bifenilos policlorados (PCBs) en un suelo contaminado con Aroclor 1260. Los ensayos se realizaron en microcosmos con 20 g de suelo a los cuales se les adicionaron triturados de raíces de las plantas cultivadas en suelo contaminado con PCBs y se usaron como controles: suelo con bifenil y con ácido salicílico y suelo sin adiciones. Los microcosmos se incubaron durante 45 días en condiciones controladas. Al finalizar la incubación se tomaron muestras para la determinación de la concentración de los PCB 44, PCB66, PCB118, PCB138, PCB153, PCB180 y PCB170, del gen *BphA1* y determinación de la hidrólisis de fluoresceína. También se analizaron los extractos obtenidos de la raíz para identificar metabolitos secundarios. En los microcosmos con *Brassica juncea* y con bifenil se observó disminución de la concentración de los PCB66, 118 y 138. Así mismo, en estos microcosmos se observó mayor concentración del gen *BphA1* y de fluoresceína. Los análisis de los extractos de raíz permitieron identificar diferentes metabolitos secundarios asociados con las plantas, siendo los extractos de la planta *Brassica juncea* donde se detectó mayor número de metabolitos. Los resultados permitieron comprobar el efecto de los compuestos liberados por las raíces de ciertas plantas sobre las poblaciones microbianas del suelo con capacidad de degradar PCBs.

Palabras Clave: PCB, rizoremediación, fitoremediación, microorganismos del suelo, residuo peligroso

Abstract

This work evaluated the effect of compounds releases during the root turnover of *Avena sativa*, *Medicago sativa*, *Brachiaria decumbens* and *Brassica juncea* on degradation of 6 Polychlorinated biphenyls congeners, in a soil polluted with Aroclor 1260. The tests were conducted in microcosm with 20 g of soil to which were added crushed roots of plants previously grown in soil contaminated with PCBs. Microcosms with biphenyl, salicylic acid, and without additions were used as controls. Microcosms were incubated for 45 days under controlled conditions. After incubation time, concentration of PCBs 44, PCB66, PCB118, PCB138, PCB153, PCB180 and PCB170 was determined. *BphA1* gene concentration and hydrolysis of fluorescein were also evaluated. Root extracts of plants were analyzed in order to identify some secondary metabolites. In the microcosm with *Brassica juncea* and biphenyl concentration decreasing of PCBs 66, 118, and 138 was observed. The higher concentration of *BphA1* gene and fluorescein was also observed in *Brassica juncea* and biphenyl microcosms. The analysis of root extracts allowed identifying different secondary metabolites associated with the roots plant, especially in *Brassica juncea* root extracts. The results allowed testing the effect of the compounds released by the roots of certain plants in the soil microbial populations capable of degrading PCBs.

Key words: PCB, rhizoremediation, phytoremediation, soil microorganisms, hazardous waste

INTRODUCCIÓN

Los Bifenilos Policlorados (PCBs) son un grupo de 209 compuestos obtenidos por la cloración catalítica del anillo del bifenil (Vasilyeva y Strijakova 2007). Debido a sus características fisicoquímicas fueron ampliamente utilizados a nivel industrial con diferentes propósitos, entre los cuales se describen su uso como intercambiadores de calor y fluidos dieléctricos en transformadores eléctricos (Erickson y Kaley 2010). Los PCBs se distribuyeron como mezclas de congéneres por diferentes marcas comerciales, siendo Aroclor®, la marca de Monsanto, una de las mezclas más utilizadas (Passatore et al. 2014).

Considerando los efectos adversos para el ambiente y la salud humana, la fabricación de PCBs fue prohibida en 1970; sin embargo, dada su afinidad por la materia orgánica y su resistencia a la degradación, son compuestos persistentes en suelos y sedimentos (Fiedler et al. 2013, Xu et al. 2010). Aunque su fabricación fue prohibida hace más de 40 años (Gomes et al. 2013), en Colombia todavía existen transformadores que contienen aceites con PCBs y en el mundo se ha registrado un gran número de sitios contaminados como resultado del extensivo uso industrial de los PCBs en el pasado (Yi-Fan et al. 2010, Vasilyeva y Strijakova 2007). Actualmente, los PCBs se encuentran en la lista de Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs), prioritarios para ser eliminados para el 2025, según el convenio de Estocolmo

Recibido: agosto de 2016; aceptado: octubre de 2017.

¹ Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación. Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, Calle 70 # 52-21, Medellín. Colombia.

² Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Calle 70 # 52-21, Medellín, Colombia

Correos electrónicos: <nancyjohanna@gmail.com>, <luisamunera@gmail.com>, <gustavo.penuela@udea.edu.co>

* Autor para correspondencia

(Fiedler et al. 2013). Colombia firmó el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP), lo que obliga al país a realizar esfuerzos destinados a lograr una gestión ambientalmente adecuada de los desechos y ambientes contaminados con PCBs, a más tardar, en el 2028.

Los métodos tradicionales para el tratamiento de suelos y sedimentos contaminados con PCBs incluyen excavación con posterior incineración del suelo, extracción con solventes y desorción térmica; estos métodos son altamente costosos y generan un impacto ambiental negativo (Slater et al. 2011), por lo que no pueden utilizarse a gran escala para recuperar los grandes volúmenes de suelos contaminados con PCBs que se calcula hay en la actualidad (Narasimhan et al. 2003). La rizoremediación, un tipo de fitoremediación, utiliza la capacidad que tienen ciertas plantas para promover el crecimiento y la actividad de bacterias degradadoras de compuestos orgánicos contaminantes (Uhlík et al. 2013). Para el caso de los PCBs se han registrado varias especies de plantas que favorecen la disminución de la concentración de PCBs en su rizósfera por diferentes mecanismos como son el cometabolismo, el incremento de la biodisponibilidad de los PCBs y de la aireación del suelo (Van Aken et al. 2010). Otro mecanismo importante que se ha registrado es la liberación de metabolitos secundarios por las plantas (Leigh et al. 2006) durante el crecimiento de sus raíces, los cuales pueden ser usados por los microorganismos como fuente de energía o como inductores de la vía catabólica del bifenil (Singer et al. 2004), vía metabólica usada por los microorganismos aerobios para la degradación de PCBs. La identificación de especies que promueven la degradación de PCBs por microorganismos rizosféricos es esencial para desarrollar un proceso de rizoremediación exitoso.

Aunque hay varias investigaciones que registran el aumento en la degradación microbiana de PCBs por el efecto de los metabolitos exudados por las raíces de diferentes especies de plantas (Passatore et al. 2014), aun no se tiene mucha información de los compuestos presentes en los exudados responsables de este efecto. La mayoría de los estudios se ha realizado en laboratorio, mediante medios de cultivo controlados (Toussaint et al. 2012, Pham et al. 2012). Dado que la composición de los exudados puede verse afectada por el tipo de suelo y por el tipo de PCBs, es necesario evaluar el efecto de los metabolitos liberados por las plantas sobre las poblaciones microbianas para determinar su utilidad y optimizar los procesos de rizoremediación. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de los compuestos liberados por las raíces de *Avena sativa* (avena), *Brachiaria decumbens*, *Brassica juncea* (mostaza) y *Medicago sativa* (alfalfa) en la degradación de PCBs por microorganismos en el suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Suelo. El suelo fue obtenido de un vivero y fue contaminado artificialmente con 600 ml de aceite de transformador con Aroclor® 1260, el cual fue agregado en porciones de 50 ml agitando cada vez para asegurar la distribución homogénea de los PCBs. El suelo contaminado fue guardado por seis meses para su estabilización y posterior uso. Antes de iniciar los ensayos se realizaron análisis fisicoquímicos del suelo mediante métodos estándar (IGAC 2006) y se clasificó como franco arcillo arenoso; la concentración de nitrógeno total fue 1,9 mg/kg, la de fósforo 134 mg/kg y el pH 7,1. La concentración de los congéneres de PCBs analizados se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Congéneres de PCB utilizados y su concentración.

Congéneres de PCB	Concentración mg/kg
44 (2,2',3,5'-Tetraclorobifenil)	0,53 mg/kg
66 (2,3',4,4'-Tetraclorobifenil)	1,1 mg/kg
118 (2,3',4,4',5'-Pentaclorobifenil)	21,8 mg/kg
138 (2,2',3,4,4',5'-Hexaclorobifenil)	38,7 mg/kg
153 (2,4,5,2',4',5'-hexaclorobifenil)	6,2 mg/kg
170 (2,2',3,3',4,4',5'-Heptaclorobifenil)	2,4 mg/kg
180 (2,2',3,4,4',5,5'-Heptaclorobifenil)	17 mg/kg

Obtención de raíces. Para este ensayo se utilizaron raíces de *Avena sativa* (avena), *Brachiaria decumbens*, *Brassica juncea* (mostaza) y *Medicago sativa* (alfalfa), las cuales fueron cultivadas previamente durante seis meses en suelo contaminado con Aroclor® 1260. Las raíces fueron separadas del resto de la planta y se lavaron con agua destilada para remover el exceso de suelo y posteriormente se conservaron a 4 °C hasta su uso. Para los ensayos en microcosmos se utilizaron las raíces finas (≤ 1 mm de diámetro y 1 a 5 mm de longitud), las cuales fueron cortadas de las raíces más largas, maceradas usando nitrógeno líquido e inmediatamente añadidas al microcosmos (Slater et al. 2011).

Microcosmos. Los microcosmos se llevaron a cabo de manera similar a lo descrito por Slater et al. (2011) con algunas modificaciones. Se utilizaron botellas de vidrio con 20 g de suelo y se agregó

1 g del macerado obtenido de las raíces de cada planta. Como control se utilizó suelo con 5 mg de bifenil disuelto en acetona o 5 mg de ácido salicílico disuelto en agua. También se realizó un control sin adición de raíces ni compuestos. La humedad se mantuvo en 60%. Las botellas se mezclaron por agitación manual y los aglomerados de suelo fueron destruidos con una espátula estéril. Las botellas fueron selladas con tapones de caucho y se introdujo una aguja para permitir el intercambio de gases. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Para el control con bifenil, antes de sellar las botellas, se permitió la evaporación de la acetona. Los microcosmos fueron incubados a 28 °C en oscuridad y se tomaron muestras a los 45 días para determinar la concentración de PCBs, la concentración del gen *BphA1* y la actividad enzimática de la fluoresceína.

Cuantificación del gen *BphA1*. Para determinar la concentración del gen *BphA1*, el ADN fue extraído del suelo usando el kit Powersoil® (Mo Bio, CA, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se usaron los cebadores A13 (5'ATGTTCCGCCA-GCACATGACG 3') y A1r (5'GTCAAGAGCGGCAGCAGGAC 3') (Li et al. 2013). La reacción de PCR se llevó a cabo en un termociclador LightCycler 1.5 (Roche®, Bogotá, Colombia). El volumen final de reacción fue 20 µl que contenían 10 µl del FastStart SYBR Green Master (Roche®, Bogotá Colombia), 0,5 mM de cada primer y 10 µl de ADN o agua grado PCR como control negativo. El protocolo de amplificación fue: 1 ciclo a 95 °C por 10 min, seguido por 45 ciclos a 95 °C por 30 s, 50 °C por 30 s y 72 °C por 1 min.

Análisis de PCBs en suelo. Los PCBs evaluados fueron PCB44, PCB66, PCB118, PCB138, PCB153, PCB180 y PCB170 (tabla 1) que son los congéneres más representativos del Aroclor® 1260 (US-EPA 2007). La extracción de los PCBs del suelo se realizó de acuerdo con el método 8082A (US-EPA 2007). Para la extracción de PCBs del suelo se tomaron 10 g de suelo previamente seco a temperatura ambiente. La extracción se llevó a cabo con 20 ml de una mezcla de acetona: hexano 1:1 (Merck®, Darmstadt, Alemania), luego se sonicó por 20 min en un baño ultrasónico y se filtró a través de un acrodisco de 0,22 µm de nylon Whatman®. Este proceso se repitió tres veces. El extracto fue secado con nitrógeno hasta 1 ml y se reconstituyó a 5 ml con hexano. Para la limpieza del extracto se utilizó ácido sulfúrico al 50%. El proceso de limpieza se repitió las veces que fue necesario. La cuantificación de los congéneres de PCBs se realizó por cromatografía GC-MS. El procedimiento se realizó en un cromatógrafo modelo 7890A acoplado a un espectrómetro de masas MSD modelo 5975C, con energía de ionización por impacto electrónico de 70eV y un automuestreador 7693 (Agilent®, CA, USA). Se usó una columna capilar HP-5MS UI de 30m de longitud, 0,25mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de película (Agilent®, CA, USA). Para la adquisición de datos se utilizó el software Chemstation® de la misma casa comercial. Como estándar interno se utilizó el PCB 209. Las condiciones cromatográficas para GC MS utilizadas fueron las siguientes: Gas de arrastre: Helio a 1,5 mL/min, Programa del horno: Comenzó a 40 °C durante 2 min, luego aumentó hasta 150 °C a una tasa de 30 °C/min por 1 min, posteriormente aumentó hasta 250 °C a una tasa de 3 °C/min, tiempo en el cual permaneció 1 min, se volvió a aumentar hasta 310 °C a una tasa de 25 °C/min, tiempo en el cual permaneció 10 min. El programa de temperatura también incluyó un post-run de 5 min a 310 °C. Volumen de inyección: 2 µL, Tipo adquisición: SIM/SCAN, Tiempo total corrido: 53,4 minutos. La remoción de PCBs se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ de Remoción de PCB} = 1 - \left(\frac{\text{Concentración final de PCB}}{\text{Concentración Inicial de PCB}} \right) \times 100$$

Determinación de la actividad enzimática de fluoresceína. Dos gramos de suelo se depositaron en tubos cónicos de 50 ml, se añadieron 15 ml de buffer fosfato pH 7,6 y 200 µl de FDA (Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA), se agitaron manualmente y se incubaron a 30 °C a 100 rpm por 20 min. Después del tiempo de incubación se agregaron 15 ml de una solución de cloroformo/

metanol (Merck®, Darmstadt, Alemania) y se agitó manualmente; los tubos se centrifugaron a 2000 rpm por 3 min, luego se filtró el sobrenadante con filtros de nylon de 0,45 µm Whatman® y se determinó la absorbancia a 490 nm (Adam y Duncan 2001). La concentración de fluoresceína se determinó a partir de una curva basada en un estándar de fluoresceína (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA).

Obtención de extractos de la raíz. Para la obtención de extractos de raíz, con el fin de identificar metabolitos secundarios, las raíces fueron lavadas con abundante agua destilada hasta remover todas las partículas de suelo, cortadas en pequeños trozos y maceradas en un mortero; posteriormente se agregó agua y se continuó el macerado utilizando un homogenizador. La suspensión fue centrifugada y se conservó el sobrenadante. El proceso de macerado se repitió dos veces con el precipitado. Los extractos de las raíces fueron esterilizados por filtración mediante un filtro de 0,45 µm Whatman® y se conservaron a 4 °C hasta su análisis.

Identificación de metabolitos secundarios en los exudados. Los análisis cromatográficos se llevaron a cabo con un sistema UltiMate 3000 RS UHPLC (Thermo Scientific, MA, USA); la separación de los compuestos se realizó a través de una columna Hypersil GOLD aQ C18 (100 x 2,1 mm, 1,9 µm de tamaño de partícula) del mismo fabricante. La detección de los compuestos se realizó en un espectrómetro de masas de alta resolución Quadrupolo-Orbitrap™ de ThermoScientific Q Exactive. Se empleó una fuente de ionización ESI en modo positivo. Para la adquisición y procesamiento de los datos se empleó el software Xcalibur™ 2.2 con el programa Qual Browser (Thermo Scientific, MA, USA).

Análisis estadístico de los datos. Los datos fueron analizados a través del programa estadístico "R" empleando técnicas de exploración de datos, elaboración de modelos lineales, verificación de supuestos y pruebas de contraste entre medias para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Se analizó la respuesta de degradación de los PCBs en el suelo. Este análisis se realizó a través del modelo de los efectos teniendo en cuenta el efecto del factor PCB y el factor planta sobre la media de degradación de cada contaminante. El análisis se basó en modelos de regresión lineal en los cuales se evaluó el grado de significancia de cada factor de estudio sobre la variable respuesta correspondiente con un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS

Remoción de PCBs. El PCB 44 no fue detectado al finalizar el experimento en ninguno de los tratamientos, incluyendo los controles. Estudios previos han registrado que los PCBs menos clorados se volatilizan rápidamente al ser vertidos en el suelo, por lo que generalmente los PCBs encontrados en el suelo no corresponden a las mezclas comerciales vertidas inicialmente (Vasilyeva y Strijakova 2007). Esto sugiere que la pérdida del PCB 44 pudo estar relacionada con procesos fisicoquímicos y no se debió estrictamente a procesos biológicos.

En la tabla 2 se muestra el porcentaje de remoción de los congéneres. Al comparar los resultados obtenidos con los diferentes microcosmos, solamente en los que contenían raíces de mostaza y en el control con bifenil se observó remoción de únicamente los congéneres 66, 118 y 138. En los otros microcosmos no se observó una variación significativa en la concentración de los congéneres analizados. El metabolismo de los PCBs por microorganismos es afectado por el número de cloros en la molécula; generalmente, los PCBs menos clorados son lo que se degradan fácilmente (Furukawa y Fujihara 2008) lo cual puede explicar

por qué solo se observó disminución de la concentración de los congéneres 66, 118 y 138 que son tetra, penta y hexa clorados respectivamente y, dentro de los congéneres analizados, los que tenían menos contenido de cloro. Aunque el PCB 153 también es hexaclorado, no se observó remoción de este congénere en ninguno de los microcosmos. La posición de los cloros en la molécula afecta la actividad de las enzimas de la vía catabólica (Van Aken et al. 2010) posiblemente por un impedimento estérico, lo que podría explicar por qué solamente se observó remoción del PCB hexaclorado 138.

Tabla 2. Degradación de congéneres de PCB en microcosmos con raíces de plantas.

PBC	% Degradación Mostaza	% Degradación BIFENIL
66	65,8 ± 4,8	72,6 ± 8,3
118	51,7 ± 2,6	64,7 ± 3,1
138	31,8 ± 1,4	49,1 ± 7,2

El bifenil es el sustrato natural de la vía catabólica usada por los microorganismos para la degradación de PCBs (Furukawa y Fujihara 2008). Esto hace necesario utilizar moléculas que activen la vía catabólica para lograr la degradación de PCBs. El balance energético obtenido durante el metabolismo de los PCBs es negativo (Borja et al. 2005), lo cual se traduce en bajas tasas de degradación. Se ha demostrado en ensayos de *resting cell* con microorganismos degradadores de PCBs, que el bifenil puede activar la vía catabólica aumentando la degradación de PCBs (Toussaint et al. 2012); sin embargo, el uso de este compuesto para la recuperación de suelos no es viable, ya que también se ha demostrado su toxicidad (Slater et al. 2011). Esto hace necesario usar compuestos que activen dicha vía metabólica mediante una activación análoga a la que realiza el bifenil. Los resultados de remoción de PCBs obtenidos con las raíces de mostaza fueron muy similares a los obtenidos con bifenil, lo que sugiere que los compuestos producidos por esta planta tuvieron un efecto similar al del bifenil.

Se calcula que las plantas producen alrededor de 100.000 compuestos naturales de bajo peso molecular conocidos como metabolitos secundarios (Dardanelli et al. 2012). Estos compuestos tienen la capacidad de cambiar la biología de la rizósfera y mejorar la adaptación a un entorno particular (Wenzel 2009). Los metabolitos secundarios pueden ser usados como fuente de carbono y energía por los microorganismos o inducir determinadas vías catabólicas. Los compuestos fenólicos son el grupo más abundante de los metabolitos secundarios de las plantas (Toyama et al. 2009); dentro de este grupo de compuestos, los flavonoides pueden actuar como moléculas inductoras o señalizadoras en los microorganismos para la degradación de diversos compuestos, incluidos los PCBs (Ficko et al. 2011). Esta inducción depende del tipo de compuesto y se ha observado que algunos flavonoides pueden ser más eficientes que otros en la inducción (Toussaint et

al. 2012). El efecto inductor de los flavonoides, sobre la degradación de PCBs por microorganismos en el suelo, se ha relacionado con similitud en la estructura, ya que muchos poseen anillos aromáticos, lo cual hace que estos compuestos se comporten como moléculas análogas del bifenil y activen la vía catabólica (Pham et al. 2012). El proceso de muerte y renovación de las raíces es una fuente importante de flavonoides y se ha propuesto como uno de los mecanismos principales para la inducción de las vías catabólicas encargadas de la degradación de PCBs (Leigh et al. 2002, Slater et al. 2011), por esta razón, en este estudio, se seleccionaron las raíces más pequeñas, ya que son las que están relacionadas con el proceso de renovación radicular.

La composición de los productos de las raíces varía considerablemente con la planta y las condiciones ambientales, por lo que la inducción no siempre ocurre de la misma manera. En los microcosmos con avena, alfalfa, *Brachiaria*, ácido salicílico y el control sin adición de raíces ni compuestos, no se observó disminución en la concentración de ninguno de los congéneres. Estos resultados sugieren que los compuestos presentes en las raíces de avena, alfalfa y *Brachiaria* no actuaron como inductores, sin embargo, estas plantas han sido reportadas como fitoremediadoras de PCBs (Pereira et al. 2006), especialmente la alfalfa, por lo que no se puede descartar que, bajo las condiciones del estudio, la composición de los exudados de estas plantas no fue la adecuada para actuar como inductores de la degradación y no se puede afirmar que estas plantas no puedan ser usadas para la rizoremediación de PCBs. También se debe tener en cuenta que la fitoremediación ocurre mediante diferentes mecanismos y que, posiblemente, en los estudios donde se han usado estas plantas hayan influido factores como la adsorción y absorción (Van Aken et al. 2010) que no fueron evaluados en este estudio. La adsorción de los PCBs a las raíces se puede descartar como mecanismo de remoción en los microcosmos con mostaza ya que la

Pino-Rodríguez et al.

remoción solo se observó en ese microcosmos con raíces y los PCBs con mayor número de cloros, que son los que generalmente tienen mayor afinidad por la materia orgánica, no mostraron disminución en la concentración.

Los resultados sugieren que los metabolitos liberados por las raíces de mostaza bajo las condiciones del estudio, fueron buenos inductores de los microorganismos del suelo, lo cual puede estar relacionado con el tipo de compuestos liberados por las raíces de la mostaza; sin embargo, la desorción de contaminantes es un proceso que también es influenciado por los exudados de las plantas (Yanzheng et al. 2010). Los PCBs, tienen alta afinidad por la materia orgánica, por lo que la desorción es un mecanismo que aumentaría su biodisponibilidad hacia los microorganismos, aumentando su biodegradación. En este estudio no se evaluó la desorción de los PCBs en presencia de las raíces, por lo que no se puede descartar como un mecanismo relacionado con el aumento en la remoción de los congéneres de PCBs.

Cuantificación del gen *BphA1* y actividad enzimática de fluoresceína. El gen *BphA1* codifica para la subunidad larga de la bifenil dioxygenasa, primera enzima de la vía catabólica del bifenil, por lo que es un buen marcador para estimar la población bacteriana con capacidad de degradar PCBs en suelo (Li et al. 2013). En la figura 1 se muestran los resultados de la concentración del gen *BphA1*. Las mayores concentraciones de este gen se encontraron en los microcosmos con mostaza y bifenil que igualmente fueron los tratamientos donde se observó la remoción de tres congéneres. El bifenil es el sustrato natural del operon *bph*, por lo cual era de esperarse que la mayor concentración del gen *BphA1* estuviera en el microcosmos con bifenil. El aumento de la concentración del gen en el microcosmos con mostaza sugiere que los metabolitos provenientes de las raíces pudieron sustituir al bifenil como inductores de la vía catabólica.

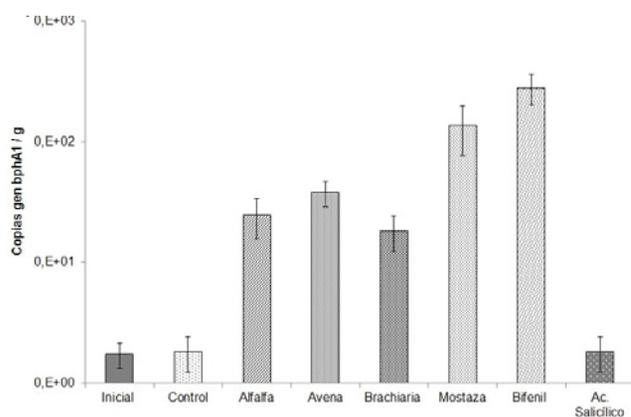


Figura 1. Concentración del gen *BphA1* en los microcosmos.

La hidrólisis de diacetato de fluoresceína es un método rápido para determinar la actividad microbiana en muestras de suelo (Adam y Ducan 2001). Los resultados de la concentración de fluoresceína se muestran en la figura 2. Las mayores concentraciones se encontraron en los microcosmos con raíces de mostaza y bifenil, lo cual se puede relacionar con un mayor metabolismo microbiano asociado con los compuestos liberados por las raíces y el bifenil.

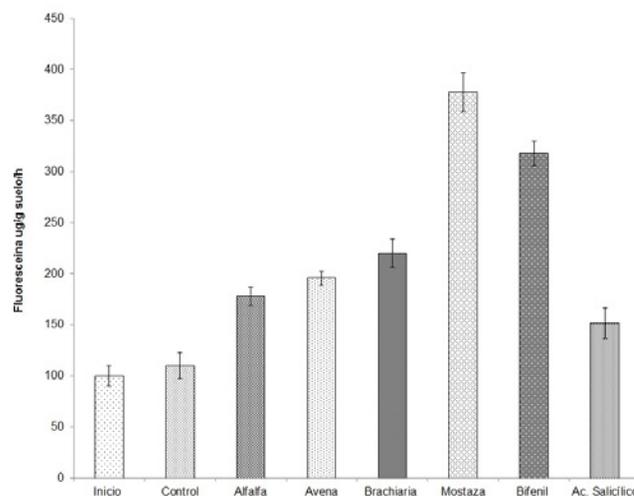


Figura 2. Hidrólisis de Fluoresceína en los microcosmos.

Identificación de metabolitos secundarios en los extractos de raíz.

En la figura 3 se muestran los cromatogramas y espectros de masas de los metabolitos secundarios identificados en la raíz. En los extractos obtenidos de las raíces de alfalfa se identificó el compuesto 7-hidroxiflavanona. En los extractos de avena y *Brachiaria decumbens* se detectó 6-hidroxiflavona. En mostaza se detectó flavanona, flavona e isoflavona.

En los microcosmos con raíces de mostaza junto con el control con bifenil fue donde se observó la remoción de tres congéneres de PCBs y fue en los extractos de las raíces de mostaza donde se detectó mayor número de metabolitos. Toussaint et al. (2012) registraron la identificación de flavanona como uno de los mayores constituyentes de los exudados de *Arabidopsis thaliana* y su capacidad para inducir la vía catabólica del bifenil en *Rhodococcus erythropolis*. Los fenil propanoides como las flavonas e isoflavonas pueden actuar como compuestos análogos del bifenil debido a los anillos aromáticos en su estructura, lo que podría explicar por qué en los microcosmos con mostaza se observó remoción de tres congéneres de PCBs y en los otros no, ya que al haber mayor cantidad de compuestos estos pudieron inducir la vía catabólica de una manera más eficiente.

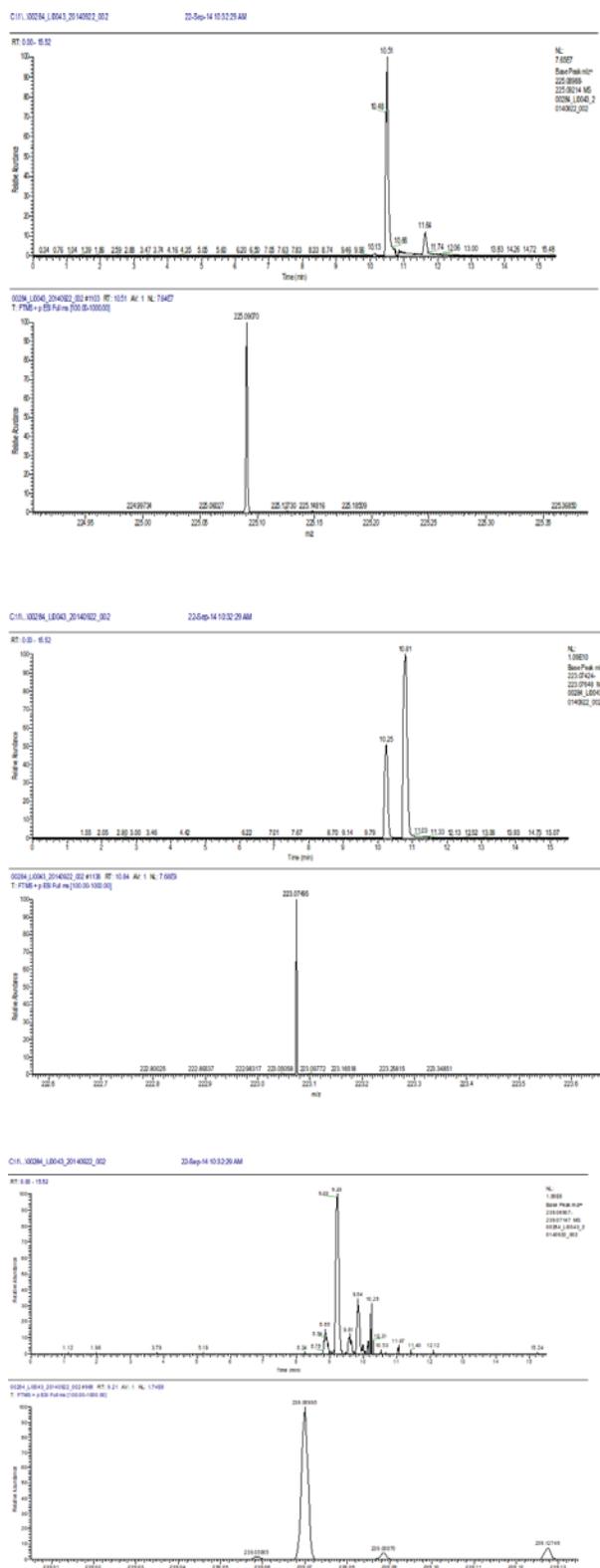


Figura 3. Cromatogramas y espectros de masas de los metabolitos secundarios identificados en los extractos de raíces. **A.** *Brachiaria decumbens*, **B.** *Brassica juncea*, **C.** *Medicago sativa*.

CONCLUSIONES

Los compuestos liberados por los triturados de raíz de mostaza favorecieron la degradación de tres congéneres en suelo, con porcentajes de degradación muy similares a los obtenidos con el bifenil, que es el inductor natural, lo cual demuestra que en los exudados producidos por las plantas hay compuestos que pueden actuar como inductores de la vía catabólica del bifenil y, por lo tanto, ser reguladores de la actividad enzimática relacionada con la degradación de PCBs en los microorganismos del suelo. Esta relación entre exudados y degradación microbiana puede ser utilizada para mejorar los procesos de rizoremediación.

La identificación de metabolitos secundarios en los extractos de las raíces demostró que la mostaza produjo mayor diversidad de metabolitos, y a su vez, con esta planta se obtuvo mayor porcentaje de remoción de PCBs, lo que indica que la composición de los exudados afecta el metabolismo de los microorganismos rizosféricos, siendo más eficientes las plantas que producen compuestos con estructuras análogas a los PCBs.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al fondo de Sostenibilidad 2014-2015 de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Antioquia por el apoyo para la realización del proyecto.

REFERENCIAS

Adam G, Duncan H. 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33 (7-8): 943-951.

Borja J, Taleon DM, Auresenia J, Gallardo S. 2005. Polychlorinated Biphenyls and their Biodegradation. *Process Biochemistry*, 40 (6): 1999-2013.

Dardanelli M, Córdoba F, Estévez J, Contreras R, Cubo M, Carvajal MA, Serrano A, López F, Bellogin R, Manyani H, Ollero FJ, Megías M. 2012. Changes in flavonoids secreted by *Phaseolus vulgaris* roots in the presence of salt and the plant growth promoting rhizo bacterium *Chryseobacterium balustinum*. *Applied Soil Ecology*, 57: 31-35.

Erickson M, Kaley R. 2010. Applications of polychlorinated biphenyls. *Environmental Science and Pollution Research*, 18 (2): 135-151.

Ficko S, Rutter A, Zeeb B. 2011. Effect of pumpkin root exudates on ex situ polychlorinated biphenyl (PCB) phytoextraction by pumpkin and weed species. *Environmental Science and Pollution Research*, 18 (9): 1536-1543.

Fiedler H, Abad E, Van Bavel B, De Boer J, Bogdal, C, Malisch R. 2013. The need for capacity building and first results for the Stockholm Convention Global Monitoring Plan. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 46: 72-84.

Furukawa K, Fujihara H. 2008. Microbial degradation of polychlorinated biphenyls: Biochemical and molecular features. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105 (5): 433-449.

Gomes H, Dias-Ferreira C, Ribeiro A. 2013. Overview of in situ and

- ex situ remediation technologies for PCB contaminated soils and sediments and obstacles for full scale application. *Science of The Total Environment*, 445-446: 237-260; DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.11.098.
- IGAC. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. (2006). Métodos analíticos del laboratorio de suelos.
- Leigh MB, Prouzová P, Macková M, Macek T, Nagle DP, Fletcher JS. 2006. Polychlorinated Biphenyl (PCB)-Degrading Bacteria Associated with Trees in a PCB-Contaminated Site. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (4): 2331-2342.
- Leigh M, Fletcher J, Fu X, Schmitz F. 2002. Root Turnover: An Important Source of Microbial Substrates in Rhizosphere Remediation of Recalcitrant Contaminants. *Environmental Science & Technology*, 36 (7): 1579-1583.
- Li Y, Liang F, Zhu Y, Wang F. 2013. Phytoremediation of a PCB contaminated soil by alfalfa and tall fescue single and mixed plants cultivation. *Journal of Soils and Sediments*, 13 (5): 925-931.
- Narasimhan K, Basheer C, Bajic VB, Swarup S. 2003. Enhancement of plant-microbe interactions using a rhizosphere metabolomics driven approach and its application in the removal of polychlorinated biphenyls. *Plant Physiology*, 132 (1):146-153.
- Passatore L, Rossetti S, Juwarkar A, Massacci A. 2014. Phytoremediation and bioremediation of polychlorinated biphenyls (PCBs): State of knowledge and research perspectives. *Journal of Hazardous Materials*, 278 :189-202.
- Pereira RC, Camps-Arbestain M, Garrido BR, Macías F, Monterroso C. 2006. Behaviour of alpha-, beta-, gamma-, and delta-hexachlorocyclohexane in the soil-plant system of a contaminated site. *Environmental Pollution*, 144 (1): 210-217.
- Pham T, Tu Y, Sylvestre M. 2012. Remarkable abilities of *Pandoraea pnomenusa* B356 biphenyl dioxygenase to metabolize simple flavonoids. *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (10): 35-60.
- R Development Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Fecha de acceso: 2 de marzo 2015. Disponible en: <<https://www.r-project.org/>>
- Toussaint J, Pham T, Barriault D, Sylvestre M. 2012. Plant exudates promote PCB degradation by a rhodococcal rhizobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95 (6): 1589-1603.
- Toyama T, Sei K, Yu N, Kumada H, Inoue D, Hoang H, Soda S, Chang Y, Kikuchi S, Fujita M., Ike M. 2009. Enrichment of bacteria possessing catechol dioxygenase genes in the rhizosphere of *Spirodela polyrrhiza*: a mechanism of accelerated biodegradation of phenol. *Water Research*, 43 (15): 3765-3776.
- Singer AC, Thompson IP, Bailey MJ. 2004. The tritrophic trinity: a source of pollutant-degrading enzymes and its implications for phytoremediation. *Current Opinion in Microbiology*, 7 (3): 239-244.
- Slater H, Gouin T, Leigh M. 2011. Assessing the potential for rhizoremediation of PCB contaminated soils in northern regions using native tree species. *Chemosphere*, 84 (2): 199-206.
- Uhlik O, Musilova L, Ridl J, Hroudova M, Vlcek C, Koubek, J, Holeckova M, Mackova M, Macek T. 2013. Plant secondary metabolite induced shifts in bacterial community structure and degradative ability in contaminated soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97 (20): 9245-9256.
- US-EPA. 2007. Method 8082A (SW-846): Polychlorinated Biphenyls (PCBs) by Gas Chromatography. United States Environmental Protection Agency. Revision 1.
- Van Aken B, Correa PA, Schnoor JL. 2010. Phytoremediation of polychlorinated biphenyls: new trends and promises. *Environmental Science and Technology*, 44 (8): 2767-2776.
- Vasilyeva GK, Strijakova ER. 2007. Bioremediation of soils and sediments contaminated by polychlorinated biphenyls. *Microbiology*, 76 (6): 639-653.
- Wenzel W. 2009. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant and Soil*, 321(1-2): 385-408.
- Xu L, Teng Y, Li Z, Norton J, Luo Y. 2010. Enhanced removal of polychlorinated biphenyls from alfalfa rhizosphere soil in a field study: The impact of a rhizobial inoculum. *Science of The Total Environment*, 408 (5): 1007-1013.
- Yanzheng G, Ren L, Wanting L, Shuaishuai G, Bingqing S, Yi Z. 2010. Desorption of phenanthrene and pyrene in soils by root exudates. *Bioresource Technology*, 101 (4): 1159-1165.
- Yi-Fan Li, Harner T, Liu L, Zhang Z, Ren N, Jia H, Ma J, Sverko E. 2010. Polychlorinated Biphenyls in Global Air and Surface Soil: Distributions, Air-Soil Exchange, and Fractionation Effect. *Environmental Science and Technology*, 44 (8): 2784-2790.

El reto inmunológico con promastigotes de *Leishmania (Viannia) panamensis* en *Galleria mellonella* modula cambios en los perfiles de expresión de proteínas de bajo peso molecular

Galleria mellonella immunological challenge with *Leishmania* promastigotes triggers changes on the profile expression of low molecular weight proteins

Isabel A. Patiño-Márquez^{1,3}, Marcela Manrique-Moreno^{1,4}, Laura Hernández-Villa^{1,5}, Blanca Ortiz-Reyes^{2,6}, Edwin Patiño-González^{1,7*}

Resumen

El parásito *Leishmania* es responsable de varias enfermedades que afectan humanos y animales en más de 95 países, incluido Colombia. Es conocida la toxicidad que presentan drogas como el Glucantime y la Anfotericina B, usadas en el tratamiento contra este parásito. Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son considerados agentes prometedores contra un amplio espectro de enfermedades infecciosas, siendo potenciales agentes terapéuticos con una baja toxicidad. Los PAMs son parte de la respuesta inmune de insectos, de donde han sido aislados, demostrando tener actividad antibacteriana y anti-fúngica. La polilla *Galleria mellonella* expresa un amplio repertorio de péptidos como respuesta al reto con diversos organismos, lo que sugiere una alternativa para la obtención de péptidos con actividad antiparasitaria. Este estudio utilizó un reto inmunológico con promastigotes de *Leishmania (Viannia) panamensis* sobre larvas de *Galleria mellonella* para la búsqueda de fracciones peptídicas con actividad antiparasitaria. La hemolinfa fue obtenida de larvas control, inoculadas con PBS y retadas con parásitos. La hemolinfa libre de hemocitos de cada tratamiento fue analizada por electroforesis de dos dimensiones (gel 2D). Además, la hemolinfa fue fraccionada por RP-HPLC. El análisis del gel 2D identificó cuatro señales (manchas) en la hemolinfa retada y 3 señales en la hemolinfa con PBS. Estas señales no se encontraron en la hemolinfa control. Por otro lado, fracciones de RP-HPLC de la hemolinfa retada mostraron más actividad leishmanicida en comparación con las mismas fracciones de la hemolinfa control. Esta aproximación puede proveer nuevos péptidos contra *Leishmania*.

Palabras claves: Hemolinfa, electroforesis 2D, *G. mellonella*, *Leishmania*, PAMs, Perfiles proteicos

Abstract

The *Leishmania* parasite is responsible for several diseases that affect humans and animals in more than 95 countries including Colombia. Despite the known toxicity shown by current drugs such as Glucantime or Amphotericin B, they are still used as treatments against the parasite. Natural antimicrobial peptides (AMPs) are considered promising agents for use against a broad spectrum of infectious diseases, they are considered promising and non-toxic therapeutic agents. AMPs are part of the immune response of organisms such as insects, from where they have been isolated and shown to have antibacterial and antifungal activity. *Galleria mellonella* moths express a broad repertoire of peptides in response to challenges with different organisms. This suggests an alternative for obtaining peptides with anti-parasitic activity. This study was based on the immunological challenge induced in *Galleria mellonella* larvae with *Leishmania (viannia) panamensis* promastigotes, with the goal of isolating a peptide fraction with antiparasitic activity. Non-challenged hemolymph and hemolymph obtained from the immunization with PBS and parasites were compared. Free hemocyte hemolymph from each treatment was analyzed by two-dimensional electrophoresis (2D gel). Furthermore, hemolymphs were fractionated by RP-HPLC. 2D gel analysis identified 4 spots in challenged hemolymph and 3 spots in PBS hemolymph. These spots were not present in the control hemolymph. On the other hand, fractions from RP-HPLC of challenged hemolymph showed more antileishmania activity in comparison to the same fractions from the hemolymph control. This study may provide the basis for new antileishmanial peptides.

Key words: Hemolymph, 2D Electrophoresis, *G. mellonella*, *Leishmania*, AMPs, Protein profiles

Recibido: octubre de 2016; aceptado: agosto de 2017.

¹ Grupo de Bioquímica Estructural de Macromoléculas, Universidad de Antioquia, Medellín (Antioquia) Colombia.

² Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Universidad de Antioquia, Medellín (Antioquia) Colombia.

Correos electrónicos: ³ <izabelandrea08@gmail.com>, ⁴ <marcela.manrique@udea.edu.co>, ⁵ <lauracaroh@gmail.com>

⁶ <blanca.ortiz@udea.edu.co>, ⁷ <edwin.patiño@udea.edu.co>.

*Autor para correspondencia

INTRODUCCIÓN

Leishmania (Viannia) panamensis es un parásito protozoo que causa la enfermedad conocida como Leishmaniosis. Estos parásitos son transmitidos en América por la picadura de un flebótomo hembra del género *Lutzomya* (Lewis 1971, Rogers et al. 2004). Existen tres formas clínicas de la enfermedad, la Leishmaniosis cutánea (LC) que causa lesiones en la piel; la Leishmaniosis mucocutánea (LMC) que afecta las mucosas y por último la Leishmaniosis visceral (LV), que se presenta en órganos internos como el bazo y el hígado (WHO 2016). La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la Leishmaniosis como una de las enfermedades olvidadas y hasta el momento no se cuenta con una vacuna que posibilite la prevención de la enfermedad (de Vries et al. 2015, WHO 2016).

Los principales fármacos utilizados en el tratamiento de la enfermedad son los antimoniales pentavalentes, el Isetionato de pentamidina, la Mitelfosina y la Anfotericina B (Blum et al. 2004, Sundar y Chakravarty 2010, Wortmann et al. 2010); aunque estos han mostrado ser efectivos contra las tres formas de la enfermedad, presentan una alta toxicidad (Olliario y Bryceson 1993, Sundar y Chakravarty 2010). Los tratamientos para la Leishmaniosis están acompañados de daño hepático y afecciones cardíacas debido a los periodos prolongados de tratamiento (Frézard et al. 2009), lo que conduce a la suspensión del tratamiento por los pacientes. Para ofrecer una futura posibilidad de tratamiento son necesarios nuevos candidatos en drogas leishmanicidas.

Las moléculas responsables de la defensa en muchos organismos podrían representar un buen recurso para identificar nuevas drogas contra la Leishmaniosis. Una de las alternativas más promisorias son los péptidos antimicrobianos (PAMs), moléculas utilizadas en la defensa inmune en muchos organismos, caracterizados por tener un amplio espectro de actividad, baja generación de resistencia y baja toxicidad en células humanas (Brogden et al. 2003, Zhao et al. 2013). Algunos PAMs como la Daptomicina y Vancomicina han demostrado ser efectivos contra cepas resistentes a antibióticos convencionales (Hancock y Sahl 2006). En insectos, los PAMs hacen parte de la respuesta inmune humoral, y son sintetizados principalmente en células del cuerpo graso y hemocitos (Bulet et al. 2003), para luego ser secretados a la hemolinfa, que es equivalente a la sangre en los humanos (Wyatt 1961). Los péptidos liberados en la hemolinfa generan una respuesta sistémica que lleva al ataque directo de los PAMs hacia la membrana del microorganismo invasor, permeabilizándola y produciendo por último la muerte del agente agresor (Yeaman y Yount 2003). Para buscar posibles moléculas candidatas contra la Leishmaniosis, se utilizó como modelo biológico la polilla *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Este organismo ha sido utilizado en diferentes estudios para evaluar la producción de PAMs, luego del reto con diferentes microorganismos (Andrejko et al. 2009, Mak et al. 2010). Uno de los péptidos identificados en *G. mellonella*, la Cecropina D, demostró tener un amplio espectro de actividad contra el hongo *Aspergillus niger*, bacterias Gram-negativas como *Escherichia coli* D31 y bacterias Gram-positivas como *Micrococcus luteus* (Cytrynska et al. 2007). Otros péptidos

identificados en *G. mellonella* pertenecen a la familia de las Moricinas las cuales presentan actividad anti-fúngica (Brown et al. 2008). Estas investigaciones revelan el potencial del uso de *G. mellonella* como modelo biológico para la obtención de péptidos con posible actividad leishmanicida. El objetivo de este trabajo fue evaluar la expresión diferencial de proteínas de bajo peso molecular, entre las cuales se encuentran los péptidos antimicrobianos presentes en la hemolinfa de larvas de *G. mellonella*, inducidos como respuesta al reto inmunológico con promastigotes de *Leishmania (Viannia) panamensis*. Para cumplir este objetivo se realizó un proceso de extracción de proteínas de bajo peso molecular; posteriormente, las proteínas fueron separadas por electroforesis bidimensional (electroforesis 2D), comparando las hemolinfas de larvas retadas y no retadas con parásitos. El análisis de los resultados permitió identificar diferencias entre los perfiles de proteínas de hemolinfa sin reto y con reto, sugiriendo que la inoculación de las larvas de *G. mellonella* con promastigotes de *L. (V) panamensis* indujo la expresión de péptidos capaces de disminuir la proliferación del parásito.

MATERIALES Y METODOS

Obtención de larvas de *G. mellonella*. Las larvas de *G. mellonella* fueron criadas en recipientes acrílicos bajo una dieta artificial compuesta por 13% de harina de maíz amarillo, 13% de leche en polvo, 6% de germen de trigo, 6% de levadura de cerveza, 25% de salvado de trigo, 20% de glicerol, 13% de miel de abejas y 4% de cera de abejas. Las larvas fueron mantenidas en la oscuridad a 28 °C. Para los ensayos se seleccionaron larvas en el último estadio de desarrollo (18 días y 300 mg de peso).

Parásitos de *L. (V) panamensis*. Se utilizaron cultivos de *L. (V) panamensis* en el estadio de promastigotes (cepa UA946, Grupo de Inmunomodulación, Universidad de Antioquia). Los promastigotes fueron cultivados en medio Schneider a un pH 6,9 (SIM, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). El medio fue suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10% (GIBCO, Grand Island, NY, USA), penicilina a 100 U/mL y estreptomycin 100 µg/mL (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). Los parásitos fueron incubados 26 °C por 5 días (en fase estacionaria de crecimiento). Los cultivos se centrifugaron a 2.500 rpm a temperatura ambiente por 10 min. El botón de parásitos fue lavado dos veces con tampón PBS 1X (GIBCO, Grand Island, NY, USA), luego la concentración de parásitos fue ajustada haciendo conteo por cámara de Neubauer de acuerdo con lo requerido para cada uno de los experimentos.

Retos inmunológicos y recolección de la hemolinfa. Para la inmunización de las larvas y posterior recolección de la hemolinfa, se emplearon tres grupos: larvas sin reto, larvas inoculadas con PBS y larvas retadas con parásitos de *L. (V) panamensis*, utilizando 100 larvas para cada grupo. La suspensión de promastigotes de *L. (V) panamensis* fue ajustada a tres diferentes concentraciones (1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 parásitos/mL) en tampón PBS 1X (GIBCO, Grand Island, NY, USA). Cada larva de *G. mellonella* fue inyectada directamente en el hemocele con 20 µl de la suspensión de parásitos ajustada a las concentraciones

anteriormente mencionadas. Como controles se utilizaron larvas que fueron inoculadas con 20 μ l de tampón PBS al 1X (GIBCO, Grand Island, NY, USA) y larvas que no fueron inoculadas. Seguido a la inoculación, las larvas fueron incubadas a 28 °C dentro de cajas de Petri estériles en condiciones de oscuridad. La recolección de hemolinfa se realizó a las 24, 48 y 72 horas post-inyección. En la recolección de la hemolinfa las larvas fueron puestas sobre hielo por 15 min y la superficie del abdomen larval fue desinfectada con etanol al 70%. La hemolinfa fue obtenida por punción con una aguja estéril en el abdomen en el último segmento de la larva. La hemolinfa que fluía fue recolectada en un tubo Eppendorf que contenía cristales de feniltiourea (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) para prevenir la melanización. La hemolinfa colectada se centrifugó a 13000 rpm por 15 min a 4 °C. El sobrenadante fue colectado y la hemolinfa libre de hemocitos fue guardada a -20 °C hasta su uso.

Obtención de péptidos de bajo peso molecular. Los péptidos de bajo peso molecular fueron obtenidos a través de la extracción ácido-metanólica de las proteínas presentes en las muestras de hemolinfa colectada de acuerdo con el método de Schoofs et al. (1990). Se tomaron 100 μ l de hemolinfa que fueron diluidos en 10 volúmenes de solución metanol: ácido acético: agua (90: 1: 9, v/v/v). Luego la mezcla se centrifugó a 13.000 rpm por 30 min a 4 °C. El precipitado fue descartado y el sobrenadante fue colectado y liofilizado. El liofilizado se disolvió en solución acuosa de ácido trifluoroacético al 0,1%. Posteriormente, para remover los lípidos presentes en la muestra se adicionó un volumen igual de hexano; las muestras se agitaron con vórtex y se centrifugaron nuevamente a 13.000 rpm por 10 min a 4 °C. La fracción superior que contiene los lípidos fue removida y se adicionó un volumen igual de acetato de etilo a la fracción acuosa que contenía las proteínas. Se centrifugó nuevamente a 13.000 rpm por 5 min y la fracción acuosa fue recuperada, liofilizada y almacenada a -20 °C hasta su uso. Para la cuantificación de proteínas se utilizó el método del ácido bicinonínico (Bicinchoninic Acid Kit, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). Se realizó la cuantificación de proteínas totales presentes en la hemolinfa libre de hemocitos y proteínas totales presentes en los extractos ácido-metanólicos. La hemolinfa y las fracciones se visualizaron por SDS-PAGE en una cámara MiniProtein III (Bio-Rad, California, USA). Los geles fueron revelados con azul de Coomassie o con tinción de plata.

Electroforesis en dos dimensiones. Los extractos de hemolinfa (200 μ g de proteína total) fueron mezclados con tampón desnaturalizante (Urea/Tiourea 7 M/2 M, CHAPS al 4% (V/V), DTT al 100 mM y anfolitos en un rango de pH 4–7, Invitrogen, California, USA) para un volumen final de 200 μ l. Las muestras fueron agitadas y colocadas en un baño de ultrasonido 5 veces cada 120 min (Eimasonic, Singen, Baden-Wurtemberg, Alemania). Luego, de cada muestra se cargaron 190 μ l en las tirillas (Isoelectric Point Gel, IPG de 7 mm y pH 4–7, Invitrogen, Carlsbad, California, USA). Para el análisis por isoelectroenfoque (IEF), se utilizó un gradiente de voltaje de 220 V hasta 2000 V, siguiendo las recomendaciones del fabricante (ZOOM, IPG Runner, Invitrogen, Carlsbad, California, USA). Para la segunda dimensión la tirilla de IPG se equilibró en tampón LDS (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) por 15 min,

luego la tirilla se equilibró 15 min con yodo acetamida a 100 mM en tampón LDS. Después, la tirilla se colocó en un gel preformado (gel NuPAGE del 4–12%, Invitrogen, Carlsbad, California, USA) y el corrido se realizó 200 V con tampón de 50 mM MES y SDS 1X por 45 min en cámara de Xcell (XCell Sure lokc, Invitrogen, Carlsbad, California, USA). Para visualización de las proteínas (manchas) los geles fueron teñidos con plata utilizando el estuche de Invitrogen (SilverQuest Staining kit, Invitrogen, Carlsbad, California, USA) siguiendo las indicaciones del fabricante. Todos los geles fueron digitalizados por medio de un escáner (Image Scanner A3 10000 XL, Epson, Japón) y analizados con el programa Image Master Platinum 7 (GE Healthcare, Little Chalfont, United Kingdom).

Fraccionamiento de los extractos ácido-metanólicos por RP-HPLC. Los extractos ácido-metanólicos fueron separados por cromatografía líquida en fase reversa (RP-HPLC) utilizando la columna Discovery C-18 (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) y el equipo de cromatografía NGC (Bio-Rad, California, USA). La columna fue equilibrada con solución tampón A (Solución acuosa de TFA al 0,07%). Por cada corrido cromatográfico, la columna fue cargada con 600 μ g de muestra. Para la elución se utilizó un gradiente de 0–100% de tampón B (TFA al 0,07% - Acetonitrilo al 80%) con una velocidad de flujo de 1 mL/min por 45 min. Las fracciones fueron monitoreadas a 215 y 280 nm y almacenadas usando el colector de fracciones BioFract (Bio-Rad, California, USA).

Actividad antiparasitaria de las fracciones peptídicas. La actividad antiparasitaria de las fracciones obtenidas por cromatografía se evaluó en cultivos de promastigotes de *L. (V) panamensis* utilizando el método colorimétrico MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) (Invitrogen, Carlsbad, California, USA)). Los parásitos (2 x 10⁷ parásitos /mL) (Chicharro et al. 2001, Díaz-Achirica et al. 1998) fueron incubados por 24 horas a 26 °C con una concentración final de 20 μ g/mL de cada fracción; como control negativo se incubaron los parásitos con PBS y como control positivo se utilizó Anfotericina B (3 μ g/mL) (Amresco, Solon, Ohio, USA). Los experimentos se hicieron por triplicado. La actividad antiparasitaria se determinó por la reducción de formazán. Los datos fueron analizados con el programa GraphPad Prism 5.01, realizando un análisis de varianza (ANOVA de una vía) y una prueba T-Student con un p<0,05.

RESULTADOS

Efecto del reto inmunológico en larvas de *G. mellonella* con promastigotes de *L. (V) panamensis*. Las larvas empleadas para el reto inmunológico se seleccionaron de acuerdo con los criterios de peso (300 mg) y adicionalmente, la presencia de una coloración totalmente amarilla en la cutícula. En la figura 1A se muestran las larvas inoculadas con PBS, utilizadas como control de la lesión generada por la inyección. Asimismo, se muestran las larvas inoculadas con la suspensión de parásitos de *L. (V) panamensis* a las tres diferentes concentraciones empleadas (figura 1B, C y D). Después del reto con *Leishmania*, se realizó el seguimiento de las larvas control y retadas, con el fin de determinar cambios en la coloración de la cutícula o mortalidad generada

por la inyección. Asimismo, se muestran las larvas inoculadas con la suspensión de parásitos de *L. (V) panamensis* a las tres diferentes concentraciones empleadas (figura 1B, C y D). Después del reto con *Leishmania*, se realizó el seguimiento de las larvas control y retadas, con el fin de determinar cambios en la coloración de la cutícula o mortalidad generada por la inoculación de los parásitos. De acuerdo con lo observado se determinó que la inoculación de promastigotes de *Leishmania* no indujo cambios de coloración (melanización) en las larvas, al comparar con

las larvas control (figura 1A). Adicionalmente, se observó que el reto con *Leishmania* no generó muerte de las larvas retadas con ninguna de las concentraciones de promastigotes inoculada. La hemolinfa se colectó en tres tiempos diferentes 24, 48 y 72 horas luego del reto. De cada larva se obtuvo, aproximadamente, entre 10–15 μ l de hemolinfa. En conclusión, no se observó retraso en el desarrollo del tiempo del ciclo de pupa hasta llegar adulto con ninguna de las concentraciones usadas y las dosis no alteraron la cantidad de hemolinfa por larva.

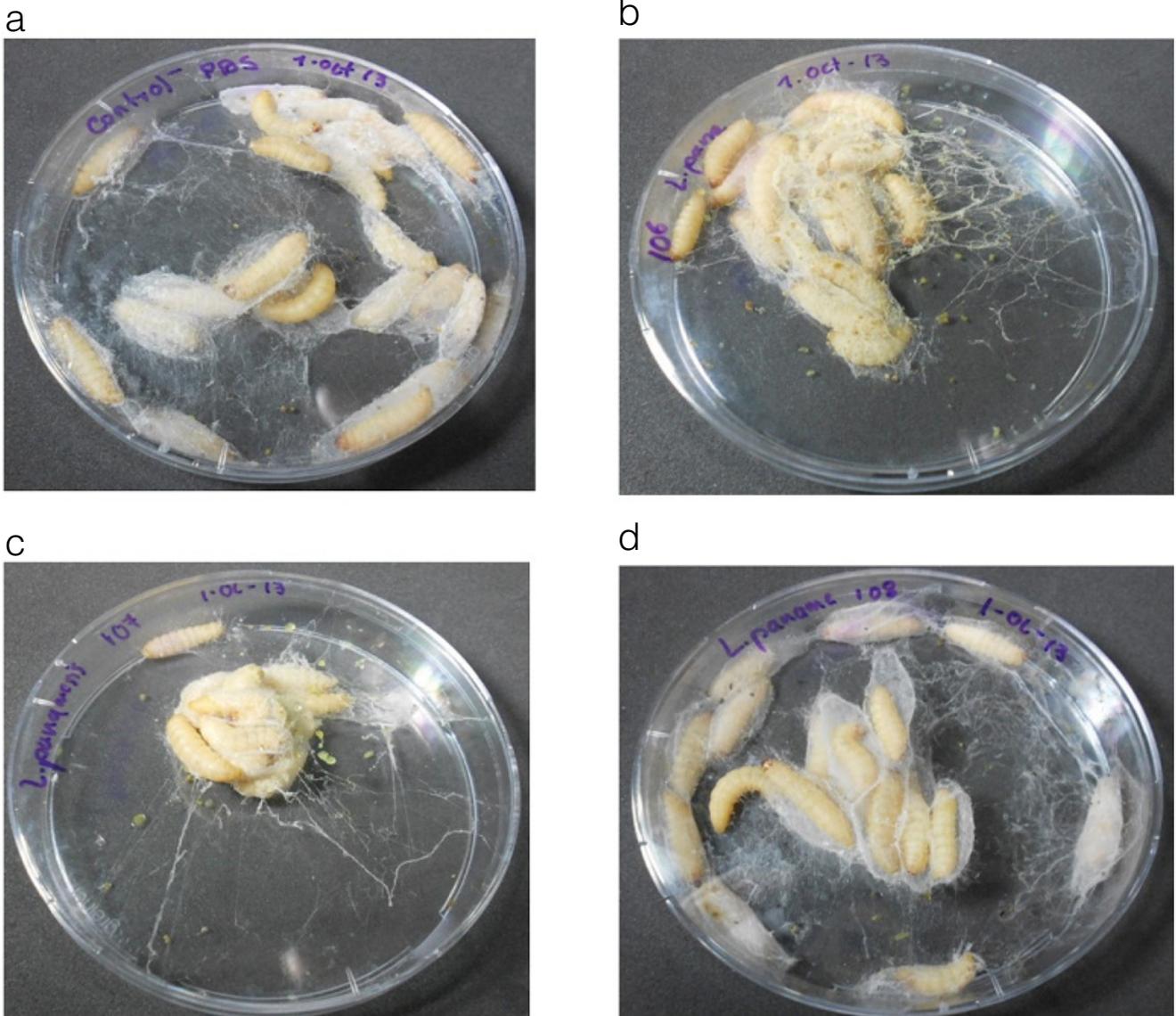


Figura 1. Apariencia de las larvas de *G. mellonella*. **A.** Larvas control PBS. **B.** Larvas retadas con 1×10^6 parásitos/mL. **C.** Larvas retadas con 1×10^7 parásitos/mL. **D.** Larvas retadas con 1×10^8 parásitos/mL.

Extracción de los péptidos de bajo peso molecular. Las proteínas presentes en la hemolinfa total y extractos ácido-metanólicos fueron analizadas por SDS-PAGE (figura 2). Los resultados muestran perfiles electroforéticos iguales en la hemolinfa sin reto, con PBS o retadas con promastigotes de *L. (V) panamensis* (figura 2A). La eliminación de los lípidos por medio de la extracción ácido-metanólica también eliminó las proteínas de peso molecular por encima de 27 kDa (figura 2B). Aunque los perfiles obtenidos de la hemolinfa después de extraer los lípidos son muy similares, se puede observar una señal tenue entre las bandas de 3,5 y 6,5 kDa presente solo en las larvas que recibieron la punción, como son las larvas inoculadas con PBS y las que fueron inoculadas con el parásito (figura 2A). Para determinar si la dosis de parásitos inoculados modula positivamente la producción de péptidos de bajo

peso molecular, los extractos libres de lípidos de las hemolinfas de las larvas que fueron tratadas con 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 parásitos/mL de inóculo, fueron analizadas por SDS-PAGE teñido con plata (figura 3). La eliminación de las proteínas de alto peso molecular, así como de los lípidos resulta en perfiles proteicos similares para las tres dosis utilizadas. Sin embargo, cuando las larvas se inocularon con 1×10^6 parásitos/mL se favorece la inducción de péptidos por debajo de la banda de 6,5 kDa a las 48 y 72 horas (figura 3, carril 6 y 10). De acuerdo con estos resultados se determinó que la concentración óptima con la cual se produjo un aumento en la expresión de proteínas fue 1×10^6 parásitos/mL a un tiempo de 48 horas para generar la inducción en la expresión de proteínas de bajo peso molecular.

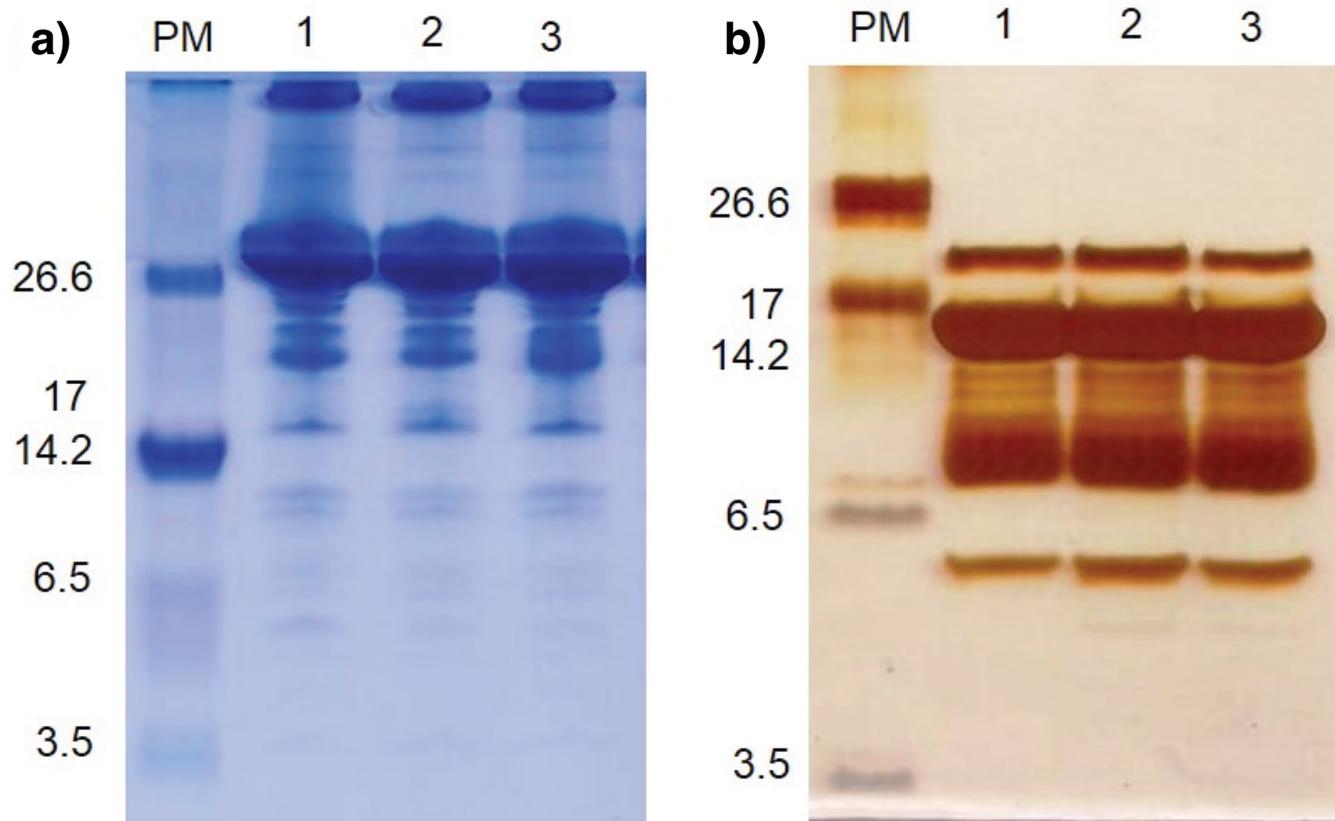


Figura 2. Perfiles SDS-PAGE de hemolinfa total y hemolinfa libre de lípidos. Carril 1 hemolinfa sin reto. Carril 2 hemolinfa de larvas inoculadas con PBS. Carril 3 larvas retadas con promastigotes de *L. (V) panamensis*. A. Hemolinfa total. B. Extractos ácido-metanólicos de hemolinfa.

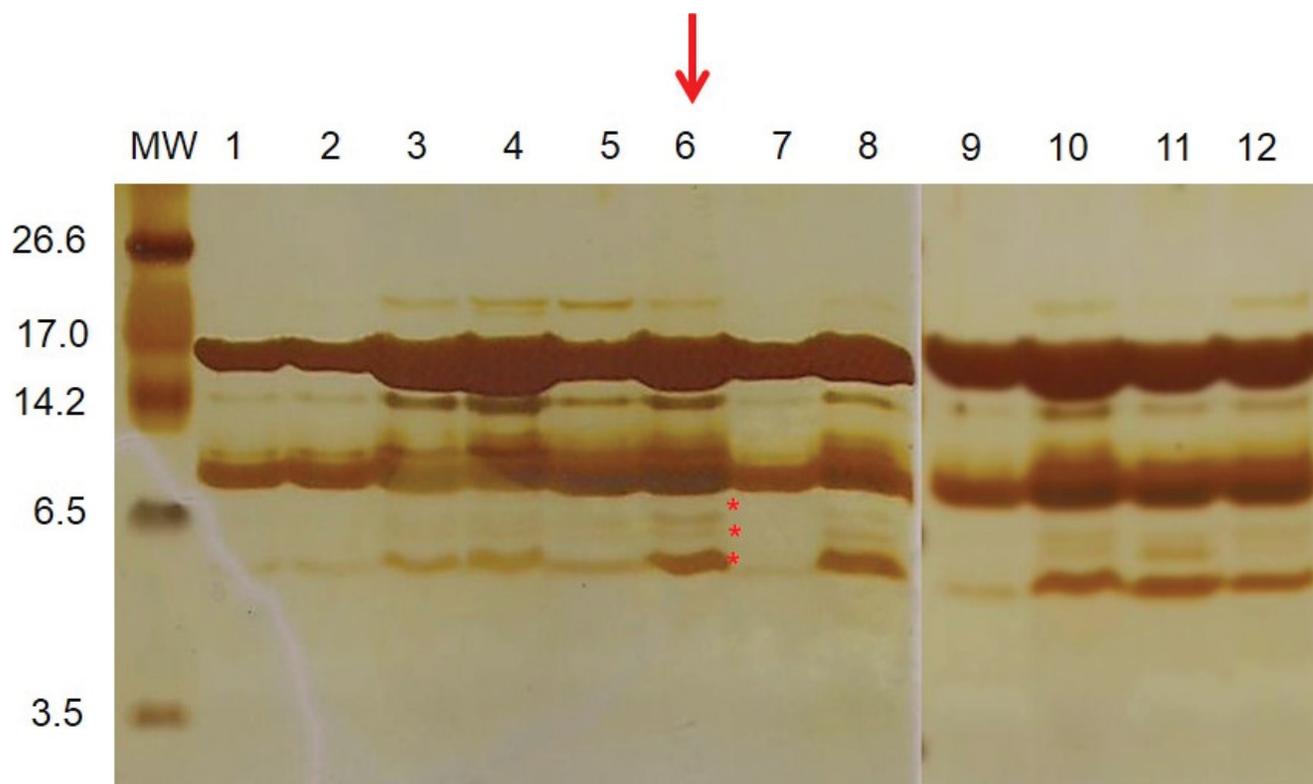


Figura 3. Perfiles electroforéticos de extractos ácido-metanólicos de hemolinfa de *G. mellonella* recolectada en diferentes tiempos. La hemolinfa fue colectada después de la inoculación de las larvas a tres diferentes tiempos: 24 horas (carriles de 2-4), 48 horas (carriles 5-8) y 72 horas (carriles 9-12). Para cada intervalo se utilizó un inoculo de 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 parásitos/mL. Carril 1, control 24 h; carril 2, 1×10^6 -24 h; carril 3, 1×10^7 -24 h; carril 4, 1×10^8 -24 h; carril 5, control 48 h; carril 6, 1×10^6 -48 h; carril 7, 1×10^7 -48 h; carril 8, 1×10^8 -48 h; carril 9, control 72 h; carril 10, 1×10^6 -72 h; carril 11, 1×10^7 -72 h; carril 12, 1×10^8 -72 h. Los asteriscos indican las bandas de bajo peso molecular.

Análisis 2D de los extractos de proteínas de bajo peso molecular. Los extractos ácido-metanólicos que contienen los péptidos de bajo peso molecular fueron sometidos a una electroforesis bidimensional (2D electroforesis). Al final, los geles se tiñeron con plata y se visualizaron varias señales (manchas) que demuestran la presencia de péptidos de bajo peso molecular en estos extractos (figura 4). Después de la digitalización de las imágenes, los geles (no retadas, PBS y retadas) fueron alineados y se establecieron los parámetros para la detección de las señales reales, la no superposición de las señales y los límites reales de cada señal de acuerdo con el programa Image Master (General Electric, Little Chalfont, United Kingdom). El número total de señales (manchas) identificados en los geles de la hemolinfa sin reto fue 61, en la hemolinfa control con PBS fue 65 y en la hemolinfa retada fue 66. Los resultados muestran que la punción en el abdomen de la larva tuvo un incremento en el número de señales detectadas por el programa Image Master Platinum. Además, se presentaron señales comunes en ambas hemolinfas como las manchas 39, 55 y 59 (figura 4B y C). El análisis también reveló la presencia de señales que estuvieron solo

en la hemolinfa retada (manchas 46, 49, 50 y 92) (figura 4C).

Actividad antiparasitaria de las fracciones de hemolinfa. Los extractos de hemolinfa control de larvas inoculadas con PBS y larvas retadas se fraccionaron por cromatografía en fase reversa utilizando una columna C-18; las fracciones obtenidas se liofilizaron y se evaluó la actividad antiparasitaria usando el método colorimétrico de MTT, donde la no reducción del formazán determina el porcentaje de parásitos muertos. De las fracciones obtenidas, cuatro correspondientes a hemolinfa retada presentaron más del 40% en la mortalidad de los parásitos (figura 5, barras rojas). La fracción 1 presentó la mayor actividad leishmanicida generando $62,2 \pm 3,7\%$ de parásitos muertos seguida por la fracción 4 con $56,25 \pm 4,6\%$, la fracción 3 con $47,17 \pm 3,04\%$ y la fracción 2 con $41,9\% \pm 2,7\%$. El análisis estadístico (ANOVA, con un nivel de significancia de $p < 0,05$) indicó diferencias significativas de las cuatro fracciones evaluadas respecto al control (parásitos con PBS), obteniendo un $p < 0,001$. Adicionalmente, al comparar entre fracciones de hemolinfa sin reto (figura 5, barras azules) y las fracciones de hemolinfa retada (figura 5, barras rojas)

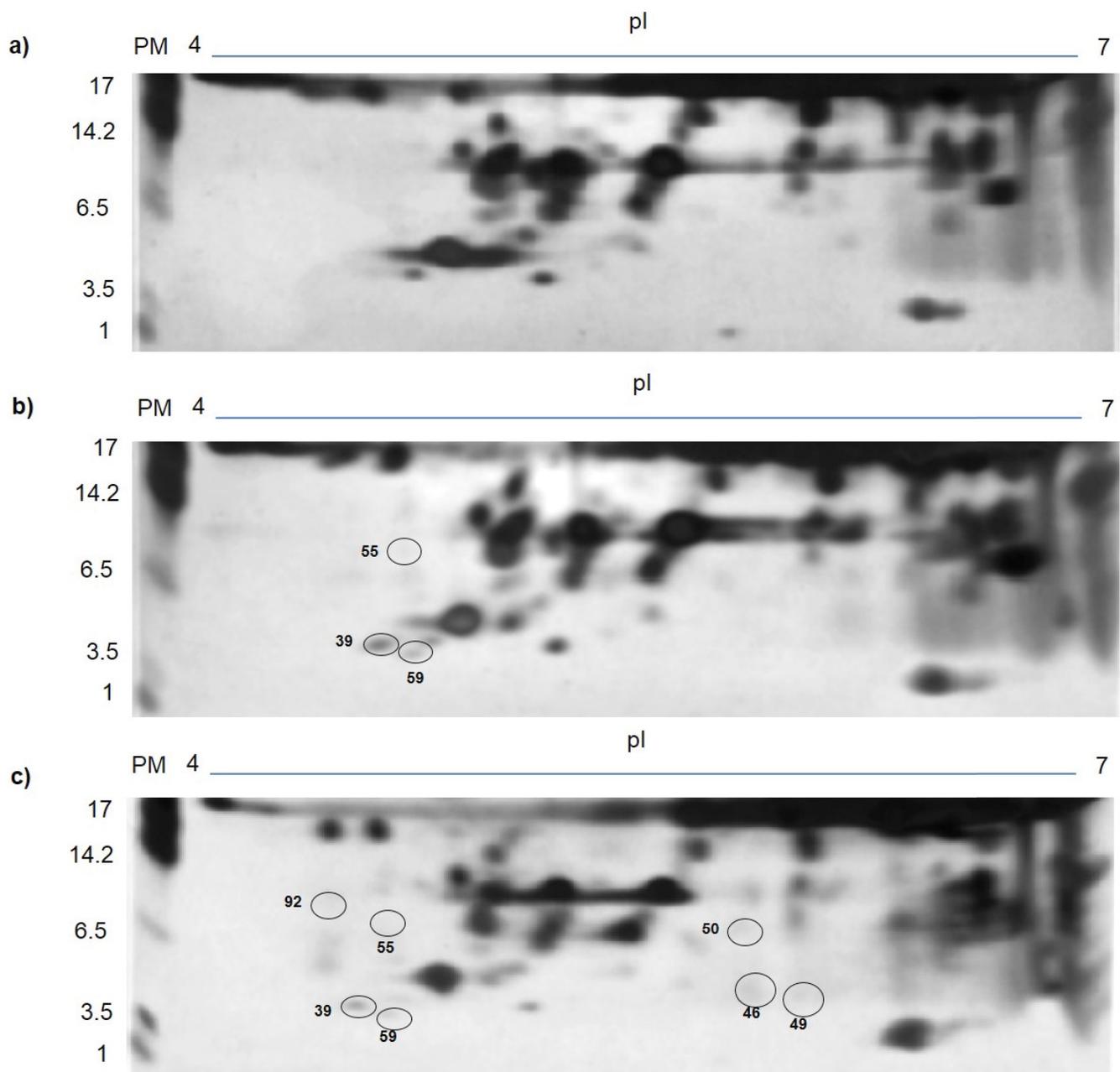


Figura 4. Análisis de electroforesis 2D de la hemolinfa de larvas de *G. mellonella* sin reto, PBS y retada con *L. (V) panamensis*. A. Hemolinfa sin reto. B. Hemolinfa de larvas inoculadas con tampón PBS. C. Hemolinfa de larvas retadas con *L. (V) panamensis* (1×10^6 parásitos/mL). Los números indican las señales (manchas) diferenciales que no están en control sin reto (círculos negros).

con la prueba T-Student ($p < 0,05$), se encontraron diferencias significativas entre la fracción 1, 3 y 4 ($p = 0,034$, $p = 0,0081$ y $p = 0,0177$, respectivamente). Entre las fracciones 2 no se obtu-

vieron diferencias ($p = 0,644$) (figura 5). Estos datos sugieren un aumento de la actividad leishmanicida en tres de las fracciones de hemolinfa obtenidas después del reto con los promastigotes.

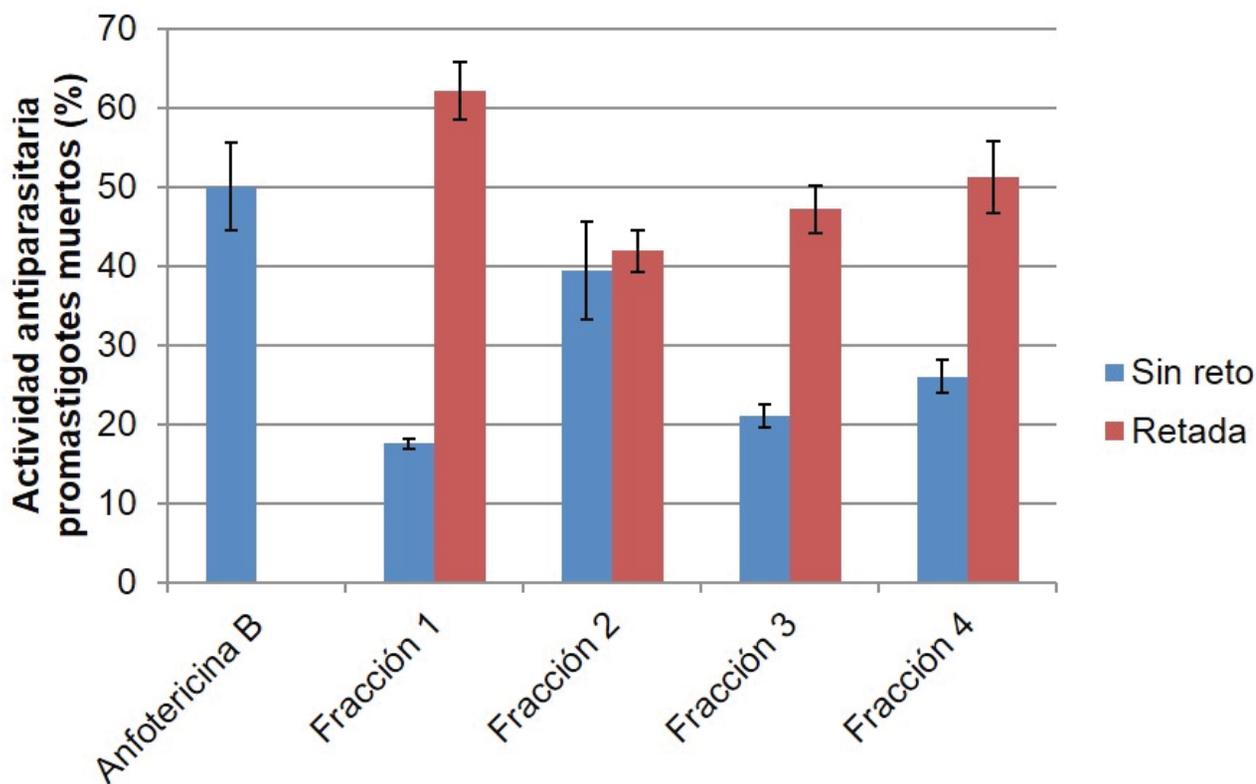


Figura 5. Actividad leishmanicida de fracciones de RP-HPLC de hemolinfa no retada (PBS) y retada con *L. (V) panamensis*. Control positivo: Anfotericina B (3 µg/mL). Las barras verticales representan las desviaciones estándar.

DISCUSIÓN

La respuesta inmune innata de insectos como *G. mellonella* hacia los microorganismos invasores está mediada por una batería de proteínas y péptidos antimicrobianos (Bergin et al. 2006, Cook y McArthur 2013). Estas moléculas son constituyentes de la hemolinfa del insecto, que es el equivalente a la sangre de los mamíferos (Wyatt 1961). Muchos estudios han registrado la inducción de PAMs luego de infectar las larvas de *G. mellonella* con diferentes microorganismos como *E. coli* y *M. luteus* (Brown et al. 2009, Cytrynska et al. 2007, Mak et al. 2010). Adicionalmente, en larvas que fueron inmunizadas con el hongo *Beauveria bassiana*, la hemolinfa presentó una respuesta anti-fúngica, pero no una respuesta antibacteriana (Wojda et al. 2009). Estos estudios han concluido que en *G. mellonella* se da una expresión diferencial e inducible de PAMs, que depende del tipo de patógeno usado para la inmunización.

En esta investigación, el primer paso fue determinar el inóculo y el tiempo al cual se daba una inducción de péptidos de bajo peso molecular en la hemolinfa de las larvas inoculadas con promastigotes de *L. (V) panamensis*. Luego de la inoculación, no se pre-

sentó mortalidad como causa del reto inmunológico con ninguna de las tres concentraciones evaluadas; con estos resultados se observó que hasta con la concentración más alta evaluada (1×10^8 promastigotes/ml) las larvas de *G. mellonella* son capaces de sobrevivir al reto con este parásito por 72 horas, que fue el tiempo máximo evaluado. Posteriormente, se determinó que a las 48 horas pos-infección y con un inóculo 1×10^6 promastigotes/ml, se presentó un aumento en las proteínas de bajo peso molecular (figura 3). Con los resultados de SDS-PAGE se observó un cambio en la abundancia de las proteínas por debajo de los 6 kDa (figura 2B y figura 3, carril 6 y 10). Estos resultados muestran que hay una inducción de péptidos a diferentes intervalos de tiempo durante el curso de la infección con los promastigotes. Esto datos están en concordancia con lo publicado en el año 2010 por Mak y colaboradores, quienes reportaron un aumento en algunos péptidos como Cecropina y Defensina en *G. mellonella* a las 24 horas luego del reto con *E. coli*. Además, demostraron que al inyectar las larvas con otro microorganismo como *Fusarium oxysporum* se daba la mayor expresión de estos mismos péptidos, pero 72 horas pos-inoculación (Mak et al. 2010). El análisis 2D se centró en encontrar las posibles diferencias de las hemolinfas. El análisis de los perfiles proteicos mostró cuatro nuevas señales (manchas)

(figura 4) presentes únicamente en la hemolinfa de larvas inoculadas con parásitos, indicando una posible inducción de péptidos como consecuencia del reto. Por otro lado, tres señales (figura 4) se identificaron en las hemolinfas de las larvas que recibieron la punción para inocular los promastigotes o por la inyección del PBS. La punción en el abdomen de las larvas genera un trauma a nivel celular en donde la barrera tegumentaria es parcialmente interrumpida. Se ha registrado que los eventos de trauma generados en las larvas de insecto inducen la producción de PAMs como las Cecropinas y Defensina (Brey et al. 1993, Hoffmann y Hetru 1992). Adicionalmente, cuando la hemolinfa fue fraccionada por RP-HPLC, se obtuvieron fracciones que presentaron actividad antiparasitaria, generando más de un 40% de mortalidad de los parásitos con las fracciones de hemolinfa retada. Las fracciones 1, 3 y 4 (figura 5) presentaron diferencias significativas al ser comparadas con las mismas fracciones obtenidas de hemolinfa control sin reto, pero inyectadas con PBS; este aumento en la actividad leishmanicida puede deberse a la inducción de proteínas o péptidos que fueron inducidos por el reto inmunológico y no por el trauma causado en la larva. La inducción de PAMs en insectos en presencia de parásitos de *Leishmania* ha sido registrada en *Phlebotomus duboscqi* (Boulanger et al. 2004). Estos resultados demuestran que el reto con promastigotes de *L. (V) panamensis* indujo la expresión de cuatro señales solo en las larvas que fueron retadas (geles 2D) con el parásito y que la hemolinfa posee actividad leishmanicida. Sin embargo, se necesita una posterior caracterización para identificar las proteínas encontradas y los genes expresados y responsables de esta actividad antiparasitaria. Con los resultados obtenidos en esta investigación se estableció, por primera vez, que se presenta una respuesta a la inducción de proteínas o péptidos en larvas de *G. mellonella* luego de inocular las larvas con promastigotes de *L. (V) panamensis*. Estos estudios preliminares abren una ventana para hacer identificación de nuevas moléculas que tengan un uso potencial como agentes leishmanicidas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias a través del Proyecto Cód. 111556933368.

REFERENCIAS

- Andrejko M, Mizerska-Dudka M, Jakubowicz T. 2009. Antibacterial activity in vivo and in vitro in the hemolymph of *Galleria mellonella* infected with *Pseudomonas aeruginosa*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 152 (2): 118–23. DOI: 10.1016/j.cbpb.2008.10.008
- Bergin D, Murphy L, Keenan J, Clynes M, Kavanagh K. 2006. Pre-exposure to yeast protects larvae of *Galleria mellonella* from a subsequent lethal infection by *Candida albicans* and is mediated by the increased expression of antimicrobial peptides. Microbes and Infection, 8 (8): 2105–12. DOI: 10.1016/j.micinf.2006.03.005
- Blum J, Desjeux P, Schwartz E, Beck B, Hatz C. 2004. Treatment of cutaneous Leishmaniasis among travellers. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (2): 158–66. DOI: 10.1093/jac/dkh058
- Boulanger N, Lowenberger C, Volf P, Ursic R, Sigutova L, Sabatier L, Svobodova M, Beverley SM, Spath G, Brun R, Pesson B, Bulet P. 2004. Characterization of a defensin from the sand fly *Phlebotomus duboscqi* induced by challenge with bacteria or the protozoan parasite *Leishmania Major*. Infection and Immunity, 72 (12): 7140–46. DOI: 10.1128/IAI.72.12.7140-7146.2004
- Brey PT, Lee W J, Yamakawa M, Koizumi Y, Perrot S, François M, Ashida M. 1993. Role of the integument in insect immunity: epicuticular abrasion and induction of cecropin synthesis in cuticular epithelial cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 90 (13): 6275–79.
- Brogden KA, Ackermann M, McCray PB, Tack BF. 2003. Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences. International Journal of Antimicrobial Agents, 22 (5): 465–78.
- Brown SE, Howard A, Kasprzak AB, Gordon K H, East PD. 2008. The discovery and analysis of a diverged Family of Novel Antifungal Moricin-like Peptides in the Wax Moth *Galleria Mellonella*. Insect biochemistry and Molecular Biology, 38 (2): 201–12. DOI: 10.1016/j.ibmb.2007.10.009
- Brown SE, Howard A, Kasprzak AB, Gordon, KH, East PD. 2009. A Peptidomics Study Reveals the Impressive Antimicrobial Peptide Arsenal of the Wax Moth *Galleria Mellonella*. Insect biochemistry and molecular biology 39 (11): 792–800. DOI: 10.1016/j.ibmb.2009.09.004
- Bulet P, Charlet M, Hetru C. 2003. Antimicrobial Peptides in Insect Immunity. En: Ezekowitz RAB, Hoffmann JA, editores. Innate Immunity. Totowa (U.S.A): Humana Press. p. 410 (89–107).
- Chicharro C, Granata C, Lozano R, Andreu D, Rivas L. 2001. N-Terminal Fatty Acid Substitution increases the leishmanicidal activity of CA(1-7) M(2-9), a Cecropin-Melittin Hybrid Peptide. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45 (9): 2441–49.
- Cook SM, McArthur JD. 2013. Developing *Galleria mellonella* as a model host for human pathogens. Virulence, 4 (5): 350–53. DOI: 10.4161/viru.25240
- Cytrynska M, Mak P, Zdybicka-Barabas A, Suder P, Jakubowicz T. 2007. Purification and characterization of eight peptides from *Galleria mellonella* immune hemolymph. Peptides, 28 (3): 533–46. DOI: 10.1016/j.peptides.2006.11.010
- Díaz-Achirica P, Ubach J, Guinea A, Andreu D, Rivas L. 1998. The Plasma Membrane of *Leishmania* Donovanii Promastigotes Is the Main Target for CA(1-8) M(1-18), a Synthetic Cecropin A-Melittin Hybrid Peptide. The Biochemical Journal, 330 (Pt 1): 453–60.
- Frézard F, Demicheli C, Ribeiro RR. 2009. Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs. Molecules (Basel, Switzerland), 14 (7): 2317–36. DOI: 10.3390/molecules14072317
- Hancock REW, Sahl HG. 2006. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. Nature Biotechnology, 24 (12): 1551–57. DOI: 10.1038/

Patiño-Márquez et al.

nbt1267

- Hoffmann JA, Hetru C. 1992. Insect defensins: Inducible antibacterial peptides. *Immunology Today*, 13 (10): 411–15. DOI: 10.1016/0167-5699(92)90092-L
- Lewis DJ. 1971. Phlebotomid sandflies. *Bulletin of the World Health Organization*, 44 (4): 535–51.
- Mak P, Zdybicka-Barabas A, Cytrynska M. 2010. A different repertoire of *Galleria mellonella* antimicrobial peptides in larvae challenged with bacteria and fungi. *Developmental and Comparative Immunology*, 34 (10): 1129–36. DOI:10.1016/j.dci.2010.06.005
- Olliaro PL, Bryceson AD. 1993. Practical progress and new drugs for changing patterns of Leishmaniasis. *Parasitology Today (Personal ed.)*, 9 (9): 323–28.
- Rogers ME, Ilg T, Nikolaev AV, Ferguson MAJ, Bates PA. 2004. Transmission of cutaneous Leishmaniasis by sand flies is enhanced by regurgitation of fPPG. *Nature*, 430 (6998): 463–67. DOI: 10.1038/nature02675
- Schoofs L, Holman GM, Hayes TK, Nachman RJ, De Loof A. 1990. Locustatachykinin I and II, two novel insect neuropeptides with homology to peptides of the vertebrate tachykinin family. *FEBS letters* 261 (2): 397–401. DOI: 10.1016/0014-5793(90)80601-E
- Sundar S, Chakravarty J. 2010. Antimony toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7 (12): 4267–77. DOI: 10.3390/ijerph7124267
- de Vries HJC, Reedijk SH, Schallig HDFH. 2015. Cutaneous Leishmaniasis: recent developments in diagnosis and management. *American Journal of Clinical Dermatology*, 16 (2): 99–109. DOI: 10.1007/s40257-015-0114-z
- WHO. 2016. Organización mundial de la salud, Leishmaniasis [internet]. Fecha de acceso: 16 de agosto 2016. Disponible en: <<http://www.who.int/es/>>
- Wojda I, Patryk-Kowalski I, Jakubowicz T. 2009. Humoral immune response of *Galleria mellonella* larvae after infection by *Beauveria bassiana* under optimal and heat-shock conditions. *Journal of Insect Physiology*, 55 (6): 525–31. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2009.01.014
- Wortmann G, Zapor M, Ressler R, Fraser S, Hartzell J, Pierson J, Weintrob A, Magill, A. 2010. Liposomal amphotericin B for treatment of cutaneous Leishmaniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83 (5): 1028–33. DOI: 10.4269/ajtmh.2010.10-0171
- Wyatt GR. 1961. The biochemistry of insect hemolymph. *Annual Review of Entomology*, 6 (1): 75–102.
- Yeaman MR, Yount NY. 2003. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacological Reviews*, 55 (1): 27–55. DOI: 10.1124/pr.55.1.2
- Zhao J, Zhao C, Liang G, Zhang M, Zheng J. 2013. Engineering antimicrobial peptides with improved antimicrobial and hemolytic activities. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53 (12): 3280–96. DOI: 10.1021/ci400477e

Evaluación de las variantes génicas en los genes *CYP2A6* y *CHRNA5* y de sus implicaciones en la adicción al tabaco en la población de Itagüí, Colombia

Evaluation of gene variants in the *CYP2A6* and *CHRNA5* genes and their implications for addiction to tobacco in the population of Itagüí, Colombia

Estefanía Cardona-Villa^{1*}, Juliana Martínez-Garro², Gloria Sierra-Hincapié³,
Yolanda Torres⁴

Resumen

El tabaquismo es un problema de salud pública dado que el consumo es cada vez mayor y presenta edades de inicio más tempranas; en relación con los procesos biológicos del tabaquismo se han identificado varios genes cuyas variantes han sido asociadas con este fenómeno. El objetivo de este estudio fue evaluar la relación entre los polimorfismos rs6801272 y rs680244 en los genes *CYP2A6* y *CHRNA5* respectivamente, con el consumo de tabaco. Para esto se realizó un estudio de casos (fumadores-exfumadores versus controles), controlando las variables edad y sexo, además de considerar la edad de inicio y el número de cigarrillos por día. El locus rs6801272 se encontró monomórfico en la población de estudio, presentando el alelo T asociado con el metabolismo normal de la nicotina; aunque el locus rs680244 se encontró polimórfico, no fue posible establecer la relación de esta variante genética con el consumo de cigarrillos (OR 3,2) o la capacidad de abandono (OR 5,3); tampoco fue posible establecer una correlación entre el genotipo y el número de cigarrillos por día ($R^2 = 0,001$) o el genotipo y la edad de inicio ($R^2 = 0,015$). En conclusión, no se detectó una relación entre las variantes genéticas estudiadas y el consumo, la capacidad de abandono, el número de cigarrillos por día y la edad de inicio en la población de Itagüí.

Palabras clave: tabaquismo, polimorfismo, receptor nicotínico, alelos, asociación genotipo-fenotipo

Abstract

Smoking is a public health problem because consumption is growing and exhibits earlier ages of onset; in terms of the biological processes of smoking, several genes have been identified whose variants are related to this phenomenon. The aim of this study was to evaluate the relationship between rs6801272 and rs680244 polymorphisms in genes *CYP2A6* and *CHRNA5*, respectively, with the consumption of tobacco. For this, a case study was conducted (smokers-ex smokers versus controls) matched by age and sex, as well as considering starting age and number of cigarettes per day. The monomorphic locus rs6801272 was found in the study population, presenting the T allele associated with normal metabolism of nicotine; and the rs6801272 locus was found to be polymorphic, but the relationship of this genetic variation with cigarette smoking (OR 3,2) or the capacity to abandon smoking (OR 5,3) was not established; it was not possible to establish a correlation between the genotype and the number of cigarettes per day ($R^2 = 0,001$) or genotype and age of onset ($R^2 = 0,015$). In conclusion, a relationship between the genetic variants studied and consumption, capacity of quitting, number of cigarettes per day and age of onset was not detected.

Key words: smoking, polymorphism, nicotinic receptor, alleles, genotype-phenotype association

INTRODUCCIÓN

El tabaquismo es un problema de salud pública que reúne causas genéticas, psicológicas, sociales y fisiológicas; aunque es considerado por la Organización Mundial de la Salud la primera causa de muerte prevenible en los países desarrollados, el 80% de los fumadores habitan países de ingresos bajos o medios, en los cuales la edad de inicio del consumo es cada vez menor (entre 9–13 años) (OMS 2015).

Personas cada vez más jóvenes inician el consumo reiterado, re-

duciendo con esto su expectativa de vida y generando tolerancia a las sustancias que lo componen y provocando una dependencia que se manifiesta en la dificultad para abandonarlo (Pérez y Pinzón 2005, OMS 2013); por lo tanto, identificar los factores genéticos y no genéticos que se relacionan con la probabilidad de abandono, la edad de inicio y la cantidad de tabaco consumido, es fundamental para comprender la biología de la dependencia, mejorar los pronósticos y generar nuevas alternativas terapéuticas, las cuales podrían personalizarse, acorde con el genotipo, para minimizar los efectos secundarios (Chen y Bierut 2013).

Recibido: marzo 2016; aceptado: noviembre 2017.

¹. Universidad CES-EIA, <escardona@uces.edu.co>

². Biología Universidad CES-EIA, <jmartinezg@ces.edu.co>

³. Grupo de Salud Mental CESIM, <gsierra@ces.edu.co>

⁴. Grupo de Salud Mental CESIM, <ytorres@ces.edu.co>

*. Autor para correspondencia

En cuanto a los procesos biológicos asociados con el tabaquismo, se han identificado varios genes dentro de los cuales las subunidades del receptor de acetil colina nicotínico (*nAChR*) se describen entre los mejores candidatos de genotipos relacionados con el tabaquismo. El gen *CHRNA5*, que codifica la subunidad 5 alfa del *nAChR*, se relaciona con la sensación agradable durante la experiencia inicial al fumar; una de sus variantes, el SNP (polimorfismo de un solo nucleótido) rs680244, se asocia con los niveles de ARNm, incidiendo directamente en la cantidad de receptores, por lo que podría asociarse con la probabilidad de no abandonar el tabaco, tal como lo informan Chen y Baker (2014), Berrettini y Doyle (2012) y Li y Yoon (2010).

Por otro lado, el gen *CYP2A6* codifica el citocromo P450 que cataliza el metabolismo de la nicotina en cotinina en el hígado y según Osorio (2010), posee variantes que están relacionadas con la velocidad con la cual es procesada la nicotina (Oscarson 2001); una de estas variantes es el SNP rs1801272, cuyo alelo A se presenta en personas que metabolizan más lentamente la nicotina, y por lo tanto, el número de cigarrillos que requieren para producir la misma sensación se altera; así, aquellos que presentan el genotipo lento tienen una tendencia a consumir menos cigarrillos por día y a tener menores niveles de nicotina en sangre según lo registran Osorio (2010) y Raunio (2001).

Durante el primer estudio poblacional de salud mental realizado en Itagüí (Torres et al. 2012), se encontró que la prevalencia anual del consumo de sustancias en adolescentes era del 12,4%, siendo el tabaco una de las más frecuentes y encontrándose que la edad promedio de inicio de su consumo es 12,4 años.

Considerando lo anterior, este estudio evaluó la asociación de la variante rs680244 del gen *CHRNA5* y la variante rs6801272 del gen *CYP2A6* con el hábito de fumar y la dependencia al tabaco en una muestra de la población de Itagüí, Colombia.

MATERIALES Y METODOS

Obtención de base de datos. Durante el desarrollo del primer estudio poblacional de salud mental en Itagüí (Torres et al. 2012), cuyo objetivo fue conocer los trastornos mentales más prevalentes, se recopiló información entrevistando la población general, ubicada en los diferentes estratos socioeconómicos de las seis comunas del municipio de Itagüí (Colombia), utilizando el *World Health Organization Composite International Diagnostic Interview* (versión CIDI-CAPI; WHO 2017); adicionalmente, se tomó muestra de saliva para análisis genético a un total de 896 personas entre los 13 y los 65 años, con el debido consentimiento informado o asentimiento en caso de menores de edad, previa aprobación del Comité de ética de la Universidad CES, y considerando el respeto y la protección a los derechos individuales.

El tamaño de muestra se calculó con base en la fórmula para la estimación de una proporción poblacional: $n = Nz^2p(1-p) / d^2(N-1) + z^2p(1-p)$ donde: N es la población total, z: valor Z para un nivel de confianza del 99%, d: Precisión absoluta del 5% y p: 5.9% (prevalencia anual esperada para la depresión según Torres et

al. 2012).

Obtención de un banco de ADN. La extracción del ADN a partir de las 896 muestras de saliva se realizó con el kit comercial DNA Ora gene Genotek siguiendo el protocolo descrito por Torres et al. (2012). El protocolo de extracción incluyó el uso de resinas quelantes (chelex-100 BIO-RAD) (Armas y Capo 2011); las muestras de ADN se almacenaron a -20 °C.

Selección de casos y controles. A partir de la base de datos obtenida del primer estudio poblacional de salud mental se detectaron 185 fumadores (143 habituales y 43 esporádicos), 110 exfumadores (personas que llevaban un año o más sin consumir cigarrillos) y del banco de ADN se seleccionaron 70 exfumadores, 70 fumadores y 140 controles pareados por sexo, edad (con una diferencia máxima de 5 años entre caso y control) y comuna mediante el paquete Matchit 2.4-20 de R (Ho et al. 2007). Para estimar el tamaño de la muestra se emplearon las frecuencias de los alelos de riesgo en población europea e hispana (Saccone et al. 2009, Verde et al. 2011) y el número de habitantes del municipio de Itagüí, con una potencia del 80% utilizando el software Epiinfo (Manocci et al. 2012) y se obtuvo un valor aproximado de 40 individuos para cada categoría.

Genotipificación. Los cebadores fueron diseñados usando el software PRIMER 3 v.04.0 (Koressaar 2007) (tabla 1); se verificaron mediante PCR in silico (Fujita et al. 2010) y las enzimas de restricción se seleccionaron utilizando el programa NEBcutter (Vincze et al. 2003).

Se usó el protocolo de RFLPs propuesto por Verde et al. (2011). Las regiones seleccionadas se amplificaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para las secuencias genéticas que contenían los SNPs rs680244 y rs6801272 (tabla 1); los productos de amplificación se visualizaron mediante una lámpara de luz ultravioleta, tras su separación electroforética en gel de agarosa al 2% y tinción con bromuro de etidio. Posteriormente se sometieron los amplificados a digestión usando las enzimas SFaNI y HindIII respectivamente; finalmente, se resolvieron los genotipos en geles de agarosa al 2%; este proceso se repitió en aproximadamente el 20% de las muestras y se usaron controles negativos de extracción de ADN y PCR.

Análisis Estadístico

Análisis de datos no genéticos. Entre los fumadores y exfumadores seleccionados previamente se calculó la proporción de sexos, la media y la desviación estándar para la cantidad de cigarrillos consumidos por día y la edad de inicio; adicionalmente se calculó mediante un Ji cuadrado la significancia para la proporción de sexos en fumadores y exfumadores con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 1: Cebadores sentido y antisentido diseñados en primer 3 para cada gen.

GEN	Sentido	Antisentido
CHRNA5	5'-CCCGTTCAAAAATCAGGAAA-3'	5'-GGGAAGCAGGACACAAACTC-3'
CYP2A6	5'-CCCGTTCAAAAATCAGGAAA-3'	5'-GGGAAGCAGGACACAAACTC-3'

Análisis de datos genéticos. Para el SNP rs680244 se calculó el equilibrio de Hardy Weinberg, las frecuencias alélicas y genotípicas mediante el software GENEPOP (Rousset 1995); se realizó un test de asociación alélica y genotípica calculando los OR, con intervalos de confianza del 95% y valores *p* (Cerdeira et al. 2013) para los grupos de fumadores vs exfumadores, fumadores vs controles de fumadores y exfumadores vs controles de exfumadores. Además, se evaluó la correlación con el número de cigarrillos por día y la edad de inicio mediante el software PLIK (Purcell et al. 2007)

RESULTADOS

Mediante los análisis no genéticos no se observaron diferencias significativas en las proporciones de hombres y mujeres fumadores y exfumadores (*p*= 0,73); tampoco se determinaron diferencias entre sexos en relación con la cantidad de cigarrillos y la edad de inicio (tabla 2).

Tabla 2. Proporción de sexos para cada grupo, cantidad de cigarrillos por día y edad en la cual se inició el consumo de tabaco para cada grupo (fumadores y exfumadores)

Grupo de casos		Porcentaje de sexos	Media cigarrillos/día ¹	Media edad de inicio
Fumadores	Hombres	57,14	11,50±(9,57)	14,17±(3,31)
	Mujeres	42,86	13,30±(8,94)	16,30±(3,53)
	Total	100,00	12,27±(9,42)	15,41±(3,52)
Exfumadores	Hombres	60,00	NA ³	ND ²
	Mujeres	40,00	NA ³	ND ²
	Total	100,00		

¹ () Desviación estándar

² ND: Dato no disponible

³ NA: No aplica

En cuanto a los resultados obtenidos para el SNP rs6801272 ubicado en el gen *CYP2A6*, la genotipificación de 110 individuos (30 fumadores, 33 exfumadores y 47 controles) evidenció, en todas las muestras analizadas, una banda de 587 pb correspondiente al genotipo TT; al establecer la homogeneidad genotípica en el 40% de las muestras se concluyó que el locus es monomórfico, por lo cual no se continuó con la genotipificación.

Para el SNP rs680244 se genotipificaron 183 individuos (33 fumadores, 57 exfumadores, 42 controles de fumadores, 51 controles de exfumadores) y se encontraron tres genotipos: AA, AG y GG; posteriormente se calculó la frecuencia alélica y genotípica en cada grupo. Se observó una mayor frecuencia del alelo A en fumadores y la presencia del genotipo AA solo en un individuo del grupo de fumadores (tabla 3).

Tabla 3. Frecuencias genotípicas y alélicas para cada grupo fumadores, exfumadores, controles fumadores y controles exfumadores

Frecuencias				
Genotipos y alelos	Fumadores	Exfumadores	Controles fumadores	Controles exfumadores
AA	0,03	0,00	0,00	0,00
AG	0,03	0,05	0,17	0,04
GG	0,94	0,95	0,83	0,96
A	0,05	0,03	0,08	0,02
G	0,95	0,97	0,92	0,98

Al realizar los análisis genético-poblacionales, se encontró equilibrio de Hardy Weinberg para todos los datos con excepción de la categoría 'casos fumadores' (datos no mostrados). La revisión de la distribución de genotipos en función de las frecuencias alélicas demostró que si bien no se esperaba un genotipo homocigótico, dada la baja frecuencia del alelo de riesgo (0,05), este si fue detectado en este grupo. Al realizar el test de asociación genotípica

y alélica no se obtuvieron resultados significativos para ninguna de las comparaciones entre fumadores, exfumadores y los respectivos controles (tabla 4); también se encontró que no existe una correlación entre dicha variante y la cantidad de cigarrillos consumidos o la edad de inicio, ya que los coeficientes de determinación fueron 0,00 ($p = 0,86$) y 0,02 ($p = 0,50$) respectivamente.

Tabla 4. Odd Ratio (OR) para los test de asociación alélica y genotípica entre fumadores vs exfumadores, fumadores vs controles y exfumadores vs controles

Grupos	Asociación genotípica		Asociación alélica	
	OR ³	valor p	OR ³	valor p
fumadores vs exfumadores	5,30 (0,21 a 134,10) ³	0,31	1,76 (0,34 a 8,99)	0,50
fumadores vs controles fum ¹	3,92 (0,15 a 99,48) ³	0,40	0,52 (0,13 a 2,11)	0,36
exfumadores vs controles ex fum ²	0,8957 (0,17 a 45,96) ³	0,96	1,35 (0,22 a 8,25)	0,74

¹. controles fum: controles fumadores
². controles exfum: controles exfumadores
³. OR y el "()" intervalos de confianza del 95%

DISCUSIÓN

No se encontró una diferencia significativa en la proporción de sexos en fumadores y exfumadores; la OMS (2010), durante un estudio realizado en 150 países, estableció que la proporción de sexos, aunque en la mitad de los países era de 40% hombres y 9% mujeres; en el otro 50% la diferencia no era significativa. Sumado a lo anterior, al compararse el porcentaje de fumadores habituales en la muestra de la población de Itagüí (15,96%), con los datos registrados por la OMS (2017) para diferentes países, encontramos que este valor es alto en relación con otros países, indicando una alta prevalencia del consumo de tabaco.

Dado que se ha establecido que la población de estudio presenta un 70% de ancestría europea (Duque et al. 2012), se esperaba encontrar para el SNP rs6801272 ambos alelos. Sin embargo, para América, el proyecto 1000 genomas registra una frecuencia del alelo T del 0,0072 (NCBI 2014), lo cual es congruente con los resultados de este estudio. La ausencia del alelo T pudo originarse por un efecto fundador ya que la población de Antioquia fue establecida por europeos, africanos y amerindios (Duque et al. 2012). Por otra parte, según Keyeux et al. (2000), los grupos indígenas son, desde el punto de vista genético, muy homogéneos o monomórficos, en relación con otras poblaciones, lo cual puede estar también reflejándose en estos hallazgos.

El alelo presente en la población de Itagüí codifica una enzima que procesa la nicotina más rápido en relación con la enzima en presencia del alelo A, que conlleva a un cambio aminoacídico de Leu por His en la posición 160, resultando en la inactividad enzimática; por tanto, los individuos podrían categorizarse como metabolizadores normales, es decir, los individuos con el genotipo GG procesan la nicotina más rápido respecto a los individuos que poseen el alelo A, así, la sensación producida por un cigarrillo es menos duradera comparada con los individuos que presentan el alelo mutante; se podría concluir que el genotipo GG, hallado en la población, conlleva a un consumo mayor de cigarrillos, según Osorio (2010) y Raunio (2001).

En cuanto al rs680244 se observó que aun cuando los intervalos de los OR no son significativos estos se encuentran más distribuidos hacia la derecha, indicando una posible asociación que no fue detectada en este estudio; es posible que al evaluarlo junto con otras variantes genéticas y no genéticas se modifique este resultado.

También se observó que la frecuencia del alelo A es más alta en fumadores que en el resto de grupos, siendo esto consistente con los estudios de Cerda et al (2013) y Chen y Bierut (2013) donde se relaciona el alelo A con una disminución en la probabilidad de abandono, debido a que incrementa el síndrome de abstinencia; no obstante, la frecuencia encontrada para este alelo es menor que la registrada para población hispana (0,26) (Ning et al. 2001) y para América (0,22) de acuerdo con el estudio de los 1000 genomas (NCBI 2014).

Es de resaltar que aun cuando el grupo de fumadores se encuen-

tra fuera del equilibrio de Hardy Weinberg, el valor p es 0,045. Dicho resultado se debe al individuo homocigótico observado; aunque ante frecuencias alélicas bajas, como en este caso, se espera que el alelo se encuentre en forma heterocigótica (Kalmes y Huret 2001), esta única observación es insuficiente para determinar la asociación ya que las pruebas de ji cuadrado y exacta de fisher se ven afectadas por el número de observaciones según Pértega y Pita (2004), lo que explicaría la no obtención de diferencias entre los grupos de estudio.

Dado que las frecuencias para el SNP rs680244 son diferentes a las registradas por otros estudios, lo que puede deberse a que la muestra en este trabajo no fue tomada al azar si no bajo los criterios anteriormente expuestos, logrando modificar la distribución de los genotipos y alelos (Hedrick 2011).

Para futuras investigaciones se recomienda incluir la interacción con otros genes ya que una de las limitaciones de este estudio fue la cantidad de mutaciones que se pudieron evaluar; en fenotipos complejos pueden estar interactuando múltiples genes. Un gen que podría ser incluido sería *SLC6A4* que codifica una proteína de membrana llamada DAT lo cual podría revelar si la variante evaluada en conjunto con otros genes está involucrada en el hábito de fumar (Pombo 2014, Schellekens 2012, Watanabe 2011).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que no existe diferencia en la proporción de hombres y mujeres que fuman o que abandonan el cigarrillo; además, se detectó un elevado consumo de cigarrillos en la población por lo cual es pertinente continuar realizando estudios de este tipo.

Adicionalmente, considerando los hallazgos para el SNP rs680244, se puede concluir que aun cuando los OR obtenidos no son significativos, aumentar el tamaño de la muestra y adicionar otros genes permitiría evaluar nuevas interacciones del gen *CHRNA5* relacionadas con el hábito de fumar.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los voluntarios participantes en la investigación, al área de gestión del conocimiento de la Universidad CES por el financiamiento del proyecto, a Pablo Andrés Guzmán, Bioestadístico de la Universidad CES, por la asesoría en los análisis estadísticos y a la Bióloga Laura Patiño Cadavid, estudiante de maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad CES, por el apoyo técnico brindado durante la ejecución del proyecto.

REFERENCIAS

- Armas Y, Capo V. 2011. Comparación de tres métodos de extracción de ADN de tejidos embebidos en parafina. *Biología Aplicada*, 28 (1): 40-3.
- Berrettini WH, Doyle GA. 2012. The *CHRNA5-A3-B4* gene cluster in nicotine addiction. *Molecular and Psychiatry*, 17: 856-866. DOI: 10.1038/mp.2011.122

- Cerda J, Vera C, Rada G. 2013. Odds ratio: aspectos teóricos y prácticos. *Revista Médica de Chile*, 141 (10):1329-35. DOI: 10.4067/S0034-98872013001000014
- Chen LS, Bierut LJ. 2013. Genomics and personalized medicine: *CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4* and smoking cessation treatment. *Journal of Food Drug Analysis*, 21 (4):87-90. DOI: 10.1016/j.jfda.2013.09.041
- Chen LS, Baker TB. 2014. Interplay of genetic risk (CHRNA5) and environmental risk (partner smoking) on cigarette smoking reduction. *Drug and Alcohol Dependence Journal*, 143: 36-43. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2014.06.027
- Duque C, Parra MV, Valencia AV, Bedoya G, Ruiz A. 2012. Comparación de cuatro programas utilizados en la determinación de la composición genética ancestral de la población antioqueña. *Revista Colombiana de Antropología*, 48 (1): 233-257.
- Fujita P, Rhead B, Zweig A. 2010. The UCSC Genome Browser database: update 2011. *Nucleic Acids Research*, 44 (12): 12-22. DOI: 10.1093/nar/gkq963
- Hedrick P. 2011. *Genetics of Populations*. 4rd Ed. Arizona: Jones and Bartlett Publishers. p. 675.
- Ho D, Imai K, King G, Stuart E. 2007. MatchIt Nonparametric Pre-processing for Parametric Causal Inference. *Journal of Statistical Software*, 42 (8): 1-28. DOI: 10.18637/jss.v042.i08
- Kalmes R, Huret JL. 2001. Hardy-Weinberg model. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 5 (2): 156-163 DOI: 10.4267/2042/37744
- Keyeux G, Rodas MC, Bernal JE. 1992. Haplogrupos fundadores del DNA mitocondrial en poblaciones colombianas: aporte a los estudios en América. En: *Geografía humana de Colombia. Variación biológica y cultural en Colombia*. Tomo I. Bogotá: Instituto Colombiano de Cultura Hispánica p. 453-466.
- Koressaar T. 2007. Enhancements and modifications of primer design program Primer3. *Bioinformatics*, 23: 1289-1291. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm091
- Li MD, Yoon D. 2010. Associations of variants in CHRNA5/A3/B4 gene cluster with smoking behaviors in a Korean population. *PLoS One*, 10: 124-130. DOI: 10.1371/journal.pone.0012183
- Mannocci A, Bontempi C, Giraldi G. 2012. EpiInfo as a research and teaching tool in epidemiology and statistics: strengths and weaknesses. *Igiene e sanità pubblica*, 68 (1): 85-96.
- NCBI [internet]. 2014. National Center for Biotechnology Information. Fecha de acceso 2017 junio 17 Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ss.cgi?subsnp_id=1354230754
- Ning Z, Cox AJ, Mullikin JC. 2001. SSAHA: a fast search method for large DNA databases. *Genome Research*, 11 (10), 1725-1729. DOI: 10.1101/gr.194201
- OMS [Internet]. 2010. Diez datos sobre el género y el tabaco. Organización Mundial de la Salud. Fecha de acceso: abril 11 de 2016. Disponible en: http://www.who.int/features/factfiles/gender_tobacco/facts/es/index1.html
- OMS. [Internet]. 2013. Informe sobre la epidemia mundial de tabaquismo. Organización Mundial de la Salud. Fecha de acceso: febrero 20 de 2016. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85382/1/WHO_NMH_PND_13.2_spa.pdf
- OMS. [Internet]. 2015. Tabaco. Organización Mundial de la Salud. Fecha de acceso: abril 19 de 2015. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/es/>
- OMS. [Internet]. 2017. Tobacco use prevalence. Organización Mundial de la Salud. Fecha de acceso: agosto 18 de 2017. Disponible en: http://www.who.int/tobacco/global_report/2017/appendix_II.pdf
- Oscarson M. 2001. Genetic Polymorphisms in the Cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) Gene: Implications for Interindividual Differences in Nicotine Metabolism. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemical*, 29 (2): 91-95.
- Osorio JH. 2010. Citocromo P4502A6 (CYP2A6) humano y su relación con el consumo de tabaco. *Biosalud*, 9 (1): 36-46.
- Perez A, Pinzon H. 2005. Uso del tabaco entre los jóvenes colombianos: retos para los profesionales en salud. *Salud Uninorte Barranquilla*, 21: 66-75.
- Pértiga S, Pita S. 2004. Asociación de variables cualitativas. El test exacto de Fisher y el test de McNemar. *Cuadernos de Atención Primaria*, 11 (5): 304-308.
- Pombo S. 2014. The role of 5-HTTLPR polymorphism in alcohol craving experience. *Psychiatry Research*, 218: 174-9. DOI: 10.1016/j.psychres.2014.04.026
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L. 2007. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *American Journal of Human Genetics*, 81 (3): 559-575. DOI: 10.1086/519795
- Raunio H. 2001. Polymorphisms of CYP2A6 and its practical consequences. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 52: 357-363. DOI: 10.1046/j.0306-5251.2001.01500.x
- Raymond M, Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal Heredity*, 86: 248-249. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573
- Saccone NL, Saccone SF, Hinrichs AL. 2009. Multiple Distinct Risk Loci for Nicotine Dependence Identified by Dense Coverage of the Complete Family of Nicotinic Receptor Subunit (CHRN) Genes. *American Journal of Medical Genetics*, 4: 453-466. DOI: 10.1002/ajmg.b.30828
- Schellekens AF. 2012. Reduced Dopamine Receptor Sensitivity as an Intermediate Phenotype in Alcohol Dependence and the Role of the COMT Val158Met and DRD2 Taq1A Genotypes. *Archives General Psychiatry Journal*, 69: 339-48. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.1335.
- Torres Y, Agudelo A, Sierra G, Salas C. 2012. Prevalencia de trastornos mentales en población general del municipio de Itagüí (Colombia), 2012. *CES Medicina*, 28: 49-60.
- Verde Z, Santiago C, Rodríguez JM. 2011. 'Smoking Genes': A Genetic Association Study. *PLoS One*, 6 (10), e26668. DOI: 10.1371/journal.pone.0026668
- Vincze T, Posfai J, Roberts RJ. 2003. NEBcutter: a program to cleave DNA with restriction enzymes. *Nucleic Acids Research*, 31: 3688-91.
- Watanabe MA. 2011. Genetic polymorphism of serotonin transporter 5-HTTLPR: involvement in smoking behaviour.



Journal of Genetics, 90: 178–185.

WHO. 2017. World Health Organization Composite International Diagnostic interview (WHO WMH-CIDI). Geneva: World Health Organization.



A new species of *Manekia* Trel. (Piperaceae) in Northwest Colombia

Una nueva especie de *Manekia* Trel. (Piperaceae) en el Noroccidente de Colombia

Daniel Silva-Sierra¹ and Ricardo Callejas-Posada²

Abstract

Manekia is one of five lineages recognized today in the Piperaceae. All species of *Manekia* are scandent lianas with petiolar margins extending throughout the petiole or beyond it into the leaf blade, with spikes often restricted to very short sympodial branches, appearing axillar, solitary or geminate, with four staminate flowers, anthers almost sessile and fruits partially to fully immersed in the rachis. Species of *Manekia* are entirely restricted to the Neotropics. At present, six species of *Manekia* are accepted in the genus. A detailed examination of all known collections, including the type specimens of *Manekia*, as well as field work in several areas of the Neotropics, suggest the existence of several taxonomic novelties within the genus, one of which (*Manekia betancurii*) is here described, from the western slopes of the western Cordillera in the department of Antioquia, Colombia. The new species is distinguished from all other species of *Manekia* by densely pubescent stems, petioles, peduncles, and lower surfaces of the leaves, leaves 9 pinnately nerved, and the petiolar margins extending 0.2–0.8 cm into the leaf blade. The new species is described and illustrated, a discussion on its distribution and ecology is provided and its taxonomic affinities discussed. A dichotomous key of all species recognized in *Manekia* (including *M. betancurii*) is also provided.

Key words: Neotropics, western cordillera, Las Orquídeas Natural National Park

Resumen

Manekia es uno de los cinco linajes reconocidos en la familia Piperaceae. Todas las especies de *Manekia* son lianas escandentes con las márgenes peciolares extendidas toda la extensión del pecíolo o incluso alcanzando arriba de la base foliar sobre la lámina de la hoja, con espigas a menudo restringidas a ramas simpodiales muy cortas, y aparentemente axilares, solitarias o geminadas, flores con cuatro estambres, anteras casi sésiles y frutos parcialmente inmersos en el raquis. Actualmente, seis especies son reconocidas en *Manekia*, todas ellas restringidas al Neotrópico. Un examen detallado de todas las colecciones, incluyendo ejemplares tipo de *Manekia*, así como trabajo de campo en varias áreas del Neotrópico, sugieren la existencia de varias novedades taxonómicas al interior del género, unas de las cuales, *Manekia betancurii* es descrita aquí. La nueva especie prospera en el piedemonte occidental de la Cordillera Occidental en el departamento de Antioquia, Noroccidente de Colombia. *M. betancurii* se distingue de otras especies del género por los tallos, pecíolos, estípites y envés de las hojas densamente pubescentes, hojas 9 pinnatinervias, y márgenes peciolares extendidas 0.2–0.8 cm por encima de la base foliar. Así mismo, se describe e ilustra la nueva especie, se discute su distribución y ecología y se analizan sus afinidades taxonómicas. Se proporciona una clave dicotómica de todas las especies reconocidas en *Manekia* (incluido *M. betancurii*).

Palabras clave: Neotrópico, cordillera occidental, Parque Nacional Natural Las Orquídeas

INTRODUCTION

Manekia Trel. (Piperaceae) is one of five genera recognized in the Piperaceae (Jaramillo et al. 2004, Samain et al. 2010, Wanke et al. 2007). Species of *Manekia* are easily recognized by their scandent or lianescent habit, the petiolar margins extending the entire length of the petiole and often reaching above the leaf base, both in leaves from sympodial as well monopodial branches, by the short sympodial branches which hold the spikes, the spikes often appearing axillar, and solitary or geminate, by the four staminate

flowers, the four carpellate pistils, 4–5 stigmas and the berries partially or fully immersed in the rachis. Currently, six species of *Manekia* are recognized, and occur in disjunct areas in the Greater and Lesser Antilles, the Caribbean coast of Nicaragua, Costa Rica and Panamá, the Andean regions of Colombia, Ecuador and Perú, the Guiana shield in Venezuela and the southern Atlantic Forests of Brazil. *Manekia* individuals grow in karst areas, humid, premontane or montane forests at elevations from sea level to 2,000 m (Arias et al. 2006).

Received: mayo 2017; accepted: octubre 2017

Laboratorio de Taxonomía de Plantas Vasculares, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
e-mails: ¹<dsilvasierra@me.com>, ²<callejas542004@yahoo.com>

Individual plants exhibit a rather distinct ecology when compared to other genera in the Piperaceae. Plants may grow and invade the litter of the forest, forming large mats of reptant stems, with very long internodes, eventually colonizing a large array of nearby phorophytes, ascending and eventually reaching the canopy of trees, often forming large masses on the top, then blooming. Thus, flowering specimens in *Manekia* are rare, and only present when the plant has reached a rather large adult size, something that may take several years (Personal observations by the authors in populations of *Manekia naranjoana* (C. DC.) Callejas ex N. Zamora, Hammel and Grayum in Costa Rica).

Manekia was originally described by William Trelease (1927a) based on specimens collected in Haiti. Curiously, Trelease (1927b) in the same year described another genus, *Sarcorhachis* Trel., based on specimens collected in Panamá and scarcely different in diagnostic features to those included in *Manekia*. Both names eventually proved to refer to the same entity and were merged under *Manekia* (Arias et al. 2006, Bornstein 1996, Brummitt 1998, Hammel et al. 2004). The taxonomy and systematics of *Manekia* has been variously explored in recent years (Arias et al. 2006, Bornstein 1996). More recently, Schubert et al. (2012) performed a cladistics analysis and recognized only three species in *Manekia*. Those authors consider that some species are rather widespread, more than previously thought.

Species of *Manekia* are not always easy to detect in herbarium material. Floral characters are very uniform in the genus, all species have basically the same type of floral bract, anthers, pistils and berries; leaves can vary in size, number of veins, as well as in the structure of sympodial branches (number of leaves, degree of development of leaves, number and position of spikes). Thus, variation in foliar characters in a single plant often are impossible to assess due to the paucity of flowering specimens or the lack of leaves from monopodial axis where collections consist only of sympodial branches. Based on the examination of most known collections of *Manekia* in the Neotropics deposited in B, BR, C, CHG, COL, CR, F, G-DC, GH, HUA, HLDG, ILL, JAUM, JBSD, K, L, MEDEL, MO, NY, P, PMA, SCZ, U, US, USJ, VEN, as well as detailed observations of living individuals in the field in Colombia, Costa Rica and Panamá (Supplementary material), we encountered significant differences in several characters; including the extent of the petiolar margins in leaves of the monopodium and sympodial branches, the number of primary veins or the degree of fusion of the central part of primary veins (which often results in leaves being pinnately nerved), the presence of leaves on sympodial branches, the type and distribution of trichomes in several parts of the plant, and the length of spikes when compared with the length of individual adult leaves. Here we recognized six species (see key below) and present evidence for the recognition of an additional taxonomic novelty, *Manekia betancurii*.

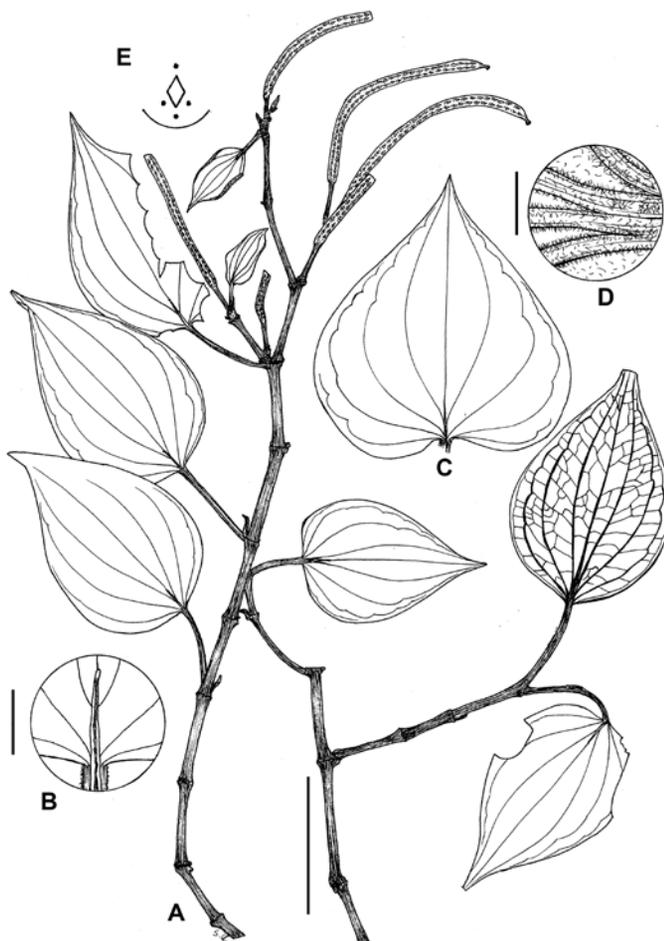


Figure 1. *Manekia betancurii*. **A.** General view of the plant and sympodial branches; scale bar equals 5 cm. **B.** Detail of petiolar margin above the leaf base; scale bar equals 5 mm. **C.** Leaf of monopodial axis. **D.** Detail of indumentum on lower surface of leaf; scale bar equals 3 mm. **E.** Floral diagram. All taken from Callejas et al. 2980, HUA.

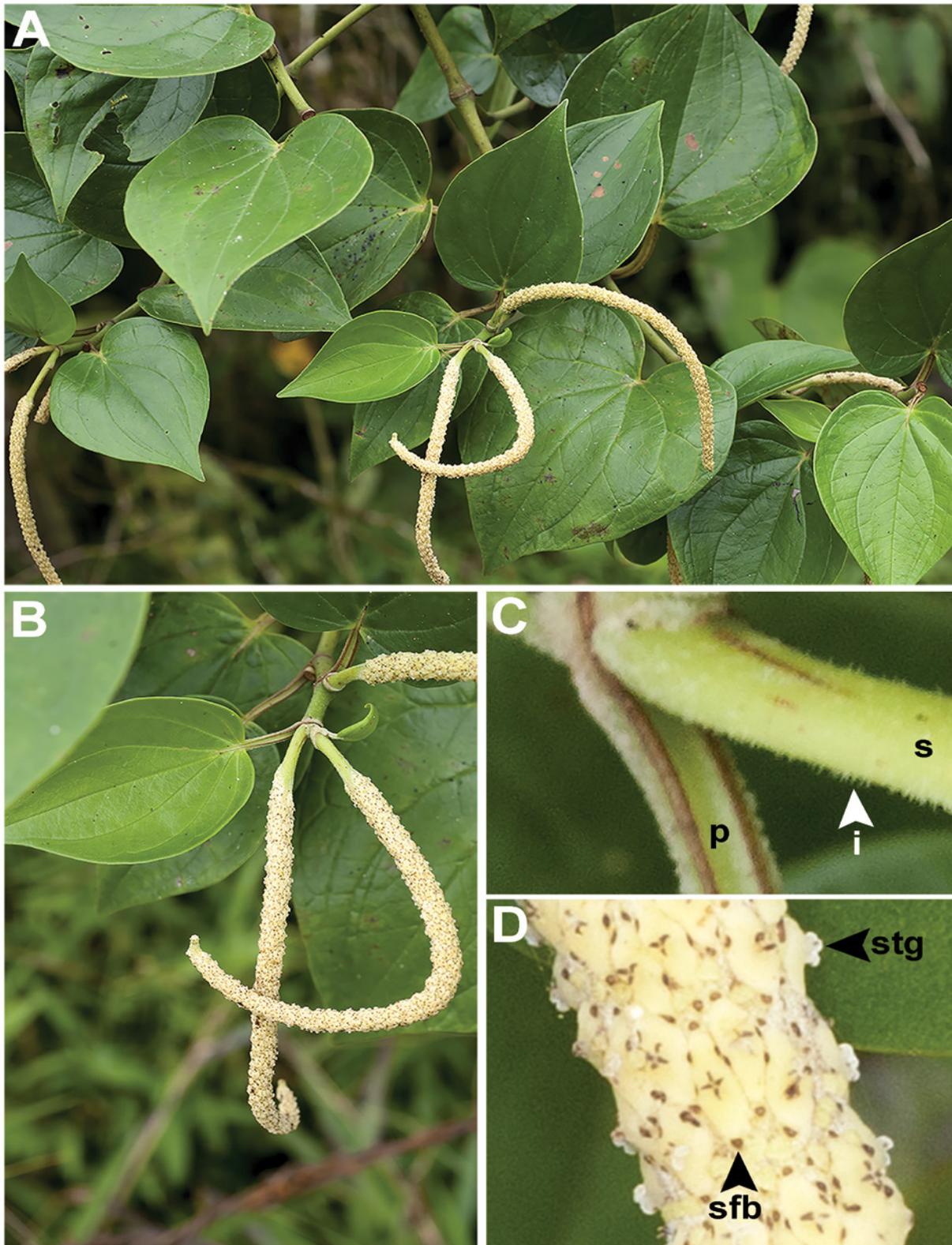


Figure 2. *Manekia betancurii*. **A.** General view of an individual plant. **B.** Close view of sympodial branches and the spikes. **C.** Detail of indumentum on stem. (i) indumentum, (p) petiole, (s) stem. **D.** Detail of spike in fruit. (sfb) scar of filament base, (stg) stigmata. Photos by Paola Pedraza and Julio Betancur, taken at the type locality in NW Colombia.

Manekia betancurii

Silva-Sierra and Callejas sp. nov.

(figures 1, 2)

Type: Colombia: Antioquia, mun. Frontino, Las Orquídeas Natural National Park, road from Finca Guadulala to Alto de Carauta, 6°30'N–76°30'W, 1,020–1,750 m, 2 Dec 1986 (fl), *R. Callejas, F.J. Roldán, J. Betancur and O. Escobar 2980* (Holotype: HUA!; isotype: COL!).

A species distinct from others in the genus Manekia by the combination of the 7–9 pinnately nerved leaves from monopodial axis, the petiolar margins extending 0.2–0.8 mm above the leaf base, and the presence of trichomes on stems, leaf abaxial surface, petioles and peduncles.

Scandent lianas with stems 5–12 m long, densely branched, nodes strongly thickened, the nodes of monopodial axis and branches rooting, root scars 0.1 × 0.1 mm, black, prominent; internodes 2.5–5.2 × (-0.5) 0.1–0.3 cm, terete when living, terete to quadrangular when dry, densely pubescent, trichomes 0.1–0.2 × 0.1 mm, weak, flexuous, sub-erect, semirigid, fuliginous when dry, surface of the internodes smooth, orange punctate, the idioblasts rather dispersed on the surface, stems pale green when living, brownish to blackish when dry. Prophyllum (-0.1–0.3) 0.6–1.0 × 0.1 cm, densely pubescent, not punctuate, blackish and coriaceous when dry. Leaves variable in shape and size, those on the main axis and monopodial branches 8.4–10.5 × 6.4–8.7 cm (the most basal ones) or 4.1–5.5 × 1.9–3.2 cm (the most distal ones), those leaves on sympodial branches much smaller, 2.3–2.7 × 0.05–0.1 cm, ovate to elliptic in monopodial axis, elliptical, lanceolate in sympodial branches, almost symmetrical and equilateral at the base, those leaves on monopodial axis often obtuse, rounded to truncate or sub-lobate, the lobes when presents much shorter than the petioles, divergent, leaves on sympodial branches acute, short to long acuminate at the apex, pinnately nerved below the lower third portion of the leaf, with 3 (leaves on sympodial or flowering branches) to 4 pairs of secondary nerves in monopodial axis, the nerves almost equally spaced, the central pair more or less merged with the midnerve for nearly one centimeter, the most basal nerves in leaves from monopodial axis diverging in 70–90 degree angles, the most central ones in 30–45 degree angles, nerves in leaves from sympodial branches diverging in 35–40 degree angles, all nerves slightly curved and ascending, reaching the apex of the leaf blade, marginally anastomosed and forming prominent loops, nerves of third order mixed alternate and opposite percurrent, convex to sinuous, forming areoles 0.6–0.9 × 0.4–0.5 cm, (0.3–0.4 × 0.1–0.2 cm in leaves from sympodial branches) relatively consistent in form and size, oblique to perpendicular to the secondary nerves, nerves of fourth-order alternate percurrent (but scarcely visible in leaves on sympodial branches), nerves of fifth-order poorly developed, nerves evident and more or less impressed on the upper surface, elevated and often very prominent on the lower surface, glabrous above, densely pubescent below, the trichomes 0.1–0.2 mm long, weak, flexuous, adpressed on the nerves, sub-erect on the leaf surface, the upper surface not

punctate, orange dotted below, the idioblasts widely spaced on the surface, slightly immersed in the epidermis, mostly elevated above it, thick membranaceous when living, thick to almost chartaceous and opaque when dry, green on both faces when living, brownish to blackish when dry; petiole (-0.7–1.4) 2.3–3.2 × (-0.06) 0.1–0.2 cm, smooth, densely pubescent, trichomes 0.1–0.2 × 0.1 mm, weak, flexuous, sub-erect, semirigid, covering finely the petiole, dark orange dotted with idioblasts dispersed on the surface, the petiolar margin 0.9–4.0 cm long, extended the entire length of the petiole, reaching 0.2–0.8 cm above the leaf base and leaving on it a prominent V-shaped scar, coriaceous, pale green when living, black to brownish when dry. Inflorescences restricted to short sympodial branches, those almost restricted to the apex of monopodial axis; the sympodial branches with very small leaves developed at each node, or not developed at all, with one to three internodes, holding one or two spikes, some spikes terminal, or axillary, spikes 7.2–9.5 (-12.2) × (-0.5) 0.2–0.3 cm, erect on flower, curved distally to almost pendulous in fruit, the apex obtuse, cream-white on flower, green on fruit when living, black to brownish when dry, the flowers not forming bands around the spike, the rachis densely pubescent, the trichomes 0.2–0.3 × 0.1 mm, weak, flexuous to semirigid, sub-erect, not dotted; floral bracts 0.5–0.6 × 0.5 mm, shell-shaped, fimbriate along the margins, pubescent towards the base, sub-sessile, the peduncle 0.8–1.4 cm long, smooth, densely pubescent, scarcely orange dotted, light green when living, brownish when dry. Flowers sessile, 4 staminate, anthers 0.3–0.4 × 0.2 mm, reniform, dehiscent longitudinally on an oblique plane, the connective scarcely protruding beyond the thecae, nod dotted, filaments scarcely developed. Pistils 4 carpellate. Berries 0.3–0.4 × 0.1 mm, oblong, sessile, acute at the apex, green when living, black when dry, glabrous, not dotted, partially to fully immersed in the rachis. Style absent, stigmas 3–4, laminar.

Etymology: The epithet honors Julio César Betancur Betancur, Colombian taxonomist, curator at the Herbario Nacional Colombiano (COL) from Instituto de Ciencias Naturales in Bogotá, a respected specialist on Bromeliaceae and Heliconiaceae, colleague, friend and a major plant collector of the Flora of Antioquia.

Distribution and Ecology: *Manekia betancurii* is known from two localities in the western slopes of the Western Cordillera in the municipality of Frontino in the department of Antioquia (figure 3), NW Colombia (Cauca Province, sensu Morrone 2014). From 800 to 1,750 m elevation. The species is apparently restricted to a few tracks of forests in the Las Orquídeas National Park, an area with dense cover of premontane, montane and very humid montane forests, and to the region known as Murrí south of Las Orquídeas National Park. The new species is found either in the interior of forests or along river or road banks, where branches often are pendulous and notorious by the white to greenish pendulous or distally curved hanging infructescences.

Phenology: Flowering Jul, Dec; fruiting Jul.

Paratypes: Colombia: Antioquia, mun. Frontino, La Blanquita, región of Murrí, road Nutibara–La Blanquita, 14.5 km W of Nutibara, 15–16 km from Alto de Cuevas–La Blanquita, 6°45'N–76°25'W,

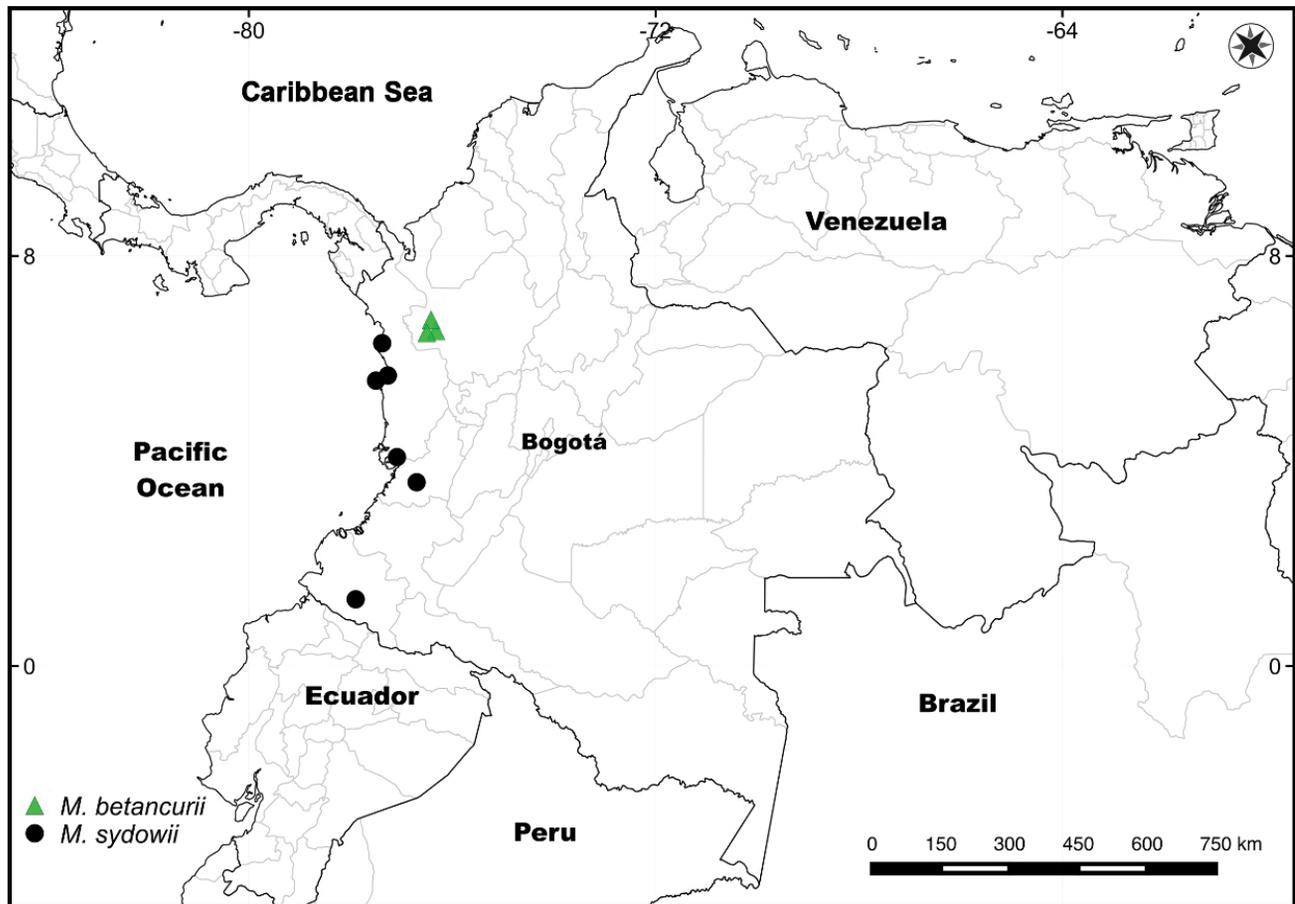


Figure 3. Distribution of *Manekia betancurii* (green triangles) and *Manekia sydownii* (black circles) in Colombia. This map was elaborated using Qgis (version 2.8.3-Wien).

890–900 m, 13 Jul 1988 (ft), R. Callejas, J. Betancur, A. L. Arbeláez and I. D. Castaño 6720 (HUA, MO); Las Orquídeas Natural National Park, Venados Abajo, farm of Gabriel Montoya, on the right margin of the Venados River, forest on the edge of the road, 6°32'23.5"N–76°19'9.7"W, 860–910 m, 23 Jul 2011 (fl), P. Pedraza-Peñalosa, J. Betancur, M.F. González, R. Arevalo, D. Sanín, A. Zuluaga, A. Duque and J. Serna 2284 (COL, CUVC, HUA, MO, NY, W).

Diagnostic characters and taxonomic relationships: *Manekia betancurii* may be recognized by the leaves of the monopodial axis which are basally obtuse, rounded, truncate to scarcely lobate, 9 pinnately nerved, while those of the sympodial branches are basally acute and 7 pinnately nerved, by the petiolar margins that reach into the leaf blade 0.2–0.8 cm, both in leaves from monopodial as well as from sympodial branches and by the densely pubescent stems, leaves (abaxially), petioles and peduncles. The extent of the petiolar margin on the leaf blade distinguishes this species further from *Sarcorrhachis sydownii* var. *hirsuta* Yunck., a variety from SE Ecuador (likely a different species from *Manekia sydownii* (Trel.) T. Arias, Callejas and Bornst.) that exhibits sympodial branches with much longer inflorescences, 10–16 cm long,

vs 7–9 cm long as in *M. betancurii*. Adult leaves of monopodial branches in *M. betancurii* are similar to those of *M. sydownii*, a species from NW Colombia and Ecuador, but with leaves that are often 9–11 pinnately nerved, with more robust sympodial branches and fully glabrous. Indumentum pubescent in *M. betancurii* is constant in collections from 800 m and those from 1,750 m, both in degree of coverage, length, and appearance.

Key for the species of *Manekia*

1. Plants from forests on limestone substrate, or karst, at low elevations (500–1,200 m). Plants from the Caribbean Islands.
2. Leaves palmately nerved, basally acute or rounded, the petiolar margin extending to 0.5 cm above the leaf base.....
M. urbani
2. Leaves pinnately nerved, basally lobate or rounded, the petiolar margin extending to 1.2 cm above the leaf base.....
M. incurva

1. Plants from forests on non-limestone substrates, from sea level to 2,000 m, montane, premontane or wet tropical forests. Plants from continental areas in Meso and South America.

3. Plants with trichomes on stems, petioles, peduncles and lower surface of leaves.

4. Petiolar margin extending 0.2–0.8 cm above the leaf base, leaves on monopodial branches 9 pinnately nerved, spikes 7–8 cm long.....

M. betancurii

4. Petiolar margin extending to the base of the leaf, leaves on monopodial branches 9–11 pinnately nerved, spikes 10–16 cm long.....

S. sydownii* var. *hirsuta

3. Plants glabrous on stems, petioles, peduncles and lower surface of leaves.

5. Leaves palmately nerved, basally truncated, rounded or lobate, apically obtuse or scarcely mucronate, the petiolar margin extending 2/3 the length of the petiole.....

M. obtusa

5. Leaves pinnately nerved, petiolar margin extending above the leaf base.

6. Leaves not dotted, redounded to slightly lobate, basally obtuse, acuminate, the petiolar margin 0.6–1.2 cm, never reaching the point of divergence on the blade of the most central secondary nerves, inflorescences geminate.....

M. venezuelana

6. Leaves orange or black dotted.

7. Leaves basally rounded, scarcely lobate, generally black dotted, 9 pinnately nerved, scar of petiolar margin reaching the divergence point of nerves secondary more centrals spikes 10–11 cm long, ovoid fruit.....

M. naranjoana

7. Leaves basally truncate, rounded to lobate, generally orange dotted, 9 pinnately nerved, scar of petiolar margin almost reaching the divergence point of nerves secondary more centrals spikes 12–14 cm long, oblong fruit.....

M. sydownii

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank Julio Cesar Betancur (COL) and Paola Pedraza Peñalosa (NY) who provided herbarium specimens as well as photos of living plants of *M. betancurii*. Specimens collected by Betancur and Pedraza belong to a floristic Project (Flora of Las Orquídeas National Park: vascular plants of the Colombian Andes and Chocó) funded by the National Science Foundation (Grant number: NSF-DEB: 10206230). Allan J. Bornstein (SEMO) and Matthew Pace (NY) provided digital copies of type specimen of *S. sydownii* var. *hirsuta*. Silvana Ospina Cardona rendered the excellent illustration of *M. betancurii*. Daniel Silva Sierra thanks the Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, and Relaciones Internacionales of the Universidad de Antioquia for partial-funding for traveling in Costa Rica and Panamá. The Organization for Tropical Studies (OTS) provided a partial-scholarship (D. Silva-Sierra) for the course Tropical Plant Systematics and post-course research grant for field work in Costa Rica, and the Smithsonian Tropical Research Institute (STRI) for a Short-Term Fellowship and support for field and laboratory work in Panamá. Special thanks to William Cinea (Jardin Botanique des Cayes, Haiti) for his help and information about *M. urbani*, and the flora of Haiti. Finally, the authors wish to thank curators at COL, CR, HLDG, HUA, JAUM, PMA, SCZ, USJ, for providing access to their collections and for logistic support in Costa Rica and Panamá (CR, SCZ).

REFERENCES

Acevedo RP, Strong MT. 2012. Catalogue of Seed of Plants of the West Indies. Smithsonian Contributions to Botany, 98. Washington D.C. (USA): Smithsonian Institution Scholarly Press. p. 1192.

Arias T, Callejas R, Bornstein AJ. 2006. New Combinations in *Manekia*, an Earlier Name for *Sarcorhachis* (Piperaceae). *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, 16 (2): 205-208.

APG IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181 (1): 1-20.

Ash A, Ellis B, Hickey LJ, Johnson K, Wilf P, Wing S. 1999. Manual of Leaf Architecture Morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous angiosperms. Washington D.C. (USA). Smithsonian Institution. p. 67.

Bornstein AJ. 1996. Proposal to conserve the name *Sarcorhachis* against *Manekia* (Piperaceae). *Taxon*, 45 (2): 323-324.

Brako L, Zarucchi JL. 1993. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, 45. St Louis (MO, USA). p. 1286.

Brummitt RK. 1998. Report of the Committee for Spermatophyta: 47. *Taxon*, 47 (4): 863-872.

Burger WC. 1971. Flora Costaricensis. Family Piperaceae,

- Sarcorrhachis*. Fieldiana Botany 35: 199, 200-204
- Callejas R, Johnson DM. 1989. Piperaceae types from the T.G. Yuncker Herbarium (DPU) now filed in the New York Botanical Garden Herbarium (NY). Brittonia, 41 (3): 297-324.
- Callejas R. 1999. Piperaceae. Jørgensen PM and León-Yáñez S, editors. In: Catalogue of the vascular plants of Ecuador. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, 75. St Louis (MO, USA). p. 785-805.
- Callejas R. 2001. Piperaceae: *Sarcorrhachis naranjoana*. Stevens WD, Ulloa CU, Pool A, Montiel OM, editors. In: Flora de Nicaragua, Tomo 3. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, 85 (3). St Louis (MO, USA). p. 1911-2666.
- Callejas R. 2008. Piperaceae. Hokche O, Berry PE, Huber O, editors. In: Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas (Venezuela).
- Callejas R, Idárraga A. editors. 2013. Flora de Antioquia: Catálogo de las Plantas Vasculares. Vol. I. Introducción. Programa Expedición Antioquia-2013. Series Biodiversidad y Recursos Naturales. Universidad de Antioquia, Missouri Botanical Garden and Oficina de Planeación departamental de la Gobernación de Antioquia. Editorial D'Vinni, Bogotá.
- Callejas R. 2014. Piperaceae: *Manekia naranjoana*. Hammel BE, Grayum MH, Herrera C, Zamora N, editors. In: Manual de Plantas de Costa Rica, Volumen VII, Dicotiledóneas (Picrocarniceae-Rutaceae). Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden Volume 129. St Louis (MO, USA). p. 6-326.
- de Candolle CM. 1869. Piperaceae. In: Prodrum Systematis Naturalis Regni Vegetabilis, 16 (1): 235-471.
- de Candolle CM. 1872. Piperaceae novae secundum ordinem. In: Linnaea 37.
- de Candolle CM. 1901. Piperaceae. In: Bulletin de l'Herbier Boissier, 2 (1).
- Correa AMD., Galdames C, Stapf M. 2004. Catálogo de las Plantas Vasculares de Panamá. Publicación de ANAM. STRI y UP. Editorial Novort. Ciudad de Panamá (Panamá).
- Endress PK. 2008. The whole and the parts: relationships between floral architecture and floral organ shape, and their repercussions on the interpretation of fragmentary floral fossils. Annals of the Missouri Botanical Garden, 95 (1): 101-120.
- Font Quer P. 2000. Diccionario de Botánica. Península. Barcelona (España). p. 1244.
- Hammel BE, Grayum MH, Herrera C, Zamora N. 2004. Manual de Plantas de Costa Rica, Volumen I, Introducción. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden Volume 129. St Louis (MO, USA).
- Hewson HJ. 1988. Plant indument. A handbook of terminology. Australian Flora and Fauna Series, 9. Australia. p. 1-27.
- Holdridge LR. 1947. The pine forest and adjacent mountain vegetation of Haiti considered from the standpoint of a new climatic classification of plant formations [Ph.D. Dissertation]. [Michigan (USA)]: University of Michigan. p. 165.
- Howard RA. 1973. Notes on the Piperaceae of the Lesser Antilles. Journal of the Arnold Arboretum, 54: 377-411.
- Igersheim A, Endress PK. 1998. Gynoecium diversity and systematics of the paleoherbs. Botanical Journal of the Linnean Society, 127 (4): 289-370.
- IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. 2012. Second edition. (Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN, 2012).
- Jaramillo MA, Manos PS, Zimmer EA. 2004. Phylogenetic Relationships of the Perianthless Piperales: Reconstructing the Evolution of Floral. International Journal of Plant Sciences, 165 (3): 403-416.
- Jones AG. 1985. An annotated catalogue of type specimens in the University of Illinois herbarium (ILL) - 1. Piperaceae, except *Peperomia*. Phytologia, 58 (3): 1-102.
- Jones AG. 1986. An annotated catalogue of type specimens in the University of Illinois herbarium (ILL) - 2. Piperaceae continued: *Arctottonia*, *Manekia* and *Peperomia*, plus some additions to Part 1 (*Piper*). Phytologia, 59 (3): 149-220.
- Judd WS. 1987. Floristic Study of Morne La Visite and Pic Macaya National Parks, Haiti. Bulletin of the Florida State Museum Biological Sciences, 32 (1): 1-136.
- Ministre de l'Environnement, Agence Nationale des Aires Protégées. 2015. Plan de gestion Parc National Nature Macaya 2015-2020. Port-au-Prince, République d'Haïti.
- Miquel FAG. 1843-1844. Systema Piperacearum. Kramers HA, ed. Rotterdam, the Netherlands. p. 304.
- Mohandas KK, Shah GL. 1982. Structure and ontogeny trichomes in some Piperaceae. Acta Botanica Indica, 10: 92-95.
- Monteiro D, Guimarães E. 2009. Flora do Parque Nacional do Itatiaia—Brasil: *Manekia* e *Piper* (Piperaceae). Rodriguésia, 60 (4): 999-1024.
- Morrone JJ. 2014. Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. Zootaxa, 3782 (1): 1-110.
- Pedraza-Peñalosa P, Betancur J. 2015. [Internet]. onward. Flora of Las Orquídeas National Park: vascular plants of the Colombian Andes and Chocó. The New York Botanical Garden, Bronx, New York. Accessed: April 2015. Available from: (<http://sweetgum.nybg.org/science/projects/orquideas/>)
- Qgis. Version 2.8.3-Wien. Available from: <http://qgis.org>
- Roemer JJ, Schultes JA. 1822. Mantissa in Volumen Primum Systematis Vegetabilium caroli a Linne.
- Samain MS, Vrijdaghs A, Hesse M, Goetghebeur P, Jiménez-Rodríguez F, Stoll A, Wanke S. 2010. *Verhuellia* is a segregate lineage in Piperaceae: more evidence from flower, fruit and pollen morphology, anatomy and development. Annals of Botany, 105 (5): 677-688.
- Schimper AFW. 1892-1893. Botanische Mittheilungen aus den Tropen. Jena: Fischer. 1888-1901, Vol II, pp 96-97, and Vol III, p. 42-45.
- Schubert HK, Taylor MS, Smith JF, Bornstein AJ. 2012. A Systematic Revision of the Genus *Manekia* (Piperaceae). Systematic Botany, 37 (3): 587-598.
- Silva-Sierra D, Callejas-Posada R. 2016. Taxonomía y Sistemática del género *Manekia* Trel. (Piperaceae). [Undergraduate thesis]. [Medellín, (Colombia)]: Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. p. 245.
- Stehlé H. 1940. Flore descriptive des Antilles françaises. p. 65-67.

- Stern WT. 1983. Botanical Latin History, Grammar, Syntax, Terminology and Vocabulary. Third Edition. Ed. Hafner Publishing Company. New York (NY, USA). p. 566.
- Steyermark JA. 1971. Notes on the genus *Sarcorhachis* Trel. (Piperaceae). *Pittieria*, 3: 29-38.
- Thiers B. [continuously updated] [Internet]. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Accessed: February 2017. Available from: <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>
- Trelease W. 1927a. Piperaceae hispaniolenses. *Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis*, 23 (18-25, March): 303-333.
- Trelease W. 1927b. The Piperaceae of Panama. *Contributions from the United States National Herbarium*, 26 (2): 15-50.
- Trelease W. 1929. The Piperaceae of Costa Rica. *Contributions from the United States National Herbarium*, 26 (4): 115-226.
- Trelease W. 1940. V. *Sarcorhachis sydowii* Trelease, *sp. nov.*, aus Ekuador. In: *Repertorium novarum specierum regni vegetabilis* 31 marz 1940, Volume 48, 1(3): p. 16.
- Trelease W, Yuncker TG. 1950. The Piperaceae of northern South America, Volumen 1 and 2. Urbana, University of Illinois Press.
- Wanke S, Jaramillo MA, Borsch T, Samain MS, Quandt D, Neinhuis C. 2007. Evolution of Piperales--*matK* gene and *trnK* intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42 (2): 477-497.
- Woods CA, Ottenwalder JA. 1992. The Natural History of Southern Haiti. Florida Museum of Natural History. Gainesville. Florida (USA).
- Yuncker TG. 1950. Flora of Panama. Part IV, Fascicle 1 (Piperaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 37 (1): 1-120.
- Yuncker TG. 1966a. New Piperaceae from Ecuador. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 53 (3): 379-381.
- Yuncker TG. 1966b. New species of Piperaceae from Brazil. *Boletim do Instituto de Botânica (Sao Paulo)*, 3: 133-134.
- Yuncker TG. 1973. The Piperaceae of Brazil II: Piper - Group V; *Otonia*; *Pothomorphe*; *Sarcorhachis*. *Hoehnea*, 3: 29-284.

Supplementary material: Specimens examined of *Manekia* species.

- I. *Manekia incurva* (Sieber ex Schult.) T. Arias, Callejas and Bornst.: *Novon* 16 (2): 206, 2006. *Piper incurvum* Sieber ex Schult., *Mantissa* 1: 238, 1822. *Artanthe martinicae* Miq., *Syst. Piperac.* 413. 1844. *Piper incurvum* Sieber ex C.DC., *Prodr.* 16 (1): 294, 1869. *Sarcorhachis incurva* (Sieber ex Schultes) Trelease, *Contr. U.S. Natl. Herb.* 26: 17, 1927. Type: Martinique, *F.W. Sieber 254* (Holotype: B, destroyed; isotype: BR!, G!, GH!, HAL!, ILL, MO, MPU!, P+2!, US; photo ex US at A+2); Martinique, *F.W. Sieber s.n.* (U!). Illustration: H. Stehlé, *Fl. Descript. Antilles Franç.* 1940, t2, pag. 65-67, Pl. II.**

Piper guadeloupense C. DC., *Annuaire Conserv. Jard. Bot. Genève*

ve 2: 264, 1898. Type: Martinique, Piton de Champflore, Feb 1870 (fl), *L. Hahn* 1303 (Lectotype: G-DC!, P+2!). Syntype: (BM+2, G+3, GH!, NY, US; photo ex GH at A, US); Guadeloupe, 1 Jul 1873 (fl), *F. L'Herminier s.n.* (P); Dominica, 600 m, Jan 1882 (fl), *H.F.A. Eggers 664* (G+3, GH!, LI, P+3!, R!).

Sarcorhachis incurva (Sieber ex Schultes) Trel. var. *stehlei* Trel. ex Stehlé, *Bull. Soc. Bot. France* 83: 627. 1936. (nomen nudum); *Fl. Descr. Antilles Fr.* 2: 67, pl. 2. 1940; *Bull. Agric. Martinique* 9: 143, tab 2, 1940. Type: Guadeloupe, forêt de Bains Jaunes, 650 m, 16 Feb 1936 (fl), *H. Stehlé and M. Stehlé* 380 (Lectotype: NY; isotype: ILL, P+4!; photo ex ILL at A; per Jones, *Phytologia* 58: 99. 1985).

Sarcorhachis incurva (Sieber ex Schultes) Trel. var. *treleasii* Stehlé, *Bull. Agric. Martinique* 9: 143, 1940. Type: Guadeloupe, Chemin de Malanga, 650 m, 1 Jan 1937 (fl), *H. Stehlé and M. Stehlé* 1677 (Holotype: NY, ILL [fragment]; photo ex ILL at A).

Sarcorhachis incurva (Sieber ex Schultes) Trel. var. *typica* Trel. ex Stehlé, *Fl. Descript. Antilles Franç.* 2: 66, 1940. nomen illeg. (same type that *Piper guadeloupense*). Type: Martinique, Piton de Champflore, Feb 1870 (fl), *L. Hahn* 1303 (BM+2, G+3, G-DC!, GH, NY, US; photo ex GH at A, US).

Representative specimens examined: Lesser Antilles: Est. Guadeloupe, mun. Matouba, in monte sulfuro, *s.d.* (st), *Duchassaing s.n.* (P); mun. ?, forêt des bains jaunes, 16 Aug 1936 (fl), *M. Stehlé* 995 (ILL, NY, P); mun. ?, forêt des bains jaunes, 2 Aug 1937 (fl), *H. Stehlé and M. Stehlé* 1328 (ILL, P); mun. ?, forêt des bains jaunes, 27 Aug 1937 (fl), *H. Stehlé and M. Stehlé* 2073 (ILL, NY, P); mun. ?, forêt des bains jaunes, 800 m, 21 Jun 1934 (ft), *L. Rodriguez* 2451 (P); mun. ?, Parnasse, 3 Jan 1937 (fl), *H. Stehlé and M. Stehlé* 1366 (P); mun. ?, Parnasse, 18 Apr 1938 (ft), *A. Questel* 1366 (P); mun. ?, Fournet, Morne à Louis, borde de route, 10 Jan 1988 (ft), *s.c.* 4298 (P); mun. ?, Chemin de la Soufrière, 1933 (fl), *L. Quentin* 728 (P); mun. ?, *s.d.* (st), *A. Questel s.n.* (P); mun. ?, *s.d.* (st), *A. Questel s.n.* (P); mun. ?, *s.d.* (fl), *L.C. Richard s.n.* (P). Est. Dominica, St. George, fresh Water Lake area, south face Micotrin, mossy forest, Bredin-Archbold-Smithsonian Biological Survey, 2400-2600 ft (731-790 m), 1 Jun 1967 (fl), *D.C. Wasshausen and E.S. Ayensu* 338 (ACC, B, US). Est. Martinique, mun. ?, Montagne Pelée, Base du Dôme, près de Montauberge, 700-800 m, 8 Jan 1979 (fl), *C. Sastre* 6517 (A, P); mun. ?, *Stehlé* 4628 (P, US); mun. ?, *Stehlé* 6018 (P, US); mun. ?, 1 Jan 1860 (fr), *C.P. Bélanger* 971 (P, US); mun. ?, *s.d.* (fl), *C.P. Bélanger* 256 (P). Without known locality: Est. ? mun. ?, *s.d.*, *s.c.* (P).

- II. *Manekia naranjoana* (C. DC.) Callejas ex N. Zamora, Hammel and Grayum: *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 97: 121, 2004. *Piper naranjoanum* C. DC., *Linnaea* 37: 363, 1872. *Sarcorhachis naranjoana* (C. DC.) Trel., *Contr. U.S. Natl. Herb.* 26: 17, 1927. Type: Costa Rica: Naranjo, in 1845-1848 (ft), *A.S. Oersted* 878 (Holotype: C!; photo at F, GH, MO, US; isotype: C!, G-DC! [fragment]). Illustration: *T.G. Yuncker*, *Flora of Panama, Part IV, Fascicle 1. Ann. Missouri Bot. Gard.*: 1950, 37 (2), pag. 74-75, Fig. 17. *W. Burger*, *Flora***

Costaricensis, Family # 41, Piperaceae. *Fieldiana Botany*: 1971, 35, pag. 199-200, 204, Fig. 3.

Sarcorhachis anomala Trel., *Contr. U.S. Natl. Herb.* 26: 118, 1929. Type: Costa Rica: San José, La Hondura, 1300-1700 m, 16 Mar 1924 (fl), *P.C. Standley 37909*. *Piper terminalispicum* Standl., *Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 18: 365. 1937. Nomen novum for *Sarcorhachis anomala* Trel. because *Piper anomalum* C. DC. block the name. (Holotype: US).

Representative specimens examined: Costa Rica: Prov. Alajuela, mun. San Ramón, bosque primario y secundario en el sendero de las cataratas, Río San Lorencito, 10°13'10"N – 84°35'35"W, 800-900 m, 28 Apr 1993 (fl), *J.F. Morales, F. Araya, H. Gutiérrez, R. Gúzman and M. Segura 1386* (CR, F, MO); no protegida, cuenca del Barranca, Bajo La Paz, a lo largo del río la Paz, c.a 5.5 km noroeste de Piedades del norte, 10°09'51"N – 84°32'56"W, 1165 m, 3 Jul 2005 (ft), *B. Hammel, H. Kennedy and I. Perez 23667* (CR, MO, USJ); no protegida, cuenca del San Carlos, Fortuna R. B. Arenal Mundo Aventura, 10°27'10"N – 84°39'30"W, 255-400 m, 15 May 2004 (ft), *A. Rodríguez 8922* (CR, MO, USJ); Reserva Biol. A.M. Brenes, camino de entrada a la estación, 10°13'15"N – 84°36'00"W, 850-900 m, 24 Apr 1993 (fl), *J. Gómez-Laurito, R. Ortiz and V. Mora 12441* (F, USJ); Reserva Forestal San Ramón, sendero Miramar, 10°12'53"N – 84°36'28" W, 2 Nov 1986 (fl), *Ch.G. Herrera, V. Mora and D. Hernández 178* (BM, HUA, MO); Reserva Forestal San Ramón, en filas al noroeste de la estación, 10°12'53"N – 84°36'28"W, 3 May 1987 (ft), *Ch.G. Herrera 619* (BM, HUA, MO). Prov. Cartago, mun. Cantón de Paraíso, primary forest, middle slopes of Cerro Doán, 4 km E of Cachí, 1500 m, 17 Feb 1972 (ft), *R.W. Lent 2350* (RB, PMA U); hill-top, 2 km E of Cachí, 1450 m, 16 Dec 1972 (fl), *R.W. Lent 3120* (F, U); mun. ?, La Unión, San Rafael, Z.P., La carpintera, propiedad de campo Escuela Iztará, bosque por canchas al sur del área administrativa, 09°53'13.4"N – 83°58'7.7"W, 1623 m, 26 Jul 2007 (fl), *A. Casccante and J. Solano 1784* (CR, USJ). Prov. Heredia, mun. Cantón de Sarapiquí, Finca La Selva, the OTS field station on the Río Puerto Viejo just E of its junction with the Río Sarapiquí, 100 m, 25 May 1980 (fl), *M. Grayum 2864* (DUKE, FDLS); OET La Selva, detrás de la cabina # 3, 14 Mar 2007 (fl, ft), *O. Vargas 1742* (FDLS); Parque Nac. Braulio Carrillo, puesto El Ceibo, gently sloping area just above the steep rim of the Río Peje gorge on the west side, alongside path that goes from guard house to water, 10°19'58"N – 84°04'44"W, 520 m, 9 Dec 1992 (st), B. Boyle 1435 (CR, HUA, MO); Parque Nac. Braulio Carrillo, Sendero del Transecto, immediately to right of trail, one half hour below refugio, 10°16'38"N – 84°04'57"W, 1070 m, 22 Nov 1992 (st), *B. Boyle, T. Ely and S. Libenson 1186* (CR, HUA, MO). Prov. Limón, mun. Cantón de Pococi, llanura de Santa Clara, unión del Río Corinto con quebrada Molinete, 10°11'55"N – 83°53'30"W, 250 m, 1 Feb 1996 (fl, ft), *B. Hammel, J. González and T. Bermúdez 20143* (CR, MO); llanura de Santa Clara, Finca La Suerte, 10°26'30"N – 83°47'20"W, 50 m, 10 Jul 1995 (fl), *R. Aguilar and K. Keefe 4203* (CR, HUA, MO); mun. Guyacán, Los Angeles de Siquirres 3 km W and 1.9 km S from Guayacán, highway to Limón, 1000 m, 6 May 1983 (fl), *L.D. Gómez, R. Liesner and E. Judziewicz 20553* (BM, CR, HUA, WIS); mun. Cantón de Talamanca, Bratsi, Amubri, Alto Lari, Kivut, fila

mayor entre los Ríos Dapari y Lari, desviándose hacia el este por fila secundaria, cuenca del Río Lari, 09°23'50"N – 83°05'10"W, 1350 m, 17 Mar 1992 (ft), *G. Herrera 5382* (CR, HUA, MO); Cerro Coronel, E of Laguna Danto, tall evergreen forest on moderately steep slopes, 10°41'N – 83°38'W, 80-120 m, 14 Mar 1987 (ft), *W.D. Stevens, G. Herrera and O.M. Montiel 24805* (HUA, MO). Prov. Puntarenas, finca Las Alturas, road to the biological station, montane forest, 1400-1500 m, 17 Feb 1991 (ft), *F. Almeda, T.F. Daniel and B. Bartholomew 6679* (F); mun. Cantón de Coto Brus, Distrito Sabalito, Finca Las Alturas del Bosque verde, vegetación a lo largo del camino entre la entrada principal y el pueblo Las Alturas, 8°54'35.92"N – 82°50'41.52"W, 1320 m, 18 Aug 2015 (fl), *F. Oviedo-Brenes and R. Quirós 3553* (HLDG); vegetación remanente a orillas del camino que comunica la entrada principal con el pueblo Las Alturas, 8°55'16.5"N – 82°50'26.9"W, 1299 m, 11 Aug 2015 (fl, ft), *F. Oviedo-Brenes, R. Quirós, D. Silva and P. Juarez 3514* (HLDG); Jardín Wilson, camino al Río Java, 8°47'2"N – 82°57'37"W, 1130 m, 19 Jun 2007 (st), *R. Moran and M.A. Quijano 8056* (HLDG, USJ); Estación Biológica Las Cruces, bosque cerca del borde del potrero, claro formado por la caída de muchos árboles, sotobosque inexistente, pendiente suave, cobertura prácticamente nula, 8°47'0.2"N – 82°58'33.2"W, 1350 m, 10 Jul 2008 (ft), *F. Oviedo-Brenes 87* (HLDG); unos 250 m antes del final del Sendero Ridge, bosque maduro, 8°47'05"N – 82°58'31.6"W, 1137 m, 10 Aug 2015 (ft), *F. Oviedo-Brenes, D. Silva and P. Juarez 3489* (HLDG); sendero Loop, bosque maduro, vegetación a orilla de quebrada, 8°47'14"N, 82°57'59"W, 1150 m, 10 Aug 2015 (fl, ft), *F. Oviedo-Brenes, D. Silva and P. Juarez 3506* (HLDG); Distrito de Limoncito, Cerro Paraguas, 08°47'21.18"N – 83°01'59.99"W, 1550 m, 2 Jul 2015 (fl), *D. Silva, P. Juarez, V. Ramirez and Grupo de Sistemática de Plantas Tropicales 2015-18* (CR); P. I. La Amistad, Cordillera Talamanca, Estación Pittier, frente al portón de la entrada del parque, potrero, 09°01'30"N – 82°57'40"W, 1680 m, 15 Jun 1995 (ft), *L. Angulo 379* (CR, HUA, MO); Monteverde, upper community pastures and forest patches, lower montane wet forest, 10°20'N – 84°50'W, 1500 m, 24 Dec 1985 (ft), *W.A. Haber 3909-3910* (BM, COL, MO, WIS). Prov. San José, cotas Acosta-Aserrí, Tiquirres, quebrada, Ayaralis, fila Ayarales, 9°52'N – 84°09'W, 800-100 m, 9 Jul 2003 (st), *R. Callejas and F. Morales 13234* (HUA). Panama: Prov. Bocas del Toro, mun. Distrito de Changuinola, a la orilla de la quebrada Bonyic, alrededores de Rancho Quemado, 09°20'02"N – 82°37'20"W, 26 Sep 2007 (ft), *F. Hernández, R. Carranza, C. Galdames and A. Pérez 625* (PMA, SCZ); PILA, edge of pasture and forest steep slope, wet forest, trees to 25 m, duh 20-60 cm, pasture with a few relict trees, 09°03'619"N – 82°42'992"W, 1500 m, 18 Apr 2008 (ft), *A.K. Monro, D. Santamaría and J. Lezcano 5982* (BM, CR, PMA). Prov. Chiriquí, mun. Bugaba, Las Lagunas area W of El Hato del Volcán, woods, 08°47'N – 82°40'W, 1400 m, 23 Aug 1982 (ft), *C. Halmilton, H. Stockweel and A. Aiello 938* (BM, HUA, MO, PMA); Ojo de Agua, property of Ratiidon Hartmann, vicinity of Santa Clara, between Volcán and Río Sereno, forest with clearings and unpaved road, 08°51'N – 82°45'W, 1520 m, 17 Jun 1987 (ft), *T.B. Croat 66300* (BM, HUA, MO, PMA). Prov. Coclé, mun. ?, P. N. Omar Torrijos, Cerro el Cope, Bosque aledaño al centro de visitantes, 800 m, 30 Oct 2007 (st), *M.A. Jaramillo, M. Quijano-Abril and J. Aranda 1046* (HUA); New Works at Aseradera Rivera, Alto Calvario, 7 Km N

of El Cope, medium to tall montane forest, 700 m, 2 Apr 1977 (fl), *J.P. Folsom and R. Robinson 2366* (MO, PMA). Prov. Panamá, mun. ?, Parque Nacional Altos de Campana, Comunidad Trinidad, en las faldas del cerro Trinidad, 26 Feb 2002 (st), *R. Aizzprúa and N. Flores B3212* (PMA, SCZ). Prov. San Blas, mun. Nusgandi, El Llano-Cartí road, 19.1 km from Interamerican Hwy, 9°19'N – 78°55'W, 350 m, 6 Nov 1984 (fl, ft), *G. Nevers 4198* (BM, HUA, MO).

III. *Manekia obtusa* (Miq.) T. Arias, Callejas and Bornst.: Non-von 16 (2): 206, 2006. *Artanthe obtusa* Miquel, *Syst. Piperac.* 416. 1843 [1844]. *Piper fluminense* C. DC., *Prodr. Syst. Reg. Veg.* 16 (1): 308, 1869. *Sarcorhachis obtusa* (Miq.) Trel., *Contr. U.S. Natl. Herb.* 26: 118. 1929. Type: Brazil: in the south of Brazil, *s.d.* (fl), *Sellow s.n.* (Holotype: B, destroyed); *Sellow 173* (Drawing at G-DC!). Illustration: *A.F.W. Shimper*, *Botanische Mittheilungen aus den Tropen*. Jena: Fischer, 1888 – 1901, Vol. II, pag. 96-97, Taf. I Fig. 2a, 2b. *D. Monteiro and E.F. Guimarães*, *Flora do Parque Nacional do Itatiaia – Brasil: Manekia e Piper* (Piperaceae). Rodriguésia: 2009, 60 (4), pag. 1003-1004, Fig. 1a-e.

Piper convallariodorum C. DC., *Bull. Herb. Boiss. ser.* 2 (1): 356, 1901. *Sarcorhachis convallariodorum* (C. DC.) Steyermark, *Pit-tiera* 3: 32, 1971. Type: Brasil, Serra Ouro Preto, in locis umbrosis ad rivulos, 1050 m, 7 Jan 1894 (fl), *C.A.W. Schwacke 10227* (Holotype: G, G-DC!, P, photo at GH, US).

Sarcorhachis obtusa (Miq.) Trel. var. *cordata* Yuncker, *Bol. Inst. Bot. (São Paulo)* 3: 134, fig. 117, 1966. Type: Brasil, Paraná: Jacareí, 14 Aug 1914 (ft), *I. G. Jönsson 862a* (Holotype: S, ILL [fragment]; isotype: LE, US).

Representative specimens examined: Brazil: Est. Minas Gerais, mun. Lima Duarte, 10 Mar 1994 (ft), *V.C. Almeida 17* (RB). Est. Espírito Santo, mun. Santa Teresa, Vila Nova, terreno do Gino, 640 m, 11 Mar 2001 (ft), *L. Kuhlmann 3601* (MBML, RB). Est. São Paulo, mun. Caraguatuba, Parque Estadual da Serra do Mar, estrada intermeiária, km 33, próximo à estação de bombeamento da Petrobrás, 23°40'58"S – 45°38'13.8"W, 18 Apr 2000 (fr), *J.P. Souza, A. Zidko, C.G. Mendonça, V.R. Baptista, L. Ferreira, Fo.R. Cielo, R.R. Rodrigues, V.C. Souza and J.Y. Tamashiro 3244* (RB, SP); estrada para Caraguatuba, 19 Sep 1973 (ft), *Sucre D. et al. 10226* (RB); mun. Iporanga, Núcleo Bulha D'água Trilha da caverna do Sr. Bento, 24°20'18.2"S – 48°29'58.2"W, 21 May 2003 (fl), *C. Urbanetz, G.F.G. Déstro, I.R. Moreira-Coneglian, I.C.F. Harder, M.R.A. Muniz, J. Paula-Souza, V.C. Souza, R.R. Rodrigues and J.Y. Tamashiro 126* (ESA, RB). mun. Lorena, piquete, 2 Jun 1950 (fl), *M. Kuhlmann 2371* (NY, RB, SP); mun. Ubatuba, Picinguaba, estrada da Casa da Farinha, 9 Oct 1989 (ft), *J.E.S. Ribeiro 753* (HRCB, RB); trilha da Casa da Farinha, 12 Oct 2001 (ft), *R.G. Udulutch, A.P. Savassi, A. Furlan, O. César and Turma do 2º ano do curso de Ciências Biológicas Noturno 449* (HRCB, RB); mun. Pinhal, Fazenda Santa Teresa, 14 Nov 1947 (fr), *H. Kuhlmann 1548* (NY, RB, SP); mun. Sete Barras, Parque Intervalos-Base Saibadela, trilha do rio, após o rio Saibadela, 16 Nov 2000 (fl), *V.B. Zipparro 2045* (HRCB, RB); mun. ?, Serra de Caracol, 5 Mar

1874 (ft), *C.W.H. Mosén 1690* (ILL, NY, P). Est. Rio de Janeiro, mun. Itatiaia, Parque Nacional de Itatiaia, caminho para pontedo Maromba, numa, árvore a margem da estrada, 2 Dec 2006 (fl), *D. Monteiro and A.C. Gieerine 225* (NY, RB); lado direito da ponte do Rio Taquaral, em direção ao Centro de Visitantes, 18 Mar 2006 (fr), *D. Monteiro, T. Carrijo, M. Vianna and E. Andrade 156* (RB); mun. Macaé, estrada Glicerio-Trajano de Moraes, 5 May 2005 (st), *M. Carvalho-Silva, R. Marquete, C. Valente and N. Marquete 372* (RB); Distrito de Santo Aleixo, Bairro do Pico, Serra dos Órgãos, Área de Proteção Ambiental de Petrópolis, Vale do Rio do Pico, Rua Capitão Antero, trilha que sai desta rua e passa pelos fundos do Clube do Banrisul, trilha Rio do Pico, córrego do Sossego, 10 Jan 2009 (fl), *E.A. Ribeiro 71* (RB); mun. Paraty, Subindo o Rio Corisquinho, 240 m, 11 May 1994 (fl), *R. Marquete 1782* (RB, SEMO); Mo do Curalinho, 580 m, 18 Apr 1994 (st), *R. Marquete 1677* (RB); estrada Paraty-Cuhna, 13-15 km da entrada de Paraty, 11 Oct 2004 (fr), *M. Carvalho-Silva, R. Marquete, M.A.M. Azevedo, C. Valente and N. Marquete 324* (MBM, RB, SPC); morro do Corisquinho, 10 Mar 1994 (fr), *A.P.S. Ribeiro, R. Marquete, M.C. Marques, S.B. Costa, M.D. Campo et al. 17* (RB, SEMO); mun. Petrópolis, Vale das Videiras, morro da Cuca, 1500 m, 17 Dec 1973 (fl), *G. Martinelli 141* (HAMAB, K, NY, RB, SEMO); mun. Resende, Visconde de Mauá, estrada Mauá-Resende, 22°20'07.6"S – 44°32'32"W, 1055 m, 7 Dec 2006 (fl), *V.F. Mansano and R. Marquete 06-354* (RB, SEMO); mun. Teresópolis, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Parnasco, Cascata do Amores, início da trilha, 22°25'56"S – 42°59'52" W, 1078 m, 20 Mar 2012 (fr), *D. Monteiro, B.C. Bandeira, J.F.A. Baunatz, L.F. Gonçalves, L.S.B. Jordão and T.E.C. Meneguzzo 650* (NY, RB). Est. Paraná, mun. Antonina, faisqueira, 14 Nov 1980 (ft), *G. Hatschbach 43227* (MO); mun. Cerro Azul, Cab Rib. do Tigre, 1 Dec 1983 (fl), *Hatschbach 47663* (HUA, CURIT); estrada rio Branco do Sul-Cerro Azul, 5 km depois do Rio Piedade, mata dominada por *Araucaria angustifolia*, solo humedo, anegado, 25°15'S – 48°45'W, 6 Dec 1983 (st), *R. Callejas, J.M. da Silva and C. Ramos 1856* (HUA, NY); mun. Cerro Azul, Turvo, 11 Feb 1950 (ft), *G. Hatschbach 6743* (L); mun. Guaraqueçaba, Rio do Cedro, 20-50 m, 21 Nov 1968 (fl), *G. Hatschbach 20367* (L); mun. Morretes, colônia Limeira, 8 Nov 2007 (fl), *J.M. Silva, J. Cordeiro and C.B. Poliquesi 6140* (CURIT, RB). Est. Santa Catarina, mun. Blumenau, Área Virgem do Parque Nacional da Serra do Itajaí, 27°05'49.26"S – 48°08'21.67" W, 660 m, 23 Nov 2009 (fl), *T.J. Cadorin, S.M. Cleme and C.P.L. Oliveira 680* (FURB, RB); mun. Florianópolis, Morro da Lagoa, 27°34'36.00"S – 48°28'32.00"W, 444 m, 23 Feb 2010 (fr), *T.J. Cadorin, B. Grosch, R. Zimmermann and C.P. Lopes 1223* (FURB, RB); mun. Itaiópolis, rodovia Indaial-Itaiópolis, próximo a Bomsucesso, 21 Aug 1994 (ft), *G. Hatschbach and Poliquesi 60976* (C, CURIT, HUA); mun. Jacinto Machado, Fundão do Tigre Preto, 3 Apr 1980 (fr), *Waechter 1583* (RB); Sanga da Areia, 200 m, 30 Oct 1959 (fr), *Reitz and Klein 4141* (B, F, G, K, L, NY, US); mun. Pouso Redondo, Alto Pombinhas, 27°16'14.00"S – 50°02'30.00"W, 475 m, 7 May 2010 (fl), *A. Korte and Kniess 3151* (FURB, RB); mun. Taió, Fazenda Tarumã, 27°00'01.06"S – 50°07'46.01"W, 812 m, 24 Feb 2010 (fr), *J.L. Schmitt, E. Caglioni, S. Andrade and C. Cristofolini 1534* (FURB, RB). Est. ?, Sierra do Ariro, 23 Jun 1868 (st), *A. Glaziou 2707* (P). Without known locality: Est.?, mun. ?, *s.d.* (fl, ft), *Riedel s.n.* (P). Without collector, Est. ?, mun. ?, *s.d.* (fl, ft), *s.c.* (RB).

IV. *Manekia sydowii* (Trel.) T. Arias, Callejas and Bornst.:

Novon 16 (2): 206, 2006. *Sarcorrhachis sydowii* Trelease, *Repert. Spec. Nov. Regni Veg.* 48: 16. 1940. Type: Ecuador: Prov. Pichincha, prope Mindo, 1,000-1,200 m, 6 Nov 1937 (st), *H. Sydow 317* (Lectotype: US!; isotype: US!)

Representative specimens examined: Colombia: Depto. Chocó, Mecana, 14 Ene 1984 (st), *A. Juncosa 1926* (JAUM, MO, NY); mun. Nuquí, corregimiento de Arusí, estación biológica El Amargal, 5°34'N – 77°30'W, 50 m, 27 Mar-17 Abr 1995 (st), *S. Suárez, G. Galeano, E. Ayazo and L. Garcia 811* (COL); corregimiento de Arusí, estación biológica El Amargal, bosque primario, 80 m, Feb 1992 (st), *M. Pardo, J. Cediel and G. Galeano 134* (COL); quebrada chaquí, 5°40'N – 77°16'W, 200 m, Feb-Mar 1994 (st), *G. Galeano, J. Grueso, O. Hurtado and L. Perea 4792* (COL). Depto. Valle del Cauca, mun. Buenaventura, Río Calima, entre La Trojita y Guadualito, 0-5 m, 11 Mar 1994 (fl), *J. Cuatrecasas 16850* (COL, F, U, US); old rd. Cali-Buenaventura, ca. 2-13 km N of Anchicaya, 03°35'N – 76°42'W, 300-490 m, 9 May 1984 (ft), *J.L. Luteyn, R. Callejas and J.J. Pipoly 10372* (COL, G, JAUM, MO, NY, US). Depto: Nariño, mun. Ricaurte, resguardo indígena Gualcalá, Santa Fé, camino al río Guacalá, 01°18'N – 77°54'W, 1100-1200 m, 18 Dec 1995 (ft), *B.R. Ramírez and M.S. González 9169* (HUA, PSO). Ecuador: Prov. Carchi, prominent hillcrest directly N of Lita, on N side río Mira and just to E of río Baboso, primary premontane pluvial forest, on steep w-facing slope, 00°53' N – 78°27'W, 760 m, 1 Jul 1994 (st), *B. Boyle and A. Boyle 3268* (HUA, MO). Prov. Esmeraldas, mun. Quininde, Bilsa biological station, montañas de Mache, 35 km W of Quinindé, 5 km W of Santa Isabel, old mono road past Sr. Rios' house, premontane wet forest, 00°21'N – 79°44'W, 400-600 m, 11 Nov 1994 (fl), *M.S. Bass and N. Pitman 229* (HUA, MO, QCNE); Bilsa biological station, montañas de Mache, 35 km W of Quinindé, 5 km W of Santa Isabel, old mono road, 5 km southwest of reserve, 0°21'N – 79°44'W, 400-600 m, 17 Nov 1994 (fl), *J.L. Clark and S. Mora 264* (COL, HUA, MO, QCNE). Prov. Morona-Santiago, mun.?, Pachicutza, at Escuela Fiscomisional Cardinal Döpfner, km 140 on road Loja-Gualaquiza, tropicalrain forest with cleared areas along río Zamora and along the road, 03°34'S – 78°34'W, 900-1000 m, *s.d.*, *L. Holm-Nielsen, S. Jeppsen, B. Løjtnant and B. Øllgaard 4475* (AAU, HUA, S). Prov. Pichincha, vicinity of Santo Domingo de los colorados, near Hacienda Gloria Maria, 18 Jun 1955 (ft), *E. Asplund 16400* (ACC, B, F, HUA, NY, S); 20 km of Santo Domingo de los colorados, 1000 m, 20 Dic 1961 (ft), *P.C.D. Cazalet and Pennington 5098* (ACC, B, F, K, NY, US). Prov. Napo, mun. Cantón El Chaco, codo Sinclair, bosque húmedo tropical, bosque primario en el valle del Río Quijos, suelo con enorme rocas superficiales, 00°08'S – 77°27'W, 650 m, 16-20 Sep 1990 (ft), *W. Palacios 5648* (HUA, MO); mun. Orellana, Parque Nacional Yasuní, carretera y oleoducto de Maxus construcción, km 46-52, bosque húmedo tropical, bosque primario, colinas de suelo rojo, 00°47'S – 76°30'W, 250 m, 1-11 Sep 1993 (ft), *M. Aulestia, C. Aulestia and J. Andi 457* (HUA, MO, QCNE); Río Wai si ayá, a northern tributary to Río Aguarico, 1.5 km up the river on a small path going in the direction SE, partly inundated disturbed primary forest, 00°15'S – 76°21'W, 300 m, 8 Aug 1980 (fl), *J. Branbyge, E. C. Azansa, P. Kelly and K. Bryan 32648* (AAU, HUA, QCA, QNA); San Pablo de los Secoyas, cleared pri-

mary forest with cattle grazing just opposite the village, 00°15'S – 76°21'W, 300 m, 11 Aug 1981 (fl), *J. Branbyge, E.C. Azansa, L. Werling and S. Leth-Nissen 33464* (AAU, HUA, QCA, QNA); mun. ?, Guamanyacu, road Coca (Puerto Francisco de Orellana) – Lago Agrio, ca 40 km north east of Coca, 18 Nov 1973 (fl), *L.S. Holguer 3426* (GB, HUA); Las Sachas, road Coca (Puerto Francisco de Orellana) – Lago Agrio, ca 40 km north east of Coca, 13 Nov 1973 (fl), *L.S. Holguer 3394* (GB, HUA). Prov. Pastaza, mun. Cantón Pastaza, Pozo petrolero "Corrientes" de UNOCAL, 35 km al sur-sureste de Curaray, bosque húmedo tropical, bosque primario, árboles cortados por las obras petroleras, 01°43'S – 76°49'W, 300 m, 1-13 Sep 1990 (ft), *E. Gudiño 691* (HUA, MO); mun. Puyo, comunidad de Santa Cecilia, villano, bosque húmedo tropical, bosque primario, suelo con capa de materia orgánica de hasta 40 cm de profundidad, bien drenado, 01°30'S – 77°27'W, 380 m, 1 May 1992 (st), *W. Palacios 10105* (HUA, MO, QCNE). Prov. Zamora-Chinchipec, mun. Nangaritza Cantón, Río Nangaritza valley, forest near Shaime, transect # 1, 04°18'S – 78°40'W, 930 m, 31 Jul 1993 (st), *A. Gentry 80808* (F, MO); 10 km S of Zamora on road along left of río Jamboé, disturbed primary forest, 1100 m, 12 Apr 1985 (fl, st), *G. Harling and L. Andersson 24050* (GB, HUA, QCA); km 54 steep clayey slopes with scattered shrub-vegetation and dense herb-cover, 04°02'S – 78°59'W, 1300 m, 18 Apr 1973, *L. Holm-Nielsen, S. Jeppsen, B. Løjtnant and B. Øllgaard 3786* (AAU, COL, F, HUA, MO, NY, S). Peru: Depto. Loreto, prov. Maynas, mun. ?, Región de Amazonas, Dto. Las Amazonas, explorando Camp. Inventario MacArthur, cerca de Sucusari, a lo largo del río Napo, bosque primario en terra firme, Parcela A, 03°20'S – 72°55'W, 100-140 m, 21 Feb 1991 (fl), *J. Pipoly, R. Vásquez, N. Jaramillo, C. Grandez, J. Ruiz and R. Ortiz 13183* (HUA, MO). Depto. Amazonas, prov. Bagua, mun. Imaza, Región nororiental del Marañon, comunidad de Yamayakat, río Marañon, bosque transicional, 04°55'S – 78°19'W, 320 m, *s.d.*, *R. Vasquez, R. Ortiz-Gentry, N. Jaramillo and R. Apanu 18648* (HUA, MO); prov. Condorcanqui, Cordillera del Condor, puesto de vigilancia Alfonso Ugarte, PV3, cabeceras del río Comainas, tributario al oeste río Cenepa, valle abajo del campamento, borde quebrada rocosa, bosque perturbado y abierto, 03°54.8'S – 78°25.5'W, 1100 m, 19 Jul 1994 (fl), *H. Beltran and R. Foster 1052* (F, USM). Depto. Pasco, prov. ?, mun. Oxapampa, distrito Palcazú, comunidad nativa Alto Lagarto, bosque primario, 10°11'57"S – 75°21'23"W, 700 m, 11 Aug 2007 (ft), *R. Rojas, G. Ortiz, G. Castillo and E. Fernandez 4520* (HUA, MO).

V. *Manekia urbani* Trel.: *Repert. Spec. Nov. Regni Veg.* 23: 313, 1927. Type: Haiti: La Hotte, Morne Vandervelde, 700 m, 2 Dec 1925 (fl), *E.L. Ekman 5242* (Holotype: S!; isotype ILL).

Representative specimens examined: Haiti: Reg. Massif de la Hotte, Depto. Sud-Grand Anse limite, zona rural 'Geffrard', 18 km Norte de Camp Perrin, en la carretera a Beaumont y Jérémie, antes bosque nublado y latifoliado con helechos arborescentes y palma *Calypptogyne sp.* ahora destruido, roca caliza, 18°22'N – 73°53'W, 850 m, 11 Mar 1983 (ft), *T. Zanoni, M. Megía and J. Pimentel 25681* (JBSD, NY). Depto. Sur, Bois Cavalier, al Sur-Oeste de Kay Michel, bosque secundario en regeneración muy avanzada, zona

muy húmeda, 18°19'31"N – 74°01'21"W, 1120 m, 2 Feb 2006 (ft), *B. Peguero, J.V. Hilaire, T. Clase, R. Bastardo and E. Fernández 3559* (HUA, JBSD).

VI. *Manekia venezuelana* (Steyserm.) T. Arias, Callejas and Bornst.: Novon 16 (2): 207, 2006. *Sarcorhachis venezuelana* Steyserm., *Pittieria* 3: 33-34, 1971. Type: Venezuela: Carabobo: selva siempre verde a lo largo del Río San Gián, al sur de Borburata, arriba de la Planta Eléctrica, entre Los Tanques y La Toma, 750 m, 27-28 Mar 1966 (fl), *J.A. Steysermark and C. Steysermark 95152* (Holotype: VEN!; isotype: SI, US). Illustration: *J.A. Steysermark*, Notes of Genus *Sarcorhachis* Trel. (Piperaceae). *Pittieria*: 1971, 3, pag. 29-38, Fig. 1.

Representative specimens examined: Venezuela: Est. Anzoátegui, mun. ?, along Río Zumbador and tributary, near base of Piedra Blanca, northeast of Bergantín, 800-1000 m, 1-2 Mar 1945 (st), *J.A. Steysermark 61301* (F, VEN). Est. Falcon, mun. ?, Sierra de San Luis, selva nublada, vecindad del Hotel Parador, al sur de La Tabla, 1450 m, 16 Jul 1967 (st), *J.A. Steysermark 98896* (ACC, B, F, VEN). Est. Lara, mun. Distrito Palavecino, laderas pendientes mirando al sureste en la quebrada de La Toma, en la Loma Redonda, al sur de Terepaima, 25 kms al sur de Cabudare, 1100-1200 m, 4 Aug 1970 (st), *J.A. Steysermark, F. Delascio, G.C.K. and E. Dunsterville 103357* (US, VEN); mun. ?, Sanare, 1500 m, Aug 1959 (st), *L. Aristeguieta 3949* (NY, VEN). Est. Monagas, mun. ?, south-facing forested slopes above limestone bluffs, northeast of Guácharo, 1300-1400 m, 11 Apr 1945 (st), *J.A. Steysermark 61997* (F, NY, VEN). Est. Sucre, mun. Distrito Federal, virgin wet forest on slopes along old road between 'Portachuelo' and 'Peñita', Petaquire and Carayaca, between Colonia Tovar-Junquito road and Hacienda El Limon, 6-8 mi. below junction of Junquito-Colonia Tovar road, 1300-1500, 24 Jun 1966 (ft), *J.A. Steysermark and L. Jr. Nevling 95929* (F, U, VEN); mun. ?, Peninsula de Paria, Cerro de humo, laderas de bosque húmedo nublado que miran al sur, entre la Laguna y Roma, noroeste de Irapa, 900-1060 m, 4 Mar 1966 (st), *J.A. Steysermark 95007* (F, US, VEN). Est. Trujillo, mun. Boconó, Parque Nacional Guaramacal, sector occidental, Qda Honda, parcela de estudio fitosociológico 21, 1880 m, Feb 1994 (st), *N. Cuello, B. Stergios, P. Marvéz and A. Henriquez 2144* (HUA); selva nublada, alrededores de un pantano grande entre Boconó y El Batatal, 1800 m, 5 Sep 1966 (st), *J.A. Steysermark and M. Rabe 97369* (U, US, VEN). Est. Yaracuy, mun. ?, Cerro La Chapa, al norte de Nirgua, 1200-1400 m, 9-10 Nov 1967 (st), *J.A. Steysermark, G. Bunting and G. Wessels-Boer 100224* (AAC, B, VEN); mun. Distrito de Nirgua y Distrito de San Felipe, Serranía Santa María-Cerro La Chapa, en la cumbre, al este de la pica Nirgua-Las Marías, en selva nublada con *Iriarteia fusca* (Karst.) Drude, abundante como palma emergente, 'refugio Nirgua', según Steysermark 1979, 10°12.5'N – 68°33'W, 1150-1350 m, 30-31 Dec 1992 (fl), *W. Meier 3289* (VEN).

VII. *Sarcorhachis sydowii* Trelease var. *hirsuta* Yuncker: *Ann. Missouri Bot. Gard* 53(3): 380. 1966. Type: Ecuador. Prov. Zamora-Chinchipe: Zamora, rd. from Loja to Zamora, km 45-51, 1,400-1,600 m, 20 Nov 1961 (ft), *C.H. Dodson and*

L.B. Thien 1423 (Holotype: MO; isotype: NY!)

Comparación morfológica y distribución geográfica de las especies *Tabellaria fenestrata* y *Tabellaria flocculosa* (Bacillariophyceae) en sistemas lóticos y lénticos de Colombia

Morphological comparison and geographic distribution of the species *Tabellaria fenestrata* and *Tabellaria flocculosa* (Bacillariophyceae) in lotic and lentic systems in Colombia

Mario F. Medina-Tombé^{1*}, Silvia E. Sala², Amelia A. Vouilloud²,
John J. Ramírez-Restrepo¹

Resumen

Este trabajo se desarrolló en el marco de un proyecto más amplio cuyo objetivo fue analizar la distribución geográfica de las diatomeas de Colombia, basados en el estudio de sistemas lóticos ubicados en las zonas biogeográficas de los Andes, el Caribe, la Orinoquía y el Pacífico. Durante la investigación se recolectaron muestras de perifiton en 18 sitios, en los cuales se midió la elevación sobre el nivel del mar, el caudal, la temperatura, el pH, la conductividad eléctrica y el oxígeno disuelto. En este trabajo se presentan los resultados del análisis de los taxones pertenecientes al género *Tabellaria*: *T. fenestrata* y *T. flocculosa*, dos especies morfológicamente similares que han sido confundidas frecuentemente. Se observaron y describieron ejemplares de ambos taxones mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido. Asimismo, se recopiló información en la literatura acerca de la distribución geográfica de estas dos especies en el país. Se concluye que *Tabellaria flocculosa* presenta una distribución geográfica más amplia y pocas restricciones ecológicas para colonizar y establecerse en los sistemas acuáticos, mientras que *Tabellaria fenestrata* presenta una distribución más restringida.

Palabras clave: Perifiton, *Tabellaria*, biogeografía, distribución

Abstract

This study was developed within the framework of a project conducted with the aim of analyzing the geographical distribution of diatoms in Colombia. This project was based on analyses of information on lotic systems located in the biogeographic regions of the Andes, Caribbean, Orinoquía and Pacific. During the research, periphyton samples were collected at 18 sampling sites. We report the presence of two taxa belonging to the genus *Tabellaria*: *T. fenestrata* and *T. flocculosa*, which are morphologically similar and, therefore, have been frequently misidentified. Specimens of both taxa were observed and described with light microscopy and scanning electron microscopy. We also analyzed the geographical distribution of these taxa in the country. We conclude that *T. flocculosa* has a broad geographical distribution in Colombia and few ecological restrictions to colonize and settle in aquatic systems, while *T. fenestrata* has a more restricted distribution.

Key words: Periphyton, *Tabellaria*, biogeography, distribution

INTRODUCCIÓN

El género *Tabellaria* Ehrenberg ex Kützing 1844 pertenece al grupo de las diatomeas "arafidias" y, por tanto, los individuos carecen de sistema del rafe, tienen simetría bilateral y no tienen movilidad (Barber y Haworth 1981). Típicamente, los representantes de este género poseen valvas lineares con extremos capitados, generalmente más anchas en el centro que en los extremos; tienen una rimoportula (proceso labiado) en el centro de cada valva; estrías transapicales finas, muchas veces paralelas; bandas cingulares septadas y campos de poros apicales. En ambientes naturales, estas diatomeas crecen formando colonias en zig-zag o estrelladas, en las que las células quedan unidas desde sus ápices, mediante la secreción de mucílago, hasta formar largas

cadena (DeColibus 2013).

Según Guiry y Guiry (2016), se registran, hasta el momento, 39 especies de *Tabellaria* y 29 taxones infraespecíficos, la mayoría de los cuales requiere revisión para confirmar su validez.

Recientemente, Genkal y Chekryzheva (2016), con base en el análisis de materiales recolectados en ríos y lagos de Rusia, plantearon sinonimizar *T. fenestrata*, *T. quadrisepata*, *T. ventricosa* y *T. pseudoflocculosa* con *T. flocculosa*, bajo este nombre, y ampliar la descripción de la especie. Sin embargo, estos autores no analizaron un carácter diagnóstico como son las cópulas abiertas en *T. fenestrata* y cerradas en *T. flocculosa*.

Recibido: abril 2017; aceptado: diciembre 2017.

¹. Grupo de Investigación en Limnología Básica y Experimental y Biología y Taxonomía Marina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

². División Ficología Dr. Sebastián Guarrera, Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Paseo del Bosque s/n. 1900 La Plata, Argentina.

*. Autor para correspondencia: <mfernando621@yahoo.com>

Las especies de este género suelen vivir en aguas ligeramente ácidas, aunque pueden tener una amplia tolerancia a diferentes rangos de pH (Round et al. 1990). Se encuentran comúnmente en aguas corrientes (ríos y arroyos), en lagos, lagunas y otros humedales, adheridas a sustratos duros como rocas y a la vegetación. Pueden formar parte tanto del perifiton, como del fitoplancton y el género se considera cosmopolita (Koppen 1975). *Tabellaria flocculosa* (Roth) Kützing, *T. fenestrata* (Lyngbye) Kützing, *T. quadriseptata* Knudson y *T. ventricosa* Kützing, se destacan por su alta frecuencia en diferentes ambientes acuáticos del mundo (Antoninades et al. 2008, Cox 1996, Karthick et al. 2013, Lange-Bertalot 1993, Metzeltin y Lange-Bertalot 2007, Rumrich et al. 2000, Yanling et al. 2009).

En Colombia se registran únicamente dos especies: *Tabellaria fenestrata* y *T. flocculosa* (Montoya et al. 2013). Estos registros corresponden tanto a sistemas lóticos como lénticos, así como a diferentes altitudes, desde los páramos hasta sistemas ubicados en tierras bajas y en ambientes acuáticos oligotróficos, mesotróficos y eutróficos (Alba et al. 2011, Díaz y Rivera 2004, Donato et al. 1987, Mejía 2011, Montoya et al. 2008, Pedraza y Donato 2011, Ramírez y Plata 2008). Cabe aclarar que todos los registros han sido publicados en artículos ecológicos y no taxonómicos por lo que no existen descripciones ni ilustraciones que permitan verificar la validez de las determinaciones de estas especies en Colombia. Si se toman como guía los registros antes mencionados, puede asumirse que estas dos especies no tienen ninguna restricción ecológica para establecerse y colonizar cualquier ambiente acuático, en especial, *T. flocculosa*, que es la más citada en los diferentes sistemas acuáticos del país.

Los datos presentados en este artículo son los primeros resultados de un estudio más amplio sobre la distribución geográfica de las diatomeas de Colombia, en el cual se compararon muestras del perifiton recolectadas en sistemas lóticos de las regiones de los Andes, el Caribe, la Orinoquía y el Pacífico. Adicionalmente, en este manuscrito se incluyó el análisis de un sistema léntico ubicado en la región del Pacífico.

El objetivo fue describir los taxones *Tabellaria fenestrata* y *T. flocculosa*, hallados en el área de estudio, analizar las diferencias morfológicas que existen entre ellos, compararlos con otras especies del mismo género y analizar su distribución en las diferentes regiones estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio incluyó las regiones biogeográficas de los Andes, el Caribe, la Orinoquía y el Pacífico colombiano (figura 1). En la región de los Andes se recolectaron muestras en el río Rionegro (7° 16' 20,3" N y 73° 9' 2,4" O) y los arroyos La Honda (7° 15' 4,5" N y 73° 12' 23,1" O), Las Palmas (7° 14' 40,8" N y 73° 11' 49,7" O), La Virginia (7° 15' 48" N y 73° 11' 47,8" O) y Samacá (7° 16' 48" N y 73° 9' 6,1" O), en el municipio de Rionegro-Santander. En la región del Caribe, las muestras se tomaron de los ríos El Congo (10° 59' 21,6" N y 74° 4' 1,6" O), Canta Rana (11° 0' 13,9" N y 74° 3' 46,8" O) y los arroyos Jairo Arenas (10° 58' 36" N y 74° 4' 22,57"

O), Jairo Vargas (10° 58' 35,6" N y 74° 4' 23,1" O) y El Padre (10° 58' 36,1" N y 74° 4' 22,7" O), en el municipio de Ciénaga-Magdalena. En la región del Pacífico, se tomaron muestras de los ríos El Estero (0° 58' 52,79" N y 77° 8' 21,41" O), La Lorina (0° 51' 12,86" N y 77° 8' 0,24" O), Guamuéz (0° 59' 27,26" N y 77° 9' 34,36" O) y la laguna de La Cocha (1° 1' 4,82" N y 77° 10' 24,94" O), en el municipio de La Cocha-Nariño. En la región de la Orinoquía, se muestreó el río Lipa (6° 47' 6,7" N y 71° 1' 34" O) y las quebradas Macuate (6° 49' 12,8" N y 70° 53' 56,2" O), El Perro (6° 49' 52,9" N y 71° 5' 55,5" O) y Corocoro (6° 50' 6,7" N y 70° 53' 47,8" O), en el municipio de Lipa-Arauca.

En cada sitio se midió la elevación sobre el nivel del mar con un GPS, el caudal por el método de flotación, la temperatura con un termómetro de mercurio, el pH con un pH-metro Martini (pH 56–0,01 pH), la conductividad eléctrica con un medidor de conductividad Martini (Conductividad 0–3,999 $\mu\text{S}/\text{cm}$) y el oxígeno disuelto por medio de la titulación con Winkler-Merck.

En campo, las muestras se fijaron con Lugol (al 10%) y 6–8 gotas de formalina; en el laboratorio, se trataron con agentes oxidantes para eliminar la materia orgánica siguiendo el método descrito por CENT/TC 230 (2002). Para realizar las observaciones al microscopio óptico (MO), las muestras se procesaron mediante montaje en Naphrax®; para el microscopio electrónico de barrido (MEB), las muestras se coloraron sobre tacos de vidrio y se recubrieron con una capa fina de oro en un Jeol JFC-1100 (*fine coat ion sputter*). Las observaciones se realizaron con un microscopio

Leica DM500 y un Jeol JSM-6360LV SEM en el Servicio de Microscopía Electrónica del Museo de La Plata, y con un Carl Zeiss NTS SUPRA 40 SEM en el Centro de Microscopías Avanzadas (CMA) de la Universidad de Buenos Aires.

La terminología utilizada para la descripción de los taxones fue la sugerida en Barber y Harworth (1981) y Ross et al. (1979).

RESULTADOS

Descripción

Tabellaria fenestrata (Lyngbye) Kützing 1844 (figura 2)

Microscopía óptica. Valvas lineales isopolares ensanchadas en la porción media, ápices fuertemente capitados y de un ancho igual al de la porción central. Estrías paralelas en toda la superficie valvar, irregularmente espaciadas; a lo largo de una misma valva, las estrías de una hemivalva pueden encontrarse enfrentadas o alternas con las de la otra hemivalva. Área axial recta muy estrecha, área central no diferenciada. Una rimoportula en el centro de la valva, a un lado del área axial (figuras 2A y B). Frústulos rectangulares en vista conectival con cuatro bandas abiertas, con septos (figuras 2C y D).

Microscopía electrónica. En vista externa se observan las estrías formadas por pequeñas areolas, rodeadas por un anillo de sílice (figura 2J) y la abertura de la rimoportula con forma de ojal en sentido transapical (figura 2G). Ambos ápices con campos

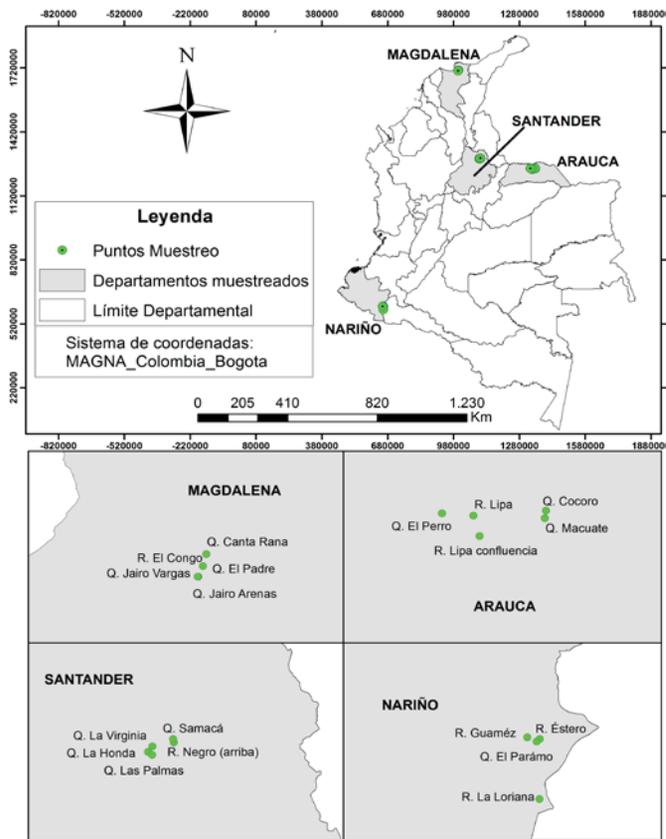


Figura 1. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo en las cuatro regiones. Región Andina: Santander, Región Caribe: Magdalena, Región Orinoquía: Arauca y Región Pacífico: Nariño.

de poros bien desarrollados y estrías dispuestas radialmente (figuras 2J y K). En vista conectival se observa el *cingulum* formado por cuatro bandas. Las bandas son abiertas y presentan septos (figuras 2G y 2I) y una hilera de pequeños poros (figuras 2G y L).

Datos morfométricos (n=30). Largo: 40–75 μm (\bar{x} = 57,5 μm ; CV: 26,7%); Ancho (centro): 6–7 μm (\bar{x} = 6,7 μm ; CV: 7,6%); L/A: 5,8–12,5; estrías: 16–20/10 μm ; areolas: 54–60/10 μm ; Altura del frústulo: 15–21 μm .

***Tabellaria flocculosa* (Roth) Kützing 1844 (figura 3)**

Microscopía óptica. Valvas lineales isopolares con la parte media ensanchada, ápices fuertemente capitados, valva mucho más ancha en el centro que en los ápices (60%). Estrías paralelas en toda la superficie de la valva, irregularmente espaciadas y alternas a uno y otro lado del esternón. Una rimoportula –algunas veces visible– cerca del margen de la valva en el área central (figura 3C). Frústulos cuadrados o rectangulares en vista conectival, con cuatro o seis bandas con septos (figuras 3E–G).

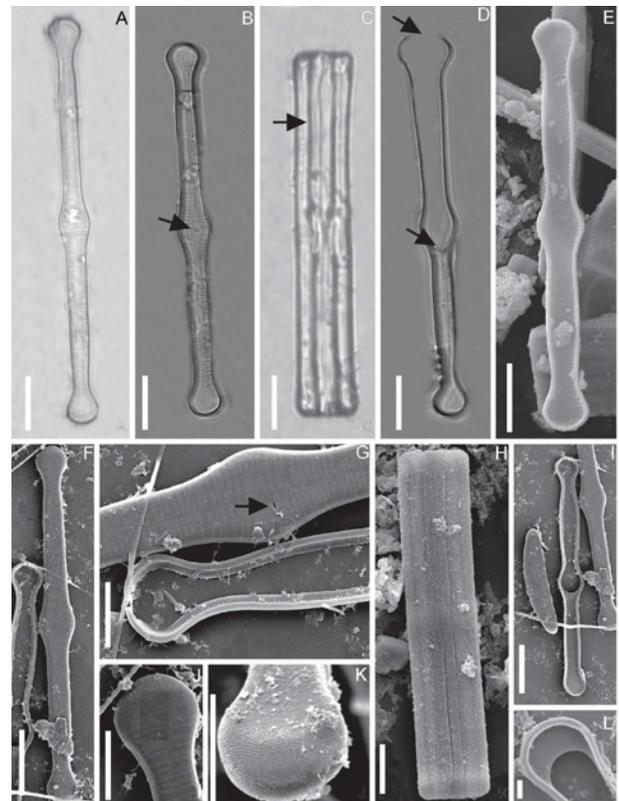


Figura 2. *Tabellaria fenestrata*. A. – D. MO. Vista valvar A. y B. Valvas en vista externa (la flecha indica la rimoportula). C. Frústulo en vista conectival (la flecha indica las bandas). D. Banda (las flechas indican la banda abierta y el septo). E. – L. MEB. Valvas y bandas vistas. E. y F. Valva en vista externa. G. Área central de la valva en vista externa (la flecha señala la rimoportula). H. Frústulo en vista conectival. I. Banda conectival abierta, donde se observan los septos. J. Extremo de una valva. Estrías formadas por pequeñas areolas rodeadas por un anillo de sílice. K. Campo de poros apical. L. hilera de pequeños poros en las bandas. Escala de la barra: 10 μm .

Microscopía electrónica. En vista externa (figuras 3H–J): estrías ligeramente radiales, alternas; areolas circulares simples, sin reborde silíceo; área axial apenas distinguible, área central conspicua.

La rimoportula se observa como un ojal en sentido transapical cerca del margen de la valva en el área central. Ambos ápices con campos de poros bien desarrollados. Espinas marginales cortas, dispuestas entre las estrías. En vista interna, la rimoportula se observa como una hendidura elevada (figuras 3K y 3L). Estrías formadas por areolas poroides, uniseriadas. Las estrías del centro de la valva no llegan al área axial, delimitando un área central bien definida (figuras 3K y L). Cópulas cerradas, con septos y una hilera de pequeños poros a lo largo de todo el borde (figuras 3M–O).

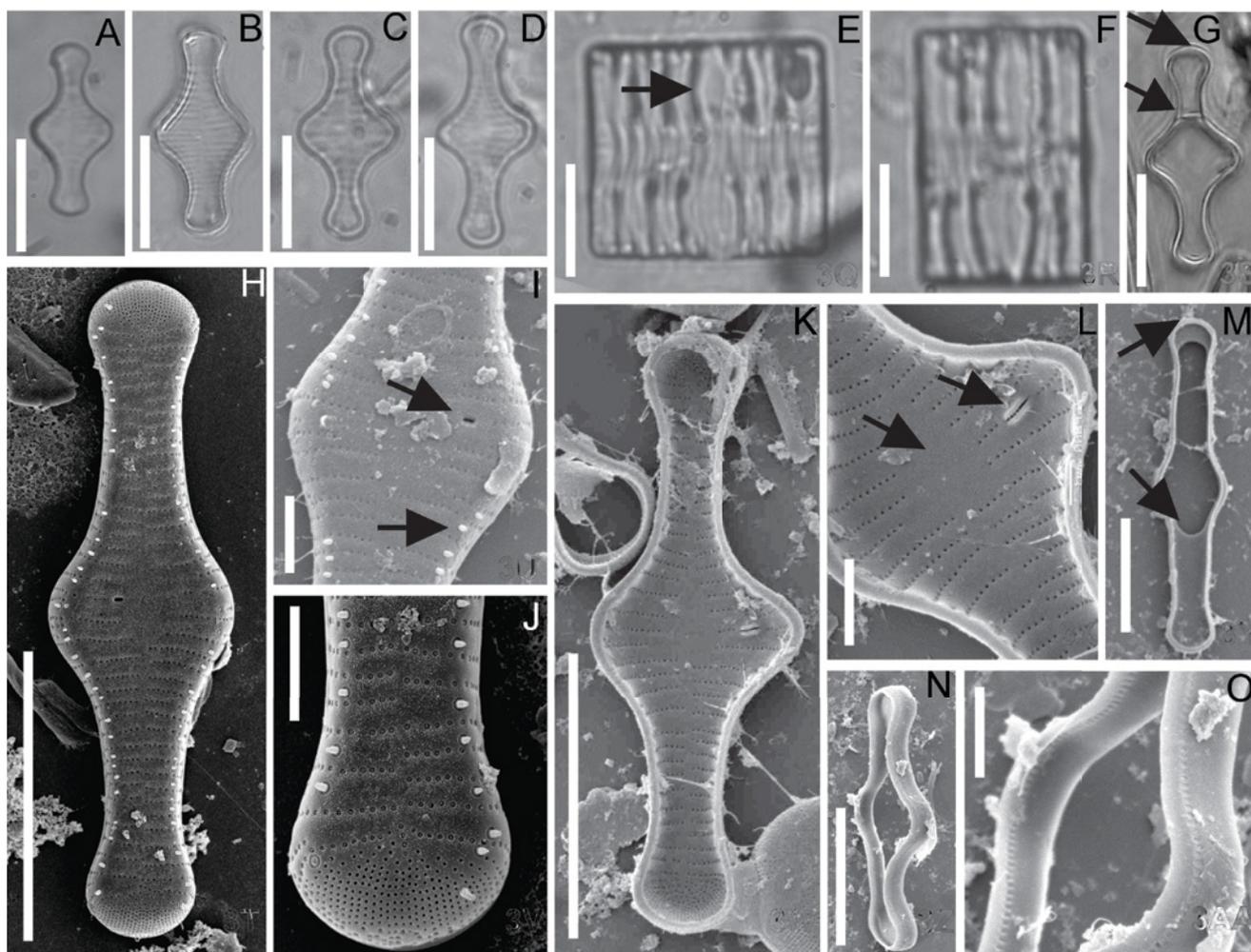


Figura 3. *Tabellaria flocculosa*. **A.– G.** MO. **A.– D.** Valvas en vista valvar. **E. y F.** Frústulos en vista conectival (la flecha indica los septos). **G.** Banda conectival (las flechas indican que las bandas son cerradas y los septos). **H.– O.** MEB. **H.** Valva en vista externa. **I.** Centro de la valva en vista externa (las flechas indican la ubicación de la rimoportula y las espinas marginales). **J.** Campo de poros apical. **K.** Valva en vista interna. **L.** Zona central de la valva en vista interna (las flechas indican el área hialina y la rimoportula). **M.** Banda conectival (la flecha muestra las bandas cerradas y los septos). **N. y O.** hilera de pequeños poros en las bandas. Escala de la barra: 10 μ m.

Datos morfométricos (n=30). En vista valvar: Largo: 15–40 μ m (\bar{x} = 22,3 μ m; CV: 32,2), Ancho (centro): 6–9 μ m (\bar{x} = 7,4 μ m; CV: 14,7), L/A: 2–6,7 estrías: 14–26 en 10 μ m, areolas: 47–60 en 10 μ m.

Tabellaria fenestrata solo se halló en la laguna La Cocha (Región del Pacífico) mientras que *T. flocculosa* se registró en siete sitios, pertenecientes a las regiones del Caribe, la Orinoquía y el Pacífico. Únicamente en la región del Pacífico se hallaron las dos especies mientras en la región Andina no se obtuvo registro de

ninguno de los dos taxones (tabla 1). En la tabla 2 se describen los datos morfométricos registrados para estas dos especies, así como para otras especies afines, en otros sistemas acuáticos del mundo.

DISCUSIÓN

Tabellaria fenestrata y *T. flocculosa* son taxones con rangos de dimensiones superpuestos y aspecto similar al MO, tanto en vista valvar como conectival. *Tabellaria flocculosa* se diferencia de

Tabla 1. Valores de las variables físicas, químicas y sitios donde se registraron las especies *T. fenestrata* y *T. flocculosa* en las tres regiones biogeográficas. **: sin datos

Región	Municipio	Sitio	Especie	Altitud (m s.n.m.)	pH (unidades)	Conductividad (µS/cm)	Temperatura del agua (°C)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Caudal (m ³ .seg ⁻¹)
Orinoquía	Municipio	Q. Macuate	<i>T. flocculosa</i>	159	7,8	10	32,1	4,2	0,09
Pacífico	La Cocha	R. El Estero	<i>T. flocculosa</i>	2785	6,0	9	11,6	6,0	**
		R. La Lorianá	<i>T. flocculosa</i>	2793	6,9	5	10	6,5	0,39
		R. Guamuéz	<i>T. flocculosa</i>	2790	6,9	27	13,5	5,5	9,53
		L. La Cocha	<i>T. flocculosa</i>	2680	7,2	25	14,2	5,5	**
			<i>T. fenestrata</i>	2680	7,2	25	14,2	5,5	**
Caribe	Ciénaga	R. El Congo	<i>T. flocculosa</i>	616	7,8	134	23,3	6,5	0,051
		Q. El Padre	<i>T. flocculosa</i>	616	7,8	134	23,3	6,5	0,051

T. fenestrata por ser más ancha en el centro que en los extremos, por presentar un área central conspicua y por poseer bandas cingulares cerradas. Por otra parte, *T. fenestrata* presenta un ancho similar en el centro y en los extremos, carece de área central hialina y las bandas cingulares son abiertas. Sin embargo, estas diferencias no siempre son claramente visibles durante la observación al MO y ambos taxones resultan fáciles de confundir, sobre todo los individuos más grandes de *T. flocculosa* con los más pequeños de *T. fenestrata*. Cuando se estudian mediante MEB, se observa además que *T. fenestrata* carece de espinas marginales y las areolas externamente están rodeadas por un anillo de sílice, mientras que *T. flocculosa* posee espinas marginales y las areolas son sencillas.

En este trabajo también se compararon estas dos especies con *T. quadrisepata* Knudson, taxón afín (tabla 2). *Tabellaria fenestrata* y *T. quadrisepata* se parecen en el contorno y dimensiones, pero se diferencian en que esta última presenta espinas marginales, carece de área central hialina y las bandas son cerradas. Aunque *T. flocculosa* se asemeja a *T. quadrisepata* en la presencia de área central, la presencia de espinas marginales y bandas conec-tivales cerradas, difieren en el contorno, las dimensiones (en particular la relación L/A) y en la posición de la rimoportula (Flower y Battarbee 1985); estos autores mencionan también que *T. quadrisepata* presenta mayores dimensiones y valvas más fuertemente

silicificadas; el ancho de la valva en los ápices y en el centro es siempre del mismo tamaño o muy similar; los márgenes valvares son paralelos y presentan espinas de aproximadamente 1 µm de longitud, con distribución irregular. Por el contrario, en *T. flocculosa*, las valvas son más pequeñas y débilmente silicificadas; el ancho en el centro supera notablemente al ancho en los extremos (60%); posee márgenes valvares cóncavos (carácter más conspicuo en los individuos de mayores dimensiones) y presenta espinas más pequeñas (menos de 0,5 µm de longitud) y regularmente dispuestas. Genkal y Chekryzheva (2016), sinonimizan estos tres taxones bajo el nombre de *T. flocculosa*, sin embargo, no hacen mención del tipo de cópulas (cerradas en *T. fenestrata* y abiertas en *T. flocculosa*). Estas diferencias se encontraron en nuestros materiales. Los materiales que asignamos a *T. fenestrata* presentaron además un anillo silíceo en el borde de las areolas y no presentaron área central ni espinas. Por el contrario, los materiales asignados en este estudio a *T. flocculosa* presentaron areolas sin anillo silíceo, área central conspicua y espinas regularmente ubicadas en las interestrías. Los autores coincidimos con la postura de Flower y Battarbee (1985), y consideramos que *T. quadrisepata* es un taxón válido y diferente de *T. flocculosa*. Por otra parte, nuestros resultados concuerdan con DeColibus (2013) que consideró a *T. flocculosa* y *T. fenestrata* como dos taxones diferentes.

Tabla 2. Comparación de los datos morfométricos de *Tabellaria fenestrata* y *T. flocculosa* obtenidos en este estudio con los de *T. quadrisepata* (tomados de Flower y Battarbee 1985). *: número de bandas por frústulo

Carácter	<i>T. fenestrata</i> (Lyngbye) Kützing (este estudio)	<i>T. flocculosa</i> (Roth) Kützing (este estudio)	<i>T. quadrisepata</i> (Lyngbye) Kützing (Flower and Battarbee 1985)
Largo (µm)	40-75	15-40	23-129
Ancho (µm)	6-7	6-9	
L/A	5-10	Menor de 6	Mayor de 9 (9-11,5)
Estrías (en 10 µm)	16-20	14-26	14-18
Densidad de areolas (en 10 µm)	54-60	46-60	
Contorno valvar	Ancho en el centro igual al de los extre- mos, entre centro y extremos márgenes paralelos	Ancho en el centro mayor al de los ex- tremos, entre centro y extremos márgenes curvos (cóncavos)	Ancho en el centro igual al de los extremos, entre centro y extremos márgenes paralelos
Área central	presente	ausente	ausente
Rimoportula	Conspicua al MO, submarginal, a la altura del centro	Conspicua al MO, submarginal, a la altura del centro	Conspicua al MO, adya- cente al área axial, ubi- cada entre la 5ª y 7ª es- tría (contadas desde el centro)
Espinas marginales	Ausentes	Presentes, largo máximo 0,5 µm	Presentes, largo mínimo 1 µm
Bandas cingulares *	4*, abiertas, septadas	4-6* cerradas, sep- tadas	4*, cerradas, septadas
Colonia	Cadenas en zig-zag. Menos de 15 indivi- duos	Cadenas zig-zag. Más de 15 individuos	Cadenas zig-zag. Menos de 15 individuos
Autoecología	En el epifiton de sistemas lénticos	No conocida	Perifiton. Aguas oligotrófi- cas, distróficas. pH < 6

Medina-Tombé et al.

En la literatura, *Tabellaria fenestrata* y *T. flocculosa* se registran en diferentes sistemas acuáticos en el mundo; esto sugiere que presentan una amplia distribución y se han catalogado como especies cosmopolitas (Koppen 1973, Hustedt 1949, Mou y Stoermer 1992, Potapova 2011). En Colombia, estas dos especies también han sido registradas ampliamente en sistemas lóticos y lénticos, a diferentes altitudes y en ambientes con diferente estado trófico (Alba et al. 2011, Díaz y Rivera 2004, Donato et al. 1987, Mejía 2011, Montoya et al. 2008, Pedraza y Donato 2011, Ramírez y Plata 2008). Como se mencionó anteriormente, los registros de estos dos taxones se han publicado en artículos ecológicos y no taxonómicos, en los cuales no se brindan descripciones ni ilustraciones que permitan corroborar la presencia de estas especies en Colombia. Por otra parte, el solapamiento de las medidas y la similitud en el contorno valvar entre estas dos especies, generan dudas en cuanto a la identificación correcta de especie en los trabajos ecológicos; por tanto, los datos de tolerancia a condiciones ambientales y distribución, que surgen de tales publicaciones, también deben considerarse con precaución.

En este trabajo, *Tabellaria flocculosa* fue hallada en tres de las cuatro regiones y solo en 7 de los 18 sitios de muestreo (< 50% de las muestras), indicando así que esta especie no estaría tan ampliamente distribuida como se desprende de los registros anteriores. Se puede decir que no tiene restricciones dentro de los rangos que se obtuvieron de las variables físicas y químicas medidas en campo pues esta especie se encontró entre los 159 y 2793 m s.n.m., en un rango de conductividad eléctrica de 5 y 134 ($\mu\text{S}/\text{cm}$), con valores de pH entre 6 y 7,9 unidades, en sistemas lénticos y en lóticos con caudales entre 0,051 y 9,53 $\text{m}^3.\text{seg}^{-1}$. Podría ser, entonces, que diferentes variables físicas, químicas y/o de hábitats, no medidas en este trabajo, estén influyendo para que esta especie no prolifere en la mayoría de sitios de muestreo, dado que los valores de las variables físicas y químicas que se midieron en los sitios donde no se registraron estas especies, no difieren en gran medida de los valores que se registraron en los sitios donde sí fueron encontradas estas dos especies. Por su parte, *T. fenestrata* parece tener una distribución más restringida, como se ha citado ampliamente en la literatura (Flower y Battarbee 1975, Karthick et al. 2013, Koppen 1973, Yanling et al. 2009) pues fue encontrada en un solo sitio de muestreo, a una altitud de 2680 m s.n.m., con pH de 7,2 unidades, conductividad eléctrica de 25 $\text{m}^3.\text{seg}^{-1}$, temperatura de 14,2 °C y concentración de oxígeno de 5,5 mg/L.

Según Potapova y Charles (2002) y Soininen (2012), la distribución y la diversidad de las comunidades de organismos microscópicos en general, y las diatomeas en particular, presentan patrones biogeográficos definidos, al igual que los macro-organismos. Hace varias décadas se pensaba que muchas especies de diatomeas tenían una amplia distribución, por lo que se asumía que eran generalmente cosmopolitas (Baas-Becking 1934). Sin embargo, hay estudios que demuestran que existe endemismo por parte de algunas especies que componen las diatomoflóridas (Patrick y Reimer 1966, Sommer 1986, Soininen y Heino 2007). En la actualidad se conoce que el crecimiento de muchas diatomeas en un sistema determinado está limitado por el tipo de hábitat, la

física y la química del agua, el sustrato, el caudal (en sistemas lóticos), la luz, el pastoreo y por su capacidad por competir con otras especies que ocupan el mismo nicho ecológico (Soininen et al. 2009). Siendo tantos los factores que pueden condicionar la distribución de las diatomeas, es difícil determinar cuál de esos factores presenta mayor impacto sobre las diatomeas que otro (Montoya et al. 2013).

Por todo lo antes mencionado, cabe destacar que para una correcta identificación de *Tabellaria fenestrata* y *T. flocculosa* es necesario el uso del MEB, ya que solo con el contorno de la valva y las variables morfométricas largo y ancho, cuando se observan al MO, son insuficientes. Para diferenciarlas al MO es imprescindible disponer de una buena resolución del área central y las bandas de la cintura.

De acuerdo con los resultados de este estudio y los registros previos para Colombia, *Tabellaria flocculosa* es una especie con un rango más amplio de distribución que *T. fenestrata*, lo que confirmaría su carácter de cosmopolita, señalado previamente en la literatura.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación contó con el apoyo financiero del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt y el grupo de investigación LimnoBase y Biotamar de la Universidad de Antioquia, Colombia. Los autores agradecen a los evaluadores y al editor que hicieron recomendaciones que permitieron mejorar el manuscrito.

REFERENCIAS

- Alba A, Jiménez D, López W, Duque S. 2011. Revisión de los estudios de las algas planctónicas de la laguna de Fúquene (Boyacá, Colombia). *Iheringia*, 66 (1): 147-156.
- Antoniades D, Hamilton P, Douglas M, Smol J. 2008. *Iconographia diatomológica*. Annotated diatom micrographs. A.R.G. Gantner Verlag K.G. p. 649.
- Baas-Becking L. 1934. *Geobiologie of inleiding tot de milieukunde*. Den Haag (Netherlands): Van Stockum and Zoon, The Hague. p. 263.
- Barber HG, Haworth EY. 1981. A guide to the morphology of the diatom frustule. Ambleside (England): Freshwater Biological Association 44. p. 112.
- CEN/TC 230. 2002. Water quality-Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. Brussels (Belgium): European Standard. CEN/TC 230 prEN 13946: Committee on European Normalization. p. 14.
- Cox E. 1996. Identification of freshwater diatoms from live material. London: Chapman and Hall. p. 158.
- DeColibus D. 2013. *Tabellaria fenestrata*. In *Diatoms of the United States*. [Internet] Fecha de acceso: julio 06 de 2016. Disponible en: <http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/tabellaria_fenestrata>.
- Díaz C, Rivera C. 2004. Diatomeas de pequeños ríos andinos y su

- utilización como indicadores de condiciones ambientales. *Caldasia*, 26 (2): 381-394.
- Donato J, Duque S, Mora E. 1987. Estructura y dinámica del fitoplancton de la Laguna de Fúquene (Cundinamarca, Colombia). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas y Naturales*, 16 (62): 113-144.
- Flower R, Battarbee R. 1985. The morphology and biostratigraphy of *Tabellaria quadriseptata* (Bacillariophyceae) in acid waters and lake sediments in Galloway, Southwest Scotland. *British Phycological Journal*, 20: 69-79. DOI: org/10.1080/00071618500650081.
- Genkal S, Chekryzheva T. 2016. To morphology and taxonomy of *Tabellaria flocculosa* (Bacillariophyta). *Truday Instituta biologii vnutrennih vod RAN*, 76 (79): 5-25.
- Guiry MD, Guiry GM 2016. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication- [Internet], National University of Ireland, Galway. Fecha de acceso: 27 de octubre de 2016. Disponible en: <http://www.algaebase.org>.
- Hustedt F. 1949. Süßwasser-Diatomeen aus dem Albert-Nationalpark in Belgisch-Kongo. *Exploration du Parc National Albert, Mission H. Damas (1935-1936)*, Institut des Parcs Nationaux du Congo Belge, Bruxelles 8: p. 199., 16 pls.
- Karthick B, Hamilton P, Kocielek P. 2013. An Illustrated guide to common diatoms of Peninsular India. Gubbi: Gubbi Labs. p. 206.
- Koppen J. 1973. Distribution of the species of the diatom genus *Tabellaria* in a portion of the north-central United States. *Retrospective Theses and Dissertations*. p. 276.
- Koppen J. 1975. A morphological and taxonomic consideration of *Tabellaria* (Bacillariophyceae) from the north central United States. *Journal of Phycology*, 11: 236-244. DOI:10.1111/j.1529-8817.1975.tb02774.x
- Lange-Bertalot H. 1993. 85 new taxa and much more than 100 taxonomic clarifications supplementary to Süßwasserflora von Mitteleuropa. 2 Volumes. Berlin: J. Cramer. p. 434.
- Mejía D. 2011. Diatomeas perifíticas y algunas características limnológicas de un humedal urbano en la sabana de Bogotá. [Tesis de maestría]. [Medellín (Colombia)]: Universidad Nacional de Colombia. p. 126.
- Metzeltin D, Lange-Bertalot H. 2007. Tropical diatoms of South America II. Special remark on biogeographic disjunction. Stuttgart: A.R.G. Gantner Verlag K.G. p. 877.
- Montoya Y, Ramírez J, Seggecin R. 2008. Diatomeas perifíticas de la zona de ritral del río Medellín, Antioquia (Colombia). *Revista Actualidades Biológicas*, 30 (89): 181-189.
- Montoya Y, Sala S, Vouilloud A, Aguirre N, Plata Y. 2013. Lista de las diatomeas de ambientes continentales de Colombia. *Biota Colombiana* 14 (2): 13-78.
- Mou D, Stoermer E. 1992. Separating *Tabellaria* (*Bacillariophyceae*) shape groups based on fourier descriptors. *Journal of Phycology*, 28: 386-395. DOI:10.1111/j.0022-3646.1992.00386.x
- Patrick R, Reimer C. 1966. The diatoms of the United States exclusive of Alaska and Hawaii. Volume 1: Fragilariaceae, *Eunotiaceae*, Achnantheaceae, Naviculaceae. Philadelphia: Academy of Natural Sciences. p. 1-688.
- Pedraza E, Donato J. 2011. Diversidad y distribución de diatomeas en un arroyo de montaña de los Andes colombianos. *Caldasia*, 33 (1): 177-191.
- Potapova M. 2011. *Tabellaria vetteri*, a new diatom (Bacillariophyceae: Tabellariaceae) from Pennsylvania, USA. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 161: 35-41. DOI: 10.1635/053.161.0102
- Potapova M, Charles D. 2002. Benthic diatoms in USA rivers: distributions along spatial and environmental gradients. *Journal of Biogeography*, 29: 167-187.
- Ramírez A, Plata Y. 2008. Diatomeas perifíticas en diferentes tramos de dos sistemas lóticos de alta montaña (Páramo de Santurbán, Norte de Santander, Colombia) y su relación con las variables ambientales. *Acta Biológica Colombiana*, 13 (1): 199-216.
- Ross R, Cox E, Karayeva D, Mann D, Padock T, Simonsen R, Sims P. 1979. An emended terminology for the siliceous components of the diatom cell. *Nova Hedwigia*, 64: 513-533.
- Round F, Crawford R, Mann DG. 1990. The diatoms: biology and morphology of the genera. Cambridge: Cambridge University Press. p. 747.
- Rumrich U, Lange-Bertalot H, Rumrich M. 2000. Diatomeen der Anden. From Venezuela to Patagonien/Tierra del Fuego. And two additional contributions. Rugell: Gantner Verlag. p. 672.
- Soininen J. 2012. Macroecology of unicellular organisms: patterns and processes. *Environmental Microbiology Reports*, 4 (1): 10-22.
- Soininen J, Heino J. 2007. Variation in niche parameters along a diversity gradient in unicellular eukaryote assemblages. *Protist*, 158: 181-191. DOI: 10.1016/j.protis.2006.11.002
- Soininen J, Heino J, Kokocinski M, Muotka T. 2009. Local-regional diversity relationship varies with spatial scale in lotic diatoms. *Journal of Biogeography*, 36: 720-727. DOI:10.1111/j.1365-2699.2008.02034.x
- Sommer U. 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Hydrobiological*. 106: 433-471.
- Yanling L, Lange-Bertalot H, Metzeltin D. 2009. Diatoms in Mongolia. Rugell: Gantner Verlag. p. 70

Composición y estructura de heterópteros (Hemiptera) en ecosistemas lóticos costeros del Pacífico colombiano

Composition and structure of the heteropterans (Hemiptera) on coastal lotic ecosystems from Colombian Pacific

Dora Nancy Padilla-Gil¹

Resumen

Los Heteroptera acuáticos y semiacuáticos presentan alta riqueza en el Pacífico de Colombia. Estudios sobre la biología, ecología y distribución geográfica y altitudinal son conocidos para algunas de las especies presentes tanto en ecosistemas litorales de aguas salobres como dulceacuícolas lénticos y lóticos. El objetivo de este estudio fue comparar tres comunidades de heterópteros acuáticos y semiacuáticos, de ecosistemas lóticos costeros del Pacífico de Colombia, con base en su composición, riqueza, diversidad y abundancia. Con el fin de alcanzar este objetivo se muestrearon tres áreas entre los 0 y 35 m de altitud sobre el nivel del mar del litoral Pacífico en Tumaco (departamento de Nariño): dos asociadas con hábitats lóticos permanentes de los ríos Mejicano y Caunapí y una tercera asociada con un arroyo de flujo lento en Candelillas. Se determinó la composición, riqueza, diversidad y abundancia de cada uno de los tres ecosistemas lóticos, la diversidad beta con base en el análisis de similitud de Jaccard y el valor de importancia de las especies por su abundancia. Se recolectaron 339 individuos pertenecientes a siete familias y 25 especies. Cada ecosistema presentó 11 especies y la familia más abundante en los tres fue Gerridae. La composición específica, la diversidad y la abundancia, tanto de géneros como de especies, difirieron entre los tres sistemas. La similitud entre los tres ecosistemas lóticos fue inferior al 20%. El ecosistema acuático con mayor diversidad en heterópteros, según el índice de Shannon-Wiener, fue el arroyo de Candelillas. En río Mejicano el género con mayor número de especies y de individuos fue *Rhagovelia* y la especie más abundante fue *Telmatometra whitei*; en río Caunapí el género con mayor número de especies y de individuos fue *Rhagovelia* y la especie más abundante fue *Martarega lofoides*; en el arroyo de Candelillas el género con mayor número de especies y de individuos fue *Rheumatobates* y la especie más abundante fue *R. peculiaris*. La especie con mayor valor de importancia fue *Telmatometra whitei*. Los tres ecosistemas lóticos costeros estudiados presentaron diferente composición de especies de heterópteros y una estructura disímil en un rango altitudinal muy estrecho.

Palabras clave: Heteropteros acuáticos y semiacuáticos, sistemas lóticos costeros, diversidad, Gerridae, Notonectidae, Veliidae

Abstract

Aquatic and semiaquatic heteropterans present high richness in the Colombian Pacific Region. Studies about biology, ecology, as well as geographical and altitudinal distribution have provided a great amount of data about some species inhabiting brackish waters, as well as lentic and lotic freshwaters. Based on that, the aim of this study was to compare three communities of aquatic and semiaquatic heteropterans of lotic freshwater ecosystems from the Pacific coastal region in Colombia based on species composition, richness, diversity and abundance. In order to meet this objective, sites were sampled at altitudes ranging from 0 and 35 m of altitude above sea level in the Pacific littoral in Tumaco (Department of Nariño): two sites were located in permanent lotic ecosystems in the Mejicano and Caunapí rivers and a third site was located in a slow-flow intermittent stream in Candelillas. The composition, richness, diversity and abundance for each ecosystem, as well as the beta diversity on the basis of the Jaccard similarity coefficient and the value of importance of species for abundance were determined. A total of 339 individuals, seven families and 25 species were recorded. Each ecosystem presented 11 species, with Gerridae the most abundant family in the three ecosystems. Differences between the specific composition, diversity and abundance of the three ecosystems, in terms of genera and species, were determined. The similarity between the three aquatic ecosystems was lower than 20%. The intermittent stream in Candelillas was the aquatic ecosystem with the greatest diversity of heteropterans, according to the index of Shannon-Wiener. In the Mejicano River, *Rhagovelia* was the genus with a greatest number of species and individuals, and *Telmatometra whitei* was the most abundant species. In the Caunapí river, *Rhagovelia* was the genus with the greatest number of species and individuals and *Martarega lofoides* was the most abundant species. In the intermittent stream in Candelillas, *Rheumatobates* was the genus with the greatest number of species and individuals, and *R. peculiaris* was the most abundant species. The species with the highest Importance Value Index was *Telmatometra whitei*. The three coastal lotic ecosystems presented different compositions of heteropteran species and dissimilar structure over a very narrow altitudinal range.

Key words: aquatic and semiaquatic heteropterans, lotic coastal systems, diversity, Gerridae, Notonectidae, Veliidae

Recibido: noviembre 2016; aceptado: octubre 2017.

¹. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Nariño. San Juan de Pasto. Nariño. Colombia.
Correo electrónico: <dnpadilla@udenar.edu.co>

INTRODUCCIÓN

En el Pacífico colombiano el suborden Heteroptera es altamente diverso, representado por aproximadamente 109 especies, 35 especies del Infraorden Nepomorpha y 74 especies de Gerromorpha (Padilla-Gil 2015a, b). Las familias más numerosas son las chinches patinadoras, semi-acuáticas Gerridae con 37 especies y Veliidae con 26 especies, seguida por las acuáticas Notonectidae con 13 especies (Padilla-Gil 2015a, b). Los heterópteros acuáticos y semi-acuáticos del Pacífico se encuentran en varios ecosistemas tanto dulceacuícolas como salobres; también en sistemas lóticos, lénticos y pozos temporales, por mencionar algunos de estos ambientes (Padilla-Gil 2012). Aspectos sobre la biología, ecología y distribución geográfica de los heterópteros acuáticos y semiacuáticos de especies con distribución en el Pacífico Colombiano han sido abordados por trabajos particulares, entre estos: estadios de huevo e inmaduros de varias especies de gérridos (Padilla-Gil 2013a, b); de una especie de *Martarega* (Padilla-Gil 2015c); la relación morfométrica con variables ambientales de una especie de *Rhagovelia* del piedemonte del Pacífico (Padilla-Gil y García 2016); la distribución geográfica y altitudinal del piedemonte del Pacífico y de la llanura del Pacífico (Padilla-Gil 2015a, 2016a, Padilla-Gil y García 2013); el hábitat y distribución geográfica de heterópteros de ecosistemas costeros del Pacífico (Polhemus y Manzano 1992, Padilla-Gil y Arcos 2011, Padilla-Gil 2012, 2014, Padilla-Gil y Pacheco 2012). Los heterópteros acuáticos, principalmente del género *Rhagovelia*, muestran una riqueza considerable en los departamentos del Tolima y Putumayo (Parra et al. 2014, Padilla-Gil 2016b).

Por otra parte, la entomofauna acuática de ecosistemas pericontinentales y costeros del Caribe y comparativos con los del Pacífico Colombiano presenta un desarrollo incipiente. Se destaca el trabajo de Longo et al. (2015) quienes estudiaron los filos: Platyhelminthes, Nematomorpha, Anelida, Mollusca y Arthropoda en el Caribe, con registros tanto en áreas insulares como pericontinentales y en el Pacífico insular, Isla Gorgona. En esta última registraron 69 taxones de Insecta, con el 55% compartido con el Pacífico continental y se destacaron por su riqueza taxonómica Coleoptera y Elmidae.

En este estudio se describen la composición, riqueza, diversidad alfa y distribución de los heterópteros acuáticos y semiacuáticos recolectados en tres áreas de ecosistemas lóticos, costeros, entre 0 y 35 m s.n.m., en el Pacífico colombiano. El valor de importancia de las especies se estimó según su abundancia y la diversidad beta se infirió, mediante el cálculo del índice de similitud de Jaccard, entre las tres áreas estudiadas y un análisis de agrupamiento.

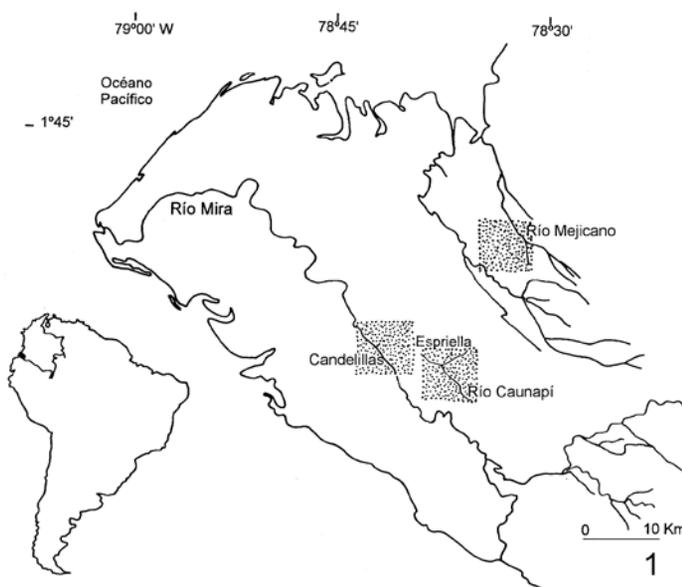


Figura 1. Costa Pacífica de Tumaco (Nariño, Colombia). Cuadros indicando los sitios de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. Se seleccionaron tres áreas en la costa del Pacífico colombiano, ubicadas en el municipio de Tumaco, en las cuales se muestrearon ecosistemas lóticos costeros (figura 1). Las localidades, sus coordenadas, la altitud, la fecha de muestreo y la descripción del ecosistema se describen a continuación.

Consejo Comunitario Río Mejicano (CCRM): coordenadas: 1° 48' 06" N, 78° 33' 55" W; altitud: 0–2 m s.n.m.; fechas de recolección: 3 y 4 febrero 2009. En el CCRM los cuerpos de agua muestreados presentaron flujos de agua de moderada velocidad que son cercanos y afluentes del río Mejicano que desemboca en el Océano Pacífico; de profundidad menor que 1 m, con sustratos pedregosos de grava y piedras pequeñas, con aguas expuestas y cristalinas, rodeadas de vegetación herbácea y arbustiva.

Río Caunapí (en La Espriella): coordenadas: 1° 28' 11" N, 78° 41' 7,5" W; altitud: 20 m s.n.m.; fechas de recolección: entre el 21 de junio de 2010 y el 16 de noviembre de 2010. Es un río que

obedece a los criterios de Blanco-Libreros (2015): su agua es permanente y no vadeable debido a su profundidad, mayor que 2 m y ancho mayor que 3 m. Flujo de agua de moderada corriente, sustrato de grava y piedras pequeñas, con aguas expuestas, cristalinas, rodeadas por vegetación arbórea y arbustiva.

Arroyo sin nombre en Candelillas: coordenadas: 1° 28' 14,4" N, 78° 38' 14" W; altitud: 35 m s.n.m.; fechas de recolección: 21 de junio de 2010 y 16 de noviembre de 2010. Se trata de pequeños arroyos según Blanco-Libreros (2015); corresponden a cuerpos de agua que en verano se secan y su flujo de agua es muy

Padilla-Gil.

lento y en invierno se inundan. Posee un sustrato arenoso, con aguas poco profundas y de muy bajo flujo de agua que con facilidad se vuelven turbias, rodeadas por arena y vegetación herbácea.

Cada localidad se visitó dos veces según las fechas previas. Se emplearon redes de mano cuadradas de 25 cm de largo (malla de 1 mm) para la recolección de individuos; dos recolectores actuaron simultáneamente por 1 hora en cada sitio de muestreo (área aproximada de 35 m²). Los ejemplares capturados fueron preservados en alcohol al 96%, para su posterior determinación en el laboratorio.

Para la determinación taxonómica se revisó: Padilla-Gil (2010a, b, 2011, 2012, 2015b), Padilla-Gil y Pacheco (2012), Polhemus (1997) y Polhemus y Manzano (1992). Los especímenes fueron depositados en la Colección de Entomología de la Universidad de Nariño (PSO-CZ).

La riqueza y abundancia fue considerada a nivel de especies, géneros y familias por ecosistema acuático muestreado y la diversidad alfa se obtuvo mediante el índice de Shannon-Wiener utilizando el programa Estimates v 9.1 (Colwell, 2013). La similitud entre los ecosistemas muestreados fue evaluada con base en el índice de Jaccard y representada mediante un clúster de similitud, a través de programa Past 3.06 (Hammer et al. 2001). La comparación se realizó con base en la composición tanto por familias como por géneros. El porcentaje de disimilitud fue utilizado para inferir la diversidad beta. El valor de importancia de las especies se estimó según el promedio de la abundancia relativa en los tres sistemas acuáticos lóticos estudiados.

RESULTADOS

Para evaluar la composición y estructura de los heterópteros acuáticos y semiacuáticos del litoral pacífico en Nariño, primero se caracterizó cada uno de estos, según el número de individuos, familias y géneros presentados, así como la abundancia por familia, los géneros según número de especies y número de individuos, y las especies según su abundancia y similitud entre ecosistemas (tabla 1, 2 y 3).

CCRM. Se recolectaron 159 individuos, representados por cuatro familias, siete géneros y 11 especies (tabla 1). La familia más abundante fue Gerridae (0,50), con cuatro géneros (tabla 1). El género con mayor número de especies y de individuos fue *Rhagovelia* (tabla 1), mientras que las especies más abundantes fueron *Telmatometra whitei* (0,26), seguida de *Rhagovelia pacifica* (0,20) (tabla 2). El índice de diversidad de Shannon-Wiener para este ecosistema lótico fue 1,94.

Candelillas. Se recolectaron 35 individuos representados por cinco familias, nueve géneros y 11 especies (tabla 1). La familia más abundante fue Gerridae (0,51), con cinco géneros (tabla 1). El género con mayor número de especies y de individuos fue *Rheumatobates* (tabla 1). Las especies más abundantes fueron *Rheumatobates peculiaris* (0,23), seguida de *Paraplea puella* (0,14)

Caunapí. Se recolectaron 145 individuos representados por tres

Tabla 1. Heterópteros acuáticos y semiacuáticos: familias, géneros y número de especies e individuos por cada sitio

Familias	Géneros	Número de especies	Número de individuos
CCRM			
Gerridae	Brachymetra	2	29
	Potamobates	1	9
	Telmatometra	1	42
	Telmatometroides	1	1
Veliidae	Rhagovelia	4	75
Hebridae	Merragata	1	1
Notonectidae	Martarega	1	2
Veliidae	Rhagovelia	4	75
Hebridae	Merragata	1	1
Notonectidae	Martarega	1	2
Candelillas			
Gerridae	Limnogonus	1	3
	Potamobates	1	1
	Rheumatobates	1	8
	Telmatometra	1	2
	Trepobates	2	4
Hebridae	Hebrus	2	5
Mesoveliidae	Mesovelia	1	4
Pleidae	Paraplea	1	5
Micronectidae	Tenagobia	1	3
Río Caunapí			
Gerridae	Brachymetra	1	1
	Potamobates	1	8
	Rheumatobates	1	14
	Telmatometra	1	26
	Trepobates	2	13
Veliidae	Rhagovelia	4	53
Notonectidae	Martarega	1	30

(tabla 2). El índice de diversidad de Shannon-Wiener fue 2,21.

familias, siete géneros y 11 especies (tabla 1). La familia más abundante fue Gerridae (0,43), con cinco géneros (tabla 1). El género que contó con mayor número de especies y de individuos fue *Rhagovelia* (tabla 1). Las especies más abundantes fueron *Martarega lofoides* (0,21), seguida de *Rhagovelia espriella* (0,19) (tabla 2). El índice de diversidad de Shannon-Wiener 2,04.

Análisis comparativo. En los tres ecosistemas se recolectaron 339 individuos, dispuestos en siete familias, 14 géneros y 25 especies, (tabla 1 y 3). Gerridae fue la única familia compartida por los tres ecosistemas, con la mayor abundancia y con el mayor número de géneros, también en los tres sistemas. *Rhagovelia* fue el género con mayor número de especies y más individuos en

Tabla 2. Especies de heterópteros acuáticos y semiacuáticos, abundancia y valor de importancia (IVI) registradas en los ecosistemas costeros del Pacífico

Especie	CCRM	Candelillas	Río Caunapí	IVI
<i>Rhagovelia tumaquensis</i>	0,069			0,023
<i>Rhagovelia rosensis</i>	0,17			0,05
<i>Rhagovelia pediformis</i>	0,03			0,01
<i>Rhagovelia pacifica</i>	0,2			0,06
<i>Telmatometra whitei</i>	0,26	0,06	0,18	0,16
<i>Telmatometroides rozeboomi</i>	0,01			0,003
<i>Potamobates tumaquensis</i>	0,06		0,06	0,04
<i>Brachymetra unca</i>		0,03		0,01
<i>Brachymetra albinervis</i>		0,15	0,01	0,05
<i>Merragata quieta</i>	0,01			0,003
<i>Martarega lofoides</i>	0,01		0,21	0,07
<i>Tenagobia incerta</i>		0,09		0,03
<i>Paraplea puella</i>		0,14		0,04
<i>Mesovelia mulsanti</i>		0,11		0,03
<i>Hebrus major</i>		0,03		0,01
<i>Hebrus elimatus</i>		0,11		0,03
<i>Trepobates trepidus</i>		0,03	0,01	0,01
<i>Trepobates taylori</i>		0,09	0,08	0,05
<i>Rheumatobates peculiaris</i>		0,23	0,1	0,11
<i>Potamobates anchicaya</i>		0,03		0,01
<i>Limnogonus franciscanus</i>		0,09		0,03
<i>Rhagovelia tenuipes</i>			0,02	0,006
<i>Rhagovelia spinosa</i>			0,14	0,04
<i>Rhagovelia espriella</i>			0,19	0,06
<i>Rhagovelia caunapi</i>			0,02	0,006

CCRM y en el río Caunapí, mientras que en el arroyo en Candelillas fue el género *Rheumatobates*. Los géneros compartidos por los tres sistemas fueron *Telmatometra* y *Potamobates*. Aunque en los tres ecosistemas se recolectó igual número de especies (11), la mayor diversidad se registró en el arroyo Candelillas, seguida por el río Caunapí y por último CCRM.

Similitud entre las áreas estudiadas. El agrupamiento basado en el índice de Jaccard mostró un 20% de similitud entre el arroyo en Candelillas y el río Caunapí, y un 10% entre éstos y CCRM (figura 2). El arroyo en Candelillas y río Caunapí compartieron tres especies: *R. peculiaris*, *Trepobates trepidus* y *T. taylori*. La única especie compartida por los tres ecosistemas fue *Telmatometra whitei*. Esto sugiere un alto recambio de especies entre sitios y, por tanto, una alta diversidad beta.

Valor de importancia de las especies. En la tabla 2 se indican los índices de valor de importancia de las especies de heterópteros acuáticos y semiacuáticos. Las especies con mayor

Tabla 3. Relación de la riqueza de heterópteros acuáticos y semiacuáticos y la altitud en tres ecosistemas lóticos costeros del Pacífico (Tumaco, Colombia)

Sitio	Altitud m s.n.m	n.º individuos	n.º géneros	n.º familias
CCRM	0	159	7	4
Río Caunapí	20	145	7	3
Candelillas	35	35	9	5

importancia por su abundancia en los tres ecosistemas lóticos costeros estudiados fueron: *T. whitei* (0,16), *R. peculiaris* (0,11), *M. lofoides* (0,07), *R. espriella* (0,06) y *R. pacifica* (0,06). Dos especies presentaron el menor índice de importancia: *T. rozeboomi* y *M. quieta* (ambas con 0,003).

DISCUSIÓN

A pesar de la cercanía espacial y el estrecho margen altitudinal (35 m s.n.m.) que separa estos ecosistemas acuáticos, los tres presentaron baja similitud en la composición de taxones de Heteroptera y una estructura disímil (tabla 1 y 3). Para explicar los patrones de distribución se seleccionó el género *Rhagovelia* por presentar mayor abundancia de individuos y especies en dos de los ecosistemas evaluados.

El género *Rhagovelia* se recolectó en CCRM y en río Caunapí, pero no se registró en el arroyo en Candelillas. Una probable explicación de su presencia o ausencia, es la preferencia de sus especies por aguas con moderado flujo de agua, cristalinas y de sustrato pedregoso, rodeadas de vegetación arbustiva o arbórea, condiciones presentes solamente en los dos primeros sistemas.

El género *Rhagovelia* presentó mayor riqueza de especies y número de individuos por especie, tanto en CCRM, como en río Caunapí (tabla 1). CCRM con las especies: *R. pacifica*, *R. pediformis*, *R. rosensis* y *R. tumaquensis* y río Caunapí con las especies: *R. caunapi*, *R. espriella*, *R. spinosa* y *R. tenuipes*.

Dos de las cuatro especies, *R. rosensis* y *R. pediformis*, están restringidas a estas localidades tipo y se registran también en el departamento de Tolima (Parra et al. 2014). Las otras dos especies, *R. tenuipes* y *R. spinosa*, se distribuyen ampliamente en Colombia. Por otra parte, en cada uno de estos sistemas la segunda especie con mayor abundancia presenta una distribución restringida (CCRM: *R. pacifica*; río Caunapí: *R. espriella*).

Dos especies de Gerridae, *Brachymetra albinervis* y *Potamobates tumaquensis*, presentes en CCRM y Caunapí (figura 3) y ausentes en Candelillas, prefieren ecosistemas con aguas cristalinas y rodeadas por vegetación circundante. También *Martarega lofoides*, otra especie registrada en los dos ecosistemas (CCRM y Caunapí), prefiere cuerpos de agua permanentes, de corriente

Padilla-Gil.

media y de aguas expuestas, y se ubica cerca de las orillas de estos cuerpos de agua.

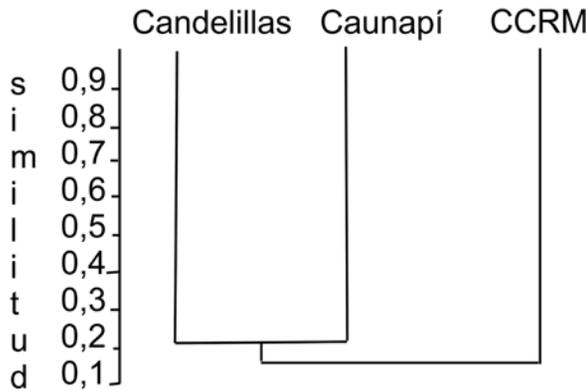
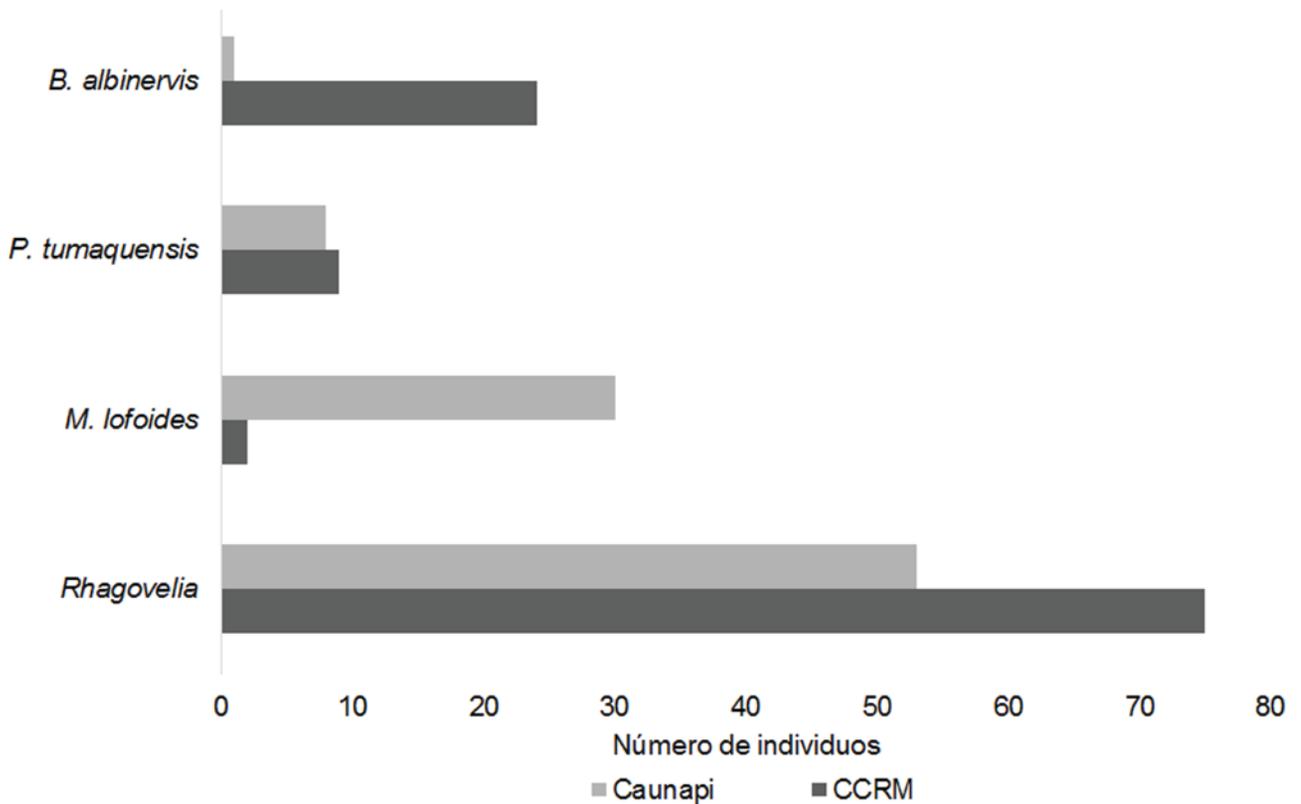


Figura 2. Análisis de similitud (coeficiente de similitud de Jaccard $r=0,5$) de tres ecosistemas lóticos costeros del Pacífico colombiano.

Las especies *T. trepidus* y *T. taylori* registradas en Candelillas y río Caunapí, presentan amplia distribución tanto en el Pacífico colombiano como en otras regiones de Colombia (Padilla-Gil 2015a). *Rheumatobates peculiaris* fue muy abundante en Candelillas y es frecuente en ecosistemas costeros del Pacífico de Colombia y de Ecuador; en el Pacífico está asociada con ecosistemas de poca profundidad y arenosos, sin embargo, también se encontró en menor proporción en ríos como el Caunapí.

Aunque el ecosistema más diverso fue el arroyo en Candelillas, este presentó el menor número de individuos recolectados (10,3%) y en él se registraron especies con amplia distribución geográfica y tolerancia a diferentes concentraciones de salinidad, tales como *Limnogonus franciscanus*, *Mesovelvia mulsanti*, e incluso las mismas especies de *Trepobates* que se encuentran también en estuarios y esteros próximos al mar (Padilla-Gil y Arcos 2011). Especies de los géneros *Paraplea* y *Tenagobia* también se registran en ecosistemas de flujo lento o en orillas de pozos, en la Llanura del Pacífico. Al parecer, este conjunto de especies se acomoda a las condiciones temporales de acuerdo con



*El arroyo en Candelillas fue excluido por presentar diferente composición de taxones

Figura 3. Número de individuos del género *Rhagovelia* y de tres especies de heterópteros acuáticos, en dos ecosistemas lóticos del litoral Pacífico colombiano.

la precipitación. Este ecosistema es el que presenta mayor intervención antrópica con construcciones muy cercanas y carreteras próximas, lo que probablemente explica la baja abundancia de individuos registrada.

El análisis de agrupamiento basado en el índice de Jaccard sugiere una alta diversidad beta, es decir, un alto porcentaje de recambio de especies entre áreas. Por ejemplo, la única especie que comparten los tres ecosistemas costeros estudiados fue *Telmatometra whitei*. Esta especie, que fue la más abundante en CCRM, está ampliamente distribuida en la Llanura del Pacífico (con rango altitudinal menor a los 900 m s.n.m.) y en otras áreas de Colombia. Este alto recambio también parece ocurrir a una escala espacial mayor, ya que el ensamble de heterópteros encontrado en el conjunto de ecosistemas estudiados en la Llanura del Pacífico también fue muy diferente en la composición y estructura de ambientes lóticos cálidos de otros bosques húmedos tropicales tales como los del piedemonte de la Amazonía, con un rango altitudinal entre 160-590 m (Padilla-Gil 2016b) y de ecosistemas Andinos como los del departamento del Tolima (Parra et al. 2014), principalmente con referencia al género *Rhagovelia*. Se recomienda explorar en el futuro un posible efecto del gradiente altitudinal a nivel regional, la permanencia hidrológica del hábitat (hidroperíodo) y el grado de intervención humana sobre la diversidad alfa y beta.

CONCLUSIONES

Los ecosistemas costeros lóticos de la planicie del Pacífico colombiano se caracterizan por su alta diversidad y la riqueza estimada es de siete familias, 14 géneros y 25 especies (tabla 1); el 44% (11 especies) con distribución geográfica restringida a la región.

Los sistemas acuáticos ubicados en el Consejo Comunitario Río Mejicano y Río Caunapí, presentaron menor diversidad de heterópteros acuáticos y semiacuáticos, similar número de géneros y familias, así como mayor abundancia. El arroyo en Candelillas presentó mayor diversidad de géneros y familias, pero menor abundancia total y por taxones.

Las especies de heterópteros de mayor valor de importancia por su abundancia en los ecosistemas costeros estudiados fueron: *T. whitei*, *R. peculiaris*, *M. lofoides*, *R. espriella* y *R. pacifica*.

Los ecosistemas costeros lóticos estudiados mostraron diferente composición de especies de heterópteros acuáticos y semiacuáticos y una estructura disímil. El índice de similitud de Jaccard sugiere un alto recambio de especies.

Es preciso ampliar el conocimiento taxonómico, ecológico y biogeográfico de las especies de heterópteros acuáticos y semiacuáticos de los ecosistemas costeros y pericontinentales del Pacífico con el fin de conservar estos ecosistemas ya que podrían albergar una alta riqueza producto del recambio de taxones a diferentes escalas espaciales.

AGRADECIMIENTOS

A Osvaldo Arcos y Luis Arcos por asistencia en las salidas de campo y a la Universidad de Nariño (VIPRI), por la financiación parcial de esta investigación. A Juan Felipe Blanco-Libreros y evaluadores anónimos por las observaciones que enriquecieron el manuscrito.

REFERENCIAS

- Blanco-Libreros JF. 2015. ¿Qué es una cuenca pericontinental? Capítulo 1. En: Lasso CA, Blanco-Libreros JF, Sánchez-Duarte P, editores. XII. Cuencas pericontinentales de Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela: tipología, biodiversidad, servicios ecosistémicos y sostenibilidad de los ríos, quebradas y arroyos costeros. Bogotá, D.C. (Colombia): Serie editorial Recursos Hidrobiológicos y pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). p. 35-65.
- Colwell R. 2013. Estimates: Statistical estimation of species richness and share species from samples. Versión 9.1, Fecha de acceso: 2016 enero 26. Disponible en <<http://viceroj.eeb.uconn.edu/estimates>>.
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD. 2001. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontología Electrónica*, 4 (1): 1-9.
- Longo M, Cortés-Guzmán D, Contreras E, Matta A, Blanco-Libreros JF, Lasso CA, Ospina R. 2015. La entomofauna y otros macroinvertebrados acuáticos de sistemas insulares y pericontinentales de las cuencas Pacífico y Caribe, Colombia. Capítulo 6. En: Lasso CA, Blanco-Libreros JF, Sánchez-Duarte P, editores. XII. Cuencas pericontinentales de Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela: tipología, biodiversidad, servicios ecosistémicos y sostenibilidad de los ríos, quebradas y arroyos costeros. Bogotá, D.C. (Colombia): Serie editorial Recursos Hidrobiológicos y pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). p. 141-169.
- Padilla-Gil DN. 2010a. Two new species of *Martarega* (Hemiptera: Heteroptera: Notonectidae) and a new species of *Tachygerris* (Hemiptera: Heteroptera: Gerridae) from Colombia. *Zootaxa*, 2560: 61-68. DOI: 10.5281/zenodo.197018
- Padilla-Gil DN. 2010b. A new species of *Rhagovelia* in the *R. elegans* group from Colombia (Heteroptera: Veliidae). *Aquatic Insects*, 32(4):293-297. DOI: 10.1080/01650424.2010.533128
- Padilla-Gil DN. 2011. Ten new species of *Rhagovelia* in the *R. angustipes* complex from Colombia (Heteroptera:

Padilla-Gil.

- Veliidae). Aquatic Insects, 33 (3): 203-231. DOI: 10.1080/01650424.2011.597404
- Padilla-Gil DN. 2012. Los hemípteros acuáticos del municipio de Tumaco (Nariño, Colombia) Guía ilustrada. Universidad de Nariño. San Juan de Pasto. Nariño Colombia. p. 88.
- Padilla-Gil DN. 2013a. Description of the egg and immature stages of *Potamobates anchicaya* J. Polhemus and D. Polhemus, 1995 (Hemiptera: Heteroptera: Gerridae) and intersexual variation in adults. Zootaxa, 3745 (5): 524-532. DOI: 10.11646/zootaxa.3745.5.2
- Padilla-Gil DN. 2013b. Immature stages of five species of Gerridae (Heteroptera: Gerromorpha) from the Eastern Tropical Pacific. International Journal of Tropical Insect Science, 33 (2): 91-98. DOI: 10.1017/S1742758413000106
- Padilla-Gil DN. 2014. Distribución espacial de las especies del género *Buenoa* Kirkaldy 1904 (Hemiptera: Notonectidae) en Tumaco (Nariño, Colombia). Acta Biológica Colombiana [Internet], 19 (1): 83-88. DOI: 10.15446/abc.v19n1.38641 Fecha de acceso: 12 de diciembre de 2017. Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319029827007>>
- Padilla-Gil DN. 2015a. Gerromorpha y Nepomorpha (Heteroptera) del Pacífico de Colombia; lista de especies, distribución geográfica y altitudinal. Biota Colombiana, 16 (1): 20-35.
- Padilla-Gil DN. 2015b. Ten new species of *Rhagovelia* in the *angustipes* complex (Hemiptera: Heteroptera: Veliidae) from Colombia, with a key to the Colombian species. Zootaxa, 4059 (1): 71-95. DOI: 10.11646/zootaxa.4059.1.4
- Padilla-Gil, D.N. 2015c. Description of the egg and immature stages of *Martarega lofoides* Padilla-Gil, 2010 (Hemiptera: Heteroptera: Notonectidae). Zootaxa, 3920 (4): 593-599. DOI: 10.11646/zootaxa.3920.4.9
- Padilla-Gil DN. 2016a. Las chinches semiacuáticas de la Reserva Natural Río Nambi (Nariño) Colombia. Acta Biológica Colombiana, 21 (1): 201-206. DOI: 10.15446/abc.v21n1.50001
- Padilla-Gil DN. 2016a. *Rhagovelia* (Hemiptera: Heteroptera: Veliidae) de la cuenca alta del Río Putumayo (Putumayo, Colombia). Acta Biológica Colombiana 21 (3): 661-666. DOI: 10.15446/abc.v21n3.550
- Padilla-Gil DN, Arcos O. 2011. Hemiptera acuáticos asociados a los estuarios de la Costa Pacífica Colombiana. Revista Colombiana de Entomología, 37 (2): 350-353.
- Padilla-Gil DN, Pacheco-Chaves B. 2012. New records of *Rheumatobates* Bergroth (Hemiptera: Heteroptera: Gerridae) from the Pacific coast of Colombia and Costa Rica, with a key to males of *Rheumatobates* in the Eastern Tropical Pacific. Zootaxa, 3427: 33-46.
- Padilla-Gil DN, García López JP. 2013. Análisis de la distribución geográfica de las Gerridae (Hemiptera, Gerromorpha) en los Andes del Suroeste de Colombia. Acta Biológica Colombiana, 18 (2): 381-389. DOI: 10.15446/abc.v21n1.50001
- Padilla-Gil DN, García López JP. 2016. Variación morfométrica de la pata mesotorácica de *Rhagovelia gastrotricha* (Hemiptera: Veliidae) en los Andes de Colombia. Revista Hidrobiológica, 26 (3): 395-401.
- Parra-Trujillo YT, Padilla-Gil DN, Reinoso G. 2014. Diversidad y distribución de *Rhagovelia* (Hemiptera, Veliidae) del departamento del Tolima. Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, 26 (1): 82-88.
- Polhemus DA. 1997. Systematics of the Genus *Rhagovelia* Mayr (Heteroptera: Veliidae) in the Western Hemisphere (Exclusive of the *angustipes* Complex). Entomological Society of America. Langham. p. 1-386.
- Polhemus JT, Manzano MA. 1992. Marine Heteroptera of the Eastern Tropical Pacific (Gelastocoridae, Gerridae, Mesoveliiidae, Saldidae, Veliidae). En: Quintero D, Aiello A, editores. Insects of Panama and Mesoamérica, Selected Studies. Oxford University Press, Oxford. p. 302-320. DOI: 10.1093/aesa/88.4.591 591

Riparian spider communities as indicators of stream ecosystem condition in the Río Piedras watershed of Puerto Rico

Comunidades de arañas ribereñas como indicadores de la condición de los ecosistemas fluviales en la cuenca del Río Piedras de Puerto Rico

Roberto Reyes-Maldonado^{1,3}, José A. Sánchez-Ruiz^{2,4}, Alonso Ramírez^{2,5}
Sean P. Kelly^{*1,6}

Abstract

Human degradation of stream ecosystems has led to the creation of a number of methods to assess the severity of such anthropogenic impacts. Biomonitoring protocols that utilize aquatic organisms, in particular macroinvertebrates, are used worldwide as a way to evaluate stream ecosystems. Despite the various benefits these methods provide, they only take into account the stream channel, ignoring altogether the condition of the riparian zone. Other methods look at physical characteristics of both the riparian area and the stream, but ignore biota. Riparian consumers such as spiders have been proposed as potential bioindicators because they could provide a more holistic alternative for assessing stream impairment. Our aim was to determine whether changes in riparian spider communities could be used as indicators to separate sites with different levels of impact along an urban gradient. We conducted correlation analyses of riparian spider community metrics (abundance and species richness) and the percent of vegetation cover in subwatersheds with varying levels of urbanization, along with three other popular stream monitoring protocols. We found a clear difference in spider community composition among subwatersheds, with an overall trend for lower richness and abundances in more impacted sites. Spider abundance correlated significantly with percent vegetation coverage and spider family richness correlated significantly with two widely employed stream monitoring protocols. These findings support the utility of riparian spider communities as indicators for disturbances of stream ecosystems in Puerto Rico and should be incorporated into future biomonitoring protocols to ensure a more holistic view of the condition of stream ecosystems.

Key words: aquatic macroinvertebrates, Araneae, bioindicators, biomonitoring, tropical urban streams

Resumen

La degradación de los sistemas ribereños, por causa de las actividades humanas, ha permitido el desarrollo de numerosos métodos que evalúan la severidad de los impactos antropogénicos. Los protocolos de biomonitorio, empleando macroinvertebrados acuáticos, son usados mundialmente en estas evaluaciones. No obstante, estos métodos tienen la desventaja que solo evalúan el canal del río, ignorando la zona ribereña adyacente. Otros métodos consideran, en su evaluación, las características físicas de ambas zonas, pero ignoran la biota del lugar. Las arañas ribereñas se han discutido como potenciales bioindicadores dado que podrían proveer una alternativa más holística para evaluar los sistemas ribereños. Nuestro objetivo fue determinar si los cambios en las comunidades de arañas ribereñas podrían utilizarse para separar lugares con diferentes niveles de impacto. Se correlacionó el porcentaje de cobertura vegetal y diferentes protocolos de biomonitorio, con métricas de riqueza y abundancia de arañas a lo largo de un gradiente urbano. Se encontraron diferencias en la composición de la comunidad de arañas entre lugares, con una tendencia general de menor riqueza y menor abundancia en los sitios más impactados. La abundancia de las arañas se correlacionó significativamente con el porcentaje de cobertura vegetal y la riqueza de familias se correlacionó con dos de los protocolos de monitoreo usados. Estos hallazgos respaldan la utilización de las comunidades de arañas como indicadoras de disturbio en los ecosistemas ribereños de Puerto Rico. Sugerimos incorporar las comunidades de arañas ribereñas en futuros protocolos de biomonitorio para asegurar una visión más holística de las condiciones de los lugares evaluados.

Palabras claves: macroinvertebrados acuáticos, Araneae, bioindicadores, biomonitorio, ríos urbanos tropicales

Received: November 2016; accepted: October 2017.

¹. University of Puerto Rico, Río Piedras. Department of Biology.

². University of Puerto Rico, Río Piedras. Department of Environmental Sciences.

emails: ³<robertoomaldo@gmail.com>, ⁴<jas091988@gmail.com>, ⁵<aramirez@ramirezlab.net>, ⁶<spkelly.84@gmail.com>

*Corresponding author

INTRODUCTION

Human degradation of stream ecosystems has led to the creation of several methods to assess the severity of anthropogenic impacts. An accurate assessment of the state of stream ecosystems would involve the integration of biotic and abiotic components, such as water quality, and surrounding land use, along with the organisms inhabiting the channel and its riparian zone (Gonçalves and de Menezes 2011). Some techniques used to assess stream ecosystems involve the evaluation of physical and chemical parameters, analyses utilizing microbiota, and some of the most common methods utilize biomonitoring indices. Biotic indices, in comparison with other methods, are of great advantage because they are practical, low cost techniques that require relatively little training to implement (Alba-Tercedor and Sánchez-Ortega 1988). Although other water quality methods detect physical-chemical parameters directly, they can only reflect the water quality at the moment of the sampling (Gonçalves and de Menezes 2011). On the other hand, biological indices provide us with an idea of the long term state of the aquatic ecosystem due to the fact that biological communities are constantly being exposed to the possible anthropogenic or natural disturbances (Alba-Tercedor and Sánchez-Ortega 1988).

Biotic indices are often based on tolerance metrics attributed to organisms according to their life history, in which the presence or absence of certain taxa indicates the state of the ecosystem (Washington 1984). While there are a large variety of biomonitoring indices, two commonly used for aquatic ecosystems are the Family Biotic Index (FBI) created by Hilsenhoff (1988) in the United States and the Biological Monitoring Working Party (BMWP) created by Armitage et al. (1983) in England. The FBI has been used in the continental U.S.A (Hilsenhoff 1988), and also adapted for El Salvador (Sermeño Chicas et al. 2010) and Puerto Rico (Gutiérrez-Fonseca and Ramírez 2016). The BMWP has been adapted for a number of regions throughout Latin America, including Costa Rica (MINAE-S 2007), Cuba (Naranjo-López et al. 2005), Colombia (Roldán 2003) and Puerto Rico (Gutiérrez-Fonseca and Ramírez 2016). Both indices use tolerance values for aquatic macroinvertebrates (v. g., shrimp, insects, gastropods, acari) with the goal of obtaining an index score that represents the water quality due to the level of disturbance for a given area (Armitage et al. 1983, Hilsenhoff 1988). Another method for assessing stream impairment is the Stream Visual Assessment Protocol (SVAP) (Bjorkland et al. 2001). The SVAP ignores biotic components and consists of a visual evaluation of physical elements for a stream which results in a score representing the level of impact. In spite of these indices having been used regularly in stream monitoring programs, each individual index does not provide a very holistic view of the stream ecosystem. The FBI and BMWP just evaluate the stream channel using aquatic taxa, but they do not evaluate the riparian zone. The SVAP does include the riparian area and the physical characteristics of the channel, but does not take into account the biota.

When compared with traditional biomonitoring methods, the use of spider communities could result in a useful and more holistic

addition to traditional monitoring methods. Spiders are commonly found in a wide range of habitats and because of their sensitivity to changes in prey, habitat, and land use, they have been widely discussed as possible bioindicator taxa (Chan et al. 2009, Kato et al. 2003, Rodrigues and Mendonça 2012). Spiders commonly reside in the riparian zone of streams, preying on emergent aquatic insects and other terrestrial organisms that inhabit these ecotones (Akamatsu et al. 2004, Gillespie 1987, Kato et al. 2003). Riparian spider communities can consist of many different taxa with a variety of different hunting strategies (v. g., web spinners, cursorial hunters, ambush hunters) which should respond differently to spatial structure and prey availability.

In this study, our objective is to assess the utility of changes in spider community metrics (abundance and richness) as possible bioindicators of stream ecosystems. We sought to determine whether these changes in the spider communities within an urban watershed are related to changes in surrounding land use and how they compare to well-known stream monitoring protocols that have recently been adapted for the island of Puerto Rico. We expect that riparian spider communities can be an important component for the creation of a more holistic approach to evaluating stream ecosystems and we propose the use of spiders as indicators of riparian habitats that can be utilized when designing future integrated biotic indices for aquatic ecosystems.

MATERIALS AND METHODS

The selected study area was within the Río Piedras watershed located in northeastern Puerto Rico within the greater metropolitan area of San Juan, which has a population density of around 3,190 people/km² (Ramírez et al. 2014). The Río Piedras watershed flows through the center of the San Juan metropolitan area and represents a drainage area of 67 km² with a predominantly urban land use (Lugo et al. 2011). The watershed forms an urban gradient, with the least amount of urbanization around its headwaters and then increasing levels of urbanization in the lowlands to where it empties into the San Juan Bay (Ramírez et al. 2014). We selected six sites that are a part of a long term sampling program for the Río Piedras watershed, with each site representing an individual subwatershed. Sites were numbered 1 to 6 according to the percent vegetation (%VEG) within each subwatershed, with lower numbers representing higher levels of vegetation (figure 1). Land use data for each subwatershed was adapted from Ramírez et al. (2014). At a site within each subwatershed we identified a 100 m reach transect that contained habitat heterogeneity (v. g., pools, riffles).

We utilized a semi-quantitative sampling method with a "D-Net" by manually disturbing all representative microhabitats over a period of 3 minutes. This process was then repeated three times for each site. Sampling was performed following the methods described in the Biological Monitoring Working Party for Puerto Rico (BMWP'PR) and the Family Biotic Index for Puerto Rico (FBI'PR) protocols (Gutiérrez-Fonseca and Ramírez 2016).

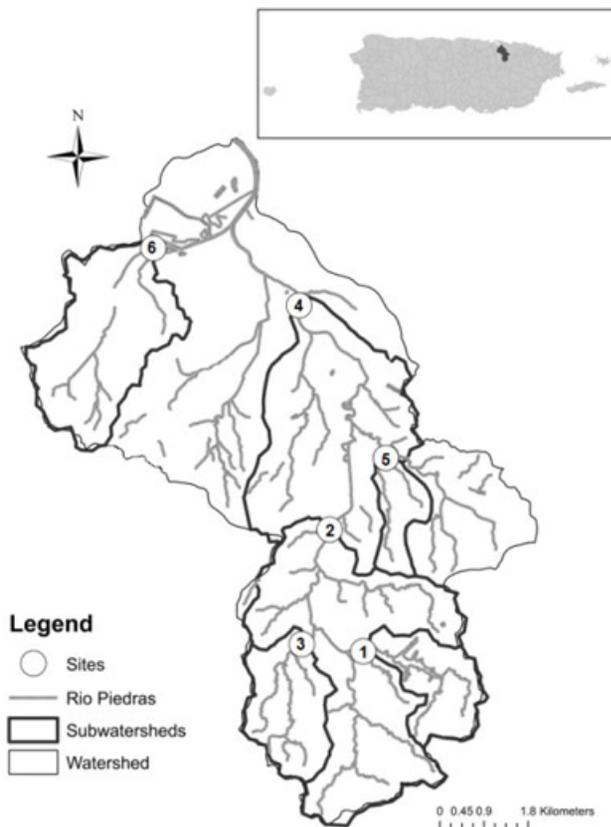


Figure 1. Study sites within the Río Piedras watershed in the greater metropolitan area of San Juan, Puerto Rico. Sites are numerically ordered according to total percent vegetation (%VEG) for each subwatershed. Sites are numbered 1–6 from high to low %VEG.

BMWP'PR and FBI'PR scores were calculated using the macroinvertebrate data and the respective formulas presented by Gutiérrez-Fonseca and Ramírez (2016). A description of water quality was assigned to each site according to the index score and its corresponding designation. The Stream Visual Assessment Protocol for Puerto Rico (SVAP'PR) as described by Rodríguez and Ramírez (2014) was performed as well. As part of this protocol, we collected data for canopy coverage utilizing a densitometer and we visually determined the percentage of different vegetation substrates present along the riparian area (v. g., trees, grasses). Total percent vegetation (%VEG) for each subwatershed was taken from Ramírez et al. (2014).

Along each 100 m transect spiders were collected by sweep-netting the adjacent riparian vegetation along both sides of the stream using a butterfly net for a period of three minutes. For each site this process was repeated three times. Spiders were then separated manually, stored in 70% ethanol and later identified to

the lowest possible taxonomic level. This sampling method was adapted from aquatic macroinvertebrate sampling protocols. With the combined replicates ($n=3$) we calculated abundance and richness (genera and family) for spider communities at each site. All spiders and aquatic macroinvertebrates were preserved in collections that are a part of long term biomonitoring programs for possible future research of the lab but specimens were all fairly common taxa and were not of any particular taxonomic value to be introduced as an official museum collection.

Linear regression analyses were used to test for correlations between surrounding land use (%VEG) and the three monitoring index scores: BMWP'PR, FBI'PR and SVAP'PR for each of the six sites. Linear regressions were then used to test for correlations between spider community metrics: family richness, genera richness and abundance with %VEG and the three monitoring index scores. All linear regressions were conducted with R statistical software (R Core Team 2012) and p values less than or equal to 0.05 were considered significant.

RESULTS

There was a large degree of variation in vegetation coverage across the watershed associated with the level of surrounding urbanization. In general, a greater amount of %VEG was found at the top of the Río Piedras watershed with decreasing levels of Monitoring protocols separated study sites across the watershed and two of the three indices had significant correlations with %VEG (figure 2). The BMWP'PR resulted in index scores ranging from "excellent" (Site 1) to "bad" condition (Site 5), but showed no significant correlations with %VEG. The FBI'PR classified sites from "good" to "very poor" condition and the SVAP'PR from "high" to "low" physical condition (table 1). Both, the FBI'PR and SVAP'PR, identified Site 3 as the best in terms of overall stream condition, and Site 6 as the worst (table 1). Both the FBI'PR ($R^2 = 0.82$, $p=0.01$) and the SVAP'PR ($R^2 = 0.78$, $p=0.02$) were significantly correlated with %VEG (figure 2).

A total of 443 spiders were identified, representing 11 families and 17 genera excluding four unidentified individuals. This included a wide variety of spider taxa with different hunting strategies and web spinning behaviors (v. g., orb webs, sheet webs, dome webs and cursorial hunters). Maximum abundance was observed at Site 1 and 2 (175 and 102 individuals, respectively) and the minimum at Site 6 (3 individuals) (table 1). The most common family taxon found at each site was Tetragnathidae (horizontal orb-weavers), with its two genera *Leucauge* and *Tetragnatha* comprising around 78% of total individuals for all sites (table 2). The rarest family taxa were Araneidae (vertical orb weavers), genus *Eustala* and Mimetidae (pirate spiders), genus *Mimetus*, both comprising only 0.4% of total collected individuals (table 2). Of the 17 genera found, two are considered specialists of aquatic ecosystems:

Table 1. Percent vegetation (%VEG), monitoring protocols with scores and stream condition descriptions and the spider community metrics for each site. Monitoring protocols include: BMWP'PR = Biological Monitoring Working Party for Puerto Rico, FBI'PR = Family Biotic Index for Puerto Rico, SVAP'PR = Stream Visual Assessment Protocol for Puerto Rico

Site	%VEG	Monitoring protocols			Spider community metrics		
		BMWP'PR* (score/condition)	FBI'PR** (score/condition)	SVAP'PR*** (score/condition)	abundance	genera richness	family richness
1	83	110 Excellent	5.29 Good	1.69 High	175	7	5
2	64	54 Bad	6.33 Regular	1.36 Regular	102	10	6
3	61.6	71 Regular	5.07 Very good	1.77 High	34	9	7
4	51.8	82 Good	7.22 Regular poor	1.26 Regular	92	7	6
5	41.9	44 Bad	7.37 Regular poor	1.17 Regular	37	4	3
6	22.7	66 Regular	8.71 Very poor	0.86 Low	3	2	1

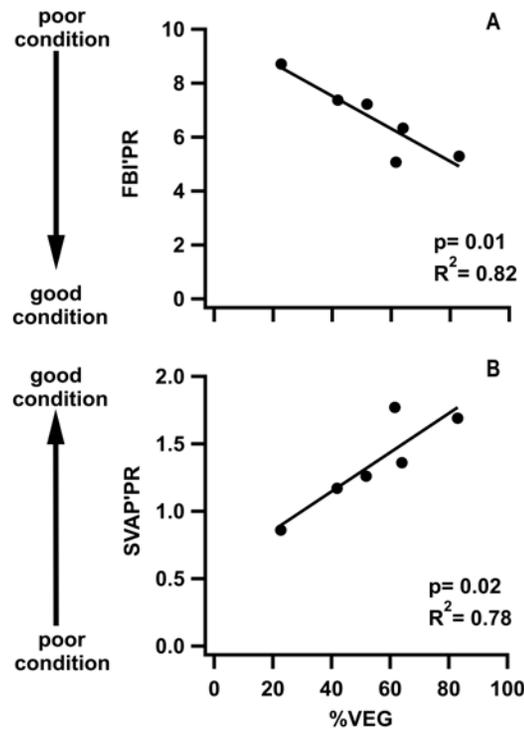


Figure 2. Linear regressions between total percent vegetation for each subwatershed (%VEG) and two of the three monitoring index scores that were found to be significantly correlated. A. Family Biotic Index for Puerto Rico (FBI'PR) and B. Stream Visual Assessment Protocol for Puerto Rico (SVAP'PR).

Wendilgarda and *Tetragnatha*. Site 2 contained the highest genera richness (10 genera) and Site 6 the lowest (2 genera) (table 1). We found Site 3 to have the highest family richness (7 families) and Site 6 the lowest (1 family) (table 1). The three most common species identified were *Tetragnatha boydi*, *O. Pickard-Cambrid-*

ge, 1898, *Leucauge argyra* (Walckenaer, 1841) and *Wendilgarda clara* Keyserling, 1886. However, due to the fact that immature spiders cannot be accurately identified to species all spiders were therefor identified to the lowest possible level of genera or family.

Table 2. Genera abundance for each family found at the six sites. Taxa catalogued as "Other" were unknown juvenile individuals that could only be identified to family with confidence.

taxa	site					
	1	2	3	4	5	6
Anyphaenidae						
<i>Hibana</i>	0	1	0	1	0	0
Other	0	0	0	1	0	0
Araneidae						
<i>Eustala</i>	0	1	0	0	0	0
Other	0	0	0	1	0	0
Gnaphosidae						
<i>Camillina</i>	0	2	0	0	0	0
Mimetidae						
<i>Mimetus</i>	0	0	1	0	0	0
Pholcidae						
<i>Micropholcus</i>	0	0	1	0	0	0
<i>Modisimus</i>	0	0	2	0	0	0
Salticidae						
<i>Emathis</i>	0	6	1	0	0	0
<i>Hentzia</i>	0	2	0	6	4	0
<i>Lyssomanes</i>	0	1	0	0	0	0
Other	0	2	1	0	0	0
Tetragnathidae						
<i>Leucauge</i>	100	8	8	18	10	2
<i>Tetragnatha</i>	41	64	15	44	21	1
Other	0	0	0	17	0	0
Theridiidae						
<i>Faiditus</i>	3	0	0	0	0	0
<i>Theridion</i>	1	12	1	3	20	
<i>Theridula</i>	0	3	0	0	0	0
Theridiosomatidae						
<i>Wendilgarda</i>	27	0	3	0	0	0
Thomisidae						
<i>Mecaphesa</i>	1	0	0	1	0	0
Uloboridae						
<i>Miagrammopes</i>	2	0	1	0	0	0
Total	175	102	34	92	37	3

Among the spider community metrics of abundance, family richness, and genera richness, only abundance showed a significant correlation with %VEG ($R^2 = 0.74$, $p = 0.03$) (figure 3). When spider community metrics were analyzed with the three monitoring indices only family richness was found to have significant correlations with FBI'PR ($R^2 = 0.65$, $p = 0.05$) and the SVAP'PR ($R^2 = 0.65$, $p = 0.05$) (figure 3).

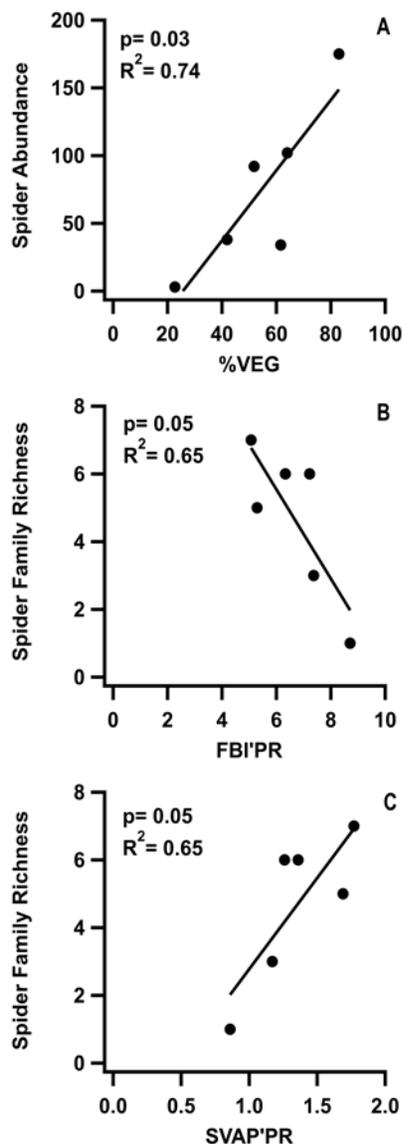


Figure 3. Linear regression analyses between total percent vegetation for each subwatershed (%VEG) and two of the three monitoring index scores that were found to be significantly correlated with at least one of the spider community metrics (spider abundance and spider family richness). A. Total percent vegetation for each subwatershed (%VEG), B. Family Biotic Index for Puerto Rico (FBI'PR) and C. Stream Visual Assessment Protocol for Puerto Rico (SVAP'PR).

DISCUSSION

Our objective was to test whether riparian spider communities respond to changes in the environment along an urban gradient and how changes in spider communities relate to current monitoring protocols as indicators of impacts to stream ecosystems. The six sites ordered by %VEG were found to form a clear gradient within the watershed, which was also reinforced by the results of the monitoring protocols. We found clear changes in spider communities within the urban watershed with a significant correlation between spider abundance and %VEG, as well as family richness and two stream monitoring protocols. The clear relationships between spider abundance and family richness to changes in land use and aquatic monitoring protocols shows the utility for riparian spiders to be considered for future biomonitoring protocols.

The observed changes in the community composition of spiders along the urban gradient can be a reflection of two principal factors: differences in prey availability and/or changes in vegetation. Studies have shown that prey availability (v. g., emerging aquatic insects) can significantly affect the density of riparian spiders along a stream (Kato et al. 2003, Marczak and Richardson 2007) studies such as Chan et al. (2009) have found that communities of riparian spiders increased by around 41% in places where additional substrate was available. Urban streams are often characterized by having altered riparian zones and changes in aquatic insect communities due to anthropogenic activities (Jesús-Crespo and Ramírez 2011, Ramírez et al. 2012) and therefore riparian spider communities should respond strongly to urbanization.

Less urbanized areas, such as Site 1 and Site 2, contained a more heterogeneous mixture of vegetation in comparison to the most urbanized areas, such as Site 6, with a more homogeneous vegetation coverage dominated by grasses. Vegetation structure in the riparian zone influences spider richness, making heterogeneous habitats more diverse than homogeneous ones (Chan et al. 2009, Greenstone 1984, Laeser et al. 2005). Leaser et al. (2005) found that web-weaving spider diversity and abundance decreased in disturbed streams (channelized or with vegetation loss). According to the study, tetragnathid spiders were the only taxa that were the least affected by this kind of disturbance due to their ability to use other substrates such as grasses to build their webs. This would suggest that habitat heterogeneity allows for a greater diversity of taxa and hunting guilds to inhabit the riparian zone.

The significant correlation between spider family richness and two of the three common monitoring methods shows the utility of riparian spiders as possible bioindicators. Both indices, the FBI and SVAP, have been shown to be useful in determining stream condition despite the clear differences in the methods and the focus of the two monitoring protocols (Hilsenhoff 1988, Rodríguez and Ramírez 2014). The FBI index relies strictly on a combination of abundance and family richness of aquatic macroinvertebrates, while the SVAP is a visual assessment of riparian vegetation and other physical characteristics of the stream channel. The SVAP has been described as a good tool in detecting changes in streams through time (Rodríguez and Ramírez 2014),

while the FBI has been praised as a protocol that can reflect very well the changes in the aquatic system (Kalyoncu and Gulboy 2009). The correlation found with these methods along the urban gradient shows that spider richness is useful in detecting those impacts that were reflected in the scores provided by the FBI'PR and SVAP'PR.

The primary task in biomonitoring is the search for the ideal indicator (Bonada et al. 2006). Our study shows that riparian spiders could be useful indicators, but what remains is to create a tolerance index. One of the limitations when creating a monitoring method is the need to adjust it to local taxonomic richness values for the specific geographic location. Gutiérrez-Fonseca and Ramírez (2016) confronted this problem during the implementation of the BMWP and FBI to Puerto Rico. Due to the low macroinvertebrate richness in Puerto Rico they had to decrease the traditional quality ranges of the protocols in order to obtain representative values of water quality. Therefore, similar adjustments should be considered for a biomonitoring method using riparian spider communities. Similar to aquatic insects some taxa of spiders have global distributions, while other taxa are more restricted to certain geographical regions (v. g., tropical and temperate species). However, by focusing at the family level it should be possible to eliminate some issues of localized genera or endemic species.

The relatively low family richness in our study is most likely due to Puerto Rico being a small oceanic island and naturally tends to have less diversity than large continental regions. In Brazil a maximum of 25 families were found along six 30 m transects (Rodrigues et al. 2014); and in Denmark 16 families were found in forest fragments (Horvath et al. 2014). These studies contrast greatly with the 11 families found in our study, however due to differences in geographic locations and sampling methods it is difficult to accurately compare these findings. A previous study conducted along a forested headwater stream in northeastern Puerto Rico reported a maximum of five spider families (Kelly et al. 2015). However, their study only included web-spinning spiders in their sampling and therefore the additional taxa we found were most likely related to the inclusion of cursorial spiders in our sampling. The use of a simple standardized sampling method will eliminate some of the confounding variables when comparing studies and will be essential in creating an accurate biomonitoring protocol for different geographic regions.

Riparian spider communities respond to impacts in both the riparian and aquatic habitats and represent a more holistic view at the moment of evaluating the condition of stream ecosystems. To the extent of our knowledge this is the first study that has investigated spider community responses to disturbances compared with other well-established stream monitoring protocols. As a result of our findings we strongly recommend the inclusion of riparian spider communities as part of future biomonitoring protocols in order to provide further insight into the impacts of disturbances to stream ecosystems.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was funded and made possible thanks to the Puerto Rico Center for Environmental Neuroscience (PRCEN) (Grant # NSF CREST HRD-1137725). We want to thank all the members of the Ramírez Lab and especially Pablo Gutiérrez, Leticia Classen, Bethany Vazquez and Isabel Ibarra who helped us with sampling and identifying macroinvertebrates.

REFERENCES

- Akamatsu F, Toda H, Okino T. 2004. Food source of riparian spiders analyzed by using stable isotope ratios. *Ecological Research*, 19 (6): 655-662. DOI: 10.1111/j.1440-1703.2004.00680.x
- Alba-Tercedor J, Sánchez-Ortega A. 1988. Un Método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnética*, 4 (1): 51-56.
- Armitage PD, Moss D, Wright JF, Furse MT. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Research*, 17 (3): 333-347. DOI: 10.1016/0043-1354(83)90188-4
- Bjorkland R, Pringle CM, Newton B. 2001. A Stream Visual Assessment Protocol (SVAP) for Riparian Landowners. *Environmental Monitoring and Assessment*, 68: 99-125. DOI: 10.1023/A:101074312
- Bonada N, Prat N, Resh VH, Statzner B. 2006. Developments in Aquatic Insect Biomonitoring: A Comparative Analysis of Recent Approaches. *Annual Review of Entomology*, 51 (1): 495-523. DOI: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151124
- Chan EKW, Zhang Y, Dudgeon D. 2009. Substrate Availability May Be More Important than Aquatic Insect Abundance in the Distribution of Riparian Orb-web Spiders in the Tropics. *Biotropica*, 41 (2): 196-201. DOI: 10.1111/j.1744-7429.2008.00463.x
- Gillespie RG. 1987. The Mechanism of Habitat Selection in the Long-Jawed Orb-Weaving Spider *Tetragnatha elongata* (Araneae, Tetragnathidae). *Journal of Arachnology*, 15 (1): 81-90.
- Gonçalves FB, de Menezes MS. 2011. A comparative analysis of biotic indices that use macroinvertebrates to assess water quality in a coastal river of Paraná state, southern Brazil. *Biota Neotropica*, 11 (4): 27-36. DOI: 10.1590/S1676-06032011000400002.
- Greenstone M. 1984. Determinants of web spider species diversity: Vegetation structural diversity vs. prey availability. *Oecologia*, 62 (3): 299-304. DOI: 10.1007/BF00384260
- Gutiérrez-Fonseca P, Ramírez A. 2016. Evaluación de la calidad ecológica de los ríos en Puerto Rico: principales amenazas y herramientas de evaluación. *Hidrobiológica*, 26 (3): 433-441.
- Hilsenhoff WL. 1988. Rapid Field Assessment of Organic Pollution with a Family-Level Biotic Index. *Journal of the North American Benthological Society*, 7 (1): 65-68. DOI: DOI: 10.2307/1467832

Reyes-Maldonado et al.

- Horvath R, Elek Z, Lövei GL. 2014. Compositional changes in spider (Araneae) assemblages along an urbanisation gradient near a Danish town. *Bulletin of Insectology*, 67 (2): 255-264.
- Jesús-Crespo R, Ramírez A. 2011. Effects of urbanization on stream physicochemistry and macroinvertebrate assemblages in a tropical urban watershed in Puerto Rico. *Journal of the North American Benthological Society*, 30 (3): 739-750. DOI: doi.org/10.1899/10-081.1
- Kalyoncu H, Gulboy H. 2009. Benthic macroinvertebrates from Darören and Isparta streams (Isparta/Turkey)-biotic indices and multivariate analysis. *Journal of Applied Biological Sciences*, 3 (1): 79-86. DOI: 10.1999/1307-6892/10004978
- Kato C, Iwata T, Nakano S, Kishi D. 2003. Dynamics of aquatic insect flux affects distribution of riparian web-building spiders. *Oikos*, 103 (1): 113-120; DOI: 10.1034/j.1600-0706.2003.12477.x
- Kelly SP, Cuevas E, Ramírez A. 2015. Stable isotope analyses of web-spinning spider assemblages along a headwater stream in Puerto Rico. *PeerJ* 3: e1324; DOI 10.7717/peerj.1324
- Laeser SR, Baxter CV, Fausch KD. 2005. Riparian vegetation loss, stream channelization, and web-weaving spiders in northern Japan. *Ecological Research*, 20 (6): 646-651. DOI: 10.1007/s11284-005-0084-3
- Lugo AE, González OMR, Pedraza CR. 2011. The Río Piedras Watershed and its Surrounding Environment. *USDA Forest Service (FS-980)*: 1-46.
- Marczak LB, Richardson JS. 2007. Spiders and subsidies: results from the riparian zone of a coastal temperate rainforest. *Journal of Animal Ecology*, 76 (4): 687-694. DOI: 10.1111/j.1365-2656.2007.01240.x
- Ministerio del Ambiente y Energía, Ministerio de Salud. 2007. Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales. San José, Costa Rica. Decreto Ejecutivo N° 33903.
- Naranjo-López C, González DD, Garcés G, Brandimarte AL, Muñoz S, Musle Y. 2005. Una metodología rápida y de fácil aplicación para la evaluación de la calidad del agua utilizando el índice BMWP-Cub para ríos cubanos. *Tecnura*, 9 (17): 65-76.
- R Development Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Accessed: November 2016. Available from: <https://www.r-project.org/>
- Ramírez A, Engman A, Rosas KG, Perez-Reyes O, Martínó-Cardona DM. 2012. Urban impacts on tropical island streams: Some key aspects influencing ecosystem response. *Urban Ecosystems*, 15 (2): 315-325. DOI: 10.1007/s11252-011-0214-3
- Ramírez A, Rosas KG, Lugo AE, Ramos-González OM. 2014. Spatio-temporal variation in stream water chemistry in a tropical urban watershed. *Ecology and Society*, 19 (2): 45-55; DOI: 10.5751/ES-06481-190245
- Rodrigues ENL, Mendonça MS. 2012. Spider guilds in the tree-shrub strata of riparian forests in southern Brazil. *Journal of Arachnology*, 40 (1): 39-47. DOI: 10.1636/P10-105.1
- Rodrigues ENL, Mendonça DMS, Costa-Schmidt LE. 2014. Spider diversity responds strongly to edge effects but weakly to vegetation structure in riparian forests of Southern Brazil. *Arthropod-Plant Interactions*, 8 (2): 123-133; DOI: 10.1007/s11829-014-9294-3
- Rodríguez N, Ramírez A. 2014. Protocolo de evaluación visual de quebradas para Puerto Rico. Universidad de Puerto Rico, recinto de Río Piedras [Internet]. 2014. Aquatic Ecology Lab. Accessed: October 2016. Available from: <http://www.ramirezlab.net/outreach>.
- Roldán G. 2003. Bioindicación de la calidad del agua en Colombia: Propuesta para el uso del método BMWP/Col. Medellín (Colombia): Editorial Universidad de Antioquia. p. 170.
- Sermeño Chicas JM, Cervantes LS, Springer M. 2010. Determinación de la calidad ambiental de las aguas de los ríos de El Salvador, utilizando invertebrados acuáticos: índice biológico a nivel de familias de invertebrados acuáticos en El Salvador (IBF-SV-2010). San Salvador (El Salvador): Editorial Universitaria (UES). 43 p.
- Washington HG. 1984. Diversity, biotic and similarity indices: A review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Research*, 18 (6): 653-694. DOI: 10.1016/0043-1354(84)90164-7

Densidad, biomasa y hábitos alimentarios de *Anacroneuria* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) en un río tropical

Density, biomass and feeding of *Anacroneuria* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) in a tropical river

Tatiana K. Sierra-Labastidas¹, Cesar E. Tamaris-Turizo^{1*}, Shisley A. Reyes Picón², Guillermo Rueda-Delgado³

Resumen

Entre los insectos acuáticos, los plecópteros desempeñan un rol destacado en la descomposición y la recirculación de nutrientes y contribuyen, en la red trófica, como alimento de otros insectos y vertebrados. El propósito de este estudio fue conocer la variación de la biomasa y la dieta del género *Anacroneuria* durante cuatro meses en la parte media del río Gaira. Se recolectaron en total 1.284 individuos y se organizaron en cinco clases de tallas (0,1–0,5, 0,6–1,0, 1,1–1,5, 1,6–2,0 y 2,1–2,5 cm). Se encontraron diferencias en las clases de las tallas ($H'=100,3$; $p<0,01$; $n=644$) (las tallas mayores de 2 cm no se registraron en los muestreos 5 y 6). La abundancia entre microhábitats también registró diferencias significativas, donde la mayor abundancia se observó en la hojarasca (763 individuos) y la menor en la piedra (86 individuos). La biomasa acumulada total fue 441,6 PSLC mg/m², donde las tallas intermedias (0,6–2,0 cm) fueron las que más contribuyeron a la biomasa del género (promedio PSLC: 215,53 ± 4,67 mg/m²), mientras que las tallas más grandes (2,1–2,5 cm) presentaron la menor contribución (promedio PSLC: 48,90 ± 4,62 mg/m²). No se encontró relación entre el contenido estomacal y las tallas; los restos animales y los detritos fueron los ítems alimentarios más frecuentes. La biomasa disponible por el género *Anacroneuria* evidenció una importante disponibilidad energética que es afectada negativamente por las precipitaciones y los caudales.

Palabras clave: tallas, biomasa, insectos acuáticos, *Anacroneuria*, dieta, Colombia

Abstract

Among the aquatic insects, the Plecoptera play an important role in decomposition and nutrient recycling. Moreover, they are important in the energy flow throughout the system, as they are food to other insects and vertebrates. The aim of this research was to study the biomass and diet dynamics of *Anacroneuria* during four months in the middle basin of the Gaira River. A total of 1284 organisms were collected and organized into five size classes (0.1–0.5, 0.6–1.0, 1.1–1.5, 1.6–2.0 y 2.1–2.5 cm). We found differences size classes ($H'=100.3$; $p<0.01$; $n=644$). The > 2 cm size class was not found during samplings 5 and 6. Abundance was significantly different among microhabitats; with the highest abundance observed in leaves (763 organisms) and the lowest in gravel stones (86 organisms). The cumulative biomass was 441.6 PSLC mg/m², where the intermediate sizes (0.6–2.0 cm) were the largest contributors to the biomass of the genus (average AFDW: 215.53 ± 4.67 mg/m²), while the largest size (2.1–2.5 cm) had the lowest contribution (average AFDW: 48.90 ± 4.62 mg/m²). There was no significant correlation between gut contents and body size. The most common fragments in gut contents were animals and detritus. Biomass available to the *Anacroneuria* genus had provides a high energy content that was negatively affected by rainfall and discharges.

Key words: size, biomass, aquatic insects, *Anacroneuria*, diet, Colombia

INTRODUCCIÓN

Entre los insectos acuáticos, el orden Plecoptera constituye un componente importante de la fauna de ecosistemas dulceacuícolas debido a su alta abundancia y su amplia distribución. Este grupo de insectos cumple un papel destacado en la descomposición y recirculación de nutrientes y contribuye en la red trófica como alimento de otros insectos y vertebrados (Stewart y Stark 2002). No obstante, el conocimiento que se tiene del orden, a nivel nacional y regional, corresponde principalmente a estudios

taxonómicos siendo escasos los trabajos sobre su biología y ecología en el Neotrópico (Roldán et al. 2014, Zúñiga 2010 y Zúñiga y Cardona 2009), a pesar de su amplio uso como indicadores de calidad del agua (Roldán 1998, Roldán y Ramírez 2008).

La biomasa es un importante atributo de la estructura de las comunidades o poblaciones; este atributo se puede evaluar como una propiedad colectiva o emergente (Breckling et al. 2005) debido a que permite cuantificar la cantidad de energía disponible por un organismo o grupo de organismos, en un determinado

Recibido: noviembre 2016; aceptado: octubre 2017.

¹. Grupo de Investigación en Biodiversidad y Ecología Aplicada, Universidad del Magdalena, Carrera 32 No. 22 – 08, Santa Marta, Colombia. <tatiansierra-labastidas@gmail.com>

². Fundación Wii. <shisdre@gmail.com>

³. Fundación ECOYACO. <grueda25@yahoo.com>

*Autor para correspondencia.

Artículo científico completo

momento, al ser consumidos por organismos superiores en la red trófica (Chará-Serna et al. 2012, Tomanova et al. 2006), o bien pueden tomar la vía del detritus (Caraballo et al. 2014, Vander-Zanden et al. 2006).

Benke et al. (2001) y Waters (1979) resaltaron la importancia de conocer la historia de vida y el recambio de la biomasa en los organismos que conforman los sistemas acuáticos. Estas estimaciones resultan valiosas porque permiten analizar los aspectos ecológicos de una población y los datos pueden usarse para realizar estimaciones acerca de su producción en los ecosistemas. De esta forma, el conocimiento de la dinámica de la biomasa aporta información relevante sobre el flujo de energía en los ecosistemas (Benke et al. 2001, Benke y Huryn 2007). Por otra parte, el análisis de los hábitos alimentarios permite conocer el rol trófico de muchas comunidades de invertebrados en los sistemas acuáticos (Benke 1993, Benke y Wallace 1980). Lo anterior es útil para generar información relacionada con los flujos energéticos (captura y destino) y la dinámica de los ecosistemas acuáticos continentales (Dunne et al. 2004, Motta y Uieda 2004, Tomanova et al. 2006).

Aunque en el Neotrópico es poco lo que se ha estudiado sobre los hábitos alimentarios del orden Plecoptera, se conoce que la dieta ingerida por las ninfas puede variar dependiendo de la especie, el estado de desarrollo, la hora del día y la disponibilidad de recursos (Dorvillé y Froehlich 2001). Algunas especies, por ejemplo, son detritívoras o depredadoras durante todo su desarrollo, mientras otras podrían presentar cambios en sus hábitos alimentarios durante el proceso de desarrollo. El análisis del contenido estomacal de plecópteros de zonas templadas evidencia que son comunes los cambios de herbívoros-detritívoros en los primeros estadios a omnívoros-carnívoros en los periodos siguientes (Merritt et al. 2008). Estudios realizados previamente en la Sierra Nevada de Santa Marta los han definido como depredadores desde estadios juveniles (Guzmán-Soto y Tamaris-Turizo 2014, Tamaris-Turizo et al. 2007). Sin embargo, estos trabajos no relacionaron la composición de las dietas con la talla de los organismos.

Con el fin de conocer 1) las posibles variaciones en la distribución de tallas entre los microhábitats y los muestreos, 2) la dinámica en las densidades entre microhábitats y las clases de talla, 3) las fluctuaciones temporales de la biomasa de los plecópteros y entre las clases de talla y 4) los posibles cambios en las dietas entre las clases de tallas del género *Anacroneturia*, se estudió la dinámica temporal del género *Anacroneturia* durante cuatro meses, en el río Gaira, Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM). Además, se exploraron las relaciones entre la dinámica de tallas y la abundancia del género y las precipitaciones en un tramo del río Gaira. Se espera que los mayores aportes de biomasa estén dados por organismos de tallas pequeñas, debido a sus altas densidades, así como una preferencia por el microhábitat hojarasca por tener alta disponibilidad alimentaria y heterogeneidad. Con relación a las dietas, se pretende detectar diferencias en las clases de tallas de acuerdo con su desarrollo, las cuales, considerando la literatura, varían de detritívoras al inicio del desarrollo a depredadoras en la etapa madura (Merritt et al. 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos se realizaron en la hacienda La Victoria, localizada en la parte media de la cuenca del río Gaira (departamento del Magdalena - norte de Colombia), ubicada a 900 m de altitud entre los 11°07'44,2" N y 74°05'35,8" O. El río tiene una longitud total de 32,53 km (con pendientes variables en la parte media) y atraviesa cinco tipos de clima, desde el cálido árido al nivel del mar hasta el frío muy húmedo a los 2850 m (Frayter et al. 2000, Tamaris-Turizo y López-Salgado 2006). En el bosque ribereño predominan especies con estrato arbóreo superior a los 24 m. El cauce posee corrientes rápidas y es un sistema pedregoso con una heterogeneidad de microhábitats favorable para el asentamiento de grupos de macroinvertebrados bentónicos (Grimaldo 2001, Rueda-Delgado et al. 2005). De acuerdo con los datos de la estación pluviométrica del IDEAM (código: 15010010), en la zona de estudio se registraron precipitaciones de 0, 107,5, 258,2 y 437,9 mm en los meses de marzo, abril, mayo y junio del 2005. Una mayor descripción del sitio de muestreo puede ser consultada en Tamaris-Turizo et al. (2013).

Recolecta del material biológico. Se realizaron recolectas cada 20 días durante cuatro meses, desde marzo hasta junio del 2005, lo cual correspondió a la finalización del periodo seco e inicio de las lluvias respectivamente. Se muestrearon tres sustratos: gravas, hojarasca y piedras, considerando que en dichos sustratos se han registrado las mayores abundancias del género (Tamaris-Turizo et al. 2007). En las gravas se utilizó una red Surber de 0,09 m² y 250 µm de poro y se tomaron cuatro réplicas en el microhábitat de la grava, en cada sección del río: ribera izquierda, ribera derecha y centro del cauce. Dos réplicas de cada sección se usaron para el análisis de biomasa; las dos réplicas restantes se usaron para evaluar los contenidos estomacales. Posteriormente, las muestras se rotularon y fijaron en etanol al 96%.

De forma aleatoria se tomaron 100 g (peso húmedo) de hojarasca y se pesaron con un dinamómetro. Para determinar el área muestreada en la hojarasca se tomó una réplica en cada sector del río; las réplicas fueron transportadas al laboratorio, en donde se lavaron y secaron al aire. Posteriormente se midió el área de cada hoja empleando un planímetro manual Sokkia (Planix 6); se calculó el área promedio de los 300 g de hojarasca medida y se multiplicó por el número de réplicas por muestreo (12) para obtener el área total. Las piedras recolectadas tenían diámetros entre 10–20 ± 5 cm y alturas entre 18–23 ± 7 cm. La estimación del área superficial de cada piedra se realizó, mediante una regresión lineal simple, entre áreas de papel aluminio conocidas (cada piedra se forró con papel aluminio en campo) y su respectivo peso, lo que permitió obtener la ecuación de tipo $Y = mX + b$. El peso del papel aluminio (utilizado durante el primer muestreo para forrar las 12 piedras) se reemplazó en la ecuación anterior para determinar el peso (Bergey 2006).

Análisis de muestras. La identificación del material biológico se confrontó con las descripciones de Zúñiga et al. (2007) y Gutiérrez-Fonseca y Springer (2011). Los organismos se determinaron hasta el nivel de género y se separaron de acuerdo con las

clases de tallas registradas (0,1–0,5; 0,6–1,0; 1,1–1,5; 1,6–2,0 y 2,1–2,5 cm). Para los cálculos de la biomasa se usaron 644 individuos, los cuales se secaron en estufa a 60 °C por 24 horas para obtener el peso seco constante y luego se llevaron a la mufla a 500 °C por 2 horas para determinar, por combustión, el peso seco libre de ceniza (PSLC) (Benke y Huryñ 2007, Shieh et al. 2003). Todos los organismos se pesaron en una balanza analítica Ohaus Adventurer-Pro® (precisión ± 0,0001 g). Para los análisis de contenidos estomacales se extrajo el estómago a 640 individuos; el órgano fue fragmentado sobre un portaobjetos con glicerina y se realizaron observaciones en aumentos de 100X y 400X en un microscopio, discriminando los ítems alimentarios en cinco categorías: restos vegetales (RV), restos animales (RA), hongos (H), microalgas (M) y detritos (D) (Tamaris-Turizo et al. 2007). A cada estómago se le cuantificó la frecuencia de aparición de cada ítem alimentario, por cada campo ocular, hasta cubrir el total de la muestra.

Procesamiento de datos. Para explorar diferencias en el número de individuos entre los muestreos y en el número de individuos encontrados entre las tallas, así como también para establecer posibles diferencias en el número de individuos entre los microhábitats, y dado que los datos no cumplieron los supuestos de normalidad de residuos y/o homogeneidad de las varianzas, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis (H') (Guisande et al. 2016). Para identificar cuáles fueron los grupos significativamente distintos se usó la prueba de contrastes de medias de Tukey (Guisande et al. 2016). Para conocer las relaciones entre las precipitaciones y el caudal con las tallas promedio y con la biomasa en los muestreos, se realizaron regresiones lineales; previamente se comprobó el cumplimiento de la homogeneidad y homocedasticidad de residuos mediante las pruebas Kolmogorov-Smirnov (Gross 2013) y Breusch-Pagan (Hothorn et al. 2013) respectivamente, y la ausencia de autocorrelación a través de la prueba de Durbin-Watson (Durbin y Watson 1951). Finalmente, para conocer la posible relación entre los ítems alimentarios y las clases de tallas, se realizó una tabla de contingencia con una prueba de Chi-cuadrado (X²). Todos estos análisis se realizaron en el programa R (<http://cran.r-project.org>).

RESULTADOS

Se recolectaron en total 1284 organismos (se utilizaron 644 para estimar la biomasa y 640 para evaluar el contenido estomacal). Los individuos se dividieron en cinco clases según el rango de las tallas. Las mayores abundancias coincidieron con los menores registros de caudales en los meses de marzo y abril (0,4 y 0,5 m³/s respectivamente); caso contrario se evidenció en el mes de junio cuando el caudal promedio fue 2,3 m³/s (figura 1).

Frecuencia y distribución de tallas. Se detectaron diferencias en la distribución de las tallas durante los muestreos (H'=72; p<0,05; n=644). Las tallas menores de 1,15 cm presentaron altas abundancias durante todo el estudio, mientras que las tallas mayores de 2 cm no se encontraron en los muestreos 5 y 6 (figura 2). También se registraron diferencias en el número de individuos entre muestreos (H'=82,9; p<0,05; n=644). El número de individuos

recolectados en el segundo muestreo (inicio de abril) presentó diferencias significativas con respecto al registrado en los demás muestreos, en el cual las tallas menores de 1,1 cm se diferenciaron de las demás clases de tallas por tener la mayor abundancia.

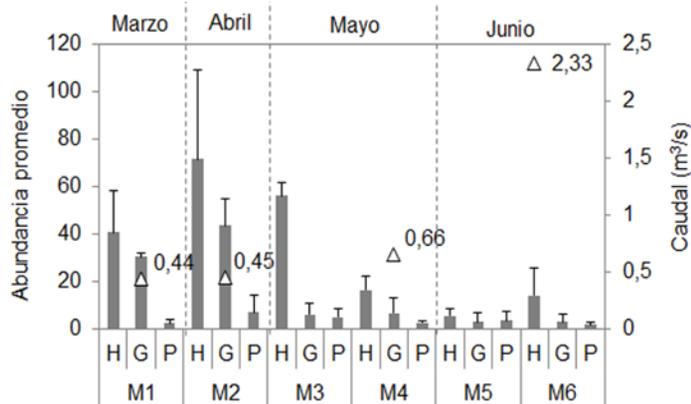


Figura 1. Abundancia promedio de *Anacroneria* en los microhábitats durante los muestreos y los caudales promedio mensuales. M: muestreo. H: hojarasca, G: grava, P: piedra.

La comparación del número de individuos entre las tallas evidenció diferencias significativas (H'=100,3; p<0,01; n=644), de tal forma que las tallas pequeñas e intermedias (0,1–0,5 y 0,6–1,0 cm) presentaron, en todos los muestreos, el mayor número de individuos, mientras que las tallas mayores (1,6–2,0 y 2,1–2,5 cm) presentaron menores abundancias. No se encontraron diferencias significativas en la distribución de las tallas entre los diferentes microhábitats (p>0,05), pero si en el número de individuos encontrados en cada microhábitat (H'=24,8; p<0,05, n=644), siendo la hojarasca el microhábitat con mayores abundancias, seguido de la grava y la piedra (figura 3).

Biomasa. Los organismos de tallas pequeñas (0,1–0,5 y 0,6–1,0 cm) registraron las densidades más altas (152,9 y 44,8 individuos/m² respectivamente), mientras que los individuos de tallas mayores (1,6–2,0 cm) registraron las menores densidades (1,10 individuos/m²). La biomasa presentó un patrón diferente a la densidad, debido a que los valores altos se registraron en los organismos con tallas intermedias (0,6–2,0 cm, promedio PSLC: 215,53 ± 4,67 mg/m²), en tanto que los valores bajos de biomasa coincidieron con los valores de densidades de los organismos con tallas grandes (2,1–2,5 cm, promedio PSLC: 48,90 ± 4,62 mg/m²) (tabla 1). La prueba de comparación de la biomasa promedio de las tallas reflejó diferencias entre las clases de tallas (p<0,001; GL=17; F=10,83); la comparación de rangos múltiples evidenció diferencias altamente significativas entre las tallas 0,5–1,0 y 1,5–2,0 cm y 1,5–2,0 cm y 1,5–2,0 cm (p<0,001), lo cual indica que, aunque las tallas intermedias fueron las que más contribuyeron a la biomasa del género, las clases de talla 1,0–1,5 y 1,5–2,0 fueron las de mayor valor.

Aunque en la figura 4 se observa que la biomasa del género de *Anacroneria* disminuyó durante los muestreos, pasando de

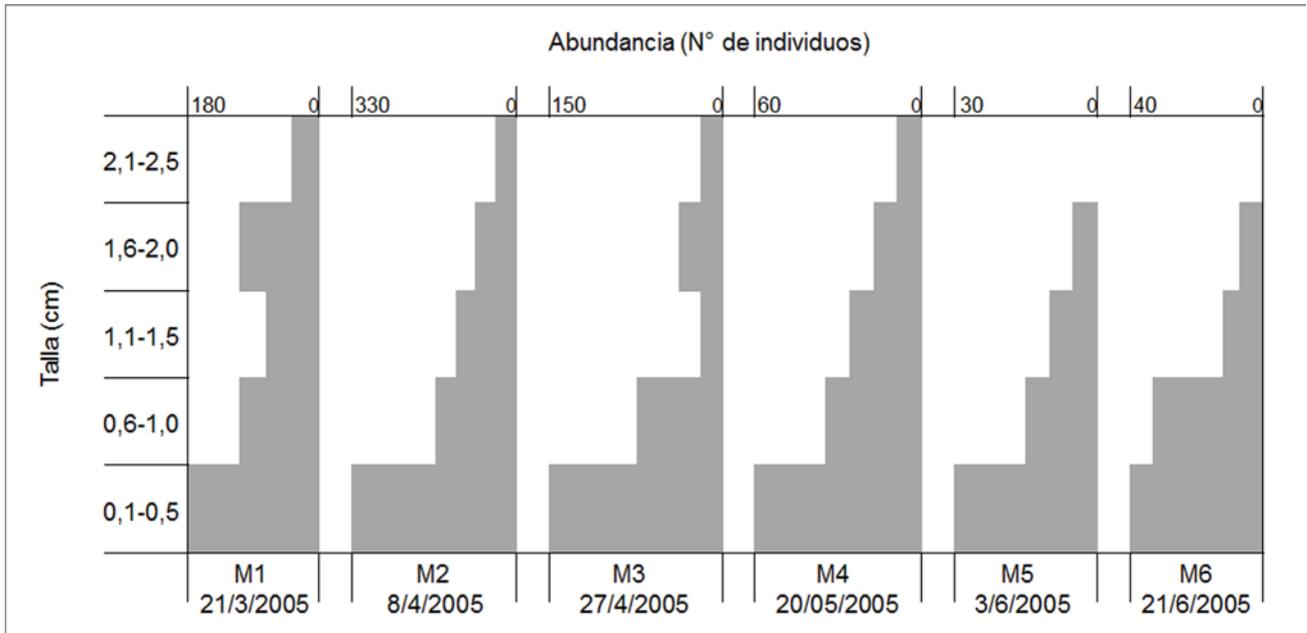


Figura 2. Frecuencia de distribución de las tallas del género *Anacroneuria* en los muestreos realizados entre marzo y junio de 2005 en la parte media del río Gaira.

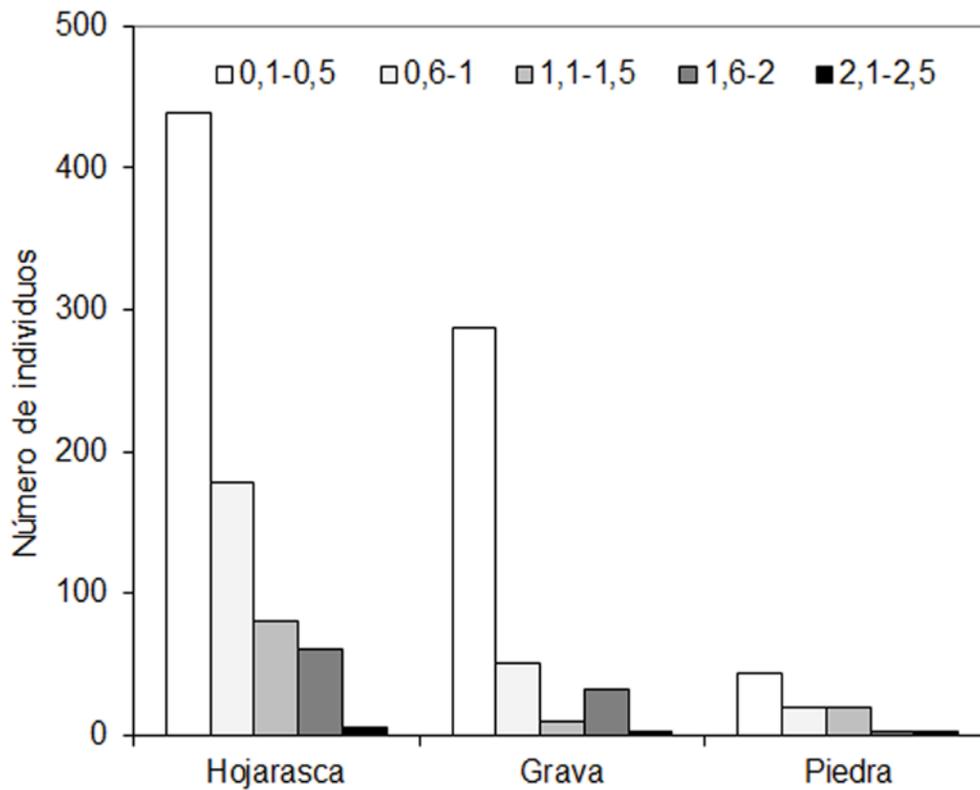


Figura 3. Abundancia de las clases de talla de *Anacroneuria* en los microhábitats hojarasca, grava y piedra.

Tabla 1. Abundancia, densidad, biomasa promedio del género *Anacroneturia* (en peso seco libre de ceniza: PSLC) y biomasa total (PSLC) según las clases de tallas. DE: desviación estándar.

Talla (cm)	Abundancia (n. ind.)	Densidad (ind/m ²)	Biomasa promedio (mg/m ²)	DE	Biomasa total (mg/m ²)
0,1-0,5	416	152,9	36,50	2,08	45,9
0,6-1,0	122	44,8	35,24	2,50	65,2
1,1-1,5	60	22,0	73,69	5,18	116,4
1,6-2,0	43	15,8	106,60	6,34	200,7
2,1-2,5	3	1,10	48,90	4,62	13,4

9,08 PSLC mg/m² en el primero a 0,10 PSLC mg/m² en el último, estos cambios no fueron significativos ($H'=9,48$; $p>0,05$; $GL=5$); la anterior tendencia se relacionó linealmente con el aumento de las precipitaciones en el sector ($p<0,01$; $GL=4$; $r^2=0,931$). Una relación similar se observó entre la biomasa y el caudal ($p<0,05$; $GL=4$; $r^2=0,737$), y entre la biomasa y la talla, pero en este último caso la relación no fue significativa ($p>0,05$; $GL=4$; $r^2=0,102$).

Hábitos alimentarios. En este análisis no se consideraron los organismos con tallas de 2,1 a 2,5 cm, debido a su baja abundancia y a que la mayoría de los estómagos se encontraron vacíos. Se observó que la dieta en las diferentes tallas fue variada y contenía todos los ítems alimentarios considerados en este trabajo, siendo los restos animales los más frecuentes (27,34%), mientras que los restos vegetales se presentaron en una menor frecuencia (10,79%) (tabla 2). La prueba de Chi-cuadrado evidenció independencia entre el contenido estomacal y las diferentes tallas ($p>0,05$; $GL=12$; $X^2=7,27$), lo cual sugiere que los ítems no están asociados con alguna categoría de talla en especial. Sin embargo, se destaca que la dieta de *Anacroneturia* incluyó restos animales entre los que dominaron simúlidos, quironómidos, partes esclerotizadas de efemerópteros y plecópteros, y en menor proporción, además de restos vegetales, hongos, microalgas y detritos.

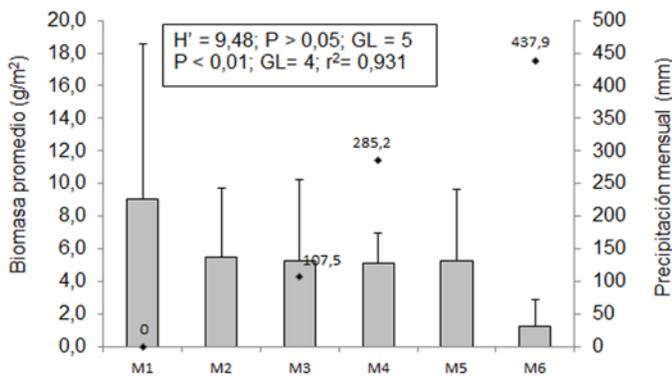


Figura 4. Biomasa promedio del género *Anacroneturia* en La Victoria y valores de precipitaciones mensual del corregimiento Minca. M: muestreo.

DISCUSIÓN

Frecuencia y distribución de tallas. Los cambios pluviométricos se relacionaron con cambios en la abundancia de los plecópteros. Durante los tres primeros muestreos (época seca e inicio de la época de lluvias) el número de individuos fue mayor. A partir del tercer muestreo se observó una disminución de la abundancia, coincidiendo con el inicio de las precipitaciones, las cuales provocaron cambios físicos en el lecho del río y la deriva de muchos organismos (Tamaris-Turizo et al. 2013, Wilcox et al. 2008). Durante los dos últimos muestreos (realizados en junio) se encontraron bajas abundancias. Sin embargo, como consecuencia de la estabilización de las precipitaciones y los niveles de caudal, no se observaron cambios importantes en el lecho durante las visitas a campo. Dichas relaciones entre las abundancias y las

Tabla 2. Frecuencia de aparición y porcentajes de los diferentes ítems alimentarios en cada una de las clases de tallas. RV: restos vegetales, RA: restos animales, H: hongos, M: microalgas, D: detritos.

Clases de tallas (cm)	RV (%)	RA (%)	H (%)	M (%)	D (%)	Clases de tallas (cm)
0,1-0,5	2	11	5	4	9	31
	1,44	7,91	3,60	2,88	6,47	22,30
0,6-1,0	3	8	3	8	8	30
	2,16	5,76	2,16	5,76	5,76	21,58
1,1-1,5	7	9	5	7	9	37
	5,04	6,46	3,60	5,04	6,47	26,62
1,6-2,0	3	10	7	11	10	41
	2,16	7,19	5,04	7,91	7,19	29,50
Total entre ítems (%)	15	38	20	30	36	139
	10,79	27,34	14,39	21,58	25,90	100

precipitaciones fueron registradas previamente en trabajos realizados en el trópico (Bispo et al. 2002, Bohórquez et al. 2011, Giacometti y Bersosa 2006, Rincón-H 1996, 2002, Tamaris-Turizo et al. 2007).

La abundancia alta de tallas pequeñas y la no diferencia en la distribución de las tallas durante todos los muestreos pueden ser evidencias de poblaciones que se encuentran en continuo crecimiento o que posiblemente no existe alternancia de generaciones entre las distintas especies. Sin embargo, esta información difiere de la registrada por Sweeney et al. (1995) en una especie semivoltina de Ephemeroptera, *Euthyplocia hecuba* (Hagen, 1861) de un río en Costa Rica y en trabajos realizados en zonas templadas donde la mayoría de las especies son univoltinas y evidencian

Sierra-Labastidas et al.

dominio una o dos clases de tallas temporalmente por cohortes claramente diferenciadas (Landot et al. 2001, Meyer y Poepperl 2003). Usualmente, en las zonas templadas, los organismos no se encuentra en el sistema acuático durante el invierno; luego, al inicio de la primavera, dominan tallas pequeñas que incrementan su tamaño a lo largo del ciclo anual hasta alcanzar las mayores tallas en el otoño, donde se evidencian importantes emergencias de ninfas a sus estados adultos, tal como lo registró O'hop et al. (1984) en Estados Unidos, K'rho (1997) en Eslovaquia, Benke et al. (2001) en el sureste de Estados Unidos y López-Rodríguez et al. (2009) en un río temporal de la Península Ibérica. Sin embargo, esta hipótesis debe ser comprobada con estudios poblacionales en ríos tropicales.

La mayor abundancia de individuos se encontró en el microhábitat hojarasca, similar a lo registrado en el río Guachaca (al norte de la SNSM) (Rueda et al. 2005), aunque difiere de lo encontrado en la parte alta del río Gaira (Tamaris-Turizo et al. 2007) y de los estudios realizados en el Valle, donde se observó preferencia por los sustratos hojarasca, piedra y grava respectivamente (Ballesteros 2004, Zúñiga y Cardona 2009). Merritt et al. (2008) sugieren que las ninfas de Plecoptera tienen especificidad por la temperatura del agua, tipo de sustrato y tipos de corrientes. Nuestros resultados difieren de las preferencias de sustrato observadas en el trópico. La preferencia por la hojarasca en este trabajo se debe posiblemente a que este sustrato ofrece disponibilidad de alimento pese a su poca estabilidad (están propensos a los arrastres por cambios en el caudal). Por su parte, el sustrato grava es más estable que las hojas, ofrece refugio y disponibilidad de alimento, en contraste con el sustrato piedra que generalmente presenta una biopelícula adecuada para la alimentación de los raspadores, pero es fácilmente lavada en las épocas de lluvias, debido a los aumentos de caudales, el arrastre de sedimentos y el aumento de la turbidez del agua.

Biomasa. La talla más pequeña (0,1–0,5 cm) presentó la densidad más alta, mientras que las tallas 2,1–2,5 cm fueron las menos abundantes. Aunque las tallas intermedias presentaron densidades bajas registraron los valores más altos de biomasa. La talla grande presentó un valor bajo de densidad y biomasa coincidiendo con lo reportado en especies de plecópteros del río Minnesota - Estados Unidos (Krueger y Cook 1984) y en efemerópteros de Estados Unidos (Taylor 2001). Ambos estudios coincidieron en que las tallas pequeñas e intermedias presentaron un aporte constante, debido a que se mantuvieron en continua renovación durante el periodo de estudio. Lo anterior evidencia que las especies del género pueden ser multivoltinas y sus ciclos de vida menores de un año. En este trabajo, el género *Anacroneuria* mantuvo cantidades importantes de biomasa e individuos disponibles durante los meses de marzo a mayo, fechas que, según observaciones de campo, corresponden a periodos de emergencia (transformación de ninfa a adulto).

Los valores de biomasa registrados en este trabajo son mayores que los registrados por Ramírez y Pringle (1998) en varios taxones de insectos acuáticos distintos a plecópteros en un río neotropical de Costa Rica. Las biomasa de *Anacroneuria* se asemejan a las

registradas por el género *Tricorythodes* (7,28 PSLC mg/m²) y a la familia Elmidae (7,18 PSLC mg/m²), pero son mucho menores que los observados en organismos de mayores tallas como la familia Corydalidae (1,19 PSLC mg/m²). Esto demuestra que el género *Anacroneuria* es un grupo de gran importancia para la disponibilidad de energía en los niveles tróficos superiores o inferiores (vía descomponedores) y que es probable que aporte más energía que organismos de tallas mayores.

En este estudio se observó una fuerte relación entre el aumento de las precipitaciones y los caudales con la disminución de la biomasa del género. Se puede considerar que el género *Anacroneuria* posee una alta tasa de crecimiento, evidenciado en el rápido incremento de la biomasa durante un periodo corto de tiempo. No obstante, estas dinámicas pueden ser variables según las condiciones ambientales e interacciones ecológicas, lo cual abriría el campo para el análisis de este aspecto desde otras perspectivas como la producción secundaria (Benke 1993). Desde el punto de vista trófico, esta biomasa disponible mantiene constante el suministro energético para depredadores de niveles tróficos superiores (Añón-Suárez y Albariño 2001), hecho que podría considerar a este grupo como fuente potencial de alimentación disponible entre marzo y junio.

Análisis de Contenido Estomacal. Los restos animales fueron el componente de mayor importancia en la dieta del género *Anacroneuria*, lo que confirma su comportamiento depredador de otros grupos de insectos, seguido por los detritos. Al parecer, la relación entre estos ítems puede ser explicada por el hecho que los restos animales o presas encontradas fueron en su mayoría larvas de simúlidos, quironómidos (recolectores, filtradores) y efemerópteros (recolectores o raspadores), importantes intermediarios en la conversión del material vegetal y de los detritos para la biomasa de los plecópteros y que dominan en estos sustratos (Siegfried y Knight 1976). Estos grupos de organismos tienen una alta abundancia en el microhábitat hojarasca, hecho posiblemente asociado con las altas densidades de plecópteros en dichos sustratos. En menor proporción se encontraron fragmentos de otros organismos del género *Anacroneuria*, sugiriendo el canibalismo referenciado por Tamaris-Turizo et al. (2007), lo cual debe ser confirmado a través de estudios específicos. En cuanto al detrito, se considera que este podría haber sido ingerido accidentalmente con la presa animal durante su actividad alimentaria (Riaño et al. 1997), y podría estar relacionado con el material consumido por la presa de manera incidental o puede ser el producto de restos de animales y vegetales ya procesados por plecópteros o sus presas. Aunque no se puede descartar la posibilidad que estos organismos cambien sus dietas de acuerdo con la disponibilidad de recursos en el medio y su capacidad de seleccionar algún recurso en particular.

Los contenidos estomacales mostraron ítems alimentarios, tal como se había registrado previamente para la familia Perlidae (Dorvillé y Froehlich 2001). Los cambios de las dietas podrían ocurrir durante el desarrollo, al parecer dependiendo de la estación o los cambios en la abundancia de la presa (Teslenko 1997), coincidiendo con lo encontrado en las ninfas de la parte alta (Tamaris-Turizo et al. 2007) y media del río Gaira (Guzmán-Soto y

Tamaris-Turizo 2014). Una de las limitantes de este trabajo fue que la preservación en alcohol puede producir que los insectos regurgiten. Sin embargo, durante todo el estudio menos de 20 individuos presentaron estómagos vacíos.

AGRADECIMIENTOS

A Miky Weber y Claudia Weber por facilitar las instalaciones cerca del sitio de estudio. A los evaluadores por las sugerencias realizadas. A Alonso Ramírez y Juan Fuentes por sus comentarios en el enfoque del documento. A Borish Cuadrado por su apoyo en las actividades de campo. Cesar E. Tamaris-Turizo fue beneficiario de una beca de COLCIENCIAS (Convocatoria 6172).

REFERENCIAS

- Añón-Suárez DA, Albariño RJ. 2001. Life cycle and annual production of *Caenis* sp. (Ephemeroptera, Caenidae) in lake Escondido (Bariloche, Argentina). En: Domínguez E, editor. Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera. Kluwer Academic/Plenium Publishers. p. 67-75.
- Ballesteros Y. 2004. Contribución al conocimiento del género *Anacroneturia* (Plecoptera: Perlidae) y su relación con la calidad del agua en el Río Riofrío (Valle del Cauca) [Tesis de Maestría]. [Cali/Colombia]: Facultad de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Universidad del Valle. p. 116.
- Benke AC. 1993. Concepts and patterns of invertebrate production running waters. Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie, 25 (1): 15-38.
- Benke AC, Wallace JB. 1980. Trophic bases of production among net-spinning caddisflies in a Southern Appalachian stream. Ecology, 61 (1): 108-118.
- Benke AC, Huryn AD. 2007. Secondary production of macroinvertebrates. En: Hauer FR, Lamberti GA, editores. Methods in stream ecology. Edición 2. Academy Press. San Diego. p. 691-710.
- Benke AC, Wallace JB, Harrison JW, Koebel JW. 2001. Food web quantification using secondary production analyses: predaceous invertebrates of the snag habitat in a subtropical river. Freshwater Biology, 46 (3): 329-346.
- Bergey AE. 2006. Measuring the surface roughness of stream stones. Hydrobiologia, 563 (1): 247-252. DOI: 10.1007/s10750-006-0016-4
- Bispo PC, Froehlich CG, Oliveira LG. 2002. Spatial distribution of Plecoptera nymphs in streams of a mountainous area of Central Brazil. Brazilian Journal of Biology, 62 (3): 409-417. DOI: 10.1590/S1519-69842002000300003
- Bohórquez H, Reinoso G, Guevara G. 2011. Seasonal size distribution of *Anacroneturia* (Plecoptera: Perlidae) in an Andean tropical river. Revista Colombiana de Entomología, 37 (2): 305-312.
- Breckling B, Müller F, Reuter H, Hölker F, Fränzle O. 2005. Emergent properties in individual-based ecological models—introducing case studies in an ecosystem research context. Ecological Modelling, 186: 376-388. DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2005.02.008
- Caraballo P, Forsberg BR, Leite RG. 2014. Seasonal variation in the distribution and isotopic composition of phytoplankton in an Amazon floodplain in lake, Brazil. Acta Biológica Colombiana, 19 (2): 291-304. DOI: 10.15446/abc.v19n2.39462
- Chará-Serna AM, Chará JD, Zúñiga MdelC, Pearson RG, Boyero L. 2012. Diets of leaf litter-associated invertebrates in three tropical streams. Annales de Limnologie - International Journal of Limnology, 48 (2): 139-144. DOI: 10.1051/limn/2012013
- Dorvillé LF, Froehlich CG. 2001. Description of the nymph of *Kempnyia tijucana* Dorvillé and Froehlich (Plecoptera, Perlidae), with notes on its development a biology. En: Domínguez E, editor. Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera. Kluwer Academic/Plenium Publishers. p. 385-392.
- Dunne JA, Williams RJ, Martinez ND. 2004. Network structure and robustness of marine food webs. Marine Ecology Progress Series [Internet]. 273:291-302. Fecha de acceso: 28 de julio de 2016. Disponible en: <http://www.int-res.com/articles/theme/m273_TS.pdf>. DOI: 10.3354/meps273291.
- Durbin J, Watson GS. 1951. Testing for serial correlation in least squares regression. Biometrika [Internet]. 38(1): 159-171. Fecha de acceso: 2 de septiembre de 2016. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/2332325?seq=1#page_scan_tab_contents>. DOI: 10.2307/2332325.
- Frayter V, Jiménez E, Pabón R, Valero O. 2000. Plan de manejo integral de la Cuenca Hidrográfica del Río Gaira [Tesis de Pregrado]. [Santa Marta/Colombia]: Facultad de Ingenierías y Empresariales, Universidad del Magdalena. p. 128.
- Giacometti J, Bersosa F. 2006. Macroinvertebrados acuáticos y su importancia como bioindicadores de la calidad del agua en el río Alambi. Boletín Técnico 6: 17-32.
- Grimaldo M. 2001. Inventario de macroinvertebrados asociados a las macrófitas en el río Gaira (Colombia) [Tesis de Pregrado]. [Santa Marta/Colombia]: Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Magdalena. p. 105.
- Gross J. 2013. Tests for Normality. R package versión 1.0-2. [Internet]. Fecha de acceso: 17 de enero de 2016. Disponible en: <<https://cran.r-project.org/web/packages/nortest/nortest.pdf>>
- Guisande C, Vaamonde A, Barrerero A. 2016. Estadística con R [Internet]. Vigo, España. Disponible en: <<http://www.ipez.es/RWizard/Documents/Manual%20RWizard%20v1.pdf>>.
- Guzmán-Soto CJ, Tamaris-Turizo CE. 2014. Hábitos alimentarios de individuos inmaduros de Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera en la parte media de un río tropical de montaña. Revista de Biología Tropical, 60 (Suppl. 2): 169-178.
- Gutiérrez-Fonseca PE, Springer M. 2011. Description of the final instar nymphs of seven species from *Anacroneturia* Klapálek (Plecoptera: Perlidae) in Costa Rica, and first record for an additional genus in Central America. Zootaxa, 2965:16-38
- Hothorn T, Zeileis A, Farebrother RW, Cummins C. [Internet]. 2013. Testing Linear Regression Models R package version 0.9-33. Disponible en: <<https://cran.r-project.org/web/packages/lmtest/lmtest.pdf>>

- K'rho I. 1997. Production and distribution of Stoneflies (Plecoptera) of Slovakia. En: Landolt PJ, Sartori M, editores. Trends in Research in Ephemeroptera y Plecoptera: Biology-Ecology-Systematics. Italy, Perugia. p. 99-204.
- Krueger ChC, Cook EF. 1984. Live cycles, drift and standing stock of some stoneflies (Insecta: Placoptera) from streams in Minnessota, U.S.A. *Hydrobiologia*, 83: 85-92.
- Landot P, Thüler J, Studemann D. 2001. Biomass of Ephemeroptera y Plecoptera in three swiss rivers. En: Domínguez E, editor. Trends in Research in Ephemeroptera and Plecoptera. Kluwer Academic/Plenum Publishers. p. 271-283.
- López-Rodríguez MJ, Tierno de Figueroa JM, Alba-Tercedor J. 2009. Life history, feeding and secondary production of two Nemouroidea species (Plecoptera, Insecta) in a temporary stream of the Southern Iberian Peninsula. *Archiv für Hydrobiologie*, 175 (2): 161-170. DOI: 10.1127/1863-9135/2009/0175-0161
- Merritt RW, Cummins KW, Berg MB, editores. 2008. An introduction to the aquatic insects of North America. 4th ed. Buduqe (IA, U. S. A.): Kendall/Hunt Pub. Co. p. 1158
- Meyer EI, Poepperl R. 2003. Secondary production of invertebrates in a Central European mountain stream (Steina, Black Forest, Germany). *Archiv für Hydrobiologie*, 158 (1): 25-42. DOI: 10.1127/0003-9136/2003/0158-0025
- Motta RL, Uieda VS. 2004. Diet and trophic groups of an aquatic insect community in a tropical stream. *Brazilian Journal of Biology*, 64 (4): 809-817. DOI: 10.1590/S1519-69842004000500010.
- O'hop J, Wallace JB, Haefner JD. 1984. Production of a stream shredder, *Pletoptera maria* (Plecoptera: Pletoptera) in disturbed and undisturbed hardwood catchments, *Freshwater Biology*, 14 (1): 13-21.
- Ramírez A, Pringle CM. 1998. Structure and production of a benthic insect assemblage in a neotropical stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 17 (4): 443-463.
- R - Development Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Viena, Austria. Disponible en: <<http://www.R-project.org/>>.
- Riaño P, Basagueren A, Pozo J. 1997. The life history and food habits of *Sophonoperla torrentium* (Plecoptera: Chloroperlidae) in Northern Spain. En: Landolt P, Sartori M, editores. Trends in Research in Ephemeroptera y Plecoptera: Biology-Ecology-Systematics. Italy, Perugia. p. 79-82.
- Rincón-H ME. 1996. Aspectos bioecológicos de los tricópteros de la Quebrada Carrizal (Boyacá, Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*, 22 (1): 53-60.
- Rincón-H, M.E. 2002. Comunidad de insectos acuáticos de la quebrada Mamarramos (Boyacá, Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*, 28 (1): 101-108.
- Roldán G. 1998. Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del departamento de Antioquia. Universidad de Antioquia Editorial. Presencia Ltda., Santa Fe de Bogotá, Fondo FEN-Colombia. Colciencias. p. 198.
- Roldán G, Ramírez JJ. 2008. Fundamentos de Limnología Neotropical. 2da edición. Medellín (Colombia): Editorial Universidad de Antioquia, Universidad Católica de Oriente y Academia Colombiana de Ciencias-ACCEFYN. p. 421.
- Roldán G, Zúñiga MdelC, Zamora H, Reinoso G, Álvarez LF, Longo M. 2014. Colombia. En: Alonso-Eguía L, Mora J.M, Campbell B, Springer M, editores. Diversidad, conservación y uso de los macroinvertebrados dulceacuícolas de México, Centroamérica, Colombia, Cuba y Puerto Rico. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua y Universidad Autónoma de Querétaro (México) y Universidad de Costa Rica (San José-Costa Rica). p. 63-116.
- Rueda-Delgado G, Cotes G, Carbonó E, López W, Cantillo M, Serna D, Tamaris-Turizo C.E. 2005. Lineamientos de un programa de aseguramiento de la oferta hídrica del río Gaira a partir de la integralidad biológica de la cuenca, Serranía San Lorenzo, Colombia (Magdalena). Santa Marta: DADMA, Universidad del Magdalena, Convenio interadministrativo.
- Shieh S-H, Ward JV, Kondratieff BC. 2003. Longitudinal changes in macroinvertebrate production in a stream affected by urban and agricultural activities. *Archiv für Hydrobiologie*, 157 (4): 483-503. DOI: 10.1127/0003-9136/2003/0157-0483
- Siegfried CA, Knight AW. 1976. Trophic relations of *Acroneuria* (Calineuria) *Californica* (Plecoptera: Perlidae) in a Sierra Foothill Stream. *Environmental Entomology*, 5 (3): 575-581.
- Stewart KW, Stark BP. 2002. Nymphs of North American Stonefly Genera (Plecoptera). 2a ed. The Caddis Press. Columbus, Ohio. p. 476.
- Sweeney BW, Jackson JK, Funk DH. 1995. Semivoltinism, seasonal emergence, and adult size variation in a tropical stream mayfly (*Euthyplocia hecuba*). *Journal of the North American Benthological Society*, 14 (1): 131-146. DOI: 10.2307/1467729
- Tamaris-Turizo CE, López-Salgado HJ. 2006. Aproximación a la zonificación climática de la cuenca del río Gaira. *Intropica*, 3 (1): 52-59. DOI: 10.21676/23897864.128
- Tamaris-Turizo CE, Turizo R, Zúñiga MdelC. 2007. Distribución espacio-temporal y hábitos alimentarios de ninfas de *Anacroneuria* (Insecta: Plecoptera: Perlidae) en el río Gaira (Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia). *Caldasia*, 29 (2): 375-385. DOI: 10.15446/caldasia
- Tamaris-Turizo CE, Rodríguez-Barrios J, Ospina-Torres R. 2013. Deriva de macroinvertebrados acuáticos a lo largo del río Gaira, vertiente noroccidental de la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Caldasia*, 35 (1): 149-163. DOI: 10.15446/caldasia
- Taylor JM. 2001. Life history and secondary production of *Caenis latipennis* (Ephemeroptera: Caenidae) in honey creek, Oklahoma [Thesis Master of Science]. [Texas/USA]: Department of science, University of North. p. 89.
- Teslenko VA. 1997. Feeding habits of the predaceous stoneflies in a salmon stream of the Russian Far East. En: Landolt P, Sartori M, editores. Ephemeroptera y Plecoptera: Biology-Ecology-Systematics. Italy, Perugia. p. 73-78.
- Tomanova S, Goitia E, Helesic J. 2006. Trophic levels and functional feeding groups of macroinvertebrates in Neotropical streams. *Hydrobiologia*, 556 (1): 251-264. DOI: 10.1007

s10750-005-1255-5

- Vander-Zanden MJ, Chandra S, Park S-K, Vadeboncoeur Y, Goldman CR. 2006. Efficiencies of benthic and pelagic trophic pathways in a subalpine lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63 (12): 2608-2620. DOI: 10.1139/f06-148
- Waters TF. 1979. Influence of benthos life history upon the estimation of secondary production. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 36 (12):1425-1430. DOI: 10.1139/f79-208
- Wilcox AC, Peckarsky BL, Taylor BW, Encalada AC. 2008. Hydraulic and geomorphic effect on mayfly drift in high gradient streams at moderate discharges. *Ecohydrology*, 1 (2): 176-186. DOI: 10.1002/eco.16
- Zúñiga MdelC. 2010. Diversidad, distribución y ecología del orden Plecoptera (Insecta) en Colombia, con énfasis en *Anacroneuria* (Perlidae). *Momentos de Ciencias*, 7 (2): 101-112.
- Zúñiga MdelC., Stark BP, Cardona C, Tamaris-Turizo CE, Ortega OE. 2007. Additions to the Colombian *Anacroneuria* fauna (Plecoptera: Perlidae) with descriptions of seven new species. *Illiesia* 3 (13):127-149.
- Zúñiga MdelC, Cardona W. 2009. Bioindicadores de calidad de agua y caudal ambiental. En: Cantera-Kintz JR, Carvajal-Escobar Y, Castro-Heredia ML. (Compiladores). *Caudal ambiental: conceptos, experiencias y desafíos*. Programa Editorial Universidad del Valle, Colección Libros de Investigación. Santiago de Cali, Colombia. p. 167-198.

Estado del conocimiento de los macroinvertebrados acuáticos de la isla La Española

State of knowledge of aquatic macroinvertebrates of Hispaniola island

Ruth H. Bastardo^{1,2}, América Sánchez-Rosario^{1,3}

Resumen

La Española es la isla de mayor riqueza hidrológica de las Antillas Mayores y segunda en tamaño luego de Cuba. Dos naciones la ocupan, República Dominicana y Haití. En este trabajo se presenta el estado del conocimiento de los macroinvertebrados acuáticos de la isla La Española, resultando la primera lista de familias que unifica información dispersa y sirve de referente para futuros trabajos sobre la biota dulceacuícola. La metodología empleada incluyó la revisión de literatura y la inspección de aproximadamente 4.300 ejemplares de una colección de referencia. Los resultados muestran una rica biota compuesta por 107 familias de macroinvertebrados acuáticos, con los insectos como mayor componente (69 familias, 64,5% de los especímenes de la colección o 86,2% si se calcula con base en las 80 familias de insectos registradas para las Antillas Mayores), seguidos por los crustáceos (27) y los moluscos (11). Hay poca información sobre anélidos y platelminetos. Los órdenes de insectos con mayor riqueza de familias fueron Diptera (17), Coleoptera (15) y Trichoptera (12). El orden Megaloptera no está registrado para la isla y Plecoptera solo se conoce del registro fósil. Con base en el conocimiento de expertos se adicionaron Xiphocarididae (Decapoda), Hydrochidae (Coleoptera) y Blephariceridae (Diptera) y se sustituyó Tricorythidae por Leptohiphidae (Ephemeroptera). Se sugiere: a) mejorar las colecciones de referencia y su accesibilidad, b) realizar estudios taxonómicos enfatizando los grupos menos conocidos, c) realizar inventarios faunísticos, d) incorporar los macroinvertebrados en los programas de bioindicación y e) la formación de especialistas a nivel local.

Palabras clave: Antillas Mayores, República Dominicana, Haití, insectos, moluscos, crustáceos, colecciones biológicas

Abstract

Hispaniola is the island of greatest hydrological wealth in the Greater Antilles and is second in size (77,914 km²) after Cuba (104,556 km²). Two nations occupy this island, the Dominican Republic and Haiti. This paper presents the state of knowledge of the aquatic macroinvertebrates of Hispaniola, resulting in the first list of Families, unifying dispersed information, and may constitute a reference for future work on this freshwater biota. The methodology was based on a literature review and the inspection of ca. 4300 specimens in a reference collection. The results show a rich biota composed of 107 Families of aquatic macroinvertebrates, with insects being the major component (69 families, 64.5% of collection specimens, or 86.2% if calculated based upon the 80 insect families registered for the Greater Antilles), followed by crustaceans (27) and molluscs (11). There is little information available on annelids and flatworms. The Orders of insects with greatest richness of Families were Diptera (17), Coleoptera (15) and Trichoptera (12). The Order Megaloptera is not reported for the island and Plecoptera is only known from a fossil record. The following additions were made based upon expert knowledge: Xiphocarididae (Decapoda), Hydrochidae (Coleoptera) and Blephariceridae (Diptera), and Tricorythidae was replaced by Leptohiphidae (Ephemeroptera). It is suggested to: a) improve reference collections and their accessibility, b) conduct taxonomic studies emphasizing poorly known groups, c) undertake more surveys, d) incorporate macroinvertebrates into bioindicator programs, and e) training of specialists at the local level.

Key words: Greater Antilles, Dominican Republic, Haiti, insects, mollusks, crustaceans, biological collections, oceanic island

INTRODUCCIÓN

La Española, con una extensión de 77.914 km², es la segunda isla en tamaño de las Antillas Mayores (De la Fuente 1976), luego de la isla de Cuba (104.556 km²) (Oficina Nacional de Estadísticas e Información, República de Cuba, 2010). El territorio de la isla está ocupado por dos naciones, República Dominicana, en la parte oriental de la isla y Haití, en la parte occidental (figura 1). La riqueza hídrica de la isla es extraordinaria, con alrededor de 4.200 cuerpos de agua superficiales, cuyas cuencas principales (Yaque del Norte, Yaque del Sur, Nizao, Yuna y Artibonito) se localizan en el lado dominicano (De la Fuente 1976). Estos recursos exhiben un deterioro progresivo evidenciado en

la reducción de caudal y de la cobertura boscosa ribereña; la agricultura, la ganadería y el urbanismo se consideran los causantes principales. Eventos recientes de sequías, debidos al fenómeno atmosférico de El Niño y de crecientes relacionadas con La Niña, han colapsado algunos ecosistemas como la Laguna de Cabral, el Lago Enriquillo y zonas del interior de la República Dominicana y de Haití (este último asolado por el huracán Matthew en octubre de 2016). Concomitante con esta situación de crisis ambiental, en ambos países, no se encuentra documentación disponible sobre la flora y fauna asociadas con los cuerpos de agua, incluyendo los macroinvertebrados acuáticos y su uso, fuera del ámbito académico, de modo que pueda incorporarse en políticas públicas de protección de la biodiversidad es,

Recibido: noviembre 2016; aceptado: noviembre 2017.

¹. Instituto de Investigaciones Botánicas y Zoológicas Prof. Rafael M. Moscoso, Universidad Autónoma de Santo Domingo, Santo Domingo, D. N., Código Postal 10105, República Dominicana.

Correos electrónicos: ². <rbastardo40@uasd.edu.do*>; ³. <america.sanchez@hotmail.com>

prácticamente nulo. El Quinto Informe Nacional de Biodiversidad, que es el documento oficial más reciente sobre el estado de conservación de los recursos naturales de la República Dominicana (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales 2014) no contiene ninguna mención relativa a los macroinvertebrados acuáticos o a la biota de agua dulce del país.

En los últimos años se ha producido, en América Latina, un progreso importante en el estudio de los macroinvertebrados acuáticos. En el 2010 se conformó la Red temática sobre Macroinvertebrados Dulceacuícolas Mesoamericanos (Red MAD-MESO), culminando con la publicación más completa, hasta el momento, que retrata el estado del conocimiento de los macroinvertebrados en México, Centroamérica, Colombia, Cuba y Puerto Rico (Alonso-Eguía Lis et al. 2014). A pesar de su extensión (más de 400 páginas), se evidencia la ausencia de la República Dominicana y Haití en esta línea de trabajo. Sin embargo, tanto Cuba como Puerto Rico presentaron, durante las dos últimas décadas, un progreso notable en cuanto al estado de conocimiento del grupo (Naranjo-López et al. 2014 y Ramírez y Gutiérrez-Fonseca 2014).

El conocimiento sobre la biota asociada con los cuerpos de agua dulce de la isla La Española está disperso. El progreso en el estudio de esta macrofauna bentónica ha sido desigual, en ambos países, en cuanto a la taxonomía. La mayoría de los registros de especies y familias fueron recopilados por Perez-Gelabert (2008) en el catálogo general de artrópodos de La Española. Este y otros estudios informan que: 1) se registra una elevada riqueza

dos con la identidad de especies enigmáticas de odonatos han comenzado a tratarse con rigor (Torres-Cambas et al. 2015) encontrando que algunas especies endémicas son valiosas para los estudios de conservación (Torres-Cambas et al. 2016). Otros grupos han recibido mucha menos atención, como el orden Ephemeroptera, del cual Perez-Gelabert (2008) citó seis especies, mientras que Cuba cuenta con unos 35 registros (González-Lazo et al. 2008). Gómez et al. (1986) documentaron, para la República Dominicana, una fauna de moluscos acuáticos (gastropodos y bivalvos) de 28 especies; para Cuba, este número se duplica (42) (Vázquez-Perera y Perera-Valderrama 2010).

Las investigaciones donde se plantea un abordaje ecológico que integre los aspectos estructurales y funcionales de los ecosistemas acuáticos de la isla son muy escasas (Soldner et al. 2004). Su uso en el monitoreo de la calidad biológica del agua ha sido solo circunstancial en evaluaciones ambientales y sin datos publicados. No obstante, se ha avanzado en la formación de capital humano y el incremento en las colecciones resultantes ha permitido mejorar el conocimiento de los macroinvertebrados acuáticos en cuanto a la distribución, representatividad y abundancia de las familias. Una tesis de licenciatura derivada de esta experiencia es la de Almonte-Espinosa (2012), en la cual se caracterizó la diversidad de macroinvertebrados de los cuerpos de agua asociados con la cigüita de río (*Parkesia motacilla* Vieillot, 1809; Aves: Passeriformes: Parulidae). Sin embargo, algunas iniciativas privadas y gubernamentales en la República Dominicana no han logrado el establecimiento de sistemas de monitoreo de la calidad del agua usando macroinvertebrados acuáticos debido a la falta tanto de taxónomos como de literatura que aglutine la información de varios grupos y permita su fácil disponibilidad.

El Instituto de Investigaciones Botánicas y Zoológicas (IIBZ) "Prof. Rafael M. Moscoso" de la Universidad Autónoma de Santo Domingo desarrolla, como nueva línea de investigación, el estudio de los macroinvertebrados acuáticos de la República Dominicana y en la medida de lo posible los de Haití. Se trabaja en la catalogación y digitalización de la colección del Instituto. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue proveer la primera lista de familias de macroinvertebrados acuáticos de La Española a partir de la revisión de literatura y de especímenes de la colección del IIBZ, con la intención de unificar la información dispersa que actualmente existe sobre el grupo. Es claro que el estudio de los especímenes por taxónomos especializados incrementaría el número de familias y de especies detectadas para la fauna de La Española (Perez-Gelabert y BURGUEZ FLORIANO 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se basó en la revisión bibliográfica sobre moluscos acuáticos (Gómez et al. 1986), crustáceos (Perez-Gelabert 2008, WoRMS Editorial Board 2016) e insectos (Almonte-Espinosa 2012, Perez-Gelabert 2008, Soldner et al. 2004, Stark y Lentz 1992). Además, se examinó material depositado en la colección de macroinvertebrados acuáticos del Instituto de Investigaciones Botánicas y Zoológicas (IIBZ) de la Universidad Autónoma de Santo Domingo.



Figura 1. Mapa de la isla La Española (República Dominicana y Haití), Antillas Mayores, Región del Caribe.

de insectos comparado con otras islas (Perez-Gelabert 2008), 2) la taxonomía y distribución de los órdenes Trichoptera (Flint y Perez-Gelabert 1999) y Odonata (Flint et al. 2006, Torres-Cambas et al. 2015) han sido bien estudiadas, y 3) aspectos relaciona-

La colección de macroinvertebrados acuáticos del IIBZ es la más grande y organizada disponible actualmente en la isla y contiene en depósito unos 4.300 ejemplares pertenecientes principalmente a Insecta. Los especímenes de esta colección tienen su origen en esfuerzos personales de recolecta y en algunas iniciativas de investigación no sistematizadas, fundamentalmente, evaluaciones ambientales. Las regiones representadas en la colección incluyen nacimientos de ríos de importancia en el Parque Nacional Valle Nuevo (Yuna, Blanco y Yaque del Sur), el Parque Nacional Francisco Alberto Caamaño, la Reserva Científica Loma Quita Espuela y la Sierra de Bahoruco (Pedernales y Mulito), todos en República Dominicana, y la Reserva de la Biosfera Pic Macaya, en Haití. La colección aún no está catalogada y cerca de un 60% de los especímenes permanecen en lotes sin separar, únicamente con los datos de recolección. Se espera en un futuro cercano iniciar la incorporación de la información en una base de datos disponible para el público.

RESULTADOS

La Española cuenta con una rica fauna de macroinvertebrados acuáticos integrada por 107 familias de moluscos, crustáceos e insectos. El grupo con mayor riqueza de familias fue el de los insectos, con 69 registros en siete órdenes (64,5%) (tabla 1), de los cuales el 81,2% (55) tienen ejemplares depositados en la colección.

Los órdenes de insectos con mayor riqueza fueron Diptera (18), Coleoptera (16) y Trichoptera (12). Las ocho familias de odonatos documentadas para la isla están presentes en la colección y, junto con los tricópteros, tienen una buena representación incluyendo ejemplares identificados por el Dr. Oliver Flint del Instituto Smithsonian en Washington.

Los crustáceos fueron el segundo grupo en cuanto a riqueza de familias registradas, con 26 familias distribuidas en 13 órdenes. En esta lista se incluyó una importante fauna de cuevas, básicamente a partir de la literatura. Los moluscos de agua dulce ocuparon el tercer lugar en cuanto al número de familias, representadas en las clases Gastropoda y Bivalvia; la clase Gastropoda incluyó ocho familias y Bivalvia tres.

Aunque se han visto planarias en algunos arroyos del Parque Nacional Valle Nuevo, los pocos especímenes recolectados y almacenados en la colección no se preservaron adecuadamente por lo que es necesario recolectar material para poder hacer el trabajo taxonómico correspondiente. Los anélidos solo incluyeron algunos pocos especímenes de sanguijuelas. Se conoce que las sanguijuelas son frecuentes en las zonas arroceras del centro y el norte de la República Dominicana y se han visto también en la Laguna de Cabral en el suroeste del mismo país. Para la discusión tanto platelmintos como anélidos se excluyeron de la tabla 1.

Tabla 1. Lista de familias de macroinvertebrados acuáticos de la isla La Española. Las familias marcadas con asterisco se registran a partir de la literatura.

<p>MOLLUSCA GASTROPODA Ampullariidae Hydrobiidae Lymnaeidae Neritidae* Physidae Planorbidae Pleuroceridae* Thiaridae</p>	<p>Daphniidae* Macrothricidae* Moinidae*</p> <p>Nectipoda Speleonectidae*</p> <p>Calanoida Diaptomidae*</p> <p>Cyclopoida Cyclopidae*</p> <p>Podocopida Cyprididae* Enthocytheridae*</p> <p>Myodocopida Sarsiellidae*</p> <p>Thermosbaenacea Monodellidae*</p> <p>Amphipoda Bogidiellidae* Hadziidae* Crangoweckeliidae* Lysianassidae* Metacrangonyctidae* Talitridae*</p>	<p>Isopoda Anthuridae</p> <p>Decapoda Atyidae Cambaridae Palaemonidae Pseudothelphusidae Xiphocarididae*</p> <p>INSECTA Coleoptera Amphizoide Dryopidae* Dytiscidae Elmidae Gyrinidae Haliplidae Heteroceridae Hydraenidae* Hydrochidae* Hydrophilidae Limnichidae* Lutrochidae* Noteridae* Psephenidae Sciirtidae Staphylinidae</p>	<p>Diptera Blephariceridae* Ceratopogonidae Chironomidae Corethrellidae* Culicidae Dixidae Dolichopodidae Empididae Ephydriidae Muscidae Psychodidae Sciomyzidae* Simuliidae Stratiomyidae Syrphidae Tabanidae Thaumaleidae* Tipulidae</p> <p>Ephemeroptera Baetidae Caenidae Leptohyphidae Leptophlebiidae</p> <p>Hemiptera Belostomatidae</p>	<p>Corixidae Gerridae Hydrometridae Mesovelidae* Naucoridae Notonectidae Pleidae Saldidae Veliidae</p> <p>Lepidoptera Crambidae</p> <p>Odonata Aeshnidae Coenagrionidae Gomphidae Hypolestidae Libellulidae Lestidae Protoneuridae Synlestidae</p> <p>Trichoptera Calamoceratidae Ecnomidae* Glossosomatidae* Helicopsychidae Hydrobiosidae</p>	<p>Hydropsychidae Hydroptilidae Leptoceridae Odontoceridae Philopotamidae Polycentropodidae Xiphocentronidae</p>
---	--	--	--	--	--

DISCUSIÓN

La fauna de insectos acuáticos de las Antillas Mayores está compuesta por 80 familias distribuidas en siete órdenes (Gutiérrez-Fonseca et al. 2013, Hyslop y Hunte-Brown 2012, Muñoz-Riveaux et al. 2003, Naranjo-López et al. 2010, Perez-Gelabert 2008). Gutiérrez-Fonseca et al. (2013) citaron 63 familias para La Española a las cuales se agregaron seis familias luego de la revisión de la colección y la literatura, con lo que aumentó el número a 69 (86,2%). Esto se traduce en una buena representación de la riqueza acuática del Caribe en la isla. Se agregó la familia de escarabajos Hydrochidae (Coleoptera) a partir de la cita que hace Perez-Gelabert (2008) de la especie *Hydrochus pallipes* Chevrolat, 1863 en la familia Hydrophilidae, de la cual se excluye actualmente. La familia de dípteros Blephariceridae se tomó del trabajo de tesis de Almonte-Espinosa (2012), con registros en ríos de la Cordillera Septentrional de la República Dominicana. La familia de efemerópteros Leptohiphidae sustituye a la familia Tricorythidae citada por Perez-Gelabert (2008) con la especie *Leptohiphes rolstoni* (Allen, 1973); además, también se verificó con la revisión de especímenes de la colección. Se excluyeron de la lista los escarabajos de las familias Carabidae y Lampyridae, que tienen un elevado número de especies terrestres, hasta tanto se verifique la existencia de especímenes recolectados en ambientes acuáticos. El orden Megaloptera no está registrado para la fauna de la isla y el orden Plecoptera solo se conoce a partir de un registro fósil en ámbar (Stark y Lentz 1992).

En el caso de los insectos, dado el nivel de avance en investigación que muestran Cuba (Naranjo-López et al. 2014) y Puerto Rico (Ramírez y Gutiérrez-Fonseca 2014), se evidenció la falta de información para La Española. Es fundamental ampliar los esfuerzos de recolecta e incrementar el número de especialistas locales, históricamente deficiente. Por ejemplo, las familias de escarabajos Scirtidae y Amphizoidae no estaban registradas oficialmente para La Española (Perez-Gelabert 2008) pero se han encontrado con cierta frecuencia especímenes en diversas localidades del Parque Nacional Valle Nuevo, en ríos de la Cordillera Septentrional (Almonte-Espinosa 2012) y nuevas especies se agregaron a la fauna de la isla con trabajos taxonómicos recientes (Deler-Hernández et al. 2014, Perez-Gelabert y Burguez-Floriano 2016, Torres-Cambas et al. 2015). La situación de Ephemeroptera es la más notoria por el nulo incremento en cuanto al estudio de sus especies desde los trabajos de Allen (1973), Banks (1924) y Peters (1971), quienes describieron las únicas tres especies que se conocen actualmente de la isla. La familia Baetidae, aunque no incorporada formalmente a la fauna actual de la isla (Almonte-Espinosa 2012, Soldner et al. 2004 y ejemplares de la colección), ha mostrado ser un componente importante de las comunidades acuáticas muestreadas. Igual sucede con la familia Leptohiphidae, citada por Almonte-Espinosa (2012) y Soldner et al. (2004) como Tricorythidae. La familia Euthyplociidae es el único elemento exclusivo de la fauna de efemerópteros de Cuba que no está presente en La Española (Muñoz-Riveaux et al. 2003).

Considerando que la distribución de Euthyplociidae se sitúa en la región oriental de Cuba (Naranjo y Teruel 2001) y que la distancia

que separa ambas islas es pequeña (unos 72 km) (Graham 2003) y con historia geológica común, cabe la posibilidad que exploraciones en los ríos del noroeste de Haití resulten en el hallazgo de esta familia para la isla La Española.

El orden Trichoptera es uno de los mejores estudiados de la fauna del Caribe. Las islas de las Antillas Mayores comparten números muy similares de familias de tricópteros, y el endemismo elevado es una de sus características más importantes. De 109 especies actuales que Flint y Sykora (2004) registraron para La Española, 87 son endémicas (80%). Ellos consideraron el aparente bajo número de especies compartidas de tricópteros entre Cuba y La Española como el resultado de la fauna pobremente conocida en Cuba, especialmente en la región de Oriente; no obstante, González-Lazo et al. (2008) y Naranjo-López y González-Lazo (2005) demostraron que los efemerópteros y tricópteros compartían un patrón de distribución geográfica similar con mayor endemismo y representatividad en la región oriental de Cuba.

Uno de los aspectos pendientes en el estudio de los tricópteros de La Española es completar los inventarios de tricópteros en las montañas de Haití, como sugirieron Flint y Sikora (2004), quienes esperaban un incremento entre 20 y 50 especies más para la isla. Los trabajos futuros deberán encaminarse a esclarecer las relaciones biogeográficas entre la fauna de macroinvertebrados acuáticos de las islas del Caribe. Dichas islas exhiben una historia geológica compleja, en donde las Antillas Mayores se originaron como un arco de islas volcánicas sumergidas en la actual región del Istmo de Panamá durante el Cretácico Inferior (~ 130 millones de años) (Graham 2003). Las conexiones que se plantea que existieron entre la parte oeste y norte de La Española con el este de Cuba pudieran encontrar apoyo una vez se conozca la fauna de esta región. Lamentablemente, los trabajos cubanos sobre tricópteros arriba citados, aunque cercanos en el tiempo no exploraron las posibles conexiones de la fauna entre ambas islas.

El orden de los dípteros tiene una alta riqueza de familias, similar a Puerto Rico (Gutiérrez-Fonseca et al. 2013). No ocurrió lo mismo para los hemípteros ya que Cuba tiene 15 familias (Naranjo-López et al. 2010) de chinches acuáticas y semiacuáticas (se excluye Hermatobatidae por estar asociados a ambientes marinos). Crambidae, la única familia de lepidópteros con especies acuáticas, está representada en todas las islas de las Antillas Mayores, por lo que más esfuerzos de muestreo redundarán en un mejor conocimiento de su distribución y probablemente en nuevas especies para La Española.

Sobre moluscos de agua dulce de la isla no han ocurrido actualizaciones del trabajo de Gómez et al. (1986). Sin embargo, luego de 30 años de esa publicación surgieron cambios en la taxonomía de algunas especies nativas (Núñez 2011).

La fauna de crustáceos de agua dulce incluye especies asociadas con cuevas, ríos y bajo cultivo. Para fines comparativos no se incluyeron las especies de cuevas. El panorama general evidenció familias comunes entre las islas de las Antillas Mayores. Como en otros grupos, quedan por realizar inventarios exhaustivos que

permitan un conocimiento más fino de las especies de la isla. Se incluyó la familia de decápodos Xiphocarididae a partir del registro de Perez-Gelabert (2008) de la especie *Xiphocaris elongata* (Guérin-Méneville, 1855).

Pocas especies de insectos tienen algún nivel de protección legal. Solo algunos odonatos se encuentran en la lista de especies amenazadas de la UICN o sugeridos para su protección (Torres-Cambas et al. 2016, von Ellenrieder y Paulson 2006). Solo una especie de crustáceos es citada como amenazada por la presión de recolecta para su comercialización (*Epilobocera haytensis* Rathbun, 1893) (Cumberlidge 2008). Se han incluido en la Lista Roja de la UICN unas 11 especies de moluscos, la mayoría bajo la categoría de "preocupación menor" (LC, por sus siglas en inglés). Se citan como razones de inclusión en la lista de la UICN la introducción de especies exóticas (p. ej., moluscos y peces depredadores), la eutrofización de lagos, la urbanización, la alteración del régimen hidrológico, la degradación del hábitat (Pastorino y Darrigan 2011) y la contaminación del agua (Madhyastha y Dutta 2012). Básicamente, para los moluscos se requieren nuevos inventarios con la consecuente creación de una colección especializada y la evaluación del estado de sus poblaciones.

En términos generales, aunque no se están realizando estudios puntuales sobre el estado de conservación de los macroinvertebrados de la isla, excepto el presentado para odonatos (Torres-Cambas et al. 2016), existe un marco regulatorio que los ampara indirectamente a través de un sistema de áreas protegidas en la República Dominicana (Ley 64-00) y varias áreas protegidas en Haití. La República Dominicana tiene un sistema nacional de áreas protegidas bastante organizado y cuenta con unas 123 unidades de protección en diferentes categorías que cubren alrededor del 25% del territorio dominicano. Estas áreas incluyen los nacimientos de los ríos más importantes de país, así como lagos, lagunas y humedales bajo protección internacional (sitios Ramsar). Aunque Haití todavía no cuenta con un sistema nacional de áreas protegidas organizado, el Gobierno reconoce unas 36 áreas protegidas que cubren el 6% del territorio haitiano (Posner et al. 2010), sin embargo, la protección efectiva se estima, apenas, en un 0,5%. Si bien, ambos países poseen la mayor riqueza hidrológica del Caribe, están bajo la presión que impone un consumo cada vez mayor por la agricultura y la industria (Heartsill-Scalley 2012, Sangermano et al. 2015).

En conclusión, la fauna de macroinvertebrados acuáticos recolectados hasta el momento en la isla La Española se perfila como la más rica de las Antillas Mayores. Esta aseveración parte del análisis, todavía preliminar, de solo una de las dos colecciones de referencia de la República Dominicana y de la revisión de la literatura. Mucho trabajo resta por hacer en los dos países que ocupan el territorio de la isla. Básicamente, la dirección en la que deben encaminarse los esfuerzos incluye:

1. Curación de las colecciones de referencia para lograr un manejo óptimo de la información sobre esfuerzos previos de investigación (p. ej., tesis, evaluaciones ambientales), incluyendo la incorporación en bases de datos disponibles para el público.

2. Estudios taxonómicos que enfatizan en insectos de los órdenes de efemerópteros, coleópteros, hemípteros y dípteros. Todos los demás grupos requieren una revisión completa.

3. Inventarios faunísticos de sitios que ayuden a documentar la biodiversidad acuática de la isla; relevante también para un mejor manejo de las áreas protegidas y proyectos de desarrollo.

4. Uso de los macroinvertebrados en la bioindicación. El uso de los macroinvertebrados acuáticos en el seguimiento y determinación de la calidad biológica del agua es aceptado y utilizado ampliamente. El conocimiento taxonómico es el paso previo para emprender cualquier proyecto con este enfoque. La información que se obtiene sobre la composición de las comunidades permite en muchos casos, tomar decisiones sobre protección y manejo. La generación de la primera lista de macroinvertebrados acuáticos de La Española es un paso fundamental para crear regulaciones y normas que los incluyan.

5. Formación de especialistas y personal calificado para realizar seguimientos ambientales.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los evaluadores por las sugerencias realizadas que mejoraron sustancialmente el manuscrito.

REFERENCIAS

- Allen RK. 1973. New species of *Leptohyphes* Eaton (Ephemeroptera: Tricorythidae). *The Pan-Pacific Entomologist*, 49: 363-372.
- Almonte-Espinosa HE. 2012. Caracterización del comportamiento de forrajeo de la cigüita del río *Parkesia motacilla* (Parulidae: Passeriformes) en ecosistemas ribereños de la provincia Duarte, República Dominicana [Tesis de licenciatura]. [Santo Domingo (República Dominicana)]: Universidad Autónoma de Santo Domingo. p. 100.
- Alonso-Eguía Lis P, Mora JM, Campbell B, Springer M. 2014. Diversidad, conservación y uso de los macroinvertebrados dulceacuícolas de México, Centroamérica, Colombia, Cuba y Puerto Rico. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Jiutepec (México): Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. p. 444.
- Banks N. 1924. Descriptions of new neuropteroid insects. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 65: 421-455.
- Cumberlidge N. [Internet]. 2008. *Epilobocera haytensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008. Fecha de acceso: 13 de noviembre de 2016. Disponible en: <<http://www.iucnredlist.org/details/135104/0>>.
- De la Fuente S. 1976. Geografía dominicana. Santo Domingo: Amigo del Hogar. p. 272.
- Deler-Hernández A, Cala-Riquelme F, Ficácek M. 2014. A review of the genus *Oosternum* Sharp of the West Indies (Coleoptera: Hydrophilidae: Sphaeridiinae). *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 61 (1): 43-63. DOI: 10.3897/dez.61.7566
- Flint OS Jr, Perez-Gelabert DE. 1999. Checklist of the caddisflies (Trichoptera) of Hispaniola. *Novitates Caribaea*, 1: 33-46.
- Flint OS Jr, Sykora J. 2004. Caddisflies of Hispaniola, with special

- reference to the Dominican Republic (Insecta: Trichoptera). *Annals of the Carnegie Museum*, 73: 1-60.
- Flint OS Jr, Bastardo RH, Perez-Gelabert DE. 2006. Distribution of the Odonata of the Dominican Republic. *Bulletin of American Odonatology*, 9 (3, 4): 67-84.
- Gómez JD, Vargas M, Malek EA. 1986. *Moluscos de agua dulce de República Dominicana*. Santo Domingo: Editora Universitaria-UASD. p. 135.
- González-Lazo DD, Salles FF, Naranjo C. 2008. Situación actual del estudio del orden Ephemeroptera en Cuba. *Neotropical Entomology*, 37 (1): 45-50.
- Graham A. 2003. Geohistory model and Cenozoic paleoenvironments of Caribbean Region. *Systematic Botany*, 28 (2): 378-386. DOI: 10.1043/0363-6445-28.2.378
- Gutiérrez-Fonseca PE, Rosas KG, Ramírez A. 2013. Aquatic insects of Puerto Rico: a list of families. *Insectos acuáticos de Puerto Rico: lista de familias*. *Dugesiana*, 20 (2): 215-219.
- Heartsill-Scalley T. 2012. Freshwater resources in the insular Caribbean: an environmental perspective. *Caribbean Studies*, 40 (2): 63-93.
- Hyslop EJ, Hunte-Brown M. 2012. Longitudinal variation in the composition of the benthic macroinvertebrate fauna of a typical North coast Jamaican river. *Revista de Biología Tropical*, 60 (1): 291-303.
- Madhyastha A, Dutta J. [Internet]. 2012. *Tarebia granifera*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012. Fecha de acceso: 22 de julio de 2016. Disponible en: <<http://www.iucnredlist.org/details/165813/0>>.
- Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2014. Quinto Informe Nacional de Biodiversidad de la República Dominicana. Santo Domingo, República Dominicana. p. 80.
- Muñoz-Riviaux S, Naranjo-López C, Garcés-González G, González-Lazo DD, Musle-Cordero Y, Rodríguez-Montoya L. 2003. Evaluación de la calidad del agua utilizando los macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores. *Revista Chapingo*, 9 (2): 147-153.
- Naranjo C, Teruel R. 2001. Nuevos registros de localidad para *Euthyplocia inaccessibile* Kluge y Naranjo, 1994 y *Hagenulus (Traverina) oriente* Kluge, 1993 (Ephemeroptera: Euthyplocidae, Leptophlebiidae). *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 29: 47-48.
- Naranjo-López C, González-Lazo DD. 2005. Situación actual del estudio del orden Trichoptera en Cuba. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 36: 147-152.
- Naranjo-López C, López-del Castillo P, Bello-González OC, Muñoz-Riviaux S. 2014. Cuba. En: Alonso-Eguía Lis P, Mora JM, Campbell B y Springer M, editores. *Diversidad, conservación y uso de los macroinvertebrados dulceacuícolas de México, Centroamérica, Colombia, Cuba y Puerto Rico*. Jiutepec (México): Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. p. 159-183.
- Naranjo-López C, Muñoz-Riviaux S, Moreira FFF, Correa-Court R. 2010. Taxonomy and distribution of aquatic and semiaquatic Heteroptera (Insecta) from Cuba. *Revista de Biología Tropical*, 58 (3): 897-907.
- Núñez V. 2011. Revisión de dos especies de Physidae. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82 (1): 93-108.
- Oficina Nacional de Estadística e Información, República de Cuba. [Internet]. 2010. Fecha de acceso: 27 de junio de 2017. Disponible en: <<http://www.one.cu/cuba2010.htm>>.
- Pastorino G, Darrigan G. [Internet]. 2011. *Biomphalaria helophila*. The IUCN Red List of threatened species 2011. Fecha de acceso: 22 de julio de 2016. Disponible en: <<http://www.iucnredlist.org/details/188916/0>>.
- Perez-Gelabert DE. 2008. Arthropods of Hispaniola (Dominican Republic and Haiti): A checklist and bibliography. *Zootaxa*, 1831: 1-530.
- Perez-Gelabert DE, Burguez-Floriano CF. 2016. New records of the water strider *Platyvelia brachialis* (Stål 1860) (Hemiptera: Heteroptera: Veliidae) from the Dominican Republic and Haiti, with a checklist of the West Indian Veliidae. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 118 (3): 471-476. DOI: 10.4289/0013-8797.118.3.471
- Peters WL. 1971. A revision of the Leptophlebiidae of the West Indies (Ephemeroptera). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 62: 1-48.
- Posner A, Michel GA, Toussaint JR. [Internet]. 2010. Haiti biodiversity and tropical forest assessment (Sections 118 and 119 of the Foreign Assistance Act). USAID. Fecha de acceso: 16 de abril de 2017. Disponible en: <[http://www.usaidgems.org/Documents/FAA&Regs/FAA118119LAC/Haiti_FAA_118-119_Dec_2010%20\(1\).pdf](http://www.usaidgems.org/Documents/FAA&Regs/FAA118119LAC/Haiti_FAA_118-119_Dec_2010%20(1).pdf)>.
- Ramírez A, Gutiérrez-Fonseca PE. 2014. Puerto Rico. En: Alonso-Eguía Lis P, Mora JM, Campbell B y Springer M, editores. *Diversidad, conservación y uso de los macroinvertebrados dulceacuícolas de México, Centroamérica, Colombia, Cuba y Puerto Rico*. Jiutepec (México): Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. p. 419-437.
- Sangermano F, Bol L, Galvis P, Gullison RE, Hardner J, Ross G. 2015. Habitat suitability and protection status of four species of amphibians in the Dominican Republic. *Applied Geography*, 63: 55-65. DOI: 10.1016/j.apgeog.2015.06.002
- Soldner M, Stephen I, Ramos L, Angus R, Wells NA, Grosso A, Crane A. 2004. Relationship between macroinvertebrate fauna and environmental variables in small streams of the Dominican Republic. *Water Research*, 38 (4): 863-874. DOI: 10.1016/S0043-1354(03)00406-8
- Stark BP, Lentz DL. 1992. *Dominiperla antigua* (Plecoptera, Perlidae), the first stonefly from Dominican amber. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 65 (1): 93-96.
- Torres-Cambas Y, Lorenzo-Carballa MO, Ferreira S, Cordero-Rivera A. 2015. *Hypolestes hatuey* sp. nov.: a new species of enigmatic genus *Hypolestes* (Odonata, Hypolestidae) from Hispaniola. *Zootaxa*, 4000 (2): 207-226. DOI: 10.11646/zootaxa.4000.2.2.
- Torres-Cambas Y, Cabana-Otero M, Lorenzo-Carballa MO, Cordero-Rivera A. 2016. Conservation status and protection of three Antillean endemic damselflies. *Journal of Insect Conservation*, 20 (2): 277-284. DOI: 10.1007/s10841-016-9862-1
- Vázquez-Perera AA, Perera-Valderrama S. 2010. Endemic freshwater molluscs of Cuba and their conservation status. *Tropical Conservation Science*, 3 (2): 190-199.



Bastardo y Sánchez-Rosario

Actual Biol 39 (107): 75 - 81, 2017 | DOI: 10.17533/udea.acbi.v39n107a09

von Ellenrieder N, Paulson D. [Internet]. 2006. *Phylolestes ethelae*. The IUCN Red List of Threatened Species 2006. Fecha de acceso: 13 de noviembre de 2016. Disponible en: <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T17233A6869479.en>>.

WoRMS Editorial Board. [Internet]. 2016. World Register of Marine Species. Fecha de acceso: 19 de septiembre de 2016. Disponible en: <<http://www.marinespecies.org>>.



Variación temporal de la diversidad taxonómica y rasgos funcionales de los macroinvertebrados acuáticos en ríos temporales en la isla de Providencia, Colombia

Temporal variation of taxonomic diversity and functional traits of aquatic macroinvertebrates in temporary rivers on Old Providence Island, Colombia

Angela J. Motta Díaz^{1,3}, Magnolia Longo^{2,4}, Nelson Aranguren-Riaño^{1,5}

Resumen

Los ríos intermitentes en Colombia se localizan principalmente en zonas de bosque seco, con relevancia en el ciclo hidrológico, el mantenimiento de la biodiversidad y el suministro de agua en estas regiones. Aspectos del funcionamiento de estos sistemas no se conocen, especialmente en zonas insulares. Este trabajo describe los cambios en composición, diversidad y algunos rasgos funcionales de los macroinvertebrados, relacionados con fluctuaciones de caudal, en tres ríos de la isla de Providencia. Se realizaron muestreos en temporada seca y temporada de lluvias. Se seleccionaron diez (10) rasgos funcionales y 50 categorías que incluyen características tróficas, fisiológicas, morfológicas, conductuales y del ciclo vital. El análisis de componentes principales confirma una marcada estacionalidad asociada con la variación de conductividad eléctrica, alcalinidad y oxígeno disuelto. Se identificaron 60 géneros-morfotipos con mayor riqueza de quironómidos, tricópteros y coleópteros. Según el análisis de correspondencia canónica, *Chironomus*, *Pyrgophorus*, *Haitia* y *Dero* se asocian con valores altos en la conductividad eléctrica, oxígeno disuelto y dureza total. Respecto a rasgos, en la época seca predominaron mecanismos para resistir la desecación (capullos o diapausa), reproducción asexual, ciclos de vida rápidos estacionales, preferencia por sustrato hojarasca y hábito raspador, como: *Ancylidae*, *Dero*, *Anopheles*, *Microvelia* y *Neritina*. En la época de lluvia se hallaron cuerpos con caparazón o estuches, ciclos de vida lentos estacionales y hábito trófico colector recolector, como: *Macrobrachium*, *Polypedilum*, *Helicopsyche*, *Beardius* y *Chironomus*. Se concluye que la condición hidrológica incide en la estructura y funcionalidad de los macroinvertebrados y que algunos rasgos fisiológicos y de historias de vida son esenciales para permanecer en ambientes temporales.

Palabras claves: fauna bentónica, ambientes estacionales, ecología funcional, contenidos estomacales, arroyos insulares

Abstract

Intermittent streams in Colombia are located principally in dry forest zones and are important in maintaining the hydrological cycle and sustaining biodiversity and the water supply for local human populations. Some aspects of the functioning of these systems are not known in detail, especially in insular areas. This study describes the changes in the species composition, diversity, and some functional traits of macroinvertebrates related to discharge fluctuations in three intermittent streams on Old Providence Island. Sampling was performed during dry and rainy seasons. Ten (10) and 50 functional traits categories were selected, including trophic, physiological, morphological, behavioral and life cycle characteristics. A principal component analysis confirmed a strong seasonality associated with changes in electric conductivity, alkalinity, and dissolved oxygen. Sixty genus-level morphotypes were identified, with highest diversity in the Chironomidae (Diptera). According to a Canonical Correspondence Analysis, *Chironomus*, *Pyrgophorus*, *Haitia* and *Dero* were associated with high values in electrical conductivity, dissolved oxygen, and total hardness. With respect to functional traits, during dry season mechanisms for resisting specialized to resist the desiccation (cocoon or diapause), asexual reproduction, seasonal short life cycles, preferences for litter microhabitat, and trophic habit scrapers re-dominated, such as *Ancylidae*, *Dero*, *Anopheles*, *Microvelia* and *Neritina*. During rainy season bodies protected with shells or cases, seasonal long life cycles, and trophic collectors were found, such as *Macrobrachium*, *Polypedilum*, *Helicopsyche*, *Beardius* and *Chironomus*. In conclusion, hydrological conditions affect the taxonomic and functional structure of the macroinvertebrates, and some physiological traits and life histories are essential for persistence in temporal environments.

Keywords: benthic fauna, temporary waters, functional ecology, stomach contents, insular rivers and streams

Recibido: noviembre 2016; aceptado: octubre 2017.

¹. Unidad de Ecología en Sistemas Acuáticos – UDESA, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

². Grupo Limnología, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano

Correos electrónicos: ³<angelitaconejon@gmail.com>; ⁴<mc_longo@hotmail.com>; ⁵<nelson.aranguren@uptc.edu.co>

INTRODUCCIÓN

Southwood (1977) planteó la hipótesis del “*hábitat templer*” en la cual expuso que las múltiples estrategias de los organismos para sobrevivir surgieron desde un proceso de adaptación al hábitat que conlleva una relación costo-beneficio. Además, afirmó que la heterogeneidad del hábitat se puede considerar desde dos escalas: la espacial y la temporal. A partir de ahí, se espera que las especies presentes en un determinado hábitat tengan rasgos funcionales similares, independientemente de sus relaciones filogenéticas (Townsend y Hildrew 1994). Un rasgo funcional es un atributo del organismo, referente a su biología, fisiología y ecología, que repercute en el crecimiento, la reproducción y la supervivencia a nivel individual (Violle et al. 2007). Estos rasgos presentan un marco integrador que explica como los cambios en sus características, asociados con variaciones ambientales, responden tanto en el rendimiento del individuo en niveles de organización superior como en la comunidad (Pla et al. 2012, Schmera et al. 2017).

Los macroinvertebrados habitantes en ecosistemas lóticos de bajo orden se desarrollan en un medio que cambia constantemente debido a la dinámica hidráulica; por esto, exhiben rasgos funcionales variados (Junk et al. 1989, Rodrigues-Capítulo et al. 2009, Tomanova et al. 2008). Así, los rasgos funcionales tienen uso potencial como indicadores de perturbaciones físicas naturales y/o antrópicas en los ríos (v. g., temporalidad en el flujo de agua) y se proyectan como enfoque complementario al taxonómico en el conocimiento del funcionamiento y condición de los ecosistemas, ya que están directamente relacionados con aspectos metabólicos del mismo, por tanto, ofrecen una perspectiva adecuada para conocer el estado de un sistema (Bonada et al. 2006, Ding et al. 2017, Hooper et al. 2002, Luiza-Andrade et al. 2017, Statzner et al. 2005).

En ríos temporales (v. g. canales que carecen de flujo superficial durante la temporada de sequía) los macroinvertebrados expresan diferentes tipos de rasgos, tales como: adaptación a la época de sequía mediante el desarrollo de rasgos de resistencia (v. g., características de los organismos que les permiten permanecer en la comunidad después de una perturbación) y rasgos de resiliencia (v. g., características de los organismos que les permiten recuperarse rápidamente de la perturbación o evitarla) (Townsend y Hildrew 1994). Los rasgos que predominan varían dependiendo de si la sequía es estacional predecible o si es un evento impredecible (Bogan et al. 2015, Lake 2003). En general, se ha encontrado en ecosistemas mediterráneos y templados que los rasgos funcionales asociados con mayor adaptación a la temporalidad son: ciclos vitales flexibles (sincronización de los ciclos de vida acuáticos con las temporadas de lluvias), desarrollo ligado con la temperatura del agua, diapausa, huevos protegidos contra la desecación y alto poder de dispersión (Bonada et al. 2007, Boulton 1989, Dézerald et al. 2015, Dole-Olivier et al. 1997, Lake 2003, McDonough et al. 2011, Stubbington et al. 2016, Williams y Hynes 1977), así como alimentación de tipo generalista (Dieterich y Anderson 2000).

En regiones secas, los ríos temporales presentan alta relevancia para los procesos ecosistémicos que ocurren en la interfase agua-tierra, ya que sirven de hábitat para animales y plantas; son zonas de procesamiento de nutrientes y están unidos a otros sistemas perennes, siendo importantes en el lavado de material y en la conectividad de la cuenca (Dieterich y Anderson 2000, Larned et al. 2010, Skoulikidis et al. 2017). Por lo anterior, tienen características únicas que los hacen excelentes sensores del cambio climático (Clifford 1966, Datry et al. 2016). En el caso particular de la isla de Providencia, los ríos y las quebradas presentan una temporalidad marcada por cuatro meses de pluviosidad mínima al año; esto hace que el recurso hídrico superficial se agote transitoriamente y se formen así flujos intermitentes y efímeros.

Por otro lado, los estudios sobre rasgos funcionales de macroinvertebrados en sistemas insulares son escasos en Colombia (Longo et al. 2015); las pocas investigaciones registradas se han centrado en uno o dos tipos de rasgos y se han realizado principalmente en la isla Gorgona, Región Pacífica (Gómez-Aguirre et al. 2009, Longo y Blanco 2009 y 2014a). En el caso particular de la isla de Providencia, se conocen los trabajos de Cortés-Guzmán y Linares (2016), Cortés-Guzmán y Ospina-Torres (2014) y Valencia y Campos (2007). Por esta razón, es importante conocer la respuesta de los macroinvertebrados ante eventos de perturbación natural, asociados con la variación temporal, en las condiciones hidráulicas a partir de sus rasgos funcionales. Lo anterior ofrece una base para el uso de los rasgos como elementos de biomonitorio de estrés hídrico, con implicaciones para la conservación y estrategias adecuadas de manejo en los ríos de la isla de Providencia.

En el presente trabajo se formuló el interrogante ¿Cómo varían la composición, la diversidad y algunos rasgos funcionales de la comunidad de macroinvertebrados en función de los cambios temporales del hábitat relacionados con las fluctuaciones de caudal en tres ríos intermitentes? Como hipótesis, se planteó que la comunidad en la sequía presentará disminución en la riqueza y la diversidad, con dominancia de taxones, particularmente moluscos; los rasgos sobresalientes serán aquellos que confieren resistencia ante la disminución de oxígeno disuelto y al aumento de la conductividad eléctrica y la temperatura del agua, tales como: estructuras especializadas para acceder al oxígeno y resistir la desecación, hábito trófico colector-recolector y reproducción por medio de nidadas cementadas. En contraste, en la época de lluvias predominarán estructuras que confieren protección y adaptación a corrientes fuertes, hábito trófico colector-filtrador y ciclos de vida cortos y rápidos. Los objetivos fueron: a) determinar cambios en la composición, estructura y en los rasgos funcionales de la comunidad de macroinvertebrados, en función de las diferencias en caudal presentados durante dos períodos hidrológicos, en tres ríos, b) establecer las variables de hábitat que influyen en los cambios de estructura y de los rasgos funcionales de la comunidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Métodos de campo

Área de estudio. El estudio se realizó en la isla de Providencia ubicada en el Mar Caribe Occidental de Colombia (figura 1); tiene un área de 17,2 km² y una elevación máxima de 350 m s.n.m. La isla hace parte de una cordillera submarina llamada "elevación de Nicaragua" (Nicaragua rise), que se extiende entre Nicaragua y las islas de Jamaica, Haití y República Dominicana. El origen es volcánico debido a fracturas tectónicas de la corteza oceánica ocurridas hace aproximadamente 24 millones de años (Aguilera 2010).

El relieve es quebrado, con una serranía conformada por tres ramales principales en sentido oriente-occidente. Los ríos y las quebradas de la isla tienen un carácter temporal. En general, los que están ubicados en la vertiente occidental presentan mayor longitud, caudales perennes y coberturas ribereñas más extensas, en comparación con los localizados en la vertiente oriental. Esto se debe a que la vertiente occidental tiene menor exposición al flujo de los vientos del oriente. Los suelos son poco profundos, con una capa vegetal delgada y la textura varía desde franco arenoso hasta arcilloso (Aguilera 2010, Gómez-López et al. 2012).

El régimen de lluvias es monomodal. La época de lluvias ocurre desde mayo hasta noviembre con promedios entre 121 y 307 mm/mes, siendo octubre el mes con mayor pluviosidad (promedio: 301 mm). La época seca ocurre entre los meses de diciembre y abril, con oscilaciones entre 23 y 94 mm/mes, con valores mínimos en marzo (promedio: 24 mm/mes) (Gómez-López et al. 2012). La temperatura media anual de la isla es de 27,4 °C, siendo junio, julio y agosto los meses con mayores valores (promedio: 28,1 °C) y febrero es el mes con temperatura más baja (promedio: 26,5 °C).

Se muestrearon tres ríos localizados en la vertiente occidental de la isla: (a) Lazy Hill (13° 21'356"N 81° 23'292"W), (b) The peak (13° 20'602"N 81° 22'121"W) y (c) Old Town (13° 21'788"N 81° 22'629"W) (figura 1). Estos sistemas se seleccionaron debido a que presentan intervención antrópica mínima y tienen bosques ribereños primarios y secundarios extensos. Se muestreó en tres tramos por cada río, localizados aproximadamente a 45, 33 y 10 m s.n.m. En época seca no se encontró flujo base en los tramos altos, sólo había pozos aislados en los tramos medios y bajos, así que el muestreo se realizó en ellos. Con el fin de hacer una caracterización general de cada tramo, se registraron algunas variables de hábitat sugeridas en Longo y Blanco (2009) (material suplementario: Anexo 1).

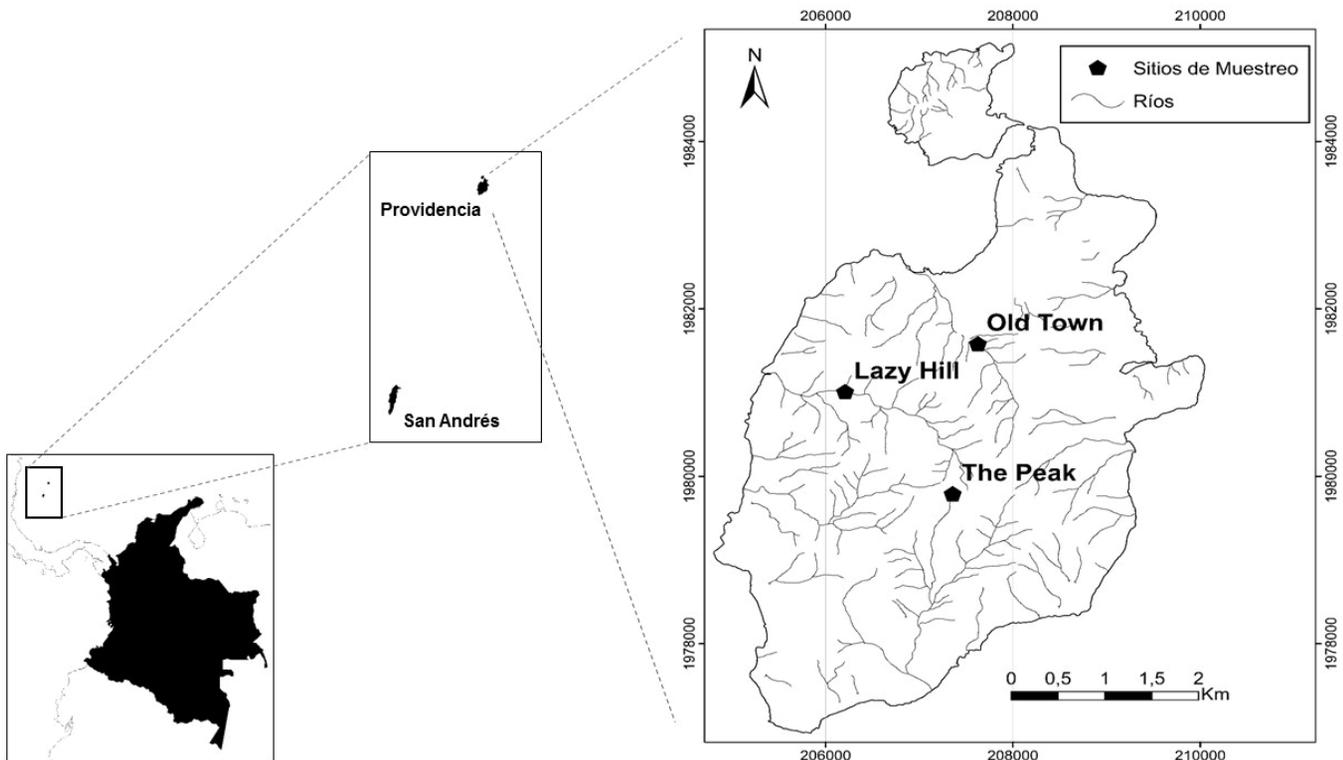


Figura 1. A. Ubicación geográfica del Archipiélago de San Andrés y Providencia en el mar Caribe de Colombia. **B.** Localización de los ríos Lazy Hill, The Peak y Old Town.

Motta-Díaz et al.

Se realizaron dos muestreos en el año 2013, en julio y en octubre. Con base en los registros del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), se determinó que el régimen de lluvias para este año fue atípico. Así, el período de sequía se prolongó hasta el mes de julio; por tanto, los muestreos se realizaron en dos épocas hidro-climáticas contrastantes: época seca (julio: 27 mm) y época de lluvia (octubre: 165,8 mm) (figura 2).

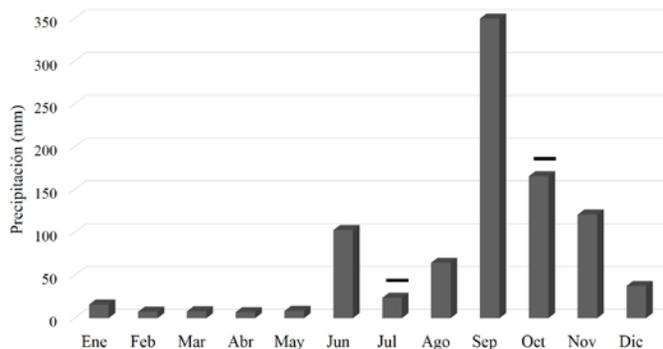


Figura 2. Valores mensuales totales de precipitación (mm) en el año 2013 registrados en la estación San Felipe del IDEAM, isla de Providencia. Meses de muestreo: julio y octubre. Tomado de: Banco de Datos del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM).

Tratando de abarcar la mayor diversidad de hábitats (rápidos y pozos) y de sustratos (cantos, gravas, arenas, hojarasca, raíces y agua superficial), en cada tramo se recolectaron muestras desde cada uno de los sustratos disponibles. En el momento de la recolecta se integraron tres repeticiones por cada sustrato, con una intensidad de muestreo de un minuto por cada una siguiendo el método propuesto por Rodríguez-Capitolo et al. (2009). La recolecta se llevó a cabo usando una red Surber de 1,44 m² con 250 µm de ojo de malla. Así, en octubre se muestrearon sobre rápidos (0,19–0,36 m/s) (18 muestras) y pozos (0–0,18 m/s) (24 muestras), los sustratos: roca \geq 0,3 m (17 muestras), piedras < 0,3 m (9 muestras), hojarasca (2 muestras), raíces ribereñas (7 muestras) superficie del agua (5 muestras) y arenas (2 muestras). En julio se tomaron muestras de pozos (28 muestras) a partir de los siguientes sustratos: roca \geq 0,3 m (6 muestras), piedras < 0,3 m (4 muestras), hojarasca (9 muestras), macrófitos y algas filamentosas (3 muestras) y en la superficie del agua (6 muestras), para un total de 52 muestras. Debido a la agilidad de los decápodos para escapar de las redes, estos se capturaron empleando trampas-bolsa con sebo (atún enlatado). Las muestras se etiquetaron y preservaron en alcohol al 70%.

Variables físicas y químicas. En cada punto de muestreo se registraron las variables: pH y temperatura hídrica con pH-metro (BOE 5190000), conductividad eléctrica (conductímetro Hanna), oxígeno disuelto mediante el método Winkler con Kit Aqua-Merck, la alcalinidad y la dureza total mediante método colorimétrico con Kit Aqua-Merck. El caudal se estimó solo en época de

lluvias, mediante la relación área de sección y velocidad de flujo (método de flotación) (Gore 2007).

Métodos de laboratorio

Identificación taxonómica. Los macroinvertebrados fueron identificados hasta los niveles de género y morfotipo con base en las claves de: Brinkhurst y Wetzel (1984), Byers y Gelhaus (2008), Chen (2004), Courtney et al. (2008), Epler (1992), Fernández y Domínguez (2001), Gelthaus (2002), Gaviria (1993), McCafferty y Provonsha (1981) y Pennak (1989). Para la identificación de oligoquetos y quironómidos se realizaron montajes según los métodos sugeridos por Brinkhurst (1971) y Epler (1992), respectivamente. Adicionalmente, se realizaron consultas a taxónomos expertos para confirmar las determinaciones. Los organismos se depositaron en la colección de referencia del Museo de Historia Natural Luis Gonzalo Andrade, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (números de colección 324–451: B 3–13, HP 11–19, N 1–6, CO 1–2, N 1–2, CL 1, D 60–110, E 55–56, T 93–107, C 72–85, H 21–26, L 1–5, I 1–2 y De 1).

Determinación de rasgos. Se utilizaron 55 categorías pertenecientes a 10 rasgos (material suplementario: Anexo 2). Estos rasgos incluyen características tróficas (hábito trófico y tipo de alimentación), fisiológicas (respiración), morfológicas (protección del cuerpo), conductuales (tipos de movilidad y de fijación al sustrato), del ciclo de vida (duración, número de ciclos reproductivos por año, estadios acuáticos, tipo de reproducción, formas de resistencia) y ecológicas (micro-hábitats preferenciales). Los rasgos fueron seleccionados teniendo en cuenta su posible relación con la temporalidad del caudal, con el tipo de flujo y con las variables físicas y químicas; para esto se consideraron los planteamientos de Beche et al. (2006) y Bonada et al. (2007).

Los rasgos medidos directamente fueron: micro-hábitats preferenciales, tipo de alimentación y hábito trófico (material suplementario: Anexo 2). Los restantes, asociados con el ciclo de vida y el comportamiento, se tomaron de las bases de datos de rasgos de macroinvertebrados para Bolivia (Tomanova 2007), para Estados Unidos (EPA, 2014) y para Europa (Tachet et al. 2000) y de publicaciones sobre Gastropoda de Barroso y Matthews-Cascon (2009), Bichuette y Trajano (2003), Blanco y Scatena (2007), Blanco et al. (2014), Boag y Pearlstone (1979), Dillon (2000) y Nava et al. (2011); las publicaciones sobre Diptera consultadas fueron: Cranston (2010), Deonier y Regensburg (1978), Foote (1990) y Tokeshi (1995); las de Hemiptera fueron: Ditrich y Papácek (2009) y Muraji y Nakasuji (1990); para Malacostraca fueron: Belvédère (2014) y Graziani et al. (1993).

La caracterización de los rasgos de alimentación y hábito trófico se realizó con base en los contenidos estomacales de 250 individuos pertenecientes a 29 taxones. Se tomaron entre 1 y 5 individuos de cada género por sustrato; a cada uno se le practicó una disección para extraer el material del estómago, el cual fue montado con glicerina en portaobjetos. Los montajes resultantes fueron dispuestos en microscopios, en los cuales, bajo observación a 400X, se seleccionaron 15 campos al azar teniendo como

área fija la delimitada por los cubreobjetos. Así se determinó la cobertura relativa de cada categoría de ítem alimenticio (Chará-Serna et al. 2012 y Longo y Blanco 2014a). El hábito trófico se determinó de acuerdo con la información de contenidos estomacales y se complementó con datos publicados en Chará-Serna et al. (2012), EPA (2014), Longo y Blanco (2014), Merrit et al. (2008), Tachet et al. (2000) y Tomanova (2007).

Se hace notar que la asignación de grupos funcionales tróficos en su mayoría está adaptada de ecosistemas norteamericanos y europeos; por tanto, las asignaciones locales basadas en contenidos estomacales sirven para complementar o confirmar la información de la literatura de referencia.

Tratamiento de datos. Para identificar tendencias y el grado de variabilidad espacio-temporal en los datos físicos y químicos de los tres ríos, se empleó estadística descriptiva: media aritmética y coeficiente de variación en porcentaje. Al mismo tiempo, para reducir la dimensionalidad y establecer las variables determinantes se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) con los datos físicos y químicos estandarizados (Guisande et al. 2011) mediante el programa Rstudio (<https://www.rstudio.com/>). Luego, con el fin de conocer la existencia de diferencias ambientales entre épocas se realizó una prueba de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras con cada una de las variables estudiadas (Guisande et al. 2011).

En cuanto a la estructura de la comunidad de macroinvertebrados, se construyó una tabla de abundancias absolutas por taxón. Con base en ella se determinó el grado de similitud entre las épocas mediante la prueba ANOSIM. Para conocer cuáles fueron los taxones que caracterizaron los grupos se aplicó un Simper basado en una matriz de Bray-Curtis con 9999 permutaciones y con esto se identificaron los taxones que explicaron las diferencias (Clarke 1993); para estos análisis se utilizó el programa PRIMER 6. Se estimó el índice de Jaccard cualitativo entre épocas y se estimó la diversidad para cada época de muestreo a través de los índices de riqueza de Margalef y de diversidad de Simpson, mediante el programa PAST versión 3.13.

Con el fin de determinar las relaciones entre todas las variables ambientales con las abundancias se llevó a cabo un ACC (Análisis de Correspondencia Canónico) en el programa CANOCO 5; para la validación del mismo se utilizó la Cadena de Monte Carlo con 499 permutaciones. Se seleccionó este análisis teniendo en cuenta que los datos de abundancia tuvieron un gradiente de 4,7 unidades de desviación estándar; por ende, fue más adecuado usar un modelo unimodal –y no uno lineal– para el análisis (Leps y Smilauer 2003). En el ACC, el conjunto de datos ambientales fue centrado y estandarizado y los datos de abundancia fueron transformados con $\log_{10}(x + 1)$. Además, las especies raras fueron ponderadas y solo los taxones con mayor peso (con abundancias altas y mayor frecuencia) fueron tenidos en cuenta para el análisis.

Para el análisis de los rasgos funcionales, cada taxón se catalogó de acuerdo con su afinidad con cada una de las categorías por

rasgo, siguiendo el enfoque de codificación difusa: 0 (el taxón no tiene ningún vínculo con la categoría), 1 (vínculo débil), 2 (relación moderadamente fuerte) y 3 (vínculo fuerte con la categoría). Este enfoque integra la plasticidad de cada taxón teniendo en cuenta que este puede vincularse a más de una categoría por rasgo (Chevenet et al. 1994). Con esta información se construyó una matriz de afinidad a los rasgos por estación y se ponderaron los valores de la matriz con la abundancia relativa de cada taxón por estación. Con esta última matriz se realizaron diagramas de cajas y bigotes mediante el programa Rstudio de acuerdo con la puntuación proporcional de cada categoría, y así se describió el comportamiento general con los datos integrados de los tres ríos.

Para comprobar posibles diferencias en la frecuencia de aparición de los rasgos entre las épocas, considerando los datos integrados de los tres ríos, se realizó un análisis de Chi cuadrado (X^2) para cada rasgo (Guisande et al. 2011), para lo cual se utilizó el programa SPSS Versión 12. Luego, con la base de datos estación-rasgo se realizó un ACD (Análisis de Correspondencia Difusa) en el programa Rstudio, con el cual se determinó la relación de dependencia entre los rasgos funcionales y la variación temporal. Por último, para estimar la asociación entre las variables ambientales con las categorías de los rasgos, se realizó un ACC usando la matriz de estación-rasgo. En el ACC, el conjunto de datos ambientales fue centrado y estandarizado y los datos de los rasgos fueron transformados con $\log_{10}(x + 1)$.

RESULTADOS

Variables fisicoquímicas. En general, se observó una marcada estacionalidad en las condiciones físicas y químicas de los tres ríos. Se registró ausencia de flujo base o muy bajo flujo (0,81 L/s en The peak) en la época seca, con un consecuente aumento en la época de lluvia cuando el caudal osciló entre 11,4 y 412,33 L/s (tabla 1). En el ACP, el primer eje explicó el 57,8% y el segundo el 18,1% de la variabilidad; como se esperaba, a lo largo del primer eje se observa la agrupación de las estaciones según las concentraciones altas y bajas de oxígeno disuelto y de iones, las cuales están directamente relacionadas con los cambios de precipitación pluvial (figura 3). Las variables correlacionadas con ese primer eje, además del oxígeno disuelto (2,0–5,8 mg/L), son la conductividad eléctrica (122,7–1302,7 μ S/cm), la dureza total (17,8–111 mg/L CaCO_3) y la alcalinidad (0,4–2,33 mmol/L) (tabla 1), las cuales presentaron diferencias temporales significativas (tabla 2).

Composición taxonómica. Se recolectaron en total 1.611 individuos distribuidos en 60 géneros/morfotipos. Se resalta la riqueza del orden Diptera que representa al 36,7% del total de taxones y en especial la familia Chironomidae con 13 géneros (tabla 3). Entre las dos épocas fueron comunes 23 taxones (40% de similitud). En la época seca se encontraron menos taxones exclusivos (7 géneros) y se determinó un aumento en la abundancia total (1123 ind.), en comparación con la época de lluvia (30 géneros exclusivos y 493 ind. en total).

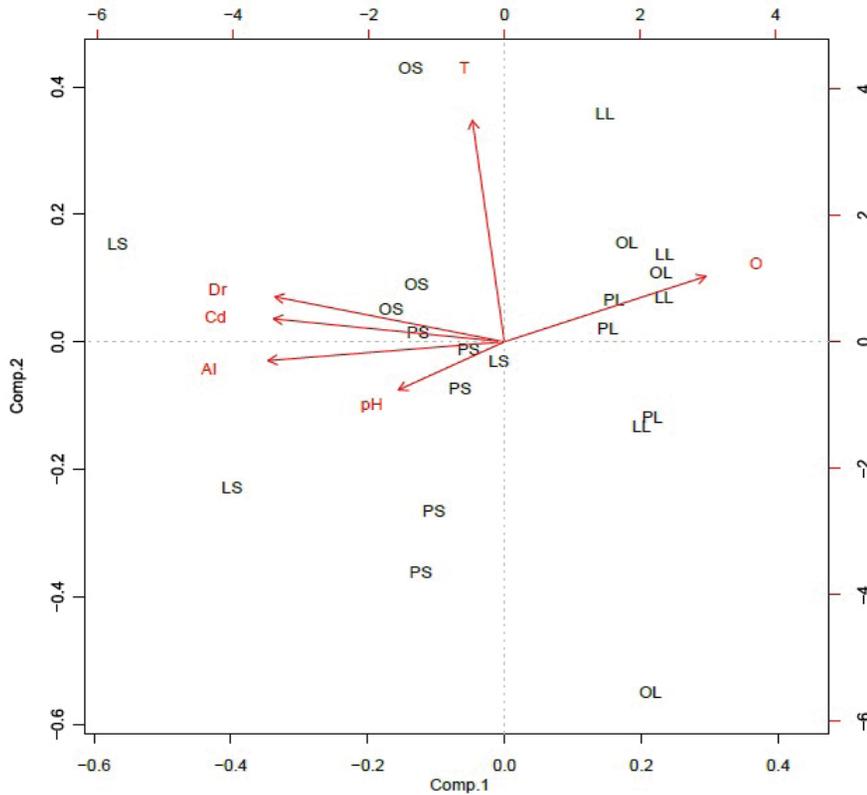


Figura 3. Análisis de componentes principales (ACP) de las variables físicas y químicas en los ríos de estudio. Variables, T: temperatura, Cd: conductividad eléctrica, Dr: dureza, Al: alcalinidad, O: oxígeno disuelto. Ríos, LS: Lazy Hill en época seca, LL: Lazy Hill en época de lluvia, PS: The Peak en época seca, PL: The Peak en época de lluvia, OS: Old Town en época seca, OL: Old Town en época de lluvias. Varianza explicada Comp. 1 = 57,82% y Comp. 2 = 18,14%.

Tabla 1. Media aritmética y coeficiente de variación (considerando época seca y de lluvias) para cada una de las variables físicas y químicas medidas en los ríos Lazy Hill, The Peak y Old Town, Isla de San Andrés, Colombia. T: temperatura hídrica (°C), Cd: conductividad eléctrica (µs/cm), Dr: dureza total (mg/L CaCO₃), Al: alcalinidad (mmol/L), O₂: oxígeno disuelto (mg/L), Ca: caudal (L/s).

Época	Río		T	Cd	pH	Dr	Al	O ₂	Ca
Seca	Lazy Hill	\bar{X}	26,80	1302,67	7,46	111,00	2,33	2,00	0,00
		n=3	CV	1,35	50,78	1,71	75,71	49,49	25,00
	The Peak	\bar{X}	26,70	444,00	7,55	57,20	1,80	2,74	0,81
		n=5	CV	1,09	15,90	1,32	16,92	17,12	51,59
	Old Town	\bar{X}	27,13	950,00	7,05	94,00	1,47	3,00	0,00
		n=3	CV	1,49	0,21	1,88	5,92	3,94	24,04
Lluvias	Lazy Hill	\bar{X}	26,98	123,28	7,28	22,25	0,38	5,88	412,33
		n=3	CV	1,72	17,08	5,40	40,00	40,00	8,15
	The Peak	\bar{X}	26,80	122,77	7,19	17,80	0,37	4,50	11,04
		n=5	CV	0,99	18,20	2,29	0,00	15,75	29,40
	Old Town	\bar{X}	26,43	193,50	6,80	29,67	0,40	5,07	NA
		n=3	CV	2,74	52,19	6,22	34,64	43,30	7,98

Se registró variación temporal en la diversidad siendo los índices de riqueza de Margalef y de diversidad de Simpson más altos en el periodo de lluvias con respecto a la temporada seca (tabla 4). La abundancia total de la comunidad (Anosim R= 0,29, p = 0,003) así como la de cada taxón también tuvieron diferencias entre ambas épocas, siendo *Microvelia* (Simper contribución =

20%), *Dero* (Simper contribución = 15%), *Pyrgophorus* (Simper contribución = 8%), *Lauterborniella* (Simper contribución = 6%) y *Larsia* (Simper contribución = 5%), los taxones que contribuyeron en mayor grado a estas disimilitudes temporales. *Microvelia*, *Dero* y *Pyrgophorus* fueron más abundantes en la época seca y *Lauterborniella* y *Larsia* en la época de lluvia (tabla 3).

Tabla 2. Resultados de significancia de la prueba de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras entre las variables físicas y químicas registradas en dos épocas hídricas en tres ríos en la Isla de Providencia, Colombia. D: Diferencia máxima.

Variables	D	p
Temperatura hídrica	0,15	0,99873
Conductividad eléctrica	1,00	0,00001
pH	0,54	0,06200
Dureza	0,91	0,00009
Alcalinidad	1,00	0,00001
Oxígeno disuelto	0,81	0,00073

Tabla 3. Listado taxonómico y abundancia absoluta de los macroinvertebrados colectados en tres ríos en la Isla de Providencia, Colombia. Estado: (A) adulto, (L) larva.

Filo	Clase	Orden	Familia	Taxón	Seca	Lluvia
Annelida	Oligochaeta	Haplotaxida	Naididae	Amphichaeta	1	3
				Chaetogaster		1
				Dero	510	5
				Pristina	1	11
				Stephensoniana c. f	1	2
Mollusca	Gastropoda	Basommatophora	Ancylidae	Ancylidae	3	
			Lymnaeidae	Lymnaea c. f		1
			Physidae	Haitia	41	2
			Planorbidae	Antillorbis		14
				Drepanotrema		4
		Neotaenioglossa	Hydrobiidae	Texadina		4
				Potamolitus c. f	1	11
				Pyrgophorus	104	
		Neritopsina	Neritidae	Neritina c.f.	7	7
Arthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Leptophlebiidae	Farrodes		5
		Trichoptera	Helicopsychidae	Helicopsyche		15

Filo	Clase	Orden	Familia	Taxón	Seca	Lluvia
			Hydropsychidae	Smicridea	6	13
			Hydroptilidae	Metrichia		1
				Oxyethira		1
				Hydroptilidae	2	22
			Leptoceridae	Leptoceridae		5
			Philopotamidae	Chimarra	1	
		Lepidoptera	Crambidae	Crambidae		3
			Coleophoridae	Coleophoridae		3
			Noctuidae	Nonagria		1
		Diptera	Ceratopogonidae	Bezzia c. f	7	1
				Forcipomyia		1
			Chironominae Chironomidae	Beardius	5	9
				Chironomus	63	1
				Endotribelos		1
				Lauterborniella	3	65
				Phaenopsectra	12	41
				Polypedilum		7
				Pontomyia c. f		2
			Chironomidae Orthoclaadiinae	Corynoneura		12
				Cricotopus		1
				Parametricnemus	1	4
			Tanypodinae Chironomidae	Fittkauimyia	5	7
				Labrundinia	10	7
				Larsia	11	41
			Culicidae	Culex	10	
				Anopheles	3	
			Ephydriidae	Ephydriidae		5
			Psychodidae	Maurina		16
			Tipulidae	Tipulidae		1
				Limonia	1	
				Rhabdomastix		1
		Coleoptera	Dytiscidae	Copelatus (A)	10	
				Copelatus (L)		3

Filo	Clase	Orden	Familia	Taxón	Seca	Lluvia
				Desmopachria (A)	3	4
				Laccophilus (A)	6	13
				Laccophilus (L)		10
			Elmidae	Elmidae		2
			Hydrophilidae	Berosus (A)	1	2
			Hydrophilidae	Enochrus (L)		1
			Hydraenidae	Hydraena(A)	2	10
		Hemiptera	Veliidae	Microvelia	292	83
	Collembola	Collembola	Collembola	Collembola		1
	Malacostraca	Isopoda	Sphaeromatidae	Sphaeroma c. f		4
		Decapoda	Palaemonidae	Macrobrachium c. f		3
		Total taxones	31	60	30	53

Tabla 4. Resultados de índices de diversidad de macroinvertebrados por río y por época de muestreo en la Isla de Providencia, Colombia.

Río	Estación	Diversidad de Simpson 1-D	Diversidad de Margalef	Riqueza absoluta
Lazy Hill	Seca	0,56	1,26	7
	Lluvias	0,84	3,57	14
The Peak	Seca	0,42	1,56	6
	Lluvias	0,77	4,3	16
Old Town	Seca	0,56	0,9	4
	Lluvias	0,87	3,61	16

En cuanto al ACC, la varianza total (inercia) de la abundancia de los macroinvertebrados fue de 4,01. De ésta, el porcentaje explicado por las 6 variables fisicoquímicas fue del 38,80%. Por otro lado, el primer eje explicó 38,78% de la varianza y el segundo el 17,23%; además, según el test de permutación de Monte Carlo, entre las abundancias con las variables fisicoquímicas existe una

relación significativa ($p = 0,002$). De esta manera, el primer eje se asoció positivamente con altos valores en la dureza total, la alcalinidad y con la conductividad eléctrica y con altos valores de abundancia de *Chironomus*, *Ancylidae* Mf., *Pyrgophorus*, *Haitia* y *Dero* (figura 4).

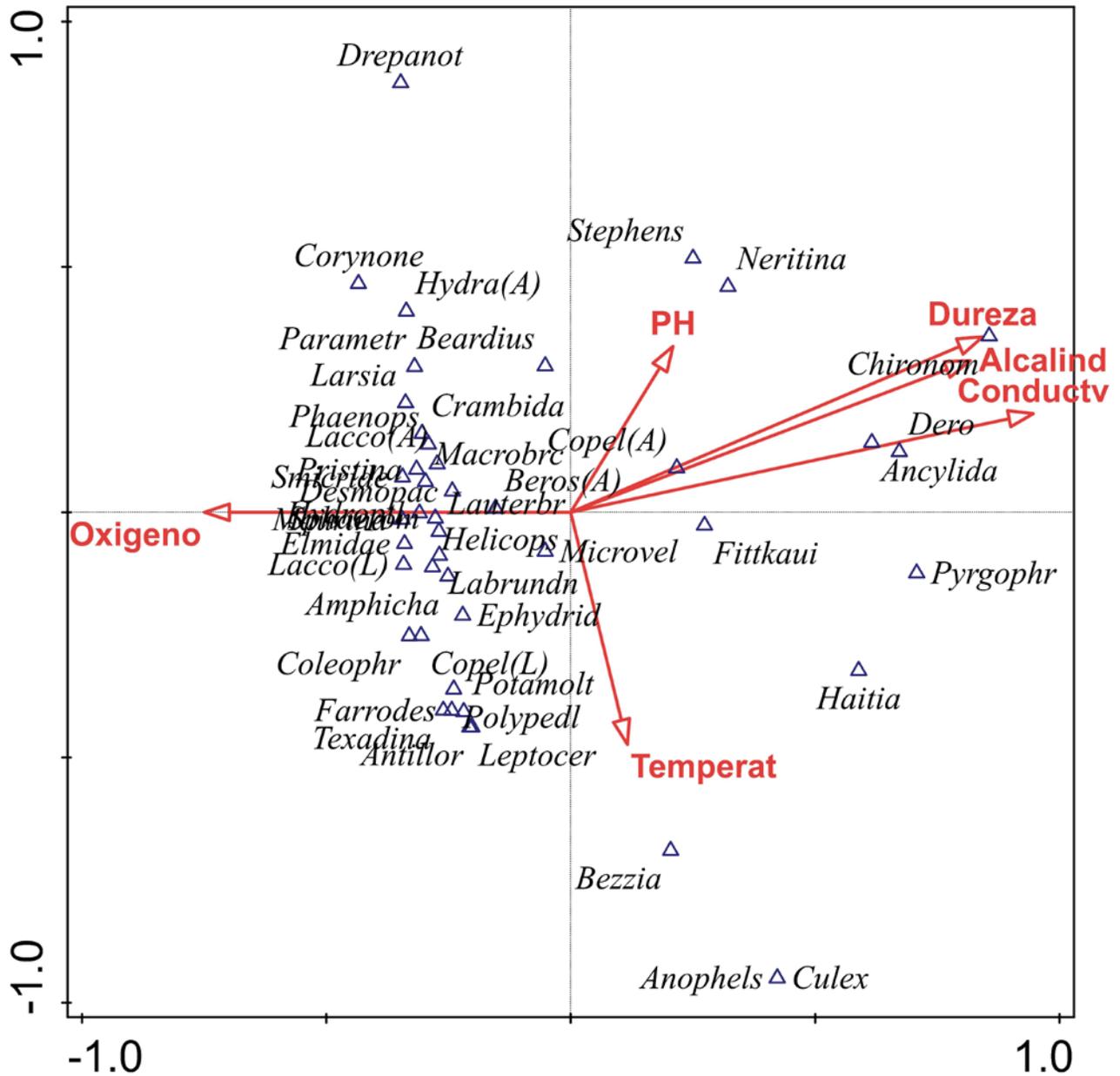


Figura 4. Análisis de correspondencia canónica (ACC) entre las variables ambientales y la abundancia de los taxones. Varianza explicada Comp. 1 = 38,8% y Comp. 2 = 17,23%. Test de permutación Monte Carlo $p = 0,002$. Para géneros de coleópteros, **A.** adulto. **L.** larva.

Rasgos funcionales. De acuerdo con los ponderados de aparición de los rasgos funcionales en los tres sistemas de la isla de Providencia, las categorías dominantes por rasgo fueron: preferencia por el microhábitat de rocas en rápidos, consumo de detritus fino y grueso, hábitos tróficos colector-recolector y fragmentador, respiración por tegumento, ningún tipo de protec-

ción del cuerpo y estuches-caparazones, forma de desplazarse: andando, duración del ciclo de vida de más de un año, más de un ciclo de vida por año, reproducción por nidadas cementadas o fijas y ninguna forma de resistencia seguida de diapausa-latencia (figura 5).

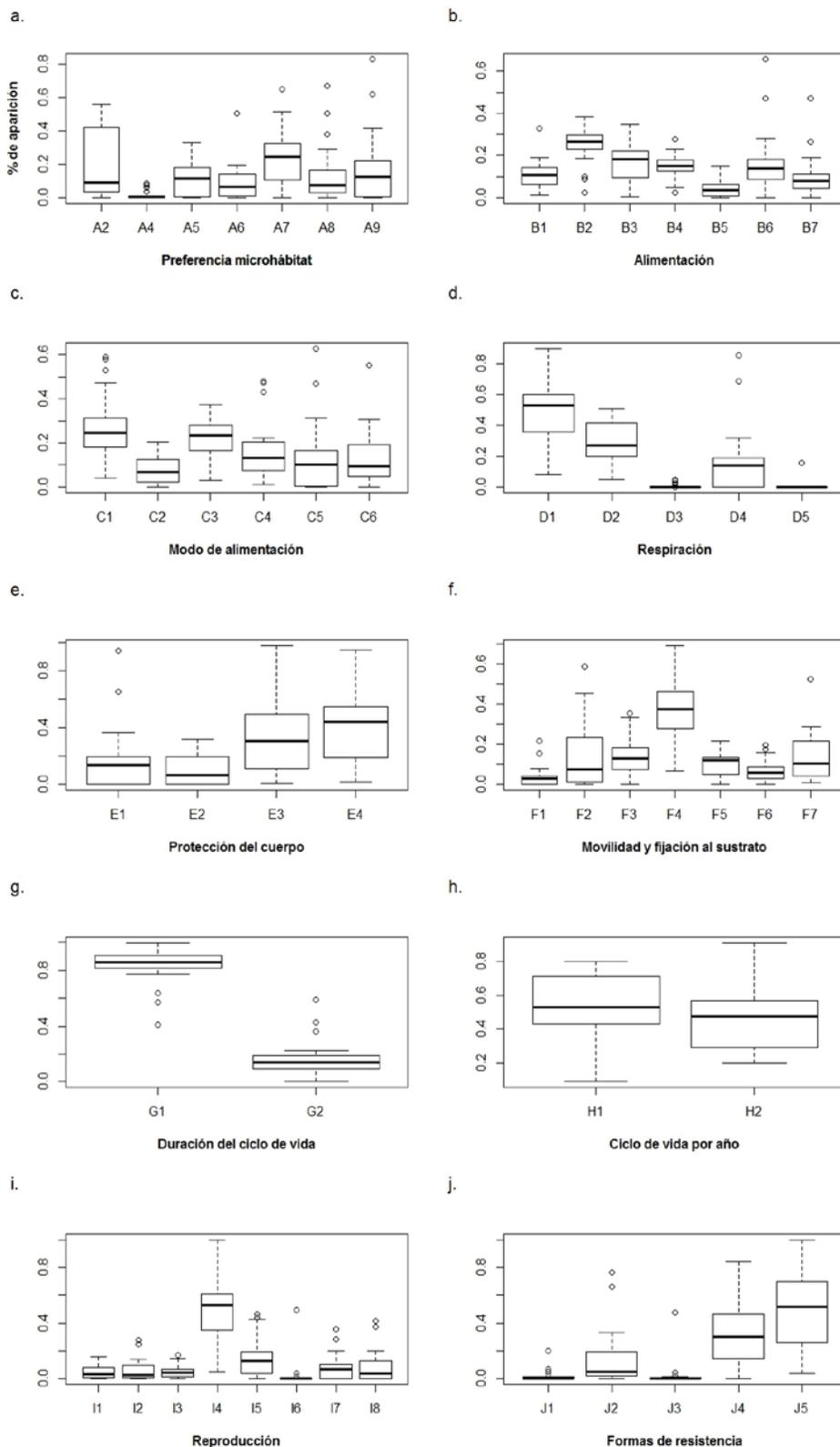


Figura 5. Diagrama de caja y bigotes para los ponderados de aparición de las categorías de cada rasgo funcional en los tres ríos. **A.** A2: Hojarasca corriente lenta y nula, A4: Macrófitos, algas filamentosas corriente lenta, A5: Piedras $\geq 0,3\text{ m}$ Corriente lenta, A6: Ramas, raíces corriente lenta y nula, A7: Rocas $\geq 0,3\text{ m}</math> Corriente lenta y nula, A8: Rocas $\geq 0,3\text{ m}</math> Corriente rápida, A9: Superficie del agua en corriente lenta y nula. **B.** B1: Partículas de sedimento, B2: Detritus fino, B3: Detritus grueso, B4: Microfitas, B5: Macrófitos, B6: Microinvertebrados, B7 Macroinvertebrados. **C.** C1: Colector-recolector, C2: Colector- filtrador, C3: Fragmentador, C4: Raspador, C5: Perforador, C6: Predador. **D.** D1: Tegumento, D2: Branquias, D3: Plastron, D4: Estigmata, D5: Tubo de respiración. **E.** E1: Cuerpo esclerotizado, E2: Moderada esclerotización, E3: Fuerte (estuche, caparazón), E4: Sin adaptación. **F.** F1: Volador F2: Nadador de superficie F3: Nadador completo F4: Caminador F5: Excavador epibentónicos F6: Excavador endobentónicas F7: Temporalmente fijo al sustrato. **G.** G1: ≤ 1 año, G2: > 1 año h. **H.** H1: ≤ 1 , H2: > 1 . **I.** I1: Ovoviviparidad, I2: Huevos aislados y libres, I3: Huevos aislados, cementados, I4: Nidadas, cementadas o fijas, I5: Nidadas, libres, I6: Nidadas, en la vegetación, I7: Nidadas, terrestre, I8: reproducción asexual. **J.** J1: Estatoblastos, gémulas, J2: Capullos, J3: Células contra deshidratación, J4: Diapausa o de latencia, J5: Ninguna.$$

Motta-Díaz et al.

En cuanto a la variación temporal en la frecuencia de aparición de los rasgos se resalta que, todos ($p < 0,0001-0,0006$), excepto los correspondientes a movilidad y fijación al sustrato ($p = 0,0256$) y ciclos de vida por año ($p = 0,0682$), presentaron diferencias significativas entre las dos épocas (tabla 5).

Tabla 5. Valores de significancia la prueba χ^2 realizada a los datos los rasgos funcionales evaluados, entre las temporadas sequía y lluvias altas, para los macroinvertebrados acuáticos habitando ríos de la Isla Providencia, Colombia.

Rasgo	g.l	p
Preferencia microhábitat	6	<0,0001
Alimentación	6	<0,0001
Modo de alimentación	5	<0,0001
Respiración	4	<0,0001
Protección del cuerpo	3	0,0006
Movilidad y fijación al sustrato	6	0,0256
Duración del ciclo de vida	1	0,0005
Ciclos de vida por año	1	0,0682
Reproducción	7	<0,0001
Formas de resistencia	4	<0,0001

Del análisis de correspondencia difusa (ACD) (figura 6) se dedujo que en Lazy Hill en la época de sequía (estaciones 1 y 2) sobresalieron los rasgos: ningún tipo de protección del cuerpo (E4), resistencia contra la desecación en forma de capullos (J2) y más de un ciclo de vida por año (H2); al igual que con forma de movilidad volador (F1) (estación 3). Por otro lado, en época de lluvias, en Lazy Hill (estación 5) resaltaron: reproducción por medio de nidadas cementadas o fijas (I4), menos de un ciclo de vida por año (H1) y protección del cuerpo fuerte con caparazón o estuche (E3); al mismo tiempo que (estación 6) duración del ciclo de vida de más de un año (G1) y hábito trófico colector-recolector (C1). En el río The Peak, en época seca (estación 8), los rasgos destacados fueron: reproducción por medio de nidadas cementadas y

fijas (I4) y protección contra la desecación por medio de diapausa (J4); al mismo tiempo que (estación 9) duración de ciclo de vida de menos de un año (G2). En Old Town, en época seca (16, 17 y 18), los principales rasgos fueron: hábito trófico raspador (C4) y duración del ciclo de vida de menos de un año (G2).

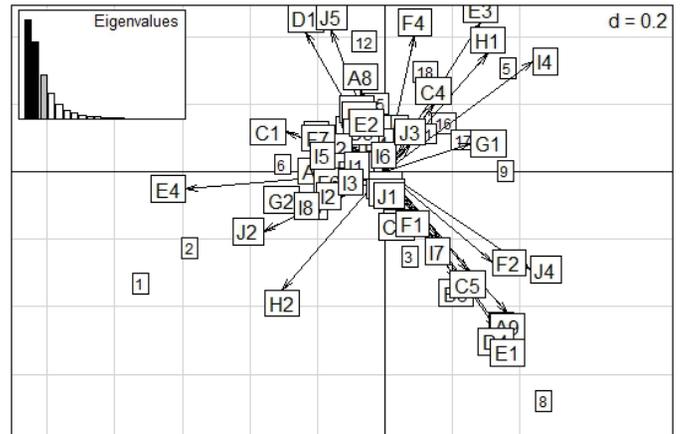


Figura 6. Agrupación de las categorías de rasgos de macroinvertebrados en relación con la variación temporal en los ríos de estudio de la isla de Providencia, basado en el Análisis de Correspondencia difusa. Los cuadrados grandes representan los códigos de las categorías mencionados en la Figura 5 y los cuadrados pequeños señalan las estaciones. **1, 2, 3:** Lazy Hill en época seca; **4, 5, 6, 7:** Lazy Hill en época de lluvia; **8, 9, 10, 11, 12:** The Peak en época seca; **13, 14, 15:** The Peak en época de lluvia; **16, 17, 18:** Old Town en época seca; **19, 20, 21:** Old Town en época de lluvias. Porcentaje de inercia proyectado: eje 1 (37,77%), eje 2 (17,63%). (Para los códigos de los rasgos ver Figura 5).

En cuanto al ACC, la varianza total de los rasgos funcionales fue de 0,48 y el porcentaje de varianza explicado por las 6 variables fisicoquímicas fue de 45,8%. En el primer eje se explica 37,48% de la varianza y en el segundo, el 30,83% (figura 7). De esta manera, el primer eje se relacionó con valores bajos de oxígeno disuelto y altos de dureza total, alcalinidad y con la conductividad eléctrica, así como con alta frecuencia de las categorías de rasgos: forma de resistencia a la sequía por medio de capullos (J2), formas de reproducción asexual (I8), huevos aislados y libres (I2), huevos aislados, cementados (I3) y preferencia hojarasca en pozos como microhábitat (A2). El segundo eje se relacionó con valores altos de pH y temperatura hídrica y con alta frecuencia del rasgo resistencia a la desecación por medio de células contra la deshidratación (J3).

DISCUSIÓN

Variabes físicas y químicas. Se registró temporalidad en las condiciones físicas y químicas, referida a diferencias en la cantidad o presencia de flujo subsuperficial como consecuencia de los cambios en la precipitación pluvial y en la temperatura

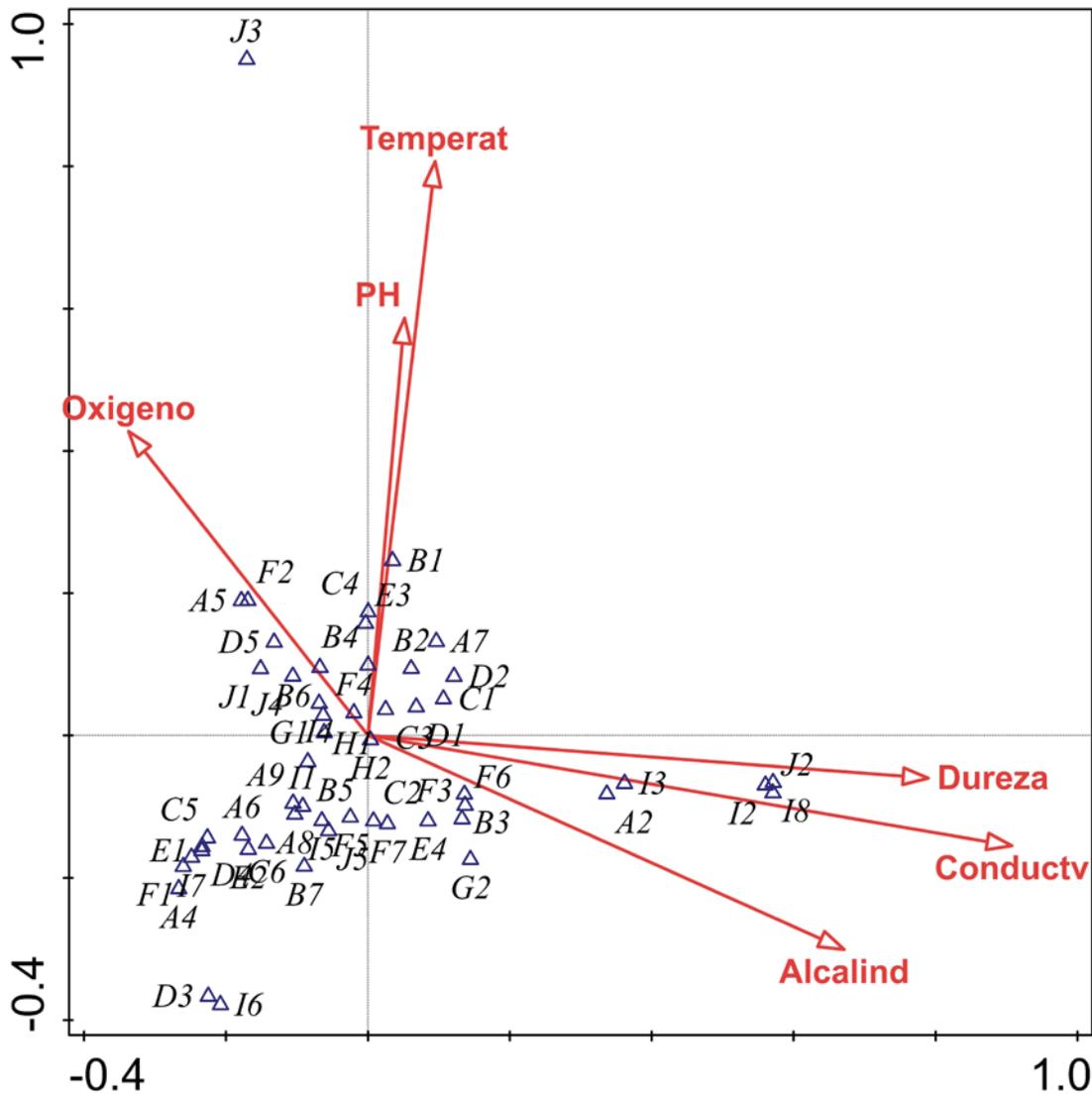


Figura 7. Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) entre las variables ambientales y las categorías de los rasgos funcionales de los macroinvertebrados muestreados en tres ríos de la isla de Providencia, Colombia. Varianza explicada Comp. 1 = 37,48% y Comp. 2 = 30,83%. Test de permutación Monte Carlo $p = 0,004$. (Para los códigos de los rasgos ver Figura 5).

ambiental, cambios que son típicos en los bosques secos tropicales. En esta dinámica, uno de los procesos que cobra relevancia es la descomposición de hojarasca que, en las temporadas secas, se acumula en cantidades considerables en los pozos aislados que se forman debido a la ausencia de caudal. En dichos pozos, entonces, no sólo sube la temperatura del agua sino que también disminuyen las concentraciones de OD y aumentan las de gas carbónico debido a la descomposición y se incrementa en aproximadamente 11 veces la conductividad eléctrica y siete veces la dureza total y la alcalinidad, producto de la supresión de la dilución de iones provenientes de la roca ígnea insular con un consecuente aumento del pH a unidades entre neutras y alcali-

nas. A estas y otras modificaciones, tanto del canal –incluyendo conexiones longitudinales y laterales–, como de las condiciones físicas y químicas del agua, deben responder los diferentes organismos de los macroinvertebrados para persistir y garantizar su progenie (Allan y Castillo 2007).

Macroinvertebrados. A pesar del aislamiento de la isla de Providencia (a 271 km de Nicaragua y a 855 km de Colombia), la riqueza de taxones encontrada es alta en comparación con lo registrado para otras islas tropicales tales como Gorgona (48 géneros/morfotipos Longo y Blanco 2014b). También influye en la riqueza y en la abundancia encontrada, la estacionalidad

Motta-Díaz et al.

del caudal; por tanto, la distancia al continente y la estacionalidad de las lluvias podrían ser los filtros iniciales para la colonización y el establecimiento de nuevos taxones en la isla.

De acuerdo con Cortés-Guzmán y Ospina-Torres (2014), la fauna acuática de la isla de Providencia es una combinación de elementos de Centroamérica, Suramérica y Las Antillas, en la que Chironomidae, Coleoptera y Trichoptera figuran, al igual que en este trabajo, entre los grupos más representativos por la riqueza de géneros/morfotipos. En este trabajo, los taxones con mayor abundancia fueron el oligoqueto *Dero*, el insecto *Microvelia* y el gastrópodo *Pyrgophorus*. Ellos presentan distribuciones generalizadas a través de las islas del Caribe y también son comunes en ríos intermitentes. En general, en las islas se ha encontrado que la mayor riqueza reside en Insecta, puesto que los organismos alados tienen rasgos funcionales que favorecen la movilidad en largas distancias (Bass 2003, Longo et al. 2009). Sin embargo, en la isla de Providencia se relata también la riqueza de Gastropoda (9 géneros/morfotipos) y de Oligochaeta (5 géneros), organismos que tienen distribución pasiva y rasgos –escasamente estudiados– que les permiten tolerar y sobreponerse a la desecación, aprovechando los cambios en los niveles del agua para reproducirse y redistribuirse aguas abajo (Longo et al. 2010).

En cuanto a la variación estacional, se encontró menor riqueza de taxones en la época seca, lo que podría asociarse, como ha sido sugerido en otras investigaciones (Beche et al. 2006, Bogan y Lytle, 2011, Covich 1998, Longo et al. 2010), con alternancia de presencia–ausencia durante los periodos seco–lluvias, determinada por la sensibilidad a la disminución o ausencia del caudal, momento con limitada capacidad de sobrevivir en los pozos en donde se presentan bajas concentraciones de oxígeno disuelto y altos valores de conductividad eléctrica, de alcalinidad y de dureza total, entre otros. Una de las estrategias de los insectos para sobrellevar la sequía es el proceso de emerger, así pasan la temporada en el medio terrestre–aéreo. En contraste, se ha encontrado en algunos ríos intermitentes del Mediterráneo que la riqueza de taxones aumenta durante la época de sequía en comparación con la temporada de inundación, esto estaría relacionado con la predictibilidad de la época de sequía en estos ecosistemas y el papel de sistemas intermitentes como zonas de refugio de la fauna de quebradas efímeras (Bogan et al. 2015, Bonada et al. 2007, Maasri et al 2008, Skoulikidis et al. 2017).

En cuanto a los rasgos, se encontró que organismos como *Ancylidae* Mf., *Pyrgophorus*, *Anopheles* y *Culex* (presentes únicamente durante la temporada seca) y *Dero*, *Haitia*, *Neritina*, *Labrundinia*, *Microvelia* y *Laccophilus* (comunes a las épocas seca y de lluvias), poseen rasgos de resistencia frente a las condiciones ambientales extremas de la época seca. Por otro lado, la fauna que se encontró solo en época de lluvia (v. g. *Macrobrachium*, *Polypedilum*, *Corynoneuria*, *Helicopsyche* y *Farrodes*) tiene rasgos de resiliencia que le permite evitar estas condiciones. De esta forma, en la época seca, *Chironomus*, *Ancylidae* Mf., *Pyrgophorus*, *Haitia*, y *Dero* resistieron disminución en las concentraciones de oxígeno disuelto y aumento en las concentraciones de dureza total y alcalinidad, así como incrementos de

la conductividad eléctrica. Esta resistencia se atribuye a la presencia de estructuras tales como branquias (*Dero*, *Ancylidae* Mf., *Pyrgophorus*), conchas para proteger el cuerpo o pigmentos como la hemoglobina (*Chironomus*), así como de mecanismos especializados que les permiten salvaguardarse de dichas condiciones. Estas formas de especialización de los macroinvertebrados ante las condiciones físicas y químicas adversas encontradas en la isla de Providencia concuerdan con lo hallado para ríos intermitentes de Australia, España y Estados Unidos (Beche et al. 2006, Bonada et al. 2007, Dézerald et al. 2015, Huryn et al. 2008, Stubbington et al. 2016).

Así, los rasgos que se asociaron con la época de sequía son: resistencia contra la desecación en forma de capullos o estuches y diapausa, duración de ciclo de vida de menos de un año y más de un ciclo de vida por año y el hábito trófico–raspador. Por otro lado, las categorías que se asocian con la época de lluvia son: duración del ciclo de vida de más de un año, menos de un ciclo de vida por año, protección del cuerpo fuerte con caparazón o estuche y hábito trófico colector–recolector. Lo anterior concuerda con lo encontrado por Dézerald et al. (2015) y Stubbington et al. (2016) para ríos intermitentes y Torrez-Zambrano y Torrez-Zambrano (2016) para ríos perennes.

Teniendo en cuenta que en las dos épocas se presentaron, en proporción similar, organismos que utilizan estuches o capullos, se destaca la importancia de esta adaptación para sobrellevar tanto condiciones de sequía como de corriente en época de lluvias. Así, se registra que algunas larvas de Chironomidae y ciertos oligoquetos Naididae, construyen capullos de barro en el fondo de pozos con el fin de hacer frente a las sequías prolongadas (Pennak 1989, Tokeshi 1995); igualmente, Epler (1992) afirmó que los estuches transportables de *Lauterboniella*, hechos de pequeños granos de arena, pueden servir como protección contra la corriente. Adicionalmente, se registró en este trabajo la capacidad de *Beardius* para fabricar casas y adherirlas a la hojarasca y dado que solo se encontraron en la época de lluvias, se presume que este estuche puede servir como adaptación a la corriente y como una estrategia para captar alimento, ya que *Beardius* se alimenta de materia orgánica particulada fina.

Otra de las estrategias asociada con la época de sequía es la diapausa; así, por ejemplo, se ha documentado que huevos del hemíptero *Microvelia* pueden entrar en diapausa en época de lluvias intensas y permanecer así hasta que la velocidad del agua disminuya (Muraji y Nakasuji 1990). A pesar que la diapausa solo se asoció con organismos encontrados en la época de sequía, se registra que *Polypedilum* (encontrado en la isla de Providencia durante las lluvias), también presenta diapausa en forma de larva durante la temporada seca, la cual puede durar incluso años y luego “emerge” inmediatamente cuando vuelven las lluvias (Huryn et al. 2008). En América del Norte, organismos de este género son los primeros en habitar los pozos después de una sequía extrema (Lampert y Sommer 2007).

En cuanto a los ciclos de vida, según Hynes (1970), habría tres tipos: estacional lento, estacional rápido y no estacional.

En la isla de Providencia, los ciclos de vida que se asociaron con las condiciones de temporalidad correspondieron a los estacionales, los cuales se presentan de forma característica en organismos que habitan sistemas lóuticos intermitentes (Huryn et al. 2008, Jackson y Sweeney 1995, McDonough et al. 2011). De esta forma, en la isla de Providencia, en la época de sequía, se encontraron ciclos rápidos-estacionales, considerando que la mayoría de individuos completan su ciclo en menos de un año y en general tienen más de una generación por año, tal es el caso de *Microvelia*, *Beardius* y *Chironomus*. En cambio, en la época de lluvias, prevalecieron organismos con ciclos de vida de más de un año, con menos de una generación por año; este tipo de ciclo corresponde a lento estacional y es propio de *Laccophilus*, entre otros. Estos patrones concuerdan con lo registrado por Bogan et al. (2015) y Dézerald et al. (2015) para ríos intermitentes de Europa.

Respecto al hábito trófico, en la época seca abundaron organismos raspadores, lo que coincide con lo reportado por Muñoz (2003) para un río intermitente del Mediterráneo. Dicha condición se asocia con el aumento de la productividad primaria durante esta época. Igualmente, en los tres ríos de la isla de Providencia, se evidenció alta proliferación de perifiton en la superficie de la hojarasca y de las piedras durante esta época. En cambio, en la época de lluvia, dominaron organismos colectores-recolectores que utilizan la MOPF como recurso principal. Estos resultados concuerdan con lo registrado para quebradas continentales de Colombia por Torrez-Zambrano y Torrez-Zambrano (2016). Sin embargo, en estudios realizados en quebradas de la isla Gorgona (Longo y Blanco 2014b, Longo et al. 2015) y la parte central de los Andes colombianos (Chará-Serna et al. 2012), destacan la riqueza y abundancia de los fragmentadores especializados, diferente a lo observado en los arroyos de la isla de Providencia, ya que los taxones tienen roles que combinan la fragmentación de hojarasca y de MOPG con la recolección y la recolección de MOPF desde los sedimentos. En contraste, en ríos continentales e intermitentes de la zona templada, la variación temporal en el hábito trófico está marcada por organismos macrodepredadores en aguas bajas y por raspadores y filtradores en aguas altas (Amundrud y Srivastava 2016, Bonada et al. 2007, Williams 1996).

Por otro lado, los rasgos que se relacionan con bajas concentraciones de oxígeno disuelto y con altos registros de conductividad eléctrica, dureza total y alcalinidad, registrados para la época seca son: rasgos de historia de vida y hábito trófico. Por ejemplo, Dero puede sobrellevar la disminución en el nivel del agua y los cambios en las condiciones físicas y químicas al utilizar la reproducción asexual para la autopropagación (Armendáriz 2008, Christensen 1984); condición evidenciada mediante la recolección de organismos organizados en cadenas (zooides). Se resalta también la hojarasca acumulada en los pozos durante la época seca ya que jugó un papel relevante como alimento (tanto para fragmentadores como para los raspadores y recolectores) y como sustrato (Blanco et al. 2015, Valencia et al. 2009).

CONCLUSIONES

La condición ambiental de los ríos está determinada por la temporalidad de las lluvias con los consecuentes cambios del flujo superficial en el lecho, sumado a la dinámica en la acumulación de hojarasca en los pozos aislados formados durante la temporada seca, así como con las inundaciones en la época de lluvias. Sin embargo, a pesar que los cambios son aparentemente extremos, cada temporada es aprovechada por un grupo de taxones que a través de sus rasgos aprovechan las circunstancias o sobreviven. De tal manera que los cambios no son catastróficos para el mantenimiento de la diversidad taxonómica de la comunidad.

Se corroboró, en parte, que durante la época seca se presentaría menor diversidad y riqueza de macroinvertebrados y que los rasgos funcionales asociados a esta época confieren a los organismos resistencia ante condiciones extremas, especialmente asociadas a la drástica variación del régimen hidrológico, altas conductividades eléctricas y alcalinidad, y bajas concentraciones de oxígeno disuelto. Mientras que los rasgos sobresalientes en la época de lluvia se relacionan con la resistencia a velocidades de corriente altas (protección con caparazón o estuches, ciclos de vida lentos estacionales, hábito trófico colector recolector y ciclo de vida largo).

Se recomienda para estudios posteriores sobre rasgos funcionales de macroinvertebrados en ríos intermitentes insulares: a) realizar más muestreos tratando de abarcar todo el ciclo de las lluvias durante varios años; b) incluir muestras de la zona hiporreica y de fitotelmas; y c) evaluar el rasgo funcional de movimiento hacia el mar (organismos diádromos y anádromos) y su asociación con la temporalidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los revisores anónimos por los valiosos aportes realizados al manuscrito. Al grupo de investigación UDESA de la UPTC por el apoyo logístico en la realización del trabajo de campo y de laboratorio; a Rodolfo Ospina, Mariano Michat, Patricia Torres, Silvia Mazzucconi y Raúl Campos por la confirmación de las determinaciones taxonómicas de organismos pertenecientes a Diptera, Coleoptera y Hemiptera; a Cesar Motta y Daniela Cortez por su apoyo en la recolección de muestras y a los pobladores de la Isla Old Providence por su guía e información acerca del área de estudio.

REFERENCIAS

- Aguilera M. 2010. Geografía económica del archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina. Cartagena (Colombia): Banco de la república: centro de estudios económicos regionales (CEER). p.73.
- Allan JD, Castillo MM. 2007. Stream Ecology: Structure and function of running waters. Inglaterra: Chapman y Hall. p. 436.
- Amundrud SL, Srivastava DS. 2016. Trophic interactions determine the effects of drought on an aquatic ecosystem. *Ecology*, 97 (6): 1475-1483. DOI: 10.1890/15-1638.1

Motta-Díaz et al.

- Armendáriz LC. 2008. Ciclo de vida de Dero (*Aulophorus*) *costatus* Marcus, 1944 (Tubificidae, Oligochaeta) en un cuerpo de agua con vegetación flotante en las talas, Argentina. Gayana (Concepción), 72 (1): 23-30.
- Barroso CX, Matthews-Cascon H. 2009. Spawning and intra-capsular development of *Neritina zebra* (Bruguière, 1792) (Mollusca: Gastropoda: Neritidae) under laboratory conditions. Invertebrate Reproduction and Development, 53 (3): 137-143.
- Bass D. 2003. A Comparison of Freshwater Macroinvertebrate Communities on Small Caribbean Islands. BioScience, 53 (11): 1094-1100. DOI: 10.1641/0006-3568(2003)053[1094:ACOFMC]2.0.CO;2
- Beche LA, Mcelravy EP, Resh VH. 2006. Long-term seasonal variation in the biological traits of benthic-macroinvertebrates in two Mediterranean-climate streams in California, USA. Freshwater Biology, 51 (1): 56-75. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2005.01473.x
- Belvédère TT. 2014. Reproductive Biology, Ecology and Brief Description of the Alien *Isopoda Sphaeroma* (Walker, Stebbing 1905) in Tunis Southern Lagoon (Tunisia: Central Mediterranean). Paripex: Indian Journal of Research, 3 (8): 175-179.
- Bichuette ME, Trajano E. 2003. A population study of epigeal and subterranean *Potamolithus* snails from southeast Brazil (Mollusca: Gastropoda: Hydrobiidae). Hydrobiologia, 505 (1-3): 107-117. DOI: 10.1023/B:HYDR.0000007299.26220.b8
- Blanco JF, Scatena FN. 2007. The spatial arrangement of *Neritina virginea* (Gastropoda: Neritidae) during upstream migration in a split-channel reach. River Research and Applications, 23 (3): 235-245. DOI: 10.1002/rra.974
- Blanco JF, Tamayo S, Scatena FN. 2014. Phenotypic variability of the shell in Neritinae (Gastropoda: Neritimorpha) in Puerto Rican rivers. Revista de Biología Tropical, 62 (Suppl 2): 53-68.
- Blanco JF, Contreras E, Giraldo LP. 2015. El flujo y la transformación de la materia orgánica: proceso ecosistémico maestro en las cuencas pericontinentales. En: Lasso CA, Blanco-Libreros JF y Sánchez-Duarte P. XII. Cuencas pericontinentales de Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. p. 171-188.
- Boag DA, Pearlstone PS. 1979. On the life cycle of *Lymnaea stagnalis* (Pulmonata: Gastropoda) in southwestern Alberta. Canadian Journal of Zoology, 57 (2): 353-362.
- Bogan MT, Lytle DA. 2011. Severe drought drives novel community trajectories in desert stream pools. Freshwater Biology, 56 (10): 2070-2081. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2011.02638.x
- Bogan MT, Boersma KS, Lytle DA. 2015. Resistance and resilience of invertebrate communities to seasonal and suprasedimental drought in arid-land headwater streams. Freshwater Biology, 60 (12): 2547-2558. DOI: 10.1111/fwb.12522
- Bonada N, Prat N, Resh V, Statzner B. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. Annual Review of Entomology, 51: 495-523. DOI: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151124
- Bonada N, Rieradevall M, Prat N. 2007. Macroinvertebrate community structure and biological traits related to flow permanence in a Mediterranean river network. Hydrobiologia, 589: 91-106. DOI: 10.1007/s10750-007-0723-5
- Boulton A. 1989. Over-summering refuges of aquatic macroinvertebrates in two intermittent streams in Central Victoria. Transactions of The Royal Society of South Australia, 113: 23-34.
- Brinkhurst RO. 1971. A guide for the identification of British aquatic Oligochaeta. Toronto: Freshwater Biological Association. p. 55.
- Brinkhurst RO, Wetzel MJ. 1984. Aquatic Oligochaeta of the world: supplement a catalogue of new freshwater species descriptions, and revisions. Sidney: Canadian Technical Report of Hydrography and Ocean Sciences No. 44. p. 109.
- Byers GW, Gelhaus JK. 2008. Tipulidae. En: Merritt RW, Cummins KW, Berg MB. An introduction to the aquatic insects of North America. USA: Kendall Hunt Publishing Company. p. 773-800.
- Chará-Serna AM, Chara JD, Zúñiga MDC, Pearson RG, Boyero L. 2012. Diets of leaf litter-associated invertebrates in three tropical streams. Annales de Limnologie-International Journal of Limnology, 48 (2): 139-144. DOI: 10.1051/limn/2012013
- Chen WY. 2004. Insecta: Diptera, Tipulidae. En: Yule CM, Yong HS. Freshwater invertebrates of the Malaysian region. Kuala Lumpur: Academy of Sciences Malaysia. p. 775-785.
- Chevenet F, Dolédec S, Chessel D. 1994. A fuzzy coding approach for the analysis of long-term ecological data. Freshwater Biology, 31: 295-309. DOI: 10.1111/j.1365-2427.1994.tb01742.x
- Christensen B. 1984. Asexual propagation and reproductive strategies in aquatic Oligochaeta. Hydrobiologia, 115 (1): 91-95. DOI: 10.1007/BF00027898
- Clarke KR. 1993. Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. Australian Journal of Ecology, 18:117-143. DOI: 10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x
- Clifford H. 1966. The Ecology of Invertebrates in an Intermittent Stream. Investigations of Indiana lakes y streams, 7 (2): 57-98.
- Cranstons_Chiroprage [Internet]. 2010. UC Davis Department of Entomology and Nematology. Fecha de acceso: 21 de octubre de 2014. Disponible en: <http://chirokey.skullisland.info/references/>
- Cortés-Guzmán D, Ospina-Torres R. 2014. Comunidades de macroinvertebrados acuáticos en quebradas de la Isla de Providencia, mar Caribe colombiano. Intropica, 9: 9-22. DOI: 10.21676/23897864.1421
- Cortés-Guzmán D, Linares EL. 2016. Gasterópodos dulceacuícolas de Providencia, archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Colombia. Acta Zoológica Mexicana (n. s.), 32 (1): 101-110.
- Courtney GW, Webb DW, Merritt RW. 2008. Aquatic Diptera. En: Merritt RW, Cummins KW, Berg MB. An Introduction to the Aquatic Insects of North America USA: Kendall - Hunt Publishing Company. p. 687-772.
- Covich AP. 1988. Geographical and historical comparisons

- of neotropical streams: biotic diversity and detrital processing in highly variable habitats. *Journal of the North American Benthological Society*, 7 (4): 361-386. DOI: 10.2307/1467297
- Cummins KW. 1973. Trophic relations of aquatic insects. *Annual Review of Entomology*, 18 (1): 183-206.
- Datry T, Fritz K, Leigh C. 2016. Challenges, developments and perspectives in intermittent river ecology. *Freshwater Biology*, 61 (8): 1171-1180. DOI: 10.1111/fwb.12789/full
- Deonier DL, Regensburg JT. 1978. Biology and immature stages of *Parydra quadrituberculata* (Diptera: Ephydriidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 71 (3): 341-353.
- Dézerald O, Céréghino R, Corbara B, Dejean A, Leroy C. 2015. Functional trait responses of aquatic macroinvertebrates to simulated drought in a Neotropical bromeliad ecosystem. *Freshwater Biology*, 60 (9): 1917-1929. DOI: 10.1111/fwb.12621
- Dieterich M, Anderson N. 2000. The invertebrate fauna of summer-dry streams in western Oregon. *Archiv für Hydrobiologie*, 147 (3): 273-295. DOI: 10.1127/archiv-hydrobiol/147/2000/273
- Dillon RT. 2000. *The ecology of freshwater molluscs*. Cambridge: Cambridge University Press. p. 509.
- Ding N, Yang W, Zhou Y, González-Bergonzoni I, Zhang J, Chen K, Vidal N, Jeppesen E, Liu Z, Wang, B. 2017. Different responses of functional traits and diversity of stream macroinvertebrates to environmental and spatial factors in the Xishuangbanna watershed of the upper Mekong River Basin, China. *Science of The Total Environment*, 574: 288-299. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.053
- Ditrich T, Papáček M. 2009. A question of voltinism of *Microvelia reticulata* (Veliidae) and *Mesovelia furcata* (Mesoveliidae) (Heteroptera: Gerromorpha) in Central Europe. *České Buďějovice*, 20-23.
- Dole-Olivier M, Marmonier P, Beffy J. 1997. Response of invertebrates to lotic disturbance: is the hyporheic zone a patchy refugium? *Freshwater Biology*, 37 (2): 257-276. DOI: 10.1046/j.1365-2427.1997.00140.x
- EPA. 2014. [Internet]. United States Environmental Protection Agency. Fecha de acceso: 1 de octubre de 2014. Disponible en: <<http://www.epa.gov/ncea/global/traits/>>
- Epler JH. 1992. *Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of Florida*. Orlando: Department of environmental regulation state of Florida. p. 526.
- Fernández H, Domínguez E. 2001. Guía para la identificación de los artrópodos bentónicos suramericanos. Tucumán: Universidad Nacional de Tucumán- Facultad de Ciencias Naturales e Instituto M. Lillo. p. 654
- Foot BA. 1990. Biology and immature stages of *Coenia curvicauda* (Diptera: Ephydriidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 98 (1): 93-102.
- Gaviria EA. 1993. Claves para las especies colombianas de las familias Naididae y Tubificidae (Oligochaeta, Annelida). *Caldasia*, 17 (2): 237-248. DOI: 10.15446/caldasia
- Gelthaus JK. 2002. *Manual for identification for aquatic Crane Fly larvae for southeastern United States*. Durham: Carolina Area Benthological Workshop. p. 206.
- Gómez-Aguirre AM, Longo-Sánchez MC, Blanco JF. 2009. Macroinvertebrate assemblages in Gorgona Island streams: spatial patterns during two contrasting hydrologic periods. *Actualidades Biológicas*, 31 (91): 161-178.
- Gómez-López D, Segura-Quintero C, Sierra-Correa P, Garay-Tinoco J. 2012. Descripción física del archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina. En: I. y. Coralina, Atlas reserva de la biosfera seaflower: Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina. Santa Marta: Instituto de Investigaciones Marinas y costeras "Jose Benito Vives de Andréiss" INVEMAR y corporación para el Desarrollo Sostenible del Archipiélago de San Andrés Providencia y Santa Catalina -CORALINA-. Serie de Publicaciones Especiales de INVEMAR. p. 35-53.
- Gore JA. 2007. Discharge measurements and streamflow analysis. En: Hauer FR and Lamberti GA. *Methods in stream ecology*. San Diego (USA): Academic Press. p. 51-79.
- Graziani CA, Chung KS, De Donato M. 1993. Comportamiento reproductivo y fertilidad de *Macrobrachium carcinus* (Decapoda: Palaemonidae) en Venezuela. *Revista Biología Tropical*, 41 (3): 657-665.
- Guisande C, Vaamonde A, Barreiro A. 2011. Tratamiento de datos con S, STATISTICA y SPSS. España: Ediciones Díaz de Santos. p. 933.
- Hooper DU, Solan M, Symstad A, Diaz S, Gessner MO, Buchmann N. 2002. Species diversity, functional diversity and ecosystem functioning. En: M. Loreau, S. Naeem, y P. Inchaust, *Biodiversity and ecosystem functioning: synthesis and perspectives*. United States: Oxford University Press. p. 195-208.
- Hurny AD, Wallace JB, Anderson NH. 2008. Habitat, life history, secondary production and behavioral adaptation of aquatic insect. En: Merritt RW, Cummins KW y Berg MB. *An introduction to the aquatic insects of North America*. USA: Kendall Hunt Publishing Company. p. 55-104.
- Hynes HB. 1970. The ecology of stream insects. *Annual Review of Entomology*, 15 (1): 25-42.
- Jackson JK, Sweeney BW. 1995. Egg and larval development times for 35 species of tropical stream insects from Costa Rica. *Journal of the North American Benthological Society*, 14 (1): 115-130. DOI: 10.2307/1467728
- Junk WJ, Bayley PB, Sparks RE. 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Canadian special publication of fisheries and aquatic sciences*, 106 (1): 110-127.
- Labbe T, Fausch KD. 2000. Dynamics of intermittent stream habitat regulate persistence of a threatened fish at multiple scales. *Ecological Applications*, 10 (6): 1774-1791.
- Lake P. 2003. Ecological effects of perturbation by drought in flowing waters. *Freshwater Biology*, 48: 1161-1172. DOI: 10.1046/j.1365-2427.2003.01086.x
- Lampert W, Sommer U. 2007. *Limnology: The ecology of lakes and stream*. New York: Oxford University Press. p. 323.
- Larned ST, Datry T, Arscott DB, Tockner K. 2010. Emerging concepts in temporary-river ecology. *Freshwater Biology*, 55 (4): 717-738. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2009.02322.x
- Lepš J, Šmilauer P. 2003. *Multivariate analysis of ecological data*

Motta-Díaz et al.

- using CANOCO. Cambridge: Cambridge University Press. p. 269.
- Longo M, Blanco J. 2009. Sobre los filtros que determinan la distribución y la abundancia de los macroinvertebrados diádromos y no-diádromos en cada nivel jerárquico del paisaje fluvial en islas. *Actualidades Biológicas*, 31 (91): 179-195.
- Longo M, Blanco J. 2014a. Shredders are abundant and species-rich in tropical continental-island low-order streams: Gorgona Island, Tropical Eastern Pacific, Colombia. *International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 62: 85-105. DOI: 10.15517/rbt.v62i0.15980
- Longo M, Blanco J. 2014b. Patterns at Multi-Spatial Scales on Tropical Island Stream Insect Assemblages (Gorgona Island Natural National Park, Colombia, Tropical Eastern Pacific). *Revista de Biología Tropical*, 62 (Suppl. 1): 65-83. DOI: 10.15517/rbt.v62i0.15979
- Longo M, Cortés-Guzmán D, Contreras E, Motta A, Blanco-Libreros JF, Lasso CA, Ospina R. 2015. La entomofauna y otros macroinvertebrados acuáticos de sistemas insulares y pericontinentales de las cuencas del Pacífico y Caribe, Colombia. En: Lasso CA, Blanco-Libreros JF y Sánchez-Duarte P. XII. Cuencas pericontinentales de Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. p. 141-169.
- Longo M, Gómez-Aguirre A, Blanco J, Zamora-González H. 2009. Cambios multianuales y espaciales de la composición y estructura del ensamblaje de insectos acuáticos en las quebradas perennes de la Isla Gorgona, Colombia. *Actualidades Biológicas*, 31 (91): 141-160.
- Longo M, Zarnora H, Guisande C, Ramírez JJ. 2010. Dinámica de la comunidad de macroinvertebrados en la quebrada Potrerillos (Colombia): Respuesta a los cambios estacionales de caudal. *Limnetica*, 29 (2): 195-210.
- Luiza-Andrade A, de Assis Montag LF, Juen L. 2017. Functional diversity in studies of aquatic macroinvertebrates community. *Scientometrics*, 111 (3): 1643-1656 DOI 10.1007/s11192-017-2315-0
- Maasri A, Dumont B, Claret C, Archambaud-Suard G, Gandouin E, Franquet É. 2008. Tributaries under Mediterranean climate: their role in macrobenthos diversity maintenance. *Comptes Rendus Biologies*, 331 (7): 547-558. DOI: 10.1016/j.crv.2008.04.009
- McCafferty P, Provonsha A. 1981. *Aquatic Entomology*. Boston: Science Books International. p. 449.
- McDonough O, Hosen J, Palmer M. 2011. Temporary streams: The hydrology, geography and ecology of non-perennially flowing waters. En: Elliot H, y Martin L. *River ecosystems: Dynamics, management and conservation*. Hauppauge, NY: Nova Science Publishers, Inc. p. 259-290.
- Merritt RW, Cummins KW, Berg MB. 2008. *An introduction to the aquatic insects of North America*. USA: Kendall Hunt Publishing Company. p. 1158.
- Muñoz I. 2003. Macroinvertebrate community structure in an intermittent and a permanent Mediterranean streams (NE Spain). *Limnetica*, 22 (3-4): 107-116.
- Muraji M, Nakasuji F. (1990). Effect of photoperiodic shifts on egg production in a semi-aquatic bug, *Microvelia douglasi* (Heteroptera: Veliidae). *Applied Entomology and Zoology*, 25 (3): 405-407.
- Nava M, Severejn H, Machado N. 2011. Nava, M., Distribución y taxonomía de *Pyrgophorus platyrachis* (Caenogastropoda: Hydrobiidae), en el Sistema de Maracaibo, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 59 (3): 1165-1172.
- Pennak R. 1989. *Fresh Water Invertebrates of the United States - Protozoa to Mollusca*. New York: John Wiley y Sons, INC. p. 628.
- Pla L, Casanoves F, Di Rienzo J. 2012. *Quantifying Functional Biodiversity*. Venezuela: Springer. p. 96.
- Rodriguez-Capítulo A, Muñoz I, Bonada N, Gaudes A, Tomanova S. 2009. La biota de los ríos: los invertebrados. En: Elosegi A, Sabater S. *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. España: Fundación BBVA. p. 253-270.
- Schmera D, Heino J, Podani J, Er s T, Dolédec S. 2017. Functional diversity: a review of methodology and current knowledge in freshwater macroinvertebrate research. *Hydrobiologia*, 787 (1): 27-44. DOI: 10.1007/s10750-016-2974-5
- Skoulikidis NT, Sabater S, Datry T, Morais MM, Buffagni A, Dörlinger G, Zogaris S, Sánchez-Montoya MM, Bonada N, Kalojianni E, Rosado J, Vardakas L, De Girolamo AM, Tockner K. 2017. Non-perennial Mediterranean rivers in Europe: status, pressures, and challenges for research and management. *Science of The Total Environment*, 577: 1-18. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.147
- Southwood TE. 1977. Habitat, the templet for ecological. *Journal of Animal Ecology*, 46: 337-365.
- Statzner B, Bady P, Dolédec S, Schöll F. 2005. Invertebrate traits for the biomonitoring of large European rivers: an initial assessment of trait patterns in least impacted river reaches. *Freshwater Biology*, 50 (12): 2136-2161. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2005.01447.x
- Stubbington R, Gunn J, Little S, Worrall TP, Wood PJ. 2016. Macroinvertebrate seedbank composition in relation to antecedent duration of drying and multiple wet-dry cycles in a temporary stream. *Freshwater Biology*, 61 (8): 1293-1307. DOI: 10.1111/fwb.12770
- Tachet H, Richoux P, Bournaud M, Usseglio-Polatera P. 2000. *Invertébrés d'eau douce: systématique, biologie, écologie*. Paris: CNRS Editions.
- Tokeshi M. 1995. Life cycles and population dynamics. En: Armitage PD, Cranston P, Pinder LC. *The Chironomidae: biology and ecology of non-biting midges*. Londres: Chapman y Hall. p. 225-251.
- Tomanova S. 2007. Functional aspect of macroinvertebrate communities in tropical and temperate running waters. [PhD thesis]. [Brno (Czech Republic)]: Masaryk University.
- Tomanova S, Usseglio-Polatera P. 2007. Patterns of benthic community traits in neotropical streams: relationship to mesoscale spatial variability. *Fundamental and Applied Limnology*. *Archiv für Hydrobiologie*, 170 (3): 243-255. DOI: 10.1127/1863-9135/2007/0170-0243
- Tomanova S, Moya N, Oberdorff T. 2008. Using macroinvertebrate biological traits for assessing biotic integrity of neotropical

- streams. *River Research and Applications*, 24 (9): 1230-1239.
DOI: 10.1002/rra.1148
- Torres-Zambrano NN, Torres-Zambrano DR. 2016. Macroinvertebrados acuáticos de la quebrada Los Alisos, Firavitoba-Boyacá. *Intropica*, 11: 47-56. DOI: 10.21676/23897864.1860
- Townsend CR, Hildrew AG. 1994. Species traits in relation to a habitat templet for river. *Freshwater Biology*, 31: 265-275.
DOI: 10.1111/j.1365-2427.1994.tb01740.x
- Valencia D, Campos M. 2007. Freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) of Colombia. *Zootaxa*, 1456: 1-44.
- Valencia SM, Pérez GA, Lizarazo PX, Blanco JF. 2009. Patrones espacio-temporales de la estructura y composición de la hojarasca en las quebradas del Parque Nacional Natural Gorgona. *Actualidades Biológicas*, 31(91): 197-211.
- Violle C, Navas ML, Vile D, Kazakou E, Fortune C, Hummel I, Garnier E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116 (5): 882-892. DOI: 10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x
- Williams D. 1996. Environmental constraints in temporary fresh waters and their consequences for the insect fauna. *Journal of the North American Benthological Society*, 15 (4): 634-650.
- Williams D, Hynes HB. 1977. The ecology of temporary streams II. General remarks on temporary streams. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 62 (1): 53-6.

MATERIAL SUPLEMENTARIO:

Se puede encontrar información adicional de respaldo en la versión en línea de este artículo

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

Actualidades Biológicas [Actual. Biol. ISSN 0304-3584, ISSNe 2145-7166] es una revista de acceso abierto, especializada en la publicación de manuscritos inéditos de alta calidad, productos de la investigación en ciencias biológicas. La revista recibe manuscritos durante todo el año y publica anualmente dos números en los meses de julio y diciembre. Ocasionalmente publica un suplemento especializado en un tema de importancia actual.

Se publican los siguientes tipos de material: **artículos de investigación** (artículos científicos completos), **revisiones**, **comunicaciones**, **cartas al Editor** y **reseñas de libros**. Para las definiciones de los tipos de artículos se siguen los criterios del Índice Bibliográfico Nacional Publindex de Colciencias, 2010. <http://goo.gl/zQFJwk>

NORMAS EDITORIALES

Preparación y envío del material

Las contribuciones pueden escribirse en español o inglés y serán publicadas en el idioma en que sean enviadas. **No se aceptan trabajos ya publicados o que estén sometidos en otra revista.** Los manuscritos deben acompañarse con una carta de presentación firmada por todos los autores donde declaren que el manuscrito es inédito, están de acuerdo con todo el contenido y no está sometido a otra revista. Se aceptan declaraciones enviadas por correo electrónico a la dirección de la Revista <revistabiologia@udea.edu.co>.

Tanto la publicación electrónica como la impresa no tienen costo para los autores, excepto para las páginas impresas con figuras a color; el costo se informará a los autores una vez se tenga la cotización de la imprenta.

La recepción de cada manuscrito se notificará vía correo electrónico y será revisado inicialmente por el Comité Editorial. Los manuscritos que no se ajusten estrictamente con las instrucciones de la revista, se devolverán sin acuso de recibo. Posteriormente serán evaluados por al menos dos expertos en el tema. El sistema de evaluación es de doble anonimato; los autores desconocerán la identidad de los evaluadores y los evaluadores desconocerán la identidad de los autores. Sin embargo, si los autores o los evaluadores desean ser reconocidos y adherirse al sistema abierto de revisión por pares, lo pueden expresar mediante un correo electrónico al Editor General. La aceptación para la publicación se basará en la pertinencia, la calidad científica y en el ajuste estricto a las instrucciones y normas de *Actualidades Biológicas*. Se sugiere a los autores incluir en la carta de presentación el nombre, la afiliación y el correo electrónico de cuatro posibles evaluadores. Después de publicado un manuscrito, cada autor recibirá una copia impresa del número respectivo de la Revista.

Todos los archivos del manuscrito deberán enviarse al correo

electrónico de la Revista. En el correo deberán adjuntarse la carta de presentación y tres carpetas: **1)** carpeta "Texto" conteniendo el texto del manuscrito, **2)** carpeta "Tablas" con los archivos de todas las tablas del manuscrito (un archivo por cada tabla) y **3)** carpeta "Figuras" con los archivos de todas las figuras (un archivo por cada figura) más un archivo con las leyendas de las figuras.

Pautas generales para el envío y la elaboración del manuscrito

Para el estilo de los artículos recomendamos revisar el último número publicado: <<https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/actbio>>.

Todos los archivos correspondientes al texto, tablas y leyendas de las figuras deben ser elaborados y guardados cada uno como un archivo Word (en formato .doc, .docx o .rtf) y cada figura como un archivo .jpg o .tiff (preferible). Todo el manuscrito debe estar escrito en estilo "Normal", con letra tipo "Times New Roman" de tamaño 12 puntos, en papel tamaño carta (215 x 280 mm u 8,5 x 11 pulgadas), con márgenes de 3 cm en todos los lados, a doble espacio y por una sola cara. Todas las líneas y páginas del manuscrito deben estar enumeradas consecutivamente. En el encabezado de cada página, en la parte superior izquierda, escriba el apellido del autor o los apellidos unidos por un guion (si son más de tres autores, escriba los apellidos del primer autor, seguido por "et al.")

Por favor, tenga presente las siguientes indicaciones para la edición del manuscrito: **1)** use siempre un sólo espacio de barra entre palabras, luego de coma, punto y coma, dos puntos, paréntesis, punto seguido, etc. (no debe usar espacios dobles de barra); **2)** entre párrafo y párrafo sólo debe haber un retorno; es decir, un "enter", incluso después de títulos, sin ninguna línea en blanco; **3)** no utilice los comandos "Final de sección" o "Salto de página"; **4)** en el sistema operativo Windows, el guion tipográfico, largo o raya (—) debe escribirse con las teclas ALT + 0151. Éste es usado para abrir diálogos, encerrar frases explicativas o incisos y reemplazar números de una lista. En este último caso debe haber un espacio entre la raya y el texto externo (v. g.: "Los resúmenes —ambos en inglés y español— deben..."); **5)** el guion que se usa entre palabras y números es el del teclado. Por ejemplo: físico-químico, 1978-1998 (note que no hay espacio entre los rangos); **6)** cuando utilice tipo de letra cursiva o negrilla, tenga presente que los signos de puntuación que le siguen deben ir con este mismo tipo de letra (por ejemplo: *Palabras clave*., **Cultivos celulares**.); **7)** no debe haber hipervínculos en todo el manuscrito.

Cuando los trabajos presentados describen nuevas especies o se utilizaron especímenes testigo (*vouchers*), es imperativo que se indique claramente el nombre de la especie, el número de colección, el nombre de la colección y el sitio exacto y detallado donde están depositados los ejemplares tipo (incluyendo las coordenadas geográficas), y el sitio exacto y detallado de colecta (incluyendo las coordenadas geográficas). Asimismo, se

¹<http://www.colciencias.gov.co/sites/default/files/upload/paginas/M304PR02G01-guiaserviciopermanente-indexacion.pdf>

debe indicar el colector o colectores y los correspondientes números de colección.

Los nombres científicos de las especies se deben escribir en cursiva. Se debe escribir el nombre científico completo (*Género especie*) junto con el apellido del autor y el año, sólo cuando se citan por primera vez en el texto (no en el Título ni en el Resumen); de ahí en adelante se abrevia (*G. especie*).

A continuación, se describe el estilo de presentación de los artículos.

Artículos de investigación

Título: escribirlo en español e inglés. La primera letra debe ser mayúscula; las restantes, mientras no sean nombres propios, en minúscula. Los nombres científicos, completos y en cursiva. Después del nombre de la especie escribir entre paréntesis la familia taxonómica. No adicionar en el título los autores o el año de descripción de las especies.

Autor (es) y afiliación: en la primera línea escribir el nombre y los apellidos de todos los autores (en el caso de dos apellidos por autor, escribirlos unidos por un guion). En la segunda línea escribir las direcciones postal y electrónica de cada autor; señalar con superíndice la afiliación de cada uno. Señalar con un * el autor para correspondencia.

Resumen: escribirlo en español e inglés. No debe superar 250 palabras.

Palabras clave: escribirlas en español e inglés separadas por coma; máximo seis y organizadas en orden alfabético ascendente. No deben incluir palabras del título. Sugerimos usar tesauros específicos o disciplinares de acuerdo con el contenido del tema del manuscrito.

Texto: los subtítulos **INTRODUCCIÓN, MATERIALES y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN, AGRADECIMIENTOS y REFERENCIAS** deben ser escritos con mayúscula sostenida y negrilla; además, deben ir justificados al margen izquierdo. Los subtítulos secundarios deben ir justificados al margen izquierdo y en negrilla; en estos casos, solo la primera letra debe ir en mayúscula. La Introducción debe explicitar el problema de investigación y el propósito del trabajo. Los Materiales y Métodos deben ser escritos con suficiente detalle para que investigadores diferentes a los autores puedan reproducir el trabajo y los resultados. En el texto de los Resultados no debe presentarse información repetida en las tablas y figuras. En la Discusión no debe repetirse la información detallada en las secciones precedentes. Se sugiere que la Discusión termine con un párrafo que describa las principales conclusiones del trabajo. En los Agradecimientos se mencionan las fuentes de financiación del trabajo y las personas que lo apoyaron, pero cuya contribución no justifica el ser autores.

Las tablas y figuras se mencionan en el texto dentro de paréntesis, sin abreviarlas y escritas con letras minúsculas sostenidas; por ejemplo (tabla 1), (figura 1). Deben ir en orden secuencial ascendente.

Las abreviaturas, los símbolos y los términos estadísticos de uso infrecuente en la literatura biológica deben definirse la primera vez que se mencionen en el texto; por ejemplo "satélites meteorológicos de la serie NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration)". Para las unidades de medida debe usarse el sistema métrico decimal, excepto en citas textuales. Los números enteros hasta diez, cuando no van seguidos de unidades, se escriben con la palabra y mayores de diez con el número. Los números seguidos de un símbolo deberán separarse por un espacio (100 m, 50 mL). Los símbolos o abreviaturas se escriben con minúsculas; excepto la K de la unidad Kelvin de temperatura; la A de la unidad de corriente eléctrica y del amperio; la M de concentración molar y la L de litro. No utilice puntos después de ninguna abreviatura común (g, mm, m, km, ha, l), excepto la de etcétera (etc.). Ningún símbolo deberá expresarse como plural (kg, m, etc.). Para los valores "p" de significancia estadística deberá utilizarse la letra p en minúscula y cursiva. Las coordenadas geográficas se escriben con grados, minutos y segundos: (por ejemplo, 4°46' 52" N y 75°24' 0" W); N es el símbolo de norte y W de oeste. Para expresar altitud se utiliza la abreviatura m s. n. m. En manuscritos escritos en español las cifras de miles deben ir separadas por punto y las decimales por coma; en inglés debe ser al contrario; separar las cifras de miles por coma y las decimales por punto. En los números inferiores a 10,000 no se separan las cifras de miles (por ejemplo: 2018, 9999,99).

Tablas: deben presentarse en archivos separados del texto y dentro de la carpeta: "Tablas". Cada tabla debe ser elaborada en estilo "Normal" y guardada como un archivo "Word" o "Excel" en una página separada de las demás. Si hay más de una tabla se deben enumerar de acuerdo con su orden en el texto. Después del número va el título separado por un punto seguido (Tabla 1. Características ambientales de los bosques húmedos). Cada tabla debe citarse con su respectivo número (por ejemplo, tabla #). No se aceptan tablas enviadas en formatos "PowerPoint" o de imagen.

Figuras (incluyen dibujos, fotografías y gráficas). Se deben presentar en archivos separados, con formatos jpg o tiff (preferible) con una resolución original o inicial de al menos 300 puntos por pulgada (300 dpi). El tamaño de las figuras debe ser aproximadamente igual al tamaño en que saldrán publicados (no se aceptan figuras de tamaño mayor a 21,5 x 28 cm). Generalmente los tamaños originales de las figuras publicadas se reducen entre los 6 y 16 cm de ancho. Todos los rótulos, números, símbolos y letras dentro de las figuras deben ser comprensibles y legibles cuando se reduzcan para la publicación; sugerimos que sean escritos en letra tipo "Arial", "Times", "Symbol" o "Helvética". No se aceptan figuras en "PowerPoint", "Excel", "Word" o formatos equivalentes. La publicación impresa de páginas que incluyen fotografías, gráficas o dibujos a color tendrá un costo que se cobrará a los autores cuando el Editor reciba la cotización de la imprenta. Todas las leyendas de las figuras deben imprimirse en una página aparte y adjuntarla al final del manuscrito. Si los autores desean que alguna (s) de sus figuras aparezca (n) en la portada del número impreso, deben enviar las

leyendas de las figuras escritas en español e inglés. Pero será potestad del equipo editorial elegir las figuras de la portada.

Comunicaciones cortas y Revisiones

Se exigen las mismas pautas que para los artículos de investigación, aunque no es obligatorio el uso de subtítulos en las secciones: Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Todos deben llevar (en español e inglés): Título, Resumen, Palabras clave y (solo en español) Agradecimientos y Referencias. Las revisiones hechas por autores invitados a publicar en *Actualidades Biológicas* se someterán a las mismas normas editoriales que todos los manuscritos.

Referencias bibliográficas

La revista *Actualidades Biológicas* acogió el estilo de citación y referencias del Consejo de Editores Científicos (Council of Science Editors, CSL), tal como se describen en: <http://www.scientificstyleandformat.org/Tools/SSF-Citation-Quick-Guide.html>. Para citar artículos científicos en el texto y construir una lista de referencias, recomendamos fuertemente usar gestores de referencias tales como EndNote, Zotero, Mendeley, etc. No es necesario ser exhaustivo en las citaciones, pero es importante que estas sean citas de calidad; es decir, que correspondan precisamente al texto citado. Es importante revisar que todas las citas que aparecen en el texto estén listadas en la sección **REFERENCIAS**.

En lo posible evite citar resúmenes presentados en congresos y eventos, excepto cuando sean ponencias en extenso publicadas en suplementos de revistas indexadas. También evite citar "comunicaciones personales", a no ser que sea información esencial que no se encuentra en publicaciones formales. Si la "comunicación personal" no procede de uno de los autores del artículo, se debe enviar una comunicación (puede ser por correo electrónico) de tal persona en la cual acepta la inclusión de su información en el texto. Informe el nombre de la persona y la fecha en la cual se efectuó la comunicación; por ejemplo: (Jaramillo-O 2108, comunicación personal). Esta cita no se incluye en el listado de referencias.

A continuación, se transcriben los ejemplos más comunes del formato CSE.

1. Citar en el texto.

El formato de citación es "autor(es) año". Cuando se parafrasean ideas no es obligatorio indicar el número de página de la fuente documental; por ejemplo: (Rollin 1998), ...según Rollin (1998). Cuando la cita reproduce al pie de la letra un texto de otro autor, éste debe ir entre comillas y se debe citar la página; por ejemplo: "la economía no está integrada mientras..." (Gutiérrez 1957, p. 45). Según Gutiérrez (1957, p. 45), "la economía no está integrada mientras...". Observe la coma antes de "p. 45".

Cuando la cita tenga uno o dos autores, se deben mencionar ambos apellidos; por ejemplo: (Altucci y Gronemeyer 2001), ... según Altucci y Gronemeyer (2001). Cuando la cita tenga más de

dos autores se menciona el apellido del primer autor seguido de la expresión "et al.". Por ejemplo: (Leng et al. 2004).

Cuando se citan organizaciones, se debe usar el nombre completo la primera vez y luego la sigla; por ejemplo: La Organización de las Naciones Unidas (ONU 2009) indicó cómo presentar una declaración a ciertos grupos de interés... (primera mención). La ONU (2009) indicó cómo presentar una declaración a ciertos grupos de interés... (segunda mención).

Cuando hay dos o más citas seguidas se deben organizar por orden alfabético, separadas por punto y coma. Los trabajos de un mismo autor se deben organizar en orden cronológico ascendente e identificar con las letras a, b, c, etc. cuando tengan el mismo año de publicación; por ejemplo: (Grisales et al. 2010, Panzera et al. 2006, Panzera et al. 2007a, 2007b).

2. Referencias.

Se listarán en orden alfabético ascendente, según los apellidos de los autores. Las obras sin nombre de autor se referencian por el título del documento. Las obras del mismo autor se organizan en orden cronológico ascendente. Cuando el autor tiene dos obras en el mismo año se agrega a, b, c, etc. al año de publicación. Se incluirá el "identificador digital de objeto" (DOI) cuando exista. Para los documentos de versión electrónica se indicará el "localizador uniforme de recursos" (URL) o el DOI. No se incluyen fechas de consulta, a menos que el material de la fuente pueda cambiar con el tiempo. Los nombres de las revistas deben ser completos (no abreviados).

Ejemplos de referencias más comunes:

2.1. Libros

Apellido Inicial del nombre, Apellido Inicial del nombre. Año. Título del libro: Subtítulo. No. ed. – en caso de no ser la primera edición – Ciudad: Editorial.

Lincoln R, Boxshall G, Clark P. 1998. A dictionary of ecology, evolution, and systematics. 2nd ed. New York: Cambridge University Press.

2.2. Libro por editores

Apellido Inicial del nombre, Apellido Inicial del nombre, editores. Año. Título del libro. No. ed. – en caso de no ser la primera edición – Ciudad: Editorial.

Merritt RW, Cummins KW, Berg MB, editores. 2008. An introduction to the aquatic insects of North America. 4th ed. Dubuque (IA): Kendall/Hunt Pub Co.

2.3. Capítulo o sección de libro

Apellido Inicial del nombre, Apellido Inicial del nombre. Año. Título del capítulo. En: Apellido Inicial del nombre, Apellido Inicial del nombre editores. Título del libro. No. ed. – en caso de no ser la primera edición – Ciudad: Editorial. p. – intervalo de páginas – Hooghiemstra H, Van der Hammen T, Cleef A. 2002. Paleocología de la flora boscosa. En: M Guariguata, G Kattan editores.

Ecología y conservación de bosques neotropicales. Cartago (Costa Rica): Libro Universitario Regional. p. 43–58.

2.4. Libro electrónico

Apellido Inicial del nombre. Año. Título del libro: Subtítulo. Ciudad: Editorial; [fecha de acceso]. URL o DOI.
O'Connor CM, Adams JU. 2010. Essentials of Cell Biology. Cambridge (MA): NPG Education; [fecha de acceso enero 23, 2018]. <https://www.nature.com/wls/ebooks/essentials-of-cell-biology-14749010>.

2.5. Artículo de revista impresa

Apellido Inicial del nombre², Apellido Inicial del nombre. Año. Título del artículo. Nombre completo de la Revista, No. de volumen(No. de serie): – No. de página inicial-No. de página final del artículo –. URL o DOI.
Thomas F, Doyon J, Elguero E, Dujardin JP, Brodeur J, Roucher C, Roberta, V, Missé D, Raymond M, Trape JF. 2015. Plasmodium infections and fluctuating asymmetry among children and teenagers from Senegal. *Infection Genetics and Evolution*, 32: 97–101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2015.02.018>.

2.6. Artículo de revista electrónica

Apellido Inicial del nombre, Apellido Inicial del nombre. Año. Título del artículo. Nombre completo de la Revista, [fecha de acceso]; No. de volumen(No. de serie): URL o DOI.
Jaramillo-O N, Fonseca-González I, Chaverra-Rodríguez D. 2014. Geometric morphometrics of nine field isolates of *Aedes aegypti* with different resistance levels to Lambda-Cyhalothrin and relative fitness of one artificially selected for resistance. *PLoS ONE*. [fecha de acceso enero 24, 2018]; 9(5). DOI:10.1371/journal.pone.0096379.

2.7. Patente

Apellido Inicial del nombre, Apellido Inicial del nombre, inventores; Apellido Inicial del nombre u organización titular de la patente, asignatario. País de expedición de la patente y código de la patente. Fecha de publicación. URL o DOI – si está disponible –. Blanco EE, Meade JC, Richards WD, inventores; Ophthalmic Ventures, asignatarios. Surgical stapling system. United States patent US 4,969,591. Nov 13, 1990.

2.8. Página o portal electrónico

Se siguen las mismas normas que para las referencias impresas; sin embargo, se adiciona la fecha de actualización o revisión (si está disponible), la fecha de acceso y el URL.
Autor(es) o título de la página electrónica. Año de publicación – si está disponible –. Ciudad: Organización o institución hospedera; [fecha de acceso]. URL.
National Cancer Institute. 2017. Bethesda (MA): National Institute

of Health; [fecha de acceso enero 24, 2018]. <https://www.nih.gov/about-nih/what-we-do/nih-almanac/national-cancer-institute-nci>.

2.9. Artículo en página o portal electrónico

Autor(es) o título de la página electrónica. Año de publicación – si está disponible –. Nombre del artículo. Ciudad: Organización o institución hospedera; [fecha de acceso]. URL.
Restrepo-Toro JD. 2018. Colaboración, clave para la educación rural. Medellín (Colombia): Universidad de Antioquia; [fecha de acceso enero 24, 2018]. <https://goo.gl/o417MM>.

2.10. Blog

Apellido inicial del nombre. Fecha de publicación. Título del post [blog]. Título del blog. [fecha de acceso]. URL.
Lents NH. Enero 15, 2108. A New Method to Detect Natural Selection in Genes [blog]. *The Human Evolution Blog*. [fecha de acceso: enero 24, 2018]. <https://thehumanevolutionblog.com/2018/01/15/a-new-method-to-detect-natural-selection-in-genes/>

2.11. Tesis/Disertación

Autor(es). Año. Título de la tesis [tesis]. [Ciudad]: universidad o institución.
Jaramillo N. 2000. Partición en tamaño y forma de los caracteres métricos y su interés en los estudios poblacionales aplicados a los Triatominae [Tesis de Doctorado]. [Medellín (Colombia)]: Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia.

2.12. Reporte técnico o documento oficial

Autor(es). Año. Título del reporte o documento. Ciudad: Institución. Referencia del reporte o documento. URL – si está disponible –
Ford PL, Fagerlund RA, Duszynski DW, Polechla PJ. 2004. Fleas and lice of mammals in New Mexico. Fort Collins (CO): USDA Forest Service Rocky Mountain Research Station. General Technical Report No. RMRS-GTR-123.
World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. Geneva: World Health Organization; 2017. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2017/en/

Correspondencia

El material se debe enviar a:

Editor, Revista Actualidades Biológicas

Instituto de Biología, Bloque 7.

Universidad de Antioquia

Calle 70 No. 52 - 21 | Apartado Aéreo 1226

Medellín (Antioquia), Colombia

Teléfono: (57) (4) 219 56 27

revistabiologia@udeaa.edu.co

<https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/actbio>

². Artículos con más de 10 autores: liste los primeros 10 y continúe con la expresión et al.

SUBMISSION GUIDELINES

Actualidades Biológicas [Actual. Biol. ISSN 0304-3584, ISSNe 2145-7166] is an open access journal for unpublished articles of high quality that are the product of biological science research. The journal receives manuscripts throughout the year and publishes two issues a year, in July and December. Occasionally, a supplement that focuses on a current important topic is published.

The following types of material are published: **research articles** (full articles), **short communications, reviews, letters to the editor** and **book reviews**. For the definitions of the types of articles, we follow the criteria of the National Bibliographic Index Publindex, Colciencias, 2010 <<http://goo.gl/zQFJwk1>>

EDITORIAL RULES

Preparation and submission of manuscripts

Documents may be submitted in Spanish or English and will be published in the language in which they are submitted. **Articles that have been previously published or that have been submitted to other journals will not be accepted.** The manuscripts must be accompanied by a cover letter signed by all the authors stating that they are in agreement with all the content, that the manuscript is unpublished and it has not been sent to another journal. Declarations are accepted by email. Please inform the author for correspondence.

The electronic publication and the printed one do not have cost for the authors, except for the printed pages with figures in color; the cost will be reported to the authors once we have the quote of the printing press.

The reception of each manuscript will be notified via email and will be initially reviewed by the Editorial Committee. Manuscripts must conform strictly to the standards of the journal; otherwise, they will be returned to the corresponding author, without acknowledging receipt. After the initial review, each manuscript will be evaluated by at least two experts in the subject. All manuscripts submitted to the journal are treated as confidential documents. The evaluation process is double-blind peer review; authors are unaware of the identity of reviewers, and reviewers are also unaware of the identity of the authors. However, if the authors or reviewers wish to be recognized and adhere to the open peer review system, they can express it by e-mail to the General Editor. It is suggested that the authors include in the cover letter the name, affiliation and email of four possible evaluators. Acceptance for publication will be based on relevance, scientific quality and strict adherence to the instructions for style that are presented below. Each author will receive a printed copy of the respective issue of the Journal.

All manuscript files must be sent to the General Editor by email. In the mail, the corresponding author must attach the cover letter and three folders: "Text" folder with the text of the manuscript; Fol-

der "Tables" with the files of the table; and the folder "Figures" with the figures files (a file for each figure) plus a file of the legends of the figures.

Preparation and submission of the manuscript

We recommend reviewing the last issue published in <https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/actbio>. All documents of the manuscript must be saved and sent as a Word file (doc, docx or rtf format) except figures which must be saved as a jpg or tiff file (preferable).

The entire manuscript must be written in the "Normal" style, with "Times New Roman" font size 12 points, on letter size paper (215 x 280 mm or 8.5 x 11 inches), with margins of 3 cm in all the sides, double spaced. All lines and pages of the manuscript must be numbered consecutively. The surnames of the authors should appear in the upper left corner (if there are more than three authors, write the surnames of the first author, followed by et al.).

Please observe the following rules when preparing the text: **1)** one space should always be used between words, after commas, semicolons, colons, parentheses, etc. (do not place double spaces); **2)** between paragraphs there should only be one carriage return, including after titles; **3)** page breaks or section endings must not be used; **4)** the typographic hyphen or dash should be written with the keystrokes ALT + 0151. This is used to: open dialogs, close explicative phrases or inserts, and replace numbers in a list. In the latter case, there should be a space between the hyphen and the text; **5)** the hyphen used between words and numbers is that of the keyboard. e.g. Margalef-Ramírez, 1978-1998 (note that there is no space between the ranges); **6)** when italic or bold text is used, recall that the punctuation marks that follow carry the same font style [Examples: *Key words*.; **Cellular cultures**.]; **8)** It must not have any hyperlink to web addresses in all manuscript.

When new species are described or voucher specimens are used, it is imperative that the species' name, the name and the number of the collection, the collectors' names, the place where the specimens are deposited (including the geographic coordinates), and the place of collection (including the geographic coordinates) must be clearly indicated.

Scientific names should be written in italics. The full scientific name of the species (Genus species) must be written together with the author's surname and the year, only when they are cited for the first time in the text (not in Title or Abstract), thereafter it should be written abbreviated (G. species).

Below we describe the style of presentation of the articles.

Research papers

Title: write it in Spanish and English. The first letter must be

¹. <http://www.colciencias.gov.co/sites/default/files/upload/paginas/M304PR02G01-guiaserviciopermanente-indexacion.pdf>

capitalized; the following in lowercase, except for proper names. The scientific names, complete and in italics. Write the taxonomic family in parentheses after the name of the species. Do not add species' authors or year of description of the species in the title.

Author (s) and affiliation: write on the first line names and surnames of the authors (in the case of two surnames per author, write them together by a hyphen). Write in the second line, institutional affiliation, postal and electronic addresses of each author; relate with a superscript the affiliation of each one. Use an asterisk (*) for the author for correspondence.

Abstract: write it in Spanish and English. It must not exceed 250 words.

Keywords: write them in Spanish and English; a maximum of six and arranged in ascending alphabetical order. They should not include words of the title. We suggest using specific thesaurus according to the content of the subject of the manuscript.

Text: write in bold capital letters the subtitles: **INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, ACKNOWLEDGMENTS** and **REFERENCES**. In addition, they must be justified in the left margin. Secondary subtitles must also be justified in the left margin and in bold; in these cases, only the first letter must be capitalized. The Introduction should make explicit the research problem and the purpose of the work. The Materials and Methods should be written in sufficient detail so that researchers who are not the authors can reproduce the work and the results. In Results, information in the text should not be repeated in tables and figures. In the Discussion, the information detailed in the previous sections should not be repeated. It is suggested that Discussion ends with a paragraph describing the main conclusions of the work. The Acknowledgments should mention the funding sources and the people who collaborated in the work, but whose contribution does not justify being authors.

Tables and figures should be mentioned in the text in parentheses, without abbreviating them and written in lowercase letters; for example, (table 1), (figure 1). They must be arranged in ascending sequential order.

The abbreviations, symbols and statistical terms of infrequent use in biological literature must be defined the first time they are mentioned in the text; for example, "meteorological satellites of the NOAA series (National Oceanic and Atmospheric Administration)". You must use the metric system, except in textual citations. The whole numbers up to ten, when they are not followed by units, must be written with letters and those greater than ten with the number's symbol. The numbers followed by an abbreviation are separated by a space (100 m, 50 ml). The symbols or abbreviations are written in lowercase; except the K of the Kelvin temperature unit; the A of the electric current unit ampere, the M of molar concentration and the L of liter. There are no end points after any common abbreviation (g, mm, m, km, ha, l), except for etcetera (etc.). No abbreviation is expressed as plural (kg, m, etc.). For "p" values you must use the letter p in lowercase and italics. The

geographical coordinates are written in degrees, minutes and seconds: (e.g. 4° 46' 52" N and 75° 24' 0" W); N is the symbol of north and W of west. To express altitude, use the abbreviation m a. s. l.

In manuscripts written in Spanish, the figures of thousands must be separated by a period and decimals by a comma; in English it is the opposite; the figures of thousands must be separated by comma and the decimals by a period. The figures of thousands in numbers less than 10,000 must not be separated (e.g. 2018, 9999.99).

Tables must be presented in separate files and inside the folder: "Tables". Each table must be elaborated in "Normal" style and saved one by one as Word or Excel file. When there are several tables, each one must be numbered accordance to its order in the text. The table's number is followed by the title of the table, separated by a period (e.g. Table 1. Environmental characteristics of the humid forests). Each table must be cited with its number (e.g. table #). Tables elaborated in PowerPoint or image formats will not be accepted.

Figures (including drawings, photographs and graphics) must be submitted in separate files in jpg or tiff format (preferable) with an original resolution of at least 300 dots per inch (300 dpi). The size of the figures should be approximately equal to the size in which they will be published (figures larger than 21.5 x 28 cm are not accepted). In general, the original sizes of the published figures are reduced between 6 and 16 cm wide. All numbers, symbols and letters within the figures must be legible when reduced for publication; we suggest that they be written in fonts "Arial", "Times", "Symbol" or "Helvetica". Figures are not accepted in PowerPoint, Excel, Word or equivalent formats. Printed pages that include photographs, graphics or color drawings will have a cost that will be charged to the authors when the General Editor receives the price from the printer. All figure captions must be written on a separate page and attached to the end of the manuscript. If the authors wish that their figure (s) appear on the cover of the printed number, they must send the legends of the figures written in Spanish and English; but it will be the editorial team's power to choose the figures on the cover.

Short communications and reviews

The same guidelines are required as for research articles, but the use of subtitles is not mandatory in the sections: Introduction, Materials and methods, Results and Discussion. All must carry (in Spanish and English): Title, Summary, Keywords and (only in Spanish) Acknowledgments and References. Reviews will be subject to the same editorial standards as all manuscripts.

Reference style

Actualidades Biológicas uses "CSL" style, as outlined in the Scientific Style and Format Citation Quick Guide of the Council of Science Editors: <http://www.scientificstyleandformat.org/Tools/SSF-Citation-Quick-Guide.html>.

To cite scientific articles in-text and create a list of references, we recommend using reference managers such as EndNote, Zotero, Mendeley, etc. It is not necessary to be exhaustive in the citations but it is important that they be of quality; that is, they correspond precisely to the cited text. It is important to check that all citations that appear in the text are listed in the REFERENCES section.

If possible, avoid citing abstracts presented at congresses, symposiums, workshops, etc., except when they are conferences published in supplements of indexed journals. Also avoid citing "personal communications," unless it is essential information that is not found in formal publications. If the "personal communication" does not come from one of the authors of the article, a letter must be sent (it may be by email) of the person in which he accepts the inclusion of his information in the text. Report the name of the person and the date on which the communication was made; for example: (Jaramillo-O 2108, personal communication). This is not included in the list of references.

Below we transcribe the most common examples of the CSE style.

1. Citation in text

The format is "author-year". When paraphrasing ideas, it is not mandatory to indicate the page number of the documentary source; e.g. (Rollin 1998), ... according to Rollin (1998). When the citation reproduces a text by another author, it must be enclosed in quotation marks and the page must be cited; e.g. "the economy is not integrated while ..." (Gutiérrez 1957, p.45). According to Gutiérrez (1957, p.45), "the economy is not integrated while ...". Notice the comma before "p. 45".

When the citation has one or two authors, both their surnames should be mentioned; for example: (Altucci and Gronemeyer 2001), ... according to Altucci and Gronemeyer (2001). When the appointment has more than two authors, the last name of the first author is mentioned followed by the expression et al.; e.g. (Leng et al. 2004).

When organizations are cited, the full name should be used the first time and then the acronym; for example: The United Nations Organization (UN 2009) indicated how to present a declaration to certain interest groups ... (first mention). The UN (2009) indicated how to present a declaration to certain interest groups ... (second mention).

When there are two or more citations between the same parentheses, they should be organized in alphabetical order, separated by semicolons. The works of the same author must be organized in ascending chronological order and identified with the letters a, b, c, etc. when they have the same year of publication; e.g. (Grisales et al. 2010, Panzera et al. 2006, Panzera et al. 2007a, 2007b).

2. References

They will be listed in ascending alphabetical order, according to the surnames of the authors. Works without an author's name are referenced by the title of the document. The works of the same author are organized in ascending chronological order. When the

author has two works in the same year he adds a, b, c, etc. to the year of publication. The "digital object identifier" (DOI) will be included when it exists. The "uniform resource locator" (URL) or the DOI will be indicated for the electronic version documents. Accessed dates are not included, unless the source material may change over time. The full name of the journal must be used (no abbreviations).

Examples of most common references:

2.1. Books

Surname Initial of the name. Year. Title. Edition. Place of publication: publisher.

Lincoln R, Boxshall G, Clark, P. 1998. A dictionary of ecology, evolution, and systematics. 2nd. ed. New York: Cambridge University Press.

2.2. Books with author(s) plus editor(s) or translator(s)

Surname Initial of the name, editors. Year. Title. Edition. Place of publication: publisher.

Merritt RW, Cummins KW, Berg MB, editors. 2008. An introduction to the aquatic insects of North America. 4ta ed. Dubuque (IA): Kendall/Hunt Pub Co.

Surname Initial of the name. Year. Title. Edition. Surname Initial name, editors. Place of publication: publisher.

Martin EW. c1978. Hazards of medication. 2nd ed. Ruskin A, Napke E, Alexander SF, Kelsey FO, Farage DJ, Mills DH, Elkas RW, editors. Philadelphia (PA): J.B. Lippincott Company.

2.3. Chapter or book section

Surname Initial of the name. Year. Chapter title. In: Surname Initial of the name editors. Book title. Edition. Place of Publication: Publisher. p. – pages of the chapter –.

Hooghiemstra H, Van der Hammen T, Cleef A. 2002. Paleoeología de la flora boscosa. In: M Guariguata, G Kattan editores. Ecología y conservación de bosques neotropicales. Cartago (Costa Rica): Libro Universitario Regional. p. 43–58.

Surname Initial of the name. Year. Title. Edition. Surname Initial name, editors. Place of publication: publisher.

Martin EW. 1978. Hazards of medication. 2nd ed. Ruskin A, Napke E, Alexander SF, Kelsey FO, Farage DJ, Mills DH, Elkas RW, editors. Philadelphia (PA): J.B. Lippincott Company.

2.4. Electronic book

Surname Initial of the name. Year. Book title. Edition. Place of Publication: Publisher; [access date]. URL or DOI.

O'Connor CM, Adams JU. 2010. Essentials of Cell Biology. Cambridge (MA): NPG Education; [accessed January 23rd, 2018]. <https://www.nature.com/wls/ebooks/essentials-of-cell-biology-14749010>.

². For articles with more than 10 authors, list the first 10 in the end reference, followed by et al.

2.5. Journal article

Surname Initial of the name². Year. Article name. Journal name, Volume(Issue): pages. URL or DOI. Thomas F, Doyon J, Elguero E, Dujardin JP, Brodeur J, Roucher C, Roberta, V, Missé D, Raymond M, Trape JF. 2015. Plasmodium infections and fluctuating asymmetry among children and teenagers from Senegal. *Infection Genetics and Evolution*, 32: 97–101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2015.02.018>.

2.6. Online journal article

Surname Initial of the name, Surname Initial of the name. Date of publication. Title of article. Title of journal (edition). [date updated; date accessed]; Volume(Issue): URL. DOI. Jaramillo-O N, Fonseca-González I, Chaverra-Rodríguez D. 2014. Geometric morphometrics of nine field isolates of *Aedes aegypti* with different resistance levels to Lambda-Cyhalothrin and relative Fitness of one artificially selected for resistance. *PLoS ONE*. [accessed January 23, 2018]; 9(5): <http://journals.plos.org/plosone/article?doi=10.1371/journal.pone.0096379>. DOI:10.1371/journal.pone.0096379.

2.7. Patent

Surname Initial of the name, Surname Initial of the name, inventors; Surname Initial of the name or organization holding the patent, assignee. Country of issuance of the patent and patent code. Publication date. URL or DOI - if available -. Blanco EE, Meade JC, Richards WD, inventors; Ophthalmic Ventures, assignee. Surgical stapling system. United States patent US 4,969,591. Nov 13, 1990.

2.8. Website

The same rules should be followed as for printed references; however, the update or revision date (if available), the access date and the URL are added. Surname Initial of the name or website title. Year – if available -. Place of publication: Organization or host institution; [date accessed]. URL. National Cancer Institute. 2017. Bethesda (MA): National Institute of Health; [accessed January 23rd, 2018]. <https://www.nih.gov/about-nih/what-we-do/nih-almanac/national-cancer-institute-nci>.

2.9. Article in website

Surname Initial of the name, Surname Initial of the name. Date of publication – if available -. Title of article. Place of publication: Organization or host institution; [date accessed]. URL. Restrepo-Toro JD. 2018. Colaboración, clave para la educación rural. Medellín (Colombia): Universidad de Antioquia; [accessed January 23rd, 2018]. <https://goo.gl/o417MM>.

2.10. Blog

Surname Initial of the name. Date of publication. Title of post

[blog]. Title of blog. [accessed date]. URL. Lents NH. January 15th, 2018. A New Method to Detect Natural Selection in Genes [blog]. The Human Evolution Blog. [accessed January 23rd, 2018]. <https://thehumanevolutionblog.com/2018/01/15/a-new-method-to-detect-natural-selection-in-genes/>

2.11. Theses and Dissertations

Surname Initial of the name. Year. Theses title [theses]. [Place]: university. URL – if available -. Jaramillo N. 2000. Partición en tamaño y forma de los caracteres métricos y su interés en los estudios poblacionales aplicados a los Triatominae [Tesis de Doctorado]. [Medellín (Colombia)]: Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia.

2.12. Technical report or official document

Surname Initial of the name. Year. Title of the report or document. City: Institution. Reference of the report or document. URL or DOI – if available -. Ford PL, Fagerlund RA, Duszynski DW, Polechla PJ. 2004. Fleas and lice of mammals in New Mexico. Fort Collins (CO): USDA Forest Service Rocky Mountain Research Station. General Technical Report No. RMRS-GTR-123. World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. Geneva: World Health Organization; 2017. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2017/en/

Correspondence

Materials should be sent to:

Editor, Revista Actualidades Biológicas
Instituto de Biología, Bloque 7.
Universidad de Antioquia
Calle 70 No. 52 - 21 | Apartado Aéreo 1226
Medellín (Antioquia), Colombia
Teléfono: (57) (4) 219 56 27
revistabiologia@udeaa.edu.co
<https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/actbio>

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Es obligación de los autores proveer a la revista *Actualidades Biológicas* una versión exacta, honesta y precisa de los resultados o datos de las investigaciones desarrolladas, incluyendo todos los datos relevantes. Todos los autores deben declarar no haber incurrido en malas conductas científicas como plagio, fabricación, falsificación, selección de datos o duplicación de publicaciones. No está permitido el mejoramiento o manipulación de imágenes que elimine o no represente cualquier información presente en los originales. Es obligación de los autores referenciar o declarar el origen de imágenes, datos e ideas que proceden de otros autores o fuentes y que hayan sido utilizados en su manuscrito. **Cualquier mala conducta generará el rechazo inmediato del manuscrito y la abstención de la revista Actualidades Biológicas a recibir futuros manuscritos del autor(es).**

El orden de autoría debe ser una decisión conjunta de todos los coautores. La participación de cada autor en el trabajo debe ser significativa para tomar responsabilidad pública del contenido. Todas las ideas y opiniones contenidas en los manuscritos son de entera responsabilidad de los autores.

Las personas, no autores, quienes hayan realizado contribuciones sustanciales al manuscrito deben ser nombrados en los agradecimientos sin títulos o siglas (ej., Prof., Dr. PhD., etc.). El envío de los manuscritos debe contar con el consentimiento de todos los autores.

No se aceptan trabajos ya publicados o que hayan sido o estén sometidos a otras revistas. Los manuscritos enviados a la revista *Actualidades Biológicas* deben ser acompañados de un documento firmado por todos los autores donde se declare que el manuscrito es inédito y que no está sometido a otra revista. En caso que haya sido sometido a otras revistas anteriormente, declarar a cuáles revistas.

Las fuentes de financiación de los proyectos de investigación deben ser reveladas dentro de la publicación en la sección de agradecimientos.

Todos los manuscritos sometidos a la revista *Actualidades Biológicas* son tratados como documentos confidenciales. El proceso de evaluación de los manuscritos es de forma anónima, tanto para los autores como para los evaluadores. Este es un proceso de doble anonimato: los evaluadores desconocen la identidad de los autores, y los autores también desconocen la identidad de los evaluadores. Hay por lo menos dos o más evaluadores para cada manuscrito.

Sin autorización del Comité Editorial de la revista *Actualidades Biológicas* es prohibida cualquier tipo de reproducción total o parcial del contenido con fines comerciales, no así para fines educativos.

ETHICAL CONSIDERATIONS

It is the obligation of the authors to provide the journal *Actualidades Biológicas* with an accurate, honest, and precise account of the results or data from the studies performed, including all relevant data. All authors must declare not to have committed scientific misconduct such as plagiarism, fabrication, falsification, selection of data or duplicate publication. It is not permitted to enhance or manipulate images in a way that eliminates or does not represent whatever information present in the originals. It is the obligation of the authors to reference or state the source of images, data or ideas that come from other authors or sources and that have been used in the manuscript. Any misconduct will result in immediate rejection of the manuscript and abstention of the journal *Actualidades Biológicas* to receive future manuscripts of the author (s).

The order of authorship should be a joint decision by all the co-authors. The participation of every author in the study should be significant to take public responsibility for the content. All ideas and opinions contained in the manuscript are entirely the responsibility of the authors.

Other persons who made substantial contributions to the manuscript must be named in the acknowledgements without titles or abbreviations (e.g., Prof., Dr. PhD., etc.). The submission of manuscripts must have the consent of all authors.

Articles that have been previously published or that have been or are being submitted to other journals will not be accepted. All authors must declare in a signed document that the manuscript is unpublished and is not being submitted to another journal. In cases where it had been submitted to another journal previously, the journal or journals should be mentioned.

The funding sources for research projects should be disclosed within the publication in the acknowledgements section.

All manuscripts submitted to the journal are treated as confidential documents. The evaluation process of the manuscripts is anonymous, for authors and for reviewers. This process is double-blind peer review: reviewers are unaware of the identity of the authors, and authors are also unaware of the identity of reviewers. There are two or more reviewers for each manuscript.

The total or partial reproduction of content for commercial purposes is prohibited without authorization from the Editorial Board of *Actualidades Biológicas*, but not if used for educational purposes.