

BOLETÍN DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

TASAS DE FAGOCITOSIS EN LAS ESPECIES DE <i>ACANTHAMOEBA</i> PROVENIENTES DE AGUAS SUBTERRÁNEAS. PARTE I. <i>Silvana B. Pertuz Belloso, Deyamira Matuz Mares, Emelia Campoy, Miroslav Macek y Elizabeth Ramírez Flores</i>	1
CLASIFICACIÓN DE NUEVOS MICROHÁBITATS DE AGUA SALOBRE EN VENEZUELA. CONSIDERACIONES BIOECOLÓGICAS SOBRE LAS ESPECIES DE INSECTOS ACUÁTICOS EN LA PENÍNSULA DE ARAYA. <i>Erickxander Jiménez-Ramos, Mauricio García y Vanessa Acosta</i>	29
EATING THE FORBIDDEN FRUIT? AVOCADO CONSUMPTION BY NEOTROPICALES AT AN URBAN GARDEN. <i>Andrés E. Seijas</i>	57
MICROMOLUSCOS DEL CONTENIDO ESTOMACAL DE ASTEROIDEOS DEL GÉNERO <i>ASTROPECTEN</i>: ORIGEN DE UNA COLECCIÓN DE REFERENCIA. <i>Ricardo Bitter-Soto y Ronald Rivas-Suarez</i>	70
INSTRUCCIONES A LOS AUTORES	92
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	102

Vol.55, N^o 1, Enero-Junio 2021

UNA REVISTA INTERNACIONAL DE BIOLOGÍA
PUBLICADA POR LA
UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO,
VENEZUELA



BOLETÍN

DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

AN INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGY

PUBLISHED BY THE UNIVERSITY OF ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA

Vol. 55, N° 1, 2021

CONTENTS

RATE OF PHAGOCYTOSIS OF <i>ACANTHAMOEBA</i> SPECIES FROM GROUNDWATER. PART I. <i>Silvana B. Pertuz Belloso, Deyamira Matuz Mares, Emelia Campoy, Miroslav Macek y Elizabeth Ramírez Flores</i>	1
CLASSIFICATION OF NEW BRACKISH WATER MICROHABITATS IN VENEZUELA. BIOECOLOGICAL CONSIDERATIONS ON THE SPECIES OF AQUATIC INSECTS IN THE ARAYA PENINSULA. <i>Erickxander Jiménez-Ramos, Mauricio García y Vanessa Acosta</i>	29
¿COMIENDO LA FRUTA PROHIBIDA? CONSUME DE AGUACATE POR AVES NEOTROPICALES EN UN COMEDERO DE UN JARDÍN URBANO. <i>Andrés E. Seijas</i>	57
MICROMOLLUSCS OF THE STOMACH CONTENT OF <i>ASTEROIDS</i> GENUS <i>ASTROPECTEN</i>: ORIGIN OF REFERENCE COLLECTION. <i>Ricardo Bitter-Soto y Ronald Rivas-Suarez</i>	70
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	102



BOLETÍN DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

TASAS DE FAGOCITOSIS EN LAS ESPECIES DE <i>ACANTHAMOEBA</i> PROVENIENTES DE AGUAS SUBTERRÁNEAS. PARTE I. <i>Silvana B. Pertuz Belloso, Deyamira Matuz Mares, Emelia Campoy, Miroslav Macek y Elizabeth Ramírez Flores</i>	1
CLASIFICACIÓN DE NUEVOS MICROHÁBITATS DE AGUA SALOBRE EN VENEZUELA. CONSIDERACIONES BIOECOLÓGICAS SOBRE LAS ESPECIES DE INSECTOS ACUÁTICOS EN LA PENÍNSULA DE ARAYA. <i>Erickxander Jiménez-Ramos, Mauricio García y Vanessa Acosta</i>	29
EATING THE FORBIDDEN FRUIT? AVOCADO CONSUMPTION BY NEOTROPICALES AT AN URBAN GARDEN. <i>Andrés E. Seijas</i>	57
MICROMOLUSCOS DEL CONTENIDO ESTOMACAL DE ASTEROIDEOS DEL GÉNERO <i>ASTROPECTEN</i>: ORIGEN DE UNA COLECCIÓN DE REFERENCIA. <i>Ricardo Bitter-Soto y Ronald Rivas-Suarez</i>	70
INSTRUCCIONES A LOS AUTORES	92
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	102

Vol. 55, N° 1, Enero-Junio 2021

UNA REVISTA INTERNACIONAL DE BIOLOGÍA
PUBLICADA POR LA
UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA



**BOLETÍN DEL CENTRO
DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS**

ISSN 2477-9458



Revista arbitrada, editada desde 1967 por el Centro de Investigaciones Biológicas de la Facultad de Humanidades y Educación de la Universidad del Zulia (Maracaibo – Venezuela), dedicada a la publicación de trabajos originales (básicos o aplicados) en el campo de las ciencias biológicas. Esta abierta no solamente a las investigaciones efectuadas en Venezuela sino también a estudios ejecutados en otros países, que aporten soluciones aplicables a la región Neotropical. Además de trabajos generales, se aceptan comunicaciones breves, revisiones y comentarios. Los idiomas permitidos son español, portugués e inglés. Los trabajos serán evaluados por tres árbitros y el Comité Editorial. El Editor decidirá entonces, su aceptación o rechazo.

A partir de 2020, se publicaran dos números por año.

The Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas is a refereed, international journal of biology edited since 1967, by the Center of Biological Investigations of the Humanities and Education Faculty, University of Zulia, Maracaibo, Venezuela. The journal publishes original studies, both basic and applied, and not only accepts investigations done in Venezuela, but also studies from other countries whose results may be applicable to the Neotropical Region. In addition to general works, shorts communications, revisions and commentaries are also accepted. Articles may be written in Spanish, Portuguese or English. Articles will be evaluated by three reviewers and the Editorial Committee. The Editor will then decide to accept or reject the manuscript.

From 2020, two for issues per year.

Comité Editorial

Editorial Board

Teresa Martínez Leones (LUZ)

(Editora – Jefe)

Antonio Vera (LUZ)

Fernando Tapia (LUZ)

Jeny Reyes (LUZ)

Edgar Molina (LUZ)

Comité Asesor

Advisory Committee

Clark Casler (LUZ)

Héctor López Rojas (UCV)

Russiel Rodríguez Páez (UM y UCC)

Donald Taphorn Baechle (ROM)

Wilmer Díaz Pérez (UNEG)

Personal Auxiliar.

Supporting Staff

Zackary Jr. Baéz Valbuena

Dirección/ Address: Dra. Teresa Martínez Leones, Editora, Centro de Investigaciones Biológicas, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia (LUZ), Apartado 526. Maracaibo 4001-A, estado Zulia, Venezuela.

www.condes.luz.edu.ve //boletincibluz@gmail.com

196703ZU120 Se envía por suscripción o canje

Exchange desired



Indizada o registrada en

Index or registered in

BIOSIS (Biological Abstracts, BIOSIS
Previews)
Zoological Record
Zoological Record Plus
Latindex
REVENCYT
Cambridge Scientific Abstracts
Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts
(ASFA)
Abstracts of Entomology
FONACIT (No. Reg. 19990251)
Revista tipo A/class A journal
Sistema de Servicios Bibliotecarios y de
Información de la Universidad del Zulia
(SERBILUZ: www.serbi.luz.edu.ve)
Directory of Open Access Journals
(DOAJ: www.doaj.org)

El Comité Editorial declina toda responsabilidad en cuanto al contenido de los trabajos publicados y de las opiniones emitidas por sus autores / The Editorial Committee is not responsible for the content of the articles and the opinions of the authors.

©2021

**Boletín del Centro de
Investigaciones Biológicas**
Facultad de Humanidades y
Educación
Universidad del Zulia

ISSN 2477-9458

Boletín del
Centro de
Investigaciones
Biológicas



Vol. 55, N° 1.

Enero - Junio 2021

Universidad del Zulia
Maracaibo, Venezuela

Contenido/Contents

TASAS DE FAGOCITOSIS EN LAS ESPECIES DE ACANTHAMOEBA PROVENIENTES DE AGUAS SUBTERRÁNEAS. PARTE I. <i>Silvana B. Pertuz Beloso, Deyamira Matuz Mares, Emelia Campoy, Miroslav Macek y Elizabeth Ramírez Flores.....</i>	1
CLASIFICACIÓN DE NUEVOS MICROHÁBITATS DE AGUA SALOBRE EN VENEZUELA. CONSIDERACIONES BIOECOLÓGICAS SOBRE LAS ESPECIES DE INSECTOS ACUÁTICOS EN LA PENÍNSULA DE ARAYA. <i>Erickxander Jiménez-Ramos, Mauricio García y Vanessa Acosta.....</i>	29
EATING THE FORBIDDEN FRUIT? AVOCADO CONSUMPTION BY NEOTROPICAL BIRDS AT AN URBAN GARDEN. <i>Andrés E. Seijas.....</i>	57
MICROMOLUSCOS DEL CONTENIDO ESTOMACAL DE ASTEROIDEOS DEL GÉNERO <i>ASTROPECTEN</i>: ORIGEN DE UNA COLECCIÓN DE REFERENCIA. <i>Ricardo Bitter-Soto y Ronald Rivas-Suarez.....</i>	70
INSTRUCCIONES A LOS AUTORES.....	92
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS.....	102

TASA DE FAGOCITOSIS EN LAS ESPECIES DE *ACANTHAMOEBA* PROVENIENTES DE AGUAS SUBTERRÁNEAS. PARTE I.

Silvana B. Pertuz Belloso*^{1,2}, Deyamira Matuz Mares ³, Emelia Campoy ⁴, Miroslav Macek⁴ y Elizabeth Ramírez Flores ⁴.

¹Fundación B Chemokines Molecules and Therapies. Pachuca de Soto. Estado de Hidalgo. México.

²Departamento de Biología Comparativa. Facultad de Ciencias. Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. CDMX. México.

³Departamento de Coordinación de Profesores. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. CDMX. México.

⁴Facultad de Estudios Superiores de Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México. México.

***Autor para correspondencia:** E-mail y redes sociales. spertuzster@gmail.com. @silvanapertusis. @BiomedicaUNAM. Dir. Privada de Hidalgo. No. 104 Int. 4. Calle de Hidalgo. Col. Centro. Cp. 42000. Estado de Hidalgo. México.

RESUMEN

Las especies de *Acanthamoeba* pertenecen a la Subclase Gymnamoebia, una subclase de amebas de vida libre. Las amebas de vida libre son cosmopolitas con distribución en todo el mundo. Uno de los procesos biológicos más estudiados es la fagocitosis, especialmente, en especies de *Acanthamoeba* patogénicas. La fagocitosis ocurre gracias a mecanismos moleculares, como el reconocimiento de carbohidratos sobre la superficie bacteriana, y la activación de procesos celulares como la formación de fagosomas y la fusión con los lisosomas para digestión. En el ambiente esta función es poco estudiada y se plantea aquí que juega un papel en la regulación de bacterias y otros protozoarios. El objetivo de este trabajo es la caracterización de la fagocitosis de las especies de *Acanthamoeba* aisladas de aguas subterráneas del Valle del Mezquital (Estado de Hidalgo, México). La fagocitosis fue analizada en placas de Petri con agar no nutritivo cubierto con bacterias teñidas con fluorescencia inoculadas con cepas de *Acanthamoeba* e incubadas a 30°C, ½ h, 1 h, 1 ½ h y luego recuperadas para el protocolo de tinción de Sherr *et al.* (1987) modificado. La fagocitosis fue alta a la ½ hora de interacción con las bacterias, disminuyendo a la 1 hora. El proceso celular de fagocitosis mostrado en este trabajo, inicia con la formación deseudópodos especiales para englobar las bacterias, que son capturadas en flóculos, formando fagosomas regulados por el tiempo de digestión.

Palabras clave: *Acanthamoeba culbertsoni*; *Acanthamoeba castellanii*; Valle del Mezquital; aguas subterráneas; fagocitosis; fagosoma, vacuolas alimenticias.

RATE OF PHAGOCYTOSIS OF *ACANTHAMOEBEA* SPECIES FROM GROUNDWATER. PART I.

ABSTRACT

The *Acanthamoeba* species belonging to subclass of Gymnamoebia, a class of free living amoeba. *Acanthamoeba* species are cosmopolitan with distribution in the world. The phagocytosis is a biological mechanism more studied, especially in the pathogenic *Acanthamoeba* species. Many molecular mechanisms turn on the phagocytosis, between them carbohydrates recognition on the bacterial surface, and the activation of cellular mechanisms, as the phagosome formation and the fusion with the lysosomes for digestion. In the environment this function has been not studied, and here we have idea that this process is important in regulation of bacteria and others protozoa. The objective of work is the characterization of the phagocytosis of *Acanthamoeba* species isolated from Mezquital Valley groundwater (State of Hidalgo, Mexico). The phagocytosis was analyzed on non-nutritive agar Petri Plates with fluorescent label bacteria inoculate with *Acanthamoeba* and incubated by 30°C, 1 h, 1 ½ h, and then they were recovered to stained using to protocol of Sherr *et al.* (1993), modified. The phagocytosis of *Acanthamoeba* was higher to ½ hour of the interaction with fluorescent label bacteria (FLB), and reduced to 1 hour. The cellular process of phagocytosis showed in the work, started with the special pseudopods to trapped bacteria in floccules, forming phagosomes that regulated by time of the digestion.

Key Words: *Acanthamoeba culbertsoni*; *Acanthamoeba castellanii*; Mezquital Valley; groundwaters; phagocytosis; phagosomes.

Recibido / Received: 27-08-2020 ~ **Aceptado / Accepted:** 05-04-2021

INTRODUCCIÓN

Acanthamoeba es un género de amebas de vida libre perteneciente al grupo de Gymnamoeba; que característicamente presenta un ciclo de vida, muy conocido, en el cual existe una fase libre o trofozoíto o vegetativa y otra quística que tiene un valor taxonómico (Castrillón y Orozco 2013).

Matuz (2001) en su trabajo sobre aguas subterráneas describe la biodiversidad y la importancia que tiene este grupo en estos ambientes. Gallegos-Neyra *et al.* 2014, describen que México es un país con una biodiversidad preponderante de especies de *Acanthamoeba*, con una biodistribución especial en Ciudad de México, Hidalgo, Baja California y Puebla, con más de 315 aislamientos de Gymnamoeba, incluyendo

Acanthamoeba. Pertuz y Jiménez (2015) aislaron amebas de vida libre, principalmente del género *Acanthamoeba* en diversos ambientes, incluyendo piscinas deportivas, mostrando la propiedad que tienen estos protistas de ser cosmopolitas y de gran biodiversidad en todo el mundo, considerando a Latinoamérica como franja de mayor biodiversidad de estas especies.

Acanthamoeba y otras amebas de vida libre juegan un rol en el control de las poblaciones bacterianas en ambientes en donde prevalecen las interfaces suelo-agua en sedimentos o en suelos y en cavidades humanas. Los mecanismos empleados por estas especies para ejercer regulación de las poblaciones bacterianas no se conocen totalmente. Una de estas estrategias está bien ejemplificada por Rogerson *et al.* (1996), quienes muestran que las poblaciones de amebas de vida libre marinas aumentan la superficie de contacto para atrapar más bacterias, ejerciendo presión sobre las bacterias en ambientes marinos. Wecker *et al.* (1993) encontraron que las amebas de vida libre aisladas de suelo, como *Acanthamoeba castellanii*, *Acanthamoeba polyphaga* y *Hartmannella vermiformis* ejercen presión o control sobre las poblaciones bacterianas; principalmente bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae.

Tomando como modelo ecológico comunidades de biopelículas formadas sobre los lentes de contacto, se ha encontrado una relación entre el control de las poblaciones bacterianas y las amebas de vida libre. Bottone *et al.* (1992) usando *Xanthomonas maltophilia* aislada de la solución de lavado de los lentes de contacto y co-cultivadas con *A. castellanii* o *A. polyphaga*, encontraron que los trofozoítos crecían abundantemente.

En otro estudio, se encontró que la detección de bacterias patógenas, como *Mycobacterium*, *Legionella* sp., y *Chlamydia* han sido reportados en biopelículas formadas en tuberías de agua de hospitales y suministros de agua potable, en los cuales, las comunidades están formadas por varias especies de protozoarios entre ellos, las especies del género *Acanthamoeba*, como *Acanthamoeba* sp., *Hartmannella* sp., *A. castellanii* o *H. vermiformis* (Valster *et al.* 2011, Atif-Nisar *et al.* 2020).

Por otro lado, las especies del género de *Acanthamoeba* presentan un sistema vacuolar complejo, el cual está regulado por factores como el tiempo de ingestión y la fase de captura de bacterias. Allen y Dawidowicz (1990) encontraron que la capacidad de ingestión de las amebas de vida libre está regulada por la formación de las vacuolas alimenticias que depende del tiempo de digestión del material ingerido y de la saturación del sistema vacuolar.

Avery *et al.* (1995), por su parte, señalan que la fagocitosis no es más que un mecanismo activado por la unión de las bacterias a la superficie amebiana y que está limitado, como se dijo anteriormente, por este complejo sistema vacuolar.

Está claro que tanto la regulación del sistema vacuolar, así como la fagocitosis misma y su importancia biológica aún no ha sido dilucidada completamente. El objetivo de este estudio es caracterizar la fagocitosis de las especies de *Acanthamoeba* del Valle del Mezquital (Hidalgo, México), como un mecanismo para la regulación de la población bacteriana. Además de identificar a nivel celular el proceso de fagocitosis en las especies de *Acanthamoeba* del Valle de Mezquital.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo.

Valle de Mezquital, Estado de Hidalgo: 99°23′-98°55′ de longitud oeste y 20°20′-20°30′ de latitud norte.

Especies.

Las especies *Enterobacteria erogenes* (13048) (*Klebsiella aerogenes* de acuerdo a Tindall *et al.* 2017), *Acanthamoeba culbertsoni* (30171) y *Acanthamoeba castellanii* (30011) utilizadas en este estudio pertenecen a la Colección Americana de Cultivos. Los aislados ambientales *Acanthamoeba culbertsoni* y *Acanthamoeba castellanii* utilizados en este estudio fueron del Valle del Mezquital (Hidalgo, México).

Aislamiento de las cepas del Valle del Mezquital.

El aislamiento de las cepas ambientales fue realizado de acuerdo a Matuz (2001). Las muestras fueron tomadas de aguas subterráneas y luego concentradas por centrifugación a 1201 x g por 10 min. El sobrenadante fue descartado y la pellet fue sembrada sobre placas de Petri con agar no nutritivo con *K. aerogenes* previamente inactivada.

Cultivos de las cepas del Valle de Mezquital.

Las cepas ambientales fueron proporcionadas en cultivo axénico en Chang modificado [Medio Bactopeptona con suero bovino y medio Ringer].

Condiciones fisiológicas del cultivo de *Acanthamoeba*.

Altas concentraciones de amebas de vida libre fueron obtenidas en medio PGY [Peptona Proteosa 3.75 g, sacarosa 6.75 g, extracto de levadura 3.75 g, 1 l AD, GIBCO] a 30°C en botellas de cultivo (75 cm³). *A. culbertsoni* de referencia fue mantenida en monocultivo en medio PGY con antibióticos [Infusión de sulfato de Estreptomicina 0.28 µl en solución salina de Penicilina G, 2.8 unidades en 30 ml, GIBCO].

Curva de crecimiento bacteriana.

Un cultivo masivo de *K. aerogenes* fue probado para realizar la curva de crecimiento bacteriana de acuerdo al protocolo estándar. El crecimiento bacteriano fue medido por espectrofotometría durante 24 horas hasta llegar al punto máximo de crecimiento. El crecimiento bacteriano fue determinado a 530 nm del espectro de luz en espectrofotómetro de uso general y expresado en unidades arbitrarias de absorbancia.

Curva de crecimiento de especies de *Acanthamoeba*.

A. castellanii y *A. culbertsoni* del Valle del Mezquital fueron inoculadas a una concentración inicial de 1×10^6 cels/ml en cajas de cultivo (75 cm³) conteniendo medio PGY con suero fetal bovino al 10% (GIBCO), e incubado a 30°C por 5 a 9 días. Posteriormente, los trofozoítos fueron observados cada 24 h en microscopio de inversión y una alícuota del cultivo fue colocada en cámara de Neubauer para su cuantificación, usando los cuadros grandes. Las tasas de crecimiento de las diferentes especies fueron calculadas usando una relación entre los contajes del tiempo 0 y los contajes del tiempo en cuestión en una matriz de datos por triplicado, que fueron sometidos a una media aritmética para la construcción de la curva de crecimiento.

Pruebas de patogenicidad.

Los trofozoítos de *Acanthamoeba* fueron incubados a 30°C durante 2 días en medio Chang modificado y concentrados de 1×10^3 a 1×10^5 cels/ml por centrifugación a 161 x g por 15 min. Posteriormente, ratones blancos de la cepa CD-1 (machos de tres semanas de edad) fueron inoculados vía nasal con 0.02 ml del medio conteniendo el concentrado de los trofozoítos. Durante 21 días, los ratones fueron observados hasta

su muerte, siguiendo los protocolos estándares de los bioterios y tomando las medidas de ética en este campo. Los ratones fueron sacrificados tras este tiempo y sus órganos, principalmente: Los pulmones, bazo, hígado y el cerebro fueron extraídos y colocados en placas de Petri con agar no nutritivo e incubados a 30°C para la recuperación de las amebas de vida libre. Para esto se determinaba la migración y patogenicidad, a partir del análisis de los halos que se formaban alrededor de los órganos y de allí se practicaron cortes del agar y observación en microscopio invertido.

Marcaje fluorescente bacteriano con 5-DTAF ([5-(4,6-Dichlorotriazinnyl) aminofluorescein]).

Un stock de *K. aerogenes* fue cultivado y cosechado masivamente en medio Bactopeptona al 1% a 37°C durante 18 h (Fase exponencial), fue concentrado y teñido con DTAF (2 mM, Sigma- Aldrich) de acuerdo a Sherr *et al.* (1987).

Ensayos de fagocitosis.

Las bacterias teñidas fluorescentes (FLB) fueron dispensadas sobre placas de agar no nutritivo (de 4 mm de grosor) a una concentración de 1×10^8 bac/ml. Luego, las amebas de vida libre fueron incubadas a una concentración de 1×10^6 cels/ml por 30°C durante, 1 ½ h. La fagocitosis fue parada cada 30 min con PBS frío (pH 7.0) [NaCl 8 g, KCl 0.2g, Na₂ HPO₄ 1.44g, KH₂PO₄ 0.24 g, 1 l AD], y fijado con glutaraldehído (2.5 %) frío por 1 min. Luego las placas fueron frotadas con una varilla de vidrio con goma, y lavadas con PBS (pH 7.0). La suspensión fue transferida a microtubos (2 ml) y luego filtradas sobre membranas de policarbonato.

Tinción trofozoítos de *Acanthamoeba* con DAPI (4, 6-Diamidino-2-phenylindole).

Las muestras conteniendo los trofozoítos fueron transferidas a membranas de policarbonato (poro 2 µm de diámetro, negras Millipore, USA), en un sistema de microfiltración (Acero inoxidable de 2 mm de diámetro, Millipore, USA), de acuerdo a Sherr *et al.* (1987). Posteriormente, las membranas conteniendo los trofozoítos fueron teñidas con DAPI (2 mM, Sigma- Aldrich) e incubado durante 2 min a RT. Luego, estas preparaciones fueron montadas para su observación por microscopía de fluorescencia (Zeiss, Alemania; excitación UV, set de filtros para DAPI).

Análisis por microscopía de fluorescencia de la fagocitosis de las diferentes especies de

***Acanthamoeba*.**

La fagocitosis fue observada en cada preparación por microscopía de epifluorescencia, entre 350 nm de excitación a 450 nm de emisión del espectro de luz para el DAPI (Indol- Carboxamidina) y 494 nm de excitación y de 575 nm de emisión del espectro de luz, correspondiente a DTAF (5-4, 6-diclorotrizianil-aminofluoresceína). En cada condición, fueron analizadas más de 150 amebas para observar el contenido vacuolar y el número de vacuolas por individuo a un aumento de 1000x (Inmersión). Para algunos de los ensayos se utilizó la prueba de apagamiento de acuerdo a Loike y Silverstein (1983), modificado. Las membranas conteniendo las amebas fueron incubadas con un amortiguador de PBS-1x-azul tripano (2 mg/ml)-Azida de Sodio (0.8%), por 2 min para observar solo el contenido vacuolar de cada ameba.

Análisis de imágenes y picos de intensidad de fluorescencia.

El contenido vacuolar detallado fue analizado sobre las muestras usando el programa IMAGEJ de Java, con el cual se realizó un análisis del contenido de cada vacuola, por cada célula, por intensidad de la fluorescencia que fueron luego comparadas por tiempo por célula.

Análisis estadístico.

Las medias del contenido vacuolar de cada célula fueron comparadas por ANOVA, con límites de confianza del 95% y con la probabilidad de $p \leq 0.05$ usando el programa ORIGIN 6.0.

RESULTADOS

En la Figura 1 se muestra el crecimiento bacteriano que se disparó a las 18 h en condiciones estándares del cultivo de *K. aerogenes*. La absorbancia del medio sin bacterias se muestra en la Tabla 1, en la cual se observó que el medio de cultivo no afecta la lectura de la concentración. Las características más importantes determinadas de la bacteria que serviría de presa incluyen el diámetro y el tamaño como se muestra en la Tabla 2.

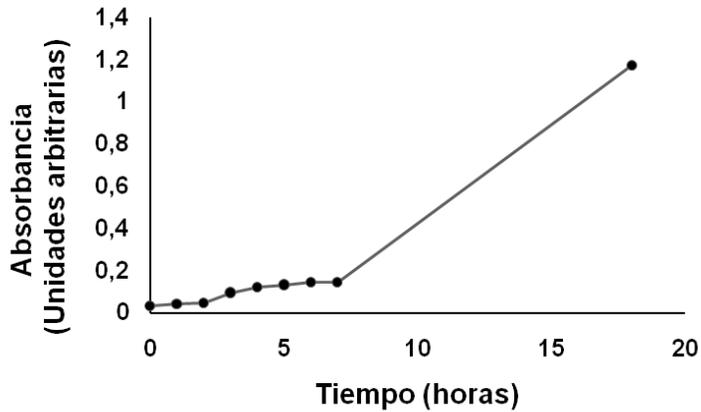


Figura 1. Curva de crecimiento de *Klebsiella aerogenes*. El crecimiento bacteriano fue realizado de acuerdo a materiales y métodos.

Tabla 1. Lecturas de absorbancia del medio de cultivo sin bacteria.

Longitud de onda (nm)	Unidades arbitrarias de absorbancia
500	0.028
520	0.022
540	0.017
420	0.001

La Tabla 2 muestra la morfometría de las bacterias usadas para todos los bioensayos y la concentración estándar que se cosechó a partir del cultivo. *K. aerogenes*, bacilo mesolítico perteneciente a el Phylum proteobacteria, que fue usado como presa para los ensayos de fagocitosis de *Acanthamoeba* del Valle del Mezquital.

Tabla 2. Características de *Klebsiella aerogenes* teñidas con DTAF.

Parámetro	Características
Concentración cosechada	10^8 a 10^9 bac/ml
Diámetro promedio	$1.31 \mu\text{m} \pm 0.17 \mu\text{m}$.
Tamaño promedio	$2.2 \mu\text{m} \pm 0.9 \mu\text{m}$
Forma	Bacilo

La curva de crecimiento de las especies de *A. culbertsoni* y *A. castellanii* mostró una fase exponencial a los 2 días, con el mayor crecimiento alcanzando de hasta 25 millones de trofozoítos, una fase de meseta del crecimiento después de los 2 días y una fase estacionaria a partir de los 4 días, en la cual el número de trofozoítos bajó hasta 5 millones (Fig. 2).

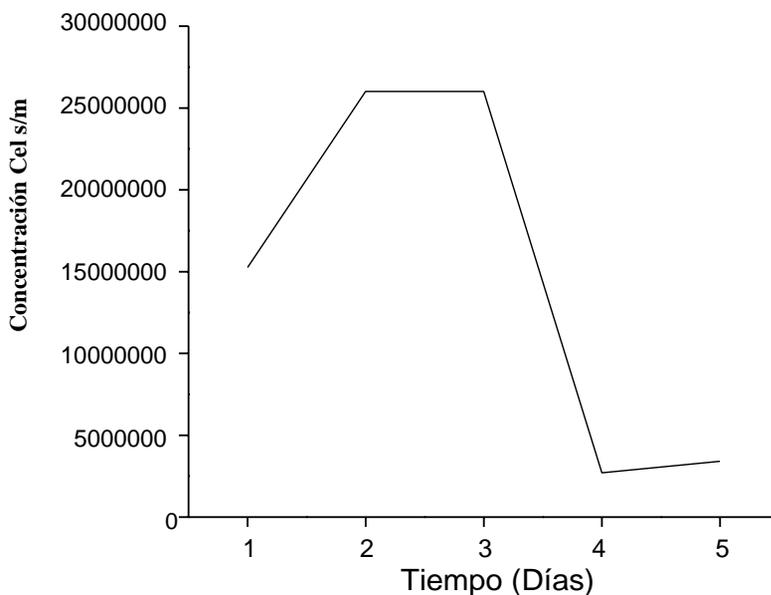


Figura 2. Curva de crecimiento de *Acanthamoeba*. Los cultivos fueron observados y cuantificados por más de 5 días hasta llegar al punto máximo de crecimiento de acuerdo a materiales y métodos.

El análisis de patogenicidad mostrado en la Tabla 3 presentó a *A. castellanii*, como la más patógena. Como se puede observar en esta tabla, la recuperación de los trofozoítos de *Acanthamoeba* de los órganos fue un indicador de patogenia. Los trofozoítos fueron recuperados principalmente del cerebro y los pulmones, de acuerdo a su grado de patogenicidad. *A. castellanii* del Valle del Mezquital, fue patógena de acuerdo a la recuperación de los trofozoítos en los órganos: Cerebro, pulmón, hígado y riñón, tras un periodo de inoculación de los ratones de 9 días, momento en el cual se presentaron síntomas de la infección. La recuperación de los trofozoítos de *Acanthamoeba* fue observada a los 3 días, luego de su incubación sobre agar no nutritivo en placas de Petri. Un parámetro observado fue la formación de halos alrededor de los órganos infectados. Las otras dos especies, incluyendo *A. culbertsoni* de referencia, no fueron positivas en estas pruebas de patogenicidad.

Tabla 3. Patogenicidad de *Acanthamoeba castellanii*.

Órganos/Ratones	Recuperación de trofozoítos de órganos/Pulmón, cerebro
1	Negativo
2	Positivo*
3	Negativo
4	Negativo
5	Positivos*, **

*Los trofozoítos de estos órganos fueron utilizados para los bioensayos.

** Ratones sacrificados a los 9 días de la inoculación.

Microfotografías de los quistes y trofozoítos de las cepas aisladas del Valle de Mezquital se presentan en la Figura 3. Para este estudio solo se probaron las cepas de *A. culbertsoni* y *A. castellanii*. De acuerdo a las observaciones *A. castellanii* presentó un quiste con exoquiste con un patrón de malla y grueso, y un endoquiste de forma más o menos esférica, conectados por pequeños conos con el exoquiste. El tamaño promedio del quiste fue de 14 μm . El trofozoíto de *A. castellanii* fue de 20 a 31 μm , en promedio. *A. culbertsoni*, por su parte presentó un quiste de 15 μm y un trofozoíto de entre 20 a 33 μm .

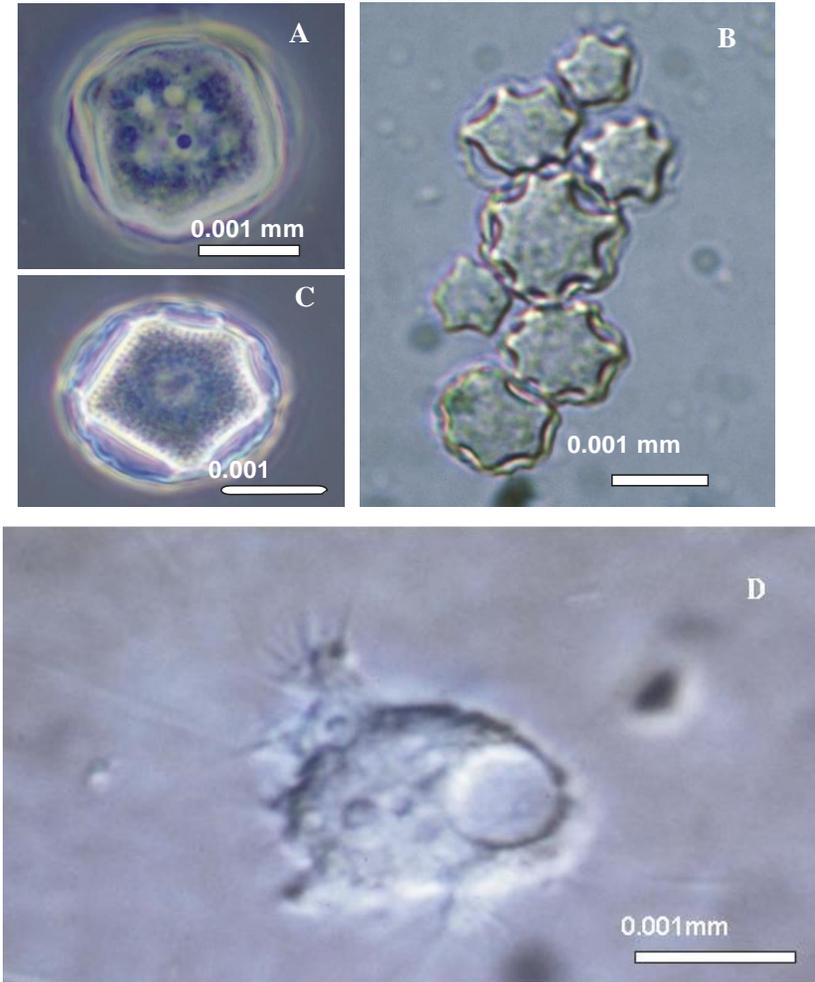


Figura 3. Quistes y trofozoítos de especies de *Acanthamoeba* provenientes del Valle del Mezquital. **A-C.** Quistes de *Acanthamoeba*. Preparaciones en fresco (Microscopio standard Zeiss a 40x y 100x y Microscopio de inversión Zeiss). **D.** Trofozoítos de *Acanthamoeba* en preparaciones en fresco, usando contraste por Normasky (Microscopio standard Zeiss). Aumento 1000x.

La fagocitosis de *A. castellanii* fue analizada sobre placas de agar no nutritivo, que corresponden a medios sólidos, que emulan a la superficie en la que las amebas crecen. Las características de la fagocitosis amebiana pueden verse en la Tabla 4. La fagocitosis ocurre cuando las condiciones como la concentración de los trofozoítos supera 1×10^6 cels ml⁻¹ y 1×10^6 bac ml⁻¹ de FLB. En condiciones en las que las bacterias superan el orden de 10^9 bac ml⁻¹ de FLB, típicamente formando flóculos (Condición experimental 2, Tabla 4), las amebas de vida libre fagocitan, y hasta el orden de 10^5 bac ml⁻¹, como una condición mínima en la que la fagocitosis de las amebas de vida libre puede ocurrir. Por debajo de un millón de trofozoítos de *Acanthamoeba* no se observa la fagocitosis (Condición experimental 4, Tabla 4).

Tabla 4. Fagocitosis de *Acanthamoeba castellanii*.

Condiciones Experimentales	<i>Acanthamoeba</i>	FLB <i>Klebsiella aerogenes</i> (ATCC13048)	Observaciones
1	1×10^6 cels/ ml	1×10^6 bac/ ml	Ingiere
2	5×10^6 cels / ml	2×10^9 bac/ml	Ingiere
3	9×10^6 cels/ ml	1×10^5 bac/ml	Ingiere
4	5×10^5 cels/ ml	1×10^7 bac/ ml	No ingiere
5	5×10^5 cels/ml	2×10^7 bac/ ml	No ingiere

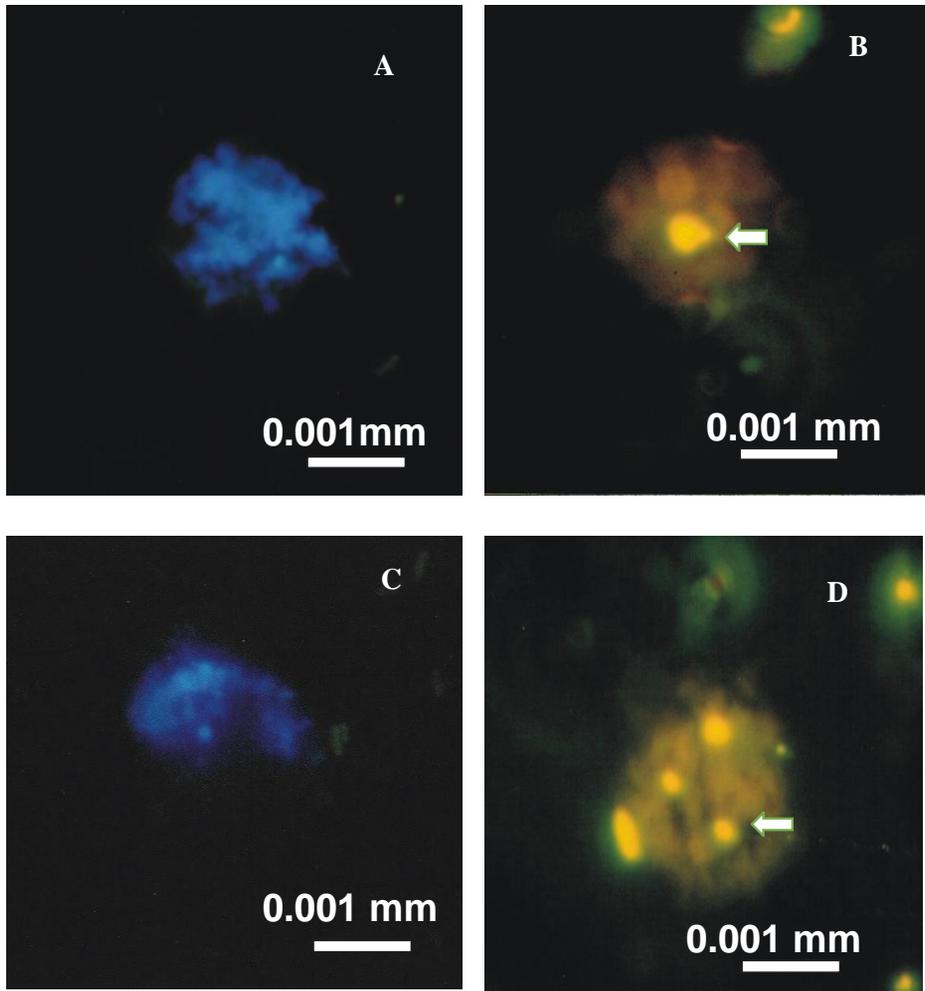


Figura 4. Fagocitosis de *Acanthamoeba culbertsoni* de aguas subterráneas del Valle del Mezquital. **A** y **C**. Trofozoítos teñidos con DAPI (450/50 nm). **B** y **D**. Trofozoítos en 517 nm del canal correspondiente, mostrando vacuolas con bacterias ingeridas marcadas con DTAF (Aumento 1000x). **B**. Vacuolas mostrando bacterias ingeridas a $\frac{1}{2}$ de hora de la fagocitosis. **D**. Vacuolas mostrando bacterias ingeridas a 1 hora de la fagocitosis. Flechas señalando vacuolas con FLB.

Las Figuras 4B y D muestran los trofozoítos con vacuolas conteniendo bacterias ingeridas. El número de vacuolas en promedio por ameba fueron 5 vacuolas llenas y un tope máximo de 12 vacuolas que comúnmente fue observado a la ½ hora (Fig. 4 D). La Figura 4 (B) muestra un trofozoíto con 12 vacuolas, solo una de ellas llena de FLB, a 1 hora. Las Figuras 4 (A y C) muestran trofozoítos teñidos con DAPI mostrando cambios en la morfología.

La Figura 5 muestra las etapas que fueron observadas en el estudio de la fagocitosis de *A. culbertsoni* del Valle del Mezquital. La Figura 5A muestra un trofozoíto teñido con DAPI. La Figura 5 B muestra un trofozoíto con vacuolas fagocíticas conteniendo FLB (Flechas) a la ½ hora de incubación. La Figura 5 C muestra la formación de una copa fagocítica, en la cual se depositan los flóculos de FLB (Flechas), en tiempos cortos. En las Figuras 5 E y F se observan la copa fagocítica con mejor resolución, en las cuales se puede observar la formación inicial de la copa fagocítica (Figura 5 E, Flechas), en tiempos cortos. En la Figura 5 D, se observan trofozoítos con vacuolas fagocíticas a tiempos largos, en las cuales ya no es posible observar las vacuolas con FLB a 1 hora, solo se observan vacuolas formadas, en proceso de digestión del material (Flechas).

El contenido vacuolar se presenta en la Tabla 5, en la cual observamos que *A. castellanii* ingirió más FLB que la cepa *A. culbertsoni*. A la ½ hora el contenido vacuolar fue mayor que a 1 hora de incubación con FLB, presentando mayor número de vacuolas ingeridas. Un máximo de 5 vacuolas fue observado en este tiempo con material ingerido. Las FLB fueron digeridas a 1 ½ hora, tiempo en el cual se observan vacuolas con material no digerido. El mayor contenido vacuolar fue observado en *A. castellanii* del Valle del Mezquital indicando un conteo de más 16.000 FLB por vacuola a ½ de hora, con respecto a la hora o a la 1 ½ hora de incubación. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), como lo muestra la Figura 6.

La cuantificación de la fagocitosis fue determinada en histogramas de intensidad de la señal de fluorescencia, de acuerdo al fluorocromo usado para este estudio. El histograma mostrado en la Figura 7A representa el análisis de los niveles de fluoresceína en un trofozoíto marcado con DAPI, y las vacuolas conteniendo bacterias marcadas con DTAF en un modelaje tridimensional. La Figura 7A muestra el pico de fluorescencia a 495 nm, en la cual se observa el contenido de las vacuolas con FLB, con picos diferentes, que indican bacterias ingeridas. En la Figura 7B

podemos observar los histogramas en los canales adecuados. La tinción de las bacterias marcadas ingeridas por las amebas se encontró en el canal verde en donde se tiene la señal máxima que coincide de DTAF, indicando la ingestión de FLB (Fig. 7 B, histograma del centro). Otras señales menos preponderantes se pudieron registrar sin ningún cambio en la lectura de las bacterias ingeridas (Fig. 7 B, histograma canal azul e histograma canal rojo, del espectro luminoso). La señal en el canal verde donde podemos detectar bacterias marcadas con DTAF tiene una media 32.89 de unidades arbitrarias de fluorescencia, que es equivalente al espectro de la Fluoresceína.

Una señal importante la observamos en el canal rojo del espectro de luz que corresponden a 650 nm con un pico de fluorescencia de 23.34 de unidades arbitrarias de fluorescencia, correspondientes también a vacuolas con bacterias ingeridas por *Acanthamoeba*. El canal azul del espectro de luz de entre 359 nm de excitación a 457 nm de emisión, correspondiente al DAPI no presentó señal alguna, asegurando que el material ingerido pertenece a FLB (Fig. 8 B, parte inferior del gráfico). La cuantificación de la señal de DAPI usada para detectar las amebas fue también determinada en histogramas. El histograma (Fig. 8 A) muestra que la señal máxima se encontró entre 300 nm a 400 nm con más de 100 unidades arbitrarias de fluorescencia. Los histogramas que muestran el *merge* o la localización de las señales, observamos el desplazamiento de la intensidad de señal de fluorescencia en el canal verde que forma parte de las señales de luz de los fluorocromos de Isotiocianato (Figs. 8 B y C).

La mayor intensidad de fluorescencia fue en el rango de entre 359 nm a 400 nm, con un pico de fluorescencia a 300 nm del espectro de luz. A esta longitud de onda se observaron picos que coinciden con las bacterias teñidas, con una intensidad de fluorescencia de 150 unidades arbitrarias. Los histogramas muestran mayor intensidad de fluorescencia en el canal verde del espectro de luz sobre los 450 nm. Un número de eventos o bacterias contenidas en las vacuolas fue de 244,080 unidades arbitrarias de fluorescencia. La marca de DAPI en el canal azul alcanzó una media de 0.80 unidades arbitrarias de fluorescencia, que constituye el marcaje sin bacterias. Los histogramas muestran que el pico de fluorescencia se desplazó cuando se detectan las bacterias marcadas con DTAF (Figs. 8 B y C), en 160 unidades arbitrarias entre 400 a 500 nm (Fig. 8A).

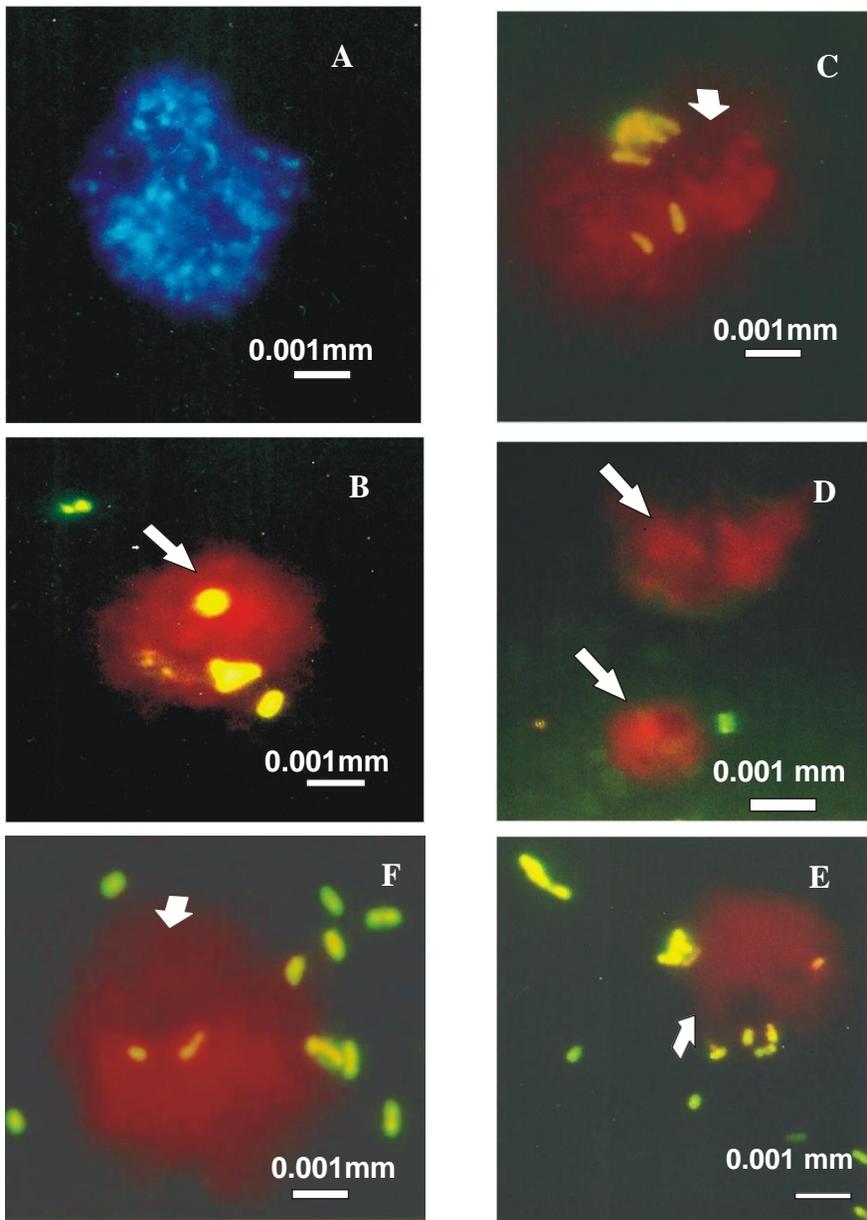


Figura 5. Señal de DTAF en la fagocitosis de *Acanthamoeba castellanii* de aguas subterráneas del Valle del Mezquital. **A.** Trofozoítos en el canal azul. **B-F.** Trofozoítos en el canal verde usando apagamiento con Azul Tripiano. **B.** Vacuolas con FLB (Flechas). **C.** Copa fagocítica conteniendo un bloque de FLB (Flechas). **D.** Vacuolas de ingestión (Flechas). **E.** Formación de la copa fagocítica (Flechas). **F.** Copa fagocítica (Flechas). Aumento 1000x.

Tabla 5. Contenido de FLB/vacuola fagocitada por cepa de *Acanthamoeba*.

Cepa	Vacuola 1	Vacuola 2	Vacuola 3	Vacuola 4	Vacuola 5
<i>A. culbertsoni</i>	5184	6088	ND*	ND	ND
<i>A. castellanii</i> Mezquital	12080	16484	ND	ND	ND
<i>A. castellanii</i> Mezquital (½ h FLB digerida)	1648	1648	ND	ND	ND
<i>A. castellanii</i> Mezquital (FLB digerida) (1 ½ h)	730	730	690	ND	ND
<i>A. castellanii</i> Mezquital (FLB digerida) (1 h)	2168	4153	1988	5184	5184

*ND: No determinado

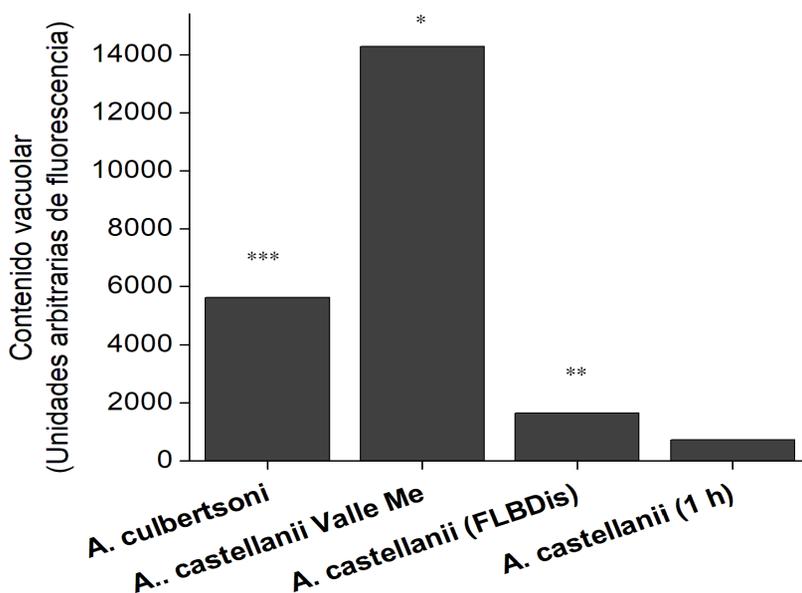


Figura 6. Señales de fluorescencia del contenido vacuolar. *A. castellanii* (Valle Me) incubada ½ de hora con FLB. *A. castellanii* (FLB Dis) FLB digerido incubada a 1 ½ de hora con FLB. *A. castellanii* incubada 1 hora. *, **, *** $p \leq 0.05$ diferencias significativas.

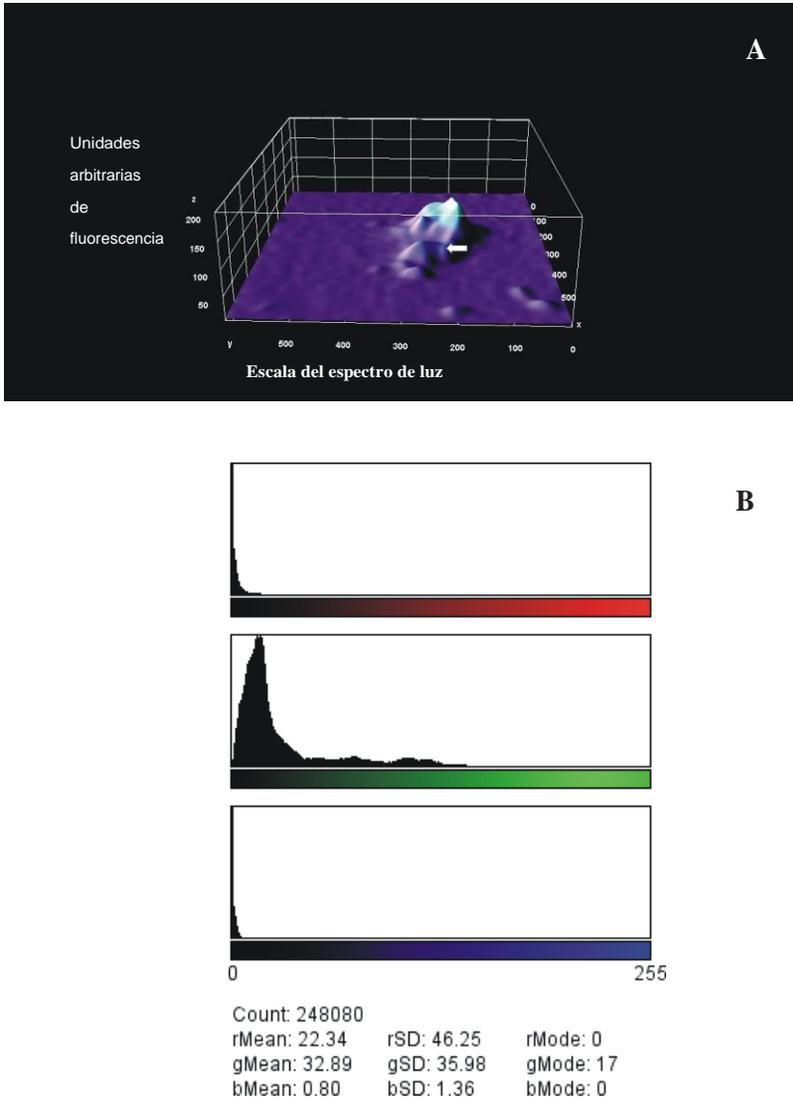


Figura 7. Histograma de las señales de la fluorescencia en los diferentes canales de detección. **A.** Análisis de la intensidad de fluorescencia en 3D mostrando un trofozoíto en el canal verde del espectro de luz que detecta fluorocromos tipo Isocianatos. La intensidad es alta en el núcleo y las intensidades de las bacterias teñidas con DTAF (Excitación 498 nm y Emisión 517 nm, Flechas). **B.** Histograma de fluorescencia. Pico de fluorescencia en el canal verde coincidiendo con las bacterias teñidas DTAF.

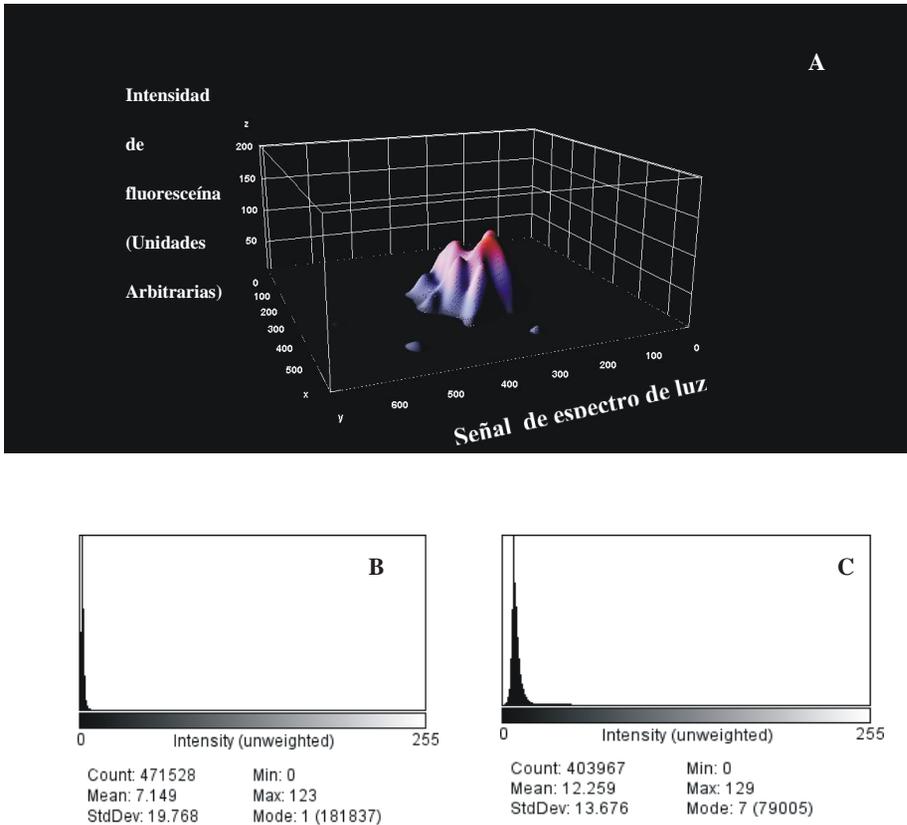


Figura 8. Histograma de las señales de la fluorescencia en los diferentes canales de detección. A. Análisis de la intensidad de fluorescencia en 3D, mostrando un trofozoíto en el canal azul del espectro de luz que detecta fluorocromos tipo Fenil-indol. La intensidad es alta en el núcleo y las intensidades sobre el núcleo con DAPI fueron detectadas a Excitación 359 nm y Emisión 457 nm. B y C. Histograma de fluorescencia (*Merge*). Pico de fluorescencia en el canal azul coincidiendo el núcleo y probables endosimbiontes.

DISCUSIÓN

La fagocitosis en las especies de *Acanthamoeba* del Valle del Mezquital se activa si la concentración de las amebas es mayor a 1×10^6 cels ml⁻¹, y si las bacterias tienen una concentración mayor a 1×10^8 cels ml⁻¹, principalmente en flóculos. Otra condición que presentó en este trabajo fue que los ensayos de

fagocitosis deben de ser realizados sobre superficies, y con un mínimo indispensable de concentración bacteriana.

Si bien, la fagocitosis fue realizada desde la cinética de los eventos de ingestión de bacterias, no cabe duda de que la fagocitosis en las *Acanthamoeba* ambientales probadas en este estudio está regulada por el sistema vacuolar y compartimientos celulares asociados, los que permiten este mecanismo, que no solo está asociado a la tasa de regulación de la población bacteriana, sino que tiene un importante impacto sobre los ensamblajes ambientales.

A. castellanii proveniente del Valle del Mezquital reveló características de la fagocitosis en las especies de *Acanthamoeba* y que poco han sido estudiadas. Tras la técnica del apagamiento con buffer de azul tripano-PBS1x, se pudo observar el contenido de las vacuolas de los trofozoítos, y las fases por las que se produce la fagocitosis de las bacterias. Inicialmente, los trofozoítos de *Acanthamoeba* forman una copa, en la cual se colectan bacterias desde los primeros 5 minutos. Una proyección de trofozoítos mostró la formación de la copa de fagocitosis o copa fagocítica cuya función fue colectar bacterias. Más específicamente, los pseudópodos formados pueden colectar flóculos de bacterias que fueron importantes para la fagocitosis del género *Acanthamoeba*.

Rogerson *et al.* (1996) encontraron similarmente que la misma superficie de los trofozoítos de las especies de *Gymnamoeba* son suficientes para atrapar las bacterias en especies de amebas de vida libre marinas. En este caso también se observó la adhesión de las bacterias a la superficie celular.

La formación de copas fagocíticas u otras formas de captura de bacterias ha sido reportado también para la toma de *Legionella pneumophila* por *A. castellanii*, que forma un pseudópodo superenrollado, que aparentemente es inducido por la interacción específica con esta bacteria patógena (Bozue y Jhonson 1996). Sin embargo, existen pocos registros de este proceso de englobamiento de las bacterias en las fases iniciales de la fagocitosis.

Nuestro estudio muestra la formación de una copa fagocítica, un rearrreglo de pseudópodos que facilita la captura de bacterias, un hallazgo importante de este trabajo que constituye un aporte en la interacción de especies de *Acanthamoeba* en el ambiente. La mayoría de los trabajos están concentrados en el estudio de la fagocitosis o toma de bacterias, principalmente patógenas, como la mencionada *Legionella pneumophila*, un patógeno que provoca una enfermedad respiratoria

grave. Uno de los trabajos mencionados anteriormente muestra el arreglo de seudópodos de una manera especial enrollándose para la toma de la bacteria e ingerirla, al parecer este mecanismo esta propiciado por la bacteria, posiblemente inducido por la combinación de carbohidratos, lipopolisacaridos, oligolipopolisacaridos en la superficie bacteriana (Bozue y Johnson 1996, Seeger *et al.* 2010, Alibaud *et al.* 2014).

Existen varios procesos que caracterizaron a la fagocitosis de las amebas de vida libre del Valle del Mezquital, entre ellos, la formación de vacuolas fagocíticas a la ½ hora y la reducción del contenido de estas vacuolas a 1 hora. Durante una hora el contenido de las vacuolas fagocíticas es degradado o expulsado, quedando solo las sustancias no digeribles. Principalmente, en este estudio se encontró que la fagocitosis de las especies de *Acanthamoeba* ambientales se caracterizó por el rearrreglo de seudópodos para la formación de un copa o cesta fagocítica, especialmente en *A. castellanii*.

Resultados similares fueron observados por Dey *et al.* 2019 para otras especies del género *Acanthamoeba*, como, es el caso de *A. polyphaga* y la fagocitosis *Pseudomonas aeruginosa*, una bacteria patógena; en la cual se observó la unión inicial de estas bacterias a la superficie de la *Acanthamoeba* y luego la internalización de las mismas en una relación de tiempo semejante a la encontrada en este trabajo, durante la cual, el número de bacterias adheridas a la superficie amebiana disminuyen, mientras que las bacterias se localizan en vacuolas luego de 1 h. Contrariamente a nuestro trabajo, Dey *et al.* (2019) observaron que el porcentaje de fagocitosis es mayor a los 1½ hora, mientras que nuestro trabajo el mayor índice de fagocitosis se encontró a ½ hora, pero la diferencia estriba en las bacterias o presas, una patogénica y la otra ambiental no patogénica. Para Bozue y Johnson 1996 la cepa bacteriana patogénica, como *Legionella pneumophila*, no sigue el tráfico de la fusión fagosoma-lisosoma, sino que se queda en el citoplasma de *Acanthamoeba* e incluso este tipo de bacterias puede replicarse en el mismo a diferencia de una bacteria ambiental que funciona como una presa.

El contenido vacuolar de las especies de *Acanthamoeba* del Valle del Mezquital alcanzó un máximo de 12.000 bacterias, de acuerdo a la intensidad de fluorescencia, que en comparación con *A. culbertsoni* de referencia es más alto, mostrando la importancia que tiene el género de *Acanthamoeba* en la regulación de la población bacteriana. La formación de vacuolas es un punto que debe de ser es

un punto que debe de ser estudiado en este género, pero resultados preliminares en otros protozoarios, como *Entamoeba histolytica* demuestran que la interacción pre-fagocítica ocurre vía complejos de proteínas con un receptor blanco que genera la formación de vacuolas, provocando la activación del retículo endoplasmático, bien para generar más proteínas de *docking* o bien para procesar el material ingerido; a través de la fusión de los fagosomas con lisosomas, en un proceso que se ha denominado una “digestión celular” (Pertuz Belloso Silvana, comunicación personal, Berón *et al.* 1995, Siddiqui y Khan 2012, Hartenstein y Martínez 2019). Este proceso se considera un mecanismo evolutivamente conservado desde los protozoarios hasta algunas de las células del sistema inmunológico de los mamíferos (Hallett 2020).

Los efectos de las especies de *Acanthamoeba* sobre las poblaciones bacterianas fueron descritos por Weekers *et al.* (1993), el crecimiento de las amebas de vida libre fue indicador del consumo de las bacterias. Los cultivos de *A. castellanii*, *H. vermiformis* y *A. polyphaga* (aisladas de suelo), se incubaron con varias bacterias presentes en el ambiente, y se encontró que dependiendo de las especies de *Acanthamoeba*, estas crecen y generan altos niveles de amonio. Una predisposición a consumir enterobacterias fue observada para las amebas de vida libre se observó cuando estas aumentaron su crecimiento y la producción de amonio, que fue el indicador en este estudio. Similarmente a nuestro estudio, Weekers *et al.* (1993) también encontraron que hay especies de *Acanthamoeba* que no son grandes consumidoras de algunas de las especies bacterianas probadas, en el caso de este estudio, *A. culbertsoni* del Valle del Mezquital no presentó una buena afinidad por la enterobacteria seleccionada, la cual no ingiere bien.

El efecto que tiene la bacteria o presa en el crecimiento de las cepas de *A. castellanii* o lo que es la preferencia por un tipo específico de bacterias fue también observado por Pickup *et al.* 2007, haciendo pruebas con diferentes bacterias, de las cuales *K. aerogenes*, y *E. coli* fueron las presas que generan mayor crecimiento de *A. castellanii* y de *H. vermiformis*, demostrando con esto que existe una “preferencia” por algunos tipos de bacterias, similarmente a nuestro estudio.

En un modelo de biopelículas, como son los lentes de contacto, Bottone *et al.* (1992) encontraron un ensamblaje constituido por especies de *Acanthamoeba* spp. y *Xathomonas maltophila*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Flavobacterium breve* y *Escherichia coli*. Estas bacterias incubadas con *A. castellanii* y *A. polyphaga* indujeron el crecimiento de las mismas con preferencias de acuerdo a la especie bacteriana. *P. paucimobilis* y

X. maltophila indujeron un mayor crecimiento de *A. castellanii*. En cambio, *A. polyphaga* creció mejor con la bacteria *Flavobacterium breve*, *Staphylococcus aureus* y *X. maltophila*; mostrando que las diferentes cepas de *Acanthamoeba* desarrollan una afinidad por algunas cepas bacterianas dependiendo del ensamblaje de donde se hayan aislado.

En este caso se usó *Klebsiella aerogenes*, debido a su relación con el cultivo para el aislamiento de estas especies de *Acanthamoeba* de las aguas subterráneas del Valle del Mezquital. De acuerdo a las observaciones de Matuz (2001), existe contaminación con aguas residuales que permean a las aguas subterráneas, encontrando hasta 250 unidades formadoras de colonias de coliformes fecales, indicando que en el lugar de aislamiento de las especies de *Acanthamoeba* crecieron e interaccionaron con enterobacterias.

Varias han sido las bacterias que se han encontrado que son fagocitadas por las especies de *Acanthamoeba* muchas de ellas patógenicas, tal es el caso de *Yersinia enterocolitica* y *Micobacterium leprae*, en ambos casos estas bacterias son fagocitadas, pero no digeridas, sino que por el contrario se replican en el citoplasma de las amebas de vida libre, por lo que la función de la fagocitosis no solo tiene que ver con ingesta de bacterias, sino que también tiene que ver con el proceso de endosimbiosis y en muchos casos se han considerado a las especies de *Acanthamoeba* como reservorios de bacterias patógenas, y podría redefinir las condiciones de las enfermedades reemergentes (Lambrecht *et al.* 2013, Guimaraes *et al.* 2016, Paling *et al.* 2018).

Desde el punto de vista ecológico, las amebas de vida libre del género *Acanthamoeba* tienen importancia en la regulación de las poblaciones bacterianas en biopelículas. Las biopelículas y los ensamblajes de microorganismos formados sobre interfaces entre la columna de agua y sedimentos, así como en el suelo; suelen ser ecosistemas en donde las amebas de vida libre son los principales controladores de las poblaciones bacterianas. En el caso específico de *A. castellanii* se encontró que juega un papel importante sobre los ensamblajes de las biopelículas integradas incluso por ciliados (Valster *et al.* 2011). Efectivamente, las biopelículas en lentes de contacto son buenos ejemplos del ensamblaje de organismos que componen estos ecosistemas. En el caso específico de las especies de *Acanthamoeba* en estas biopelículas contribuyen grandemente

al soporte de las poblaciones bacterias en estas superficies. Miyazaki *et al.* 2020 observaron que el establecimiento y el crecimiento de la comunidad bacteriana depende directamente de *Acanthamoeba* spp. Bacterias como *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Micrococcus*, entre otras fueron encontradas en este tipo comunidades, las mismas que han sido referidas como bacterias que comúnmente son fagocitadas por las especies de *Acanthamoeba*.

En sistemas de suelo, las amebas de vida libre fueron capaces de deprestar bacterias reduciendo y regulando su población. Las especies bacterianas que han sido reportadas para los ensamblajes, en donde han sido aisladas las amebas de vida libre, son principalmente de los géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, Enterobacterias, como la probada aquí y *Legionella*, una cepa patogénica; convirtiéndolas en ocasiones en un reservorio de estas bacterias patogénicas (Guimaraes *et al.* 2016, Andersen 2018).

Por último, desde el punto de vista de la biodiversidad de las aguas subterráneas del Valle del Mezquital, el mayor porcentaje de las amebas de vida libre aisladas fueron del género *Acanthamoeba* (Matuz 2001). Aquí en este estudio analizamos dos cepas de este género que, de acuerdo al perfil, eran patogénicas, como fue descrito anteriormente. En este estudio solo *A. castellanii* fue patogénica de acuerdo al ensayo en ratones. Un punto importante fue que estas cepas crecieran en un rango de 22°C a 37°C; un rasgo de las cepas no patogénicas (De Jonckheere 1980). En este estudio solo *A. castellanii* fue recuperada de pulmones, y el cerebro en ratones inoculados, encontrando una relación entre la alta actividad fagocítica y la patogenicidad, acotando que *A. castellanii* presentó mayor actividad fagocítica, con respecto a *A. culbertsoni*, ambos aislados del Valle del Mezquital.

CONCLUSIONES.

Uno de los principales hallazgos de este trabajo fue la formación de la copa fagocítica, así como la determinación de que el evento de fagocitosis está limitado por el tiempo de la ingestión del contenido vacuolar. A la formación de la copa fagocítica le siguen la producción de varias vacuolas, y luego la posterior digestión del contenido vacuolar. Las condiciones de la fagocitosis de estas cepas fueron de al menos 1 millón de trofozoítos por milímetro cuadrado y al menos un millón de bacterias. Las mejores condiciones para que ocurra la fagocitosis son la saturación del sistema con bacterias y emulación de la superficie o las interfases, en donde *Acanthamoeba* ejerce una función importante.

AGRADECIMIENTOS.

A María Elena Martínez de la FES-Iztacala UNAM por la asesoría técnica en la ejecución del marcaje de las amebas de vida libre en el sistema de microfiltración.

A Patricia Chalico y Blanca Martínez de la FES-Iztacala UNAM por la donación de las cepas de ameba de referencia y el cultivo bacteriano de referencia.

A María del Rosario Sánchez y Alfonso Lugo de la FES-Iztacala UNAM por la asesoría técnica en la toma de las microfotografías.

A Lourdes Massieu del Instituto de Fisiología Celular y Carlos Eslava de la Facultad de Medicina. UNAM por su apoyo en la infraestructura.

LITERATURA CITADA.

ALIBAUD, L., J. PAWELCZYK, L. GANNOUN-ZAKI, V. K. SINGH, Y. ROMBOUTS, M. DRANCOURT, J. DZIADEK, Y. GUÉRARDEL y L. KREMER. 2014. Increased phagocytosis of *Mycobacterium marinum* mutants defective in lipooligosaccharide production: a structure-activity relationship study. *Biol Chem.* 289: 215-228.

ALLEN, P. G. y E. A. DAWIDOWICZ. 1990. Phagocytosis in *Acanthamoeba*: I. A mannose receptor is responsible for the binding and phagocytosis of yeast. *J Cell Physiol.* 145: 508- 513.

ANDERSEN, R. O. 2018. A Half-century of Research on Free-living Amoebae (1965– 2017): Review of Biogeographic, Ecological and Physiological Studies. *Acta Protozool.* 57: 1–28.

ATIF-NISAR, M., K. E. ROSS, M. H BROWN, R. BENTHAM y H. WHILEY. 2020. *Legionella pneumophila* and Protozoan Hosts: Implications for the Control of Hospital and Potable Water Systems. *Pathogens.* 9: 286.

AVERY, S. V., J. L. HARWOOD y D. LLOYD. 1995. Quantification and Characterization of Phagocytosis in the Soil Amoeba *Acanthamoeba castellanii* by Flow Cytometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1124-1132.

BERÓN W, C. ÁLVAREZ-DOMÍNGUEZ, L. MAYORGA y P. D. STAHL. 1995. Membrane trafficking along the phagocytic pathway. *Trends Cell. Biol.* 5: 100-104.

BOTTONE, E. J., R. M. MADAYAG y M. N. QURESHI. 1992. *Acanthamoeba keratitis*: synergy between amebic and bacterial co-contaminants in contact lens care systems as a prelude to infection. *J. Clin. Microbiol.* 30: 2447-50.

BOZUE, J. A. y W. JOHNSON. 1996. Interaction of *Legionella pneumophila* with *Acanthamoeba castellanii*: Uptake by Coiling Phagocytosis and Inhibition of Phagosome- Lysosome Fusion. *Infection and Immunity.* 64: 668–673.

CASTRILLÓN, J. C. y L. P. OROZCO. 2013. *Acanthamoeba* spp. as opportunistic pathogens parasites. *Rev. Chilena Infectol.* 30:147-55.

DE JONCKHEERE, J. F. 1980. Growth Characteristics, Cytopathic Effect in Cell Culture, and Virulence in Mice of 36 Type Strains Belonging to 19 Different *Acanthamoeba* spp. *Applied and Environmental Microbiology.* 39: 681-685.

DEY, R., A. M. RIEGER, C. STEPHENS y N. J. ASHBOLT. 2019. Interactions of *Pseudomonas aeruginosa* with *Acanthamoeba polyphaga* Observed by Imaging Flow Cytometry. *Cytometry.* 95A: 555–564.

GALLEGOS-NEYRA, E. M., A. LUGO-VÁZQUEZ, A. CALDERÓN-VEGA, M. R. SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ y R. MAYÉN-ESTRADA. 2014. Biodiversidad de protistas amébidos de vida libre en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad, Supl.* 85: S10-S25.

GUIMARAES, A. J., K. XAVIER GOMES, J. REIS CORTINES, J. M. PERALTA Y R. H. SARA-MAGO PERALTA. 2016. *Acanthamoeba* spp. as a universal host for pathogenic microorganisms: One bridge from environment to host virulence. *Microbiol. Res.* 193: 30-38.

HALLETT, M. B. 2020. An Introduction to Phagocytosis. *Adv Exp Med Biol.* 1246: 1-7.

HARTENSTEIN, V. y P. MARTÍNEZ. 2019. Phagocytosis in cellular defense and nutrition: a food-centered approach to the evolution of macrophages. *Cell Tissue Res.* 377: 527-547.

LAMBRECHT, E., J. BARÉ, I. VAN DAMME, W. BERT, K. SABBE Y K. HOUF. 2013. Behavior of *Yersinia enterocolitica* in the presence of the bacteriovorous *Acanthamoeba castellanii*. *Applied and Environmental Microbiology.* 79: 6407-6413.

LOIKE, J. D. y S. C. SILVERSTEIN. 1983. A fluorescence quenching technique using trypan blue to differentiate between attached and ingested glutaraldehyde-fixed

red blood cells in phagocytosing murine macrophages. *J. Immunol. Methods.* 57: 373-379.

MATUZ, M. D. 2001. Amebas de vida libre aisladas de aguas subterráneas del valle de mezquital, Hidalgo, México. Tesis de Grado, Escuela de Estudios Superiores (FES) de Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Estado de México. 53pp.

MIYAZAKI, D., H. EGUCHI, T. KUWAHARA, H. NAKAYAMA-IMAOHJI, M. INABA, M. ITOI, K. UEDA, Y. OHASI, K. SADO, S. MIZUTAHY, S. SASAKI, Y. SHIMIZU y Y. INOUE. 2020. Presence of *Acanthamoeba* and diversified bacterial flora in poorly maintained contact lens cases. *Scientific Reports: Nature Research.* 10: 12595.

PALING S., R. WAHYUNI, N. MATUZAHROH, D. WINARNI, ISWAHYUDI, L. ASTARI, D. ADRIATY, I. AGUSNI y S. IZUMI. 2018. *Acanthamoeba* sp. S-11 phagocytotic activity on *Micobacterium leprae* in different nutrient conditions. *Afr. J. Infect. Dis.* 12(S): 44-48.

PICKUP, Z. L., R. PICKUP y J. D. Parry. 2007. Effects of Bacterial prey species and their concentration on growth of the *Acanthamoeba castellanii* and *Harmannella vermiformis*. *Applied and Environmental Microbiology.* 73: 2631-2634.

ROGERSON, A., F. HANNAH Y G. GOTHE. 1996. The grazing potential of some unusual marine benthic amoebae feeding on bacteria. *European Journal of Protistology.* 32: 271-279.

PERTUZ S. B. y N. C. JIMÉNEZ. 2015. Amebas de vida libre potencialmente patógenas en la bahía de Maracaibo. *Bol. Centro Invest. Biol.* 50: 100- 118.

SEEGER E. M., M. THUMA, E. FERNÁNDEZ-MOREIRA, E. JACOBS, M. SCHMITZ, Y J. H. HELBIG. 2010. Lipopolysaccharide of *Legionella pneumophila* shed in a liquid culture as a nonvesicular fraction arrests phagosome maturation in amoeba and monocytic host cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 307: 113-119.

SHERR, B. F., E. B. SHERRY R. D. FALLON. 1987. Use of Monodispersed, Fluorescently Labeled Bacteria to Estimate In Situ Protozoan Bacterivory. *Applied and Environmental Microbiology.* 53: 958-965.

SIDDIQUI R. y N. A. KHAN. 2012. Biology and pathogenesis of *Acanthamoeba*.

Parasit, Vectors. 10: 5:6.

TINDALL, B. J., G. SUTTON y G. M. GARRITY. 2017. *Enterobactera erogenes* Hormaeche and Edwards 1960 (Approved Lists 1980) and *Klebsiella mobilis* Bascomb *et al.* 1971 (Approved Lists 1980) share the same nomenclatural type (ATCC 13048) on the Approved Lists and are homotypic synonyms, with consequences for the name *Klebsiella mobilis* Bascomb *et al.* 1971 (Approved Lists 1980). I. J. of Syst and Evol. Microbiol. 67: 502-504.

VALSTER, R. M., B. A. WULLINGS, R. VAN DEN BERG Y D. VAN DER KOOIJ. 2011. Relationships between Free-Living Protozoa, cultivable *Legionella* spp., and water quality characteristics in three drinking water supplies in the Caribbean. Appl. Environ. Microbiol. 77: 7321-7328.

WEEKERS, P. H. H., P. L. E. BODELIER, J. P. H. WIJEN y G. D. VOGELS. 1983. Effects of Grazing by the Free-Living Soil *Amoebae* *Acanthamoeba castellanii*, *Acanthamoeba polyphaga*, and *Hartmannella vermiformis* on Various Bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 59: 2317-2319.

CLASIFICACIÓN DE NUEVOS MICROHÁBITATS DE AGUA SALOBRE EN VENEZUELA. CONSIDERACIONES BIOECOLÓGICAS SOBRE LAS ESPECIES DE INSECTOS ACUÁTICOS EN LA PENÍNSULA DE ARAYA.

Erickxander Jiménez-Ramos¹⁻², Mauricio García³ y Vanessa Acosta¹⁻⁴

¹Laboratorio de Ecología, Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente (UDO), Cerro Colorado, Cumaná, Estado Sucre 6101, Venezuela.

²Coordinación de Proyectos de Investigación, Universidad Politécnica Territorial de Oeste de Sucre Clodosbaldo Russian, Sede Araya, estado Sucre, 6101. Venezuela.

³Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Apartado 526, Maracaibo A-4001, Estado Zulia, Venezuela.

E-mail: liocanthyrus@yahoo.com

⁴Grupo de Investigación en Biodiversidad y Ecología de Ecosistemas Acuáticos, Departamento de Acuicultura Pesca y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Bahía de Caráquez, Manabí, EC 131450, Ecuador.

RESUMEN

Se identifican y clasifican dos nuevos sistemas hidroecológicos de agua salobre en la Península de Araya, región nororiental del estado Sucre, Venezuela. El primero se incluye dentro del sistema Límnico, como un subsistema temporal de agua salobre y el segundo se describe dentro de un humedal marino-costero de agua salobre como el Manglar. Estos humedales presentan los mismos microhábitats existentes en el medio acuático dulce, pero con características propias del agua salobre. Entre ambos humedales se colectaron 30 especies de insectos acuáticos de los órdenes Coleoptera, Hemiptera, Diptera y Odonata, con mayor riqueza entomológica en la laguna temporal. Se destacan imágenes satelitales para cada sistema estudiado y se actualiza la clasificación habitológica.

Palabras clave. Costa del Caribe; humedal de la costa; insectos acuáticos; sistemas hidroecológicos.

CLASSIFICATION OF NEW BRACKISH WATER MICROHABITATS IN VENEZUELA. BIOECOLOGICAL CONSIDERATIONS ON THE SPECIES OF AQUATIC INSECTS IN THE ARAYA PENÍNSULA.

ABSTRACT

Two new brackish water hydro-ecological systems are identified and classified in the Araya Peninsula, northeastern region of Sucre state, Venezuela. The first is included within the Limnico system, as a temporary brackish water subsystem and the second is described within a marine-coastal brackish water wetland such as the Mangrove. These wetlands present the same microhabitats existing in the fresh aquatic environment, but with typical characteristics of brackish water, in which between 12 and 18 species of aquatic insects of the orders Coleoptera, Hemiptera, Diptera and Odonata were collected, with greater entomological richness in the temporary lagoon. Satellite images are highlighted for each studied system and the habitual classification is updated.

Key words. Caribbean coast; coastal wetland; aquatic insects; hydroecological system.

Recibido / Received: 01-12-2020 ~ **Aceptado / Accepted:** 05-04-2021.

INTRODUCCIÓN

La Península de Araya (nororiente de Venezuela), se caracteriza por ser una región de extrema aridez, con predominancia de matorrales xerófilos (Cumana 1999; Jiménez *et al.* 2017; Bello *et al.* 2020), precipitaciones que no superan los 400 mm anuales, intensa radiación solar con temperaturas extremas a nivel del suelo y fuertes vientos provenientes del noreste (Cumana 1999; Gómez 2007; Llamozas *et al.* 2008; López-Monroy y Trocoli- Ghinaglia 2014).

Las características climáticas y geográficas de la Península de Araya y la ausencia de ambientes acuáticos de agua dulce, limitan la distribución de las especies a medios altamente cambiantes, salobres o temporales (García y Jiménez-Ramos 2019, 2020 a, b, c, d, e, 2021), donde la intensidad y variación anual del hidropérido determinan la frecuencia de inundación y formación de humedales temporales (Gómez-Rodríguez *et al.* 2011), que condicionan la flora y fauna que habitan la Península de Araya. En este sentido, la presencia de dos sistemas hidroecológicos de agua salobre (manglar y

lagunas temporales) ubicados en la zona occidental de la península de Araya, constituye un hecho importante, que amerita su investigación, considerando que, la distribución espacial de los hábitats en general, debe formar parte de las estrategias de conservación, ya que condiciona la distribución de las especies que los habitan (Semlistch y Bodie 1998), más aun en zonas con déficit hídrico.

Los sistemas acuáticos temporales o salobres, son colonizados por especies adaptadas a la imprevisibilidad que caracteriza a estos ambientes, y en general la fauna y flora presente, es diferente a la de medios acuáticos permanentes o de agua dulce (Collinson *et al.* 1995; Cereghino *et al.* 2008; García *et al.* 2016), por lo que, las especies de insectos colectadas en estos sistemas son consideradas especies eurihalinas por su adaptabilidad y tolerancia al medio húmedo salino (Pallares *et al.* 2017), que ante la ausencia de cuerpos de agua dulce o humedales permanentes, han quedado restringidos a microhábitats que a pesar de sus diferencias con los de agua dulce, son el refugios de una variedad de organismos acuáticos como los insectos. En este sentido, esta investigación es una continuidad de la clasificación de sistemas de microhábitats propuestos por García *et al.* (2016), cuyo propósito final es la identificación, descripción y clasificación de sistemas hidroecológicos de agua salobre, partiendo de la habitología y distribución de los insectos en dos ambientes húmedos de la zona occidental de la Península de Araya.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área estudiada comprende una laguna temporal (Sistema Límnico-léntico) y un bosque de manglar (Suprasistema aguas marinos-costeras, sistema Manglar), ubicados en la localidad de Araya ($10^{\circ}34'24,03''$ N y $64^{\circ}15'29,60''$ W; 5 m.s.n.m.), Península de Araya, nororiente de Venezuela (Fig. 1), región caracterizada por su extrema aridez, donde los matorrales y arbustales xerófilos, constituyen la vegetación dominante (Cumana 1999; Jiménez *et al.* 2017; Bello-Pullido *et al.* 2020) y los niveles de precipitación anual no superan los 400 mm (López-Monroy y Trocoli-Ghinaglia 2014). Además de presentar una irregularidad interanual en la duración de las lluvias, la zona se encuentra influenciada por los vientos alisios provenientes del Este y Noreste, los cuales condicionan los procesos oceanográficos, modulan el clima de la capa superficial del mar, así como de la línea costera de la Península de Araya (Castellano *et al.* 2000; Gómez 2007).

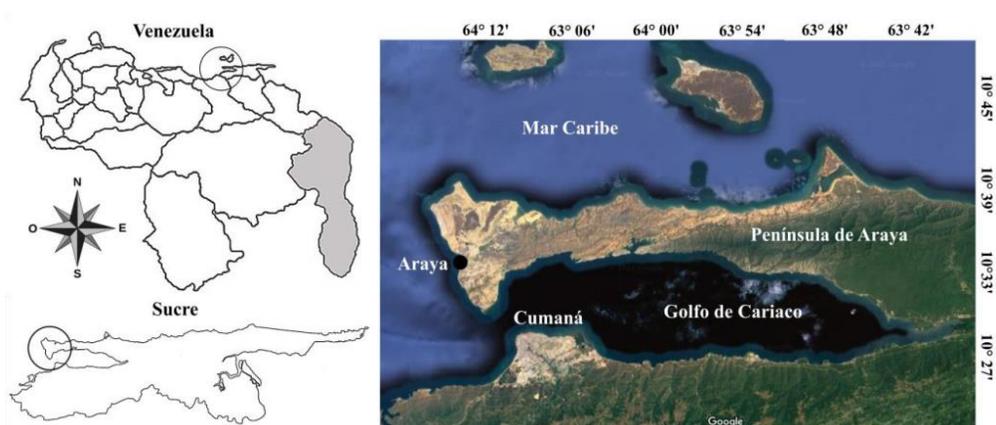


Figura 1. Vista satelital de la Península de Araya, y su ubicación respecto al estado Sucre y Venezuela.



Figura 2. Vista satelital de la Península de Araya. A) Diciembre de 2017 y B) Diciembre de 2018. El punto rojo señala la laguna temporal Cerro “El Macho” y el punto verde el bosque de Mangle.

Sistema Límnico-léntico salobre.

El sistema corresponde a una laguna temporal DE aproximadamente 10.000 m², en su mejor nivel, originada por la acumulación de agua de lluvia en una depresión cuya profundidad oscila entre 0,5 m y 1,0 m (Macsoyay *et al.* 1995; García y Jiménez-Ramos 2019, 2020 y a, b, c, 2021). La salobridad del humedal, se debe a la acumulación de sal marina durante la época de sequía, además de su cercanía a las salinas de Araya. La región anualmente presenta una alternancia entre lluvia y sequía (Cumana 1999), que rige la formación de este humedal, siendo la sequía la más prolongada, mientras que las lluvias se presentan de manera irregular, ocasionando que la temporalidad de la laguna “Cerro El Macho”, presente variación anual, como se observo durante el muestreo (Figs. 2a, 2b, 2c, 3a, 3b, 4a, 4b, 4c y 4d).



Figura 3. Imagen satelital de la laguna temporal de agua salobre, en el sector “Cerro El Macho”. A diciembre 2017 y B. Diciembre 2018



Figura 4. Imagen Satelital de la laguna de “Cerro El Macho”. A. y B. diciembre 2017; C y D. diciembre 2018. Escalas: A y B=90m, C= 100m y D= 30m.

Suprasistema aguas marinos-costeras, sistema Manglar

El manglar evaluado se sitúa en la línea costera de la localidad de Araya y corresponde a un bosque mixto de *Avicennia germinans*, *Conocarpus erectus*, *Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*. Esta zona recibe descargas continuas de aguas negras provenientes de asentamientos humanos cercanos, lo que genera una disminución de la salinidad. La profundidad del medio oscila entre los 0, 25 m y 0, 50 m. El fondo sustrato está formado por una gruesa capa

de material orgánico exento de oxigenación, que conlleva a la formación de un material negro de aspecto lodoso, que guarda similitud con la capa de *Humus* que caracteriza los humedales de agua dulce; además en el fondo, se concentra gran cantidad de desechos orgánicos, entre ellos, la hojarasca (*Folian decidunt* en el sistema del manto residual) procedente del sistema del manglar, almacenando detritus orgánico en sus raíces (*Radix* en el sistema límnico/léntico), dando origen a un sustrato areno-fangoso (*Ramentum* en el sistema límnico/léntico), que favorece la formación de diferentes habitáculos intermanglares, que son ocupados por invertebrados acuáticos y terrestres (Fig. 5).



Figura 5. Vista aérea del sistema manglar, encerrado en un círculo rojo la zona de colecta. A. Dirección del agua de mar que entra al manglar, B. Entrada de agua servida (residual) proveniente de viviendas adyacentes al manglar. C. Distribución del flujo de corriente marina. D. Población de *Batis maritima* L. en los alrededores del manglar.

Clasificación de los microhábitats

La identificación y descripción de los microhábitats, se realizó siguiendo lo establecido por García *et al.* (2016), que planteo la clasificación de los sistemas hidroecológicos y sus microhábitats basados en humedales de agua dulce. Dicha clasificación, parte de la condición de un suprasistema para considerar los grandes espacios húmedos que contienen la diversificación de ambientes y su entorno. En esta investigación se anexan las descripciones de microhábitats del sistema límnico (Fig. 6), pertenecientes al Grupo A de la clasificación de García *et al.* (2016), con la diferencia de que los sistemas evaluados en esta oportunidad son de agua salobre y no de agua dulce.



Figura 6. Clasificación de los microhábitats del Suprasistema Aguas continentales, Supersistema Humedal de agua dulce. Sistema Límnico planteado en García *et al.* 2016.

Recolección e identificación de organismos acuáticos.

La captura de los insectos acuáticos, se realizó de forma manual en el lapso 2017-2018, utilizando una malla microcernidora para capturas acuáticas de 15 cm de diámetro y poros menores a una micra de longitud y colectados con un succionador o aspirador manual, con filtro para evitar la deglución de los microinsectos, los cuales fueron conservados en solución alcohólica al 75% y transportados en microfrascos de vidrio.

Las determinaciones taxonómicas se efectuaron hasta la categoría de especie y otros hasta género, usando un microestereoscopio M10 marca Leica 80x de resolución. Las determinaciones taxonómicas del material colectado en los diferentes muestreos, formaron parte de subsecuentes investigaciones, las cuales incluyeron descripciones de nuevos taxones (García y Jiménez-Ramos 2019, 2020a, b, c, 2021). El material se

encuentra depositado en el Museo de Artrópodos de la Universidad del Zulia (MALUZ), Maracaibo, Zulia, Venezuela.

RESULTADOS

Sistema Límnico-Léntico / Agua salobre (Figs. 2-4 y 7).

La caracterización hidroecológica de la laguna temporal “Cerro El Macho”, permite la inclusión de un nuevo subsistema Límnico-Léntico de microhábitats en agua salobre, dentro del sistema Límnico establecido para medios de agua dulce (Fig. 7, Tabla 1), bajo la clasificación de microhábitats de García *et al.* (2016). El nuevo subsistema incluye los mismos microhábitats señalados, a excepción del *Folia decidunt*, que pertenece al sistema del manto residual de hojarasca, pero está fuertemente relacionado con todos los sistemas hidroecológicos, debido a la superposición del material orgánico en cada uno de los microhábitats del sistema Límnico, tanto en agua dulce como en agua salobre, representando sistemas diferentes pero muy conectados (García 2017).

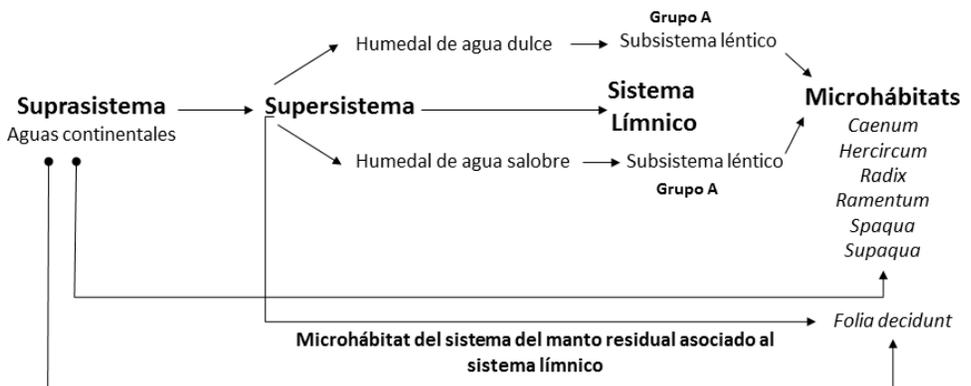


Figura 7. Clasificación de los microhábitats del Subsistema Límnico-Léntico de agua salobre.

La laguna temporal evaluada contiene plantas acuáticas vasculares (*Hercircum*) en el fondo sustrato y en la superficie (*Supaqua*) algas Cianophytas o Cianobacterias, que mantienen el hábitat oxigenado (King *et al.* 2011), sus aguas son inicialmente dulces, pero su cercanía a las salinas de Araya y la presencia de sales depositadas en

el fondo sustrato durante la temporada seca, le aportan la característica de agua el salobre.

La vegetación de los márgenes de la laguna está integrada principalmente por las familias Cactaceae, Fabaceae y Poaceae, donde las especies suculentas (*Opuntia caracasana*, *Cylindropuntia caribaeae*), caducifolias (*Libidibia coriaria*, *Parkinsonia praecox*), herbáceas (*Digitaria insularis*, *Sporobolus* spp., *Chloris barbata*), arbustivas (*Castela erecta*, *Lycium nodosum*) y algunas trepadoras (*Funastrum clausum*) conforman una estructura vegetal xerófila; sin embargo, durante los meses de lluvia, se observa el crecimiento de plantas acuáticas de las familias Cyperaceae (*Eleocharis caribaeae*), Typhaceae (*Typha domingensis*) y algunas algas cianofitas, incluyendo un mayor desarrollo de hierbas en las orillas de la laguna, conformando los microhábitats *Hercircum* y su hojarasca el *Folia decidunt*.

Tabla 1. Microhábitats identificados en el subsistema de agua salobre. Sistema Límnico: 1 *Ramentum*-salobre, 2 *Caenum*-salobre, 3 *Spaqua*-salobre, 4 *Supaqua*-salobre, 5 *Radix*-salobre, 6 *Hercircum*-salobre; Sistema Manto Residual de Hojarasca: 7 *Folia decidunt*-salobre.

Microhábitat	Descripción
1 <i>Ramentum</i> -salobre Hidrofílicos e hidrénidos	Gránulos de arena entre 0,5 y 1,0 mm, como fondo viven enterrados en el sustrato y sobre los márgenes del cuerpo de agua, medio arenoso orgánico, formando una capa gruesa de material lodoso los cuales son liberados orgánico en descomposición, con altas por remoción. concentraciones de sal disuelta.
2 <i>Caenum</i> -salobre Las larvas de Sífidos y odonatos se arrastran en este medio salobre.	Material orgánico de restos de plantas vasculares y algas, que se depositan por encima del <i>ramentum</i> , formando una cubierta gelatinosa en el fondo sustrato y sobre los márgenes litorales de los cuerpos de agua.
3 <i>Spaqua</i> -salobre Los Vélidos caminan sobre la superficie gracias a pelos hidrófugos en sus tarsos.	Extendiéndose entre la superficie del agua y el sustrato de fondo en el cuerpo de agua, en el cual los insectos pueden fijarse cuando están inactivos.

Continuación **Tabla 1**

Microhábitat	Descripción
4 <i>Supaqua</i> -salobre Los insectos viven sujetos a sustratos orgánicos (plantas vasculares acuáticas) e inorgánicos (cuerpos inertes) cuando no están nadando.	Espacio húmedo sobre la superficie del agua, sobre el cual se desplazan las especies o permanecen sobre ella sin romper la tensión superficial.
5 <i>Radix</i> -salobre Sirve de anclaje a los insectos y otros invertebrados acuáticos, como crustáceos.	Formado por las raíces de pequeñas plantas vasculares, que dan lugar a habitáculos o cavidades.
6 <i>Hercicum</i> -salobre En las Cianophytas se encuentran Heterocéridos y Limníquidos. Los tallos herbáceos favorecen a las larvas de los Odonatos cuando se transforman en pupas.	Formado por plantas vasculares arraigadas en el fondo sustrato y por algas verdes azules o Cianophytas, dispersas por la superficie del cuerpo de agua y sus márgenes litorales.
7 <i>Folia decidunt</i> -salobre Este hábitat alberga larvas de especies de Dípteros y Odonatos. En este sistema no se encuentran invertebrados marinos porque, ya que el mismo es un humedal sin contacto con el mar.	La acumulación de hojas caducas en el fondo sustrato y sobre los márgenes litorales, da lugar a este tipo de microhábitat común en los sistemas de agua dulce, correspondiente al manto residual del corredor ribereño.

A pesar de la irregularidad de este humedal, se identificaron insectos pertenecientes a 18 especies de los órdenes: Coleoptera, Hemiptera, Odonata y Díptera, siendo los coleópteros los de mayor riqueza (11 spp.), de las cuales 10 fueron reportadas previamente como nuevas especies (García y Jiménez-Ramos 2019, 2020a, b, c). La totalidad de los coleópteros fueron colectados en estadio adulto, mientras que los hemípteros se encontraron en estado larval y adulto. El microhábitat que albergó la mayor riqueza específica fue el *Caenum* con seis especies (principalmente depredadores, detritívoros y fitófagos), seguido del *Hercicum* y el *Ramentum* con cuatro especies (Tabla 2).

Tabla 2. Listado de insectos colectados en el subsistema Límnicolento salobre y en el sistema asociado del Manto Residual de Hojarascas en la laguna “Cerro El Macho”, Península de Araya, Venezuela.

Orden	Familia	Especie	M	E	
Coleoptera	Carabidae	No determinado	R-F	A	
	Heteroceridae	<i>Haraia cerromachensis</i> García y Jiménez-Ramos, 2020c	H	A	
		<i>Haraia pallida</i> García y Jiménez-Ramos, 2020c	H	A	
	Hydraenidae	<i>Ochthebius (Ochthebius) riberai</i> García y Jiménez-Ramos, 2021	C	A	
	Hydrophilidae	<i>Enochrus (Methyrus) belloi</i> García y Jiménez-Ramos, 2020b	R-C	A	
		<i>Enochrus (Methyrus) peninsularis</i> García y Jiménez-Ramos, 2020b	R	A	
		<i>Enochrus (Methyrus) pusilli</i> García y Jiménez-Ramos, 2020b	H	A	
		<i>Paracymus balkei</i> García y Jiménez-Ramos, 2020a	C	A	
		<i>Paracymus ramosae</i> García y Jiménez-Ramos, 2020a	R	A	
		<i>Paracymus mercedesae</i> García y Jiménez-Ramos, 2020a	C	A	
		<i>Ercus bitipus</i> García y Jiménez-Ramos, 2019	H	A	
	Hemiptera	Corixidae	<i>Sigara</i> sp.	Spq	L A
		Mesovellidae	<i>Mesovellia</i> sp.	Spq	L A
<i>Notonecta</i> sp.			Supq	L A	
Vellidae		No determinado	Supq	L A	
Diptera	Ephydriidae	<i>Ephydra</i> sp.	C	L-P	
	Tendipedidae	<i>Tendipes (Tendipes) plumosus</i> Linnaeus, 1758	C	L-P	
Odonata	Lestidae	<i>Lestes</i> sp.	F	L	
	Libellulidae	<i>Libellula</i> sp.	F	L	

M: Microhábitat, C: *Caenum*, H: *Hercicum*, R: *Ramentun*, F: *Folia decidunt*, Spq: *Spaqua*, Supq: *Supaqua*. E: Estadio, L: Larva, P: Pupa, A: Adulto.

En la clasificación original de García *et al.* (2016), no se incluyen los ecosistemas marinos- costeros, por lo que en esta investigación, se diversificó y clasificó al manglar dentro de un nuevo Suprasistema, que engloba no solo a los humedales marinos-costeros, si no, a los manglares ubicados en la desembocadura de los ríos. Entre los humedales netamente costeros, se incluyen las marismas, pantanos salinos y lagunas salinas o cuerpos de aguas originados por inundaciones en la pleamar. En base a lo antes señalado, en las Figs. 8-9, se describe la clasificación del sistema manglar dentro del Suprasistema aguas marino- costeras y/o salobres y se detallan los microhábitats presentes (Tabla 3).

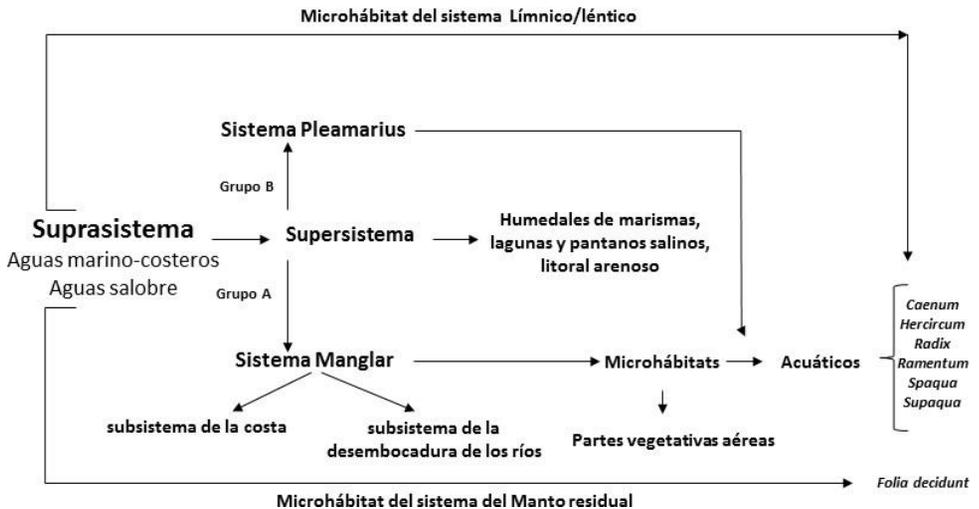


Figura 8. Clasificación de los sistemas hidroecológicos de microhábitats del Suprasistema de aguas marino-costeras, compartidos por los sistemas según su condición hidroecológica (No incluye la descripción de los microhábitats presentes en la parte área del manglar).

Las descripciones de los microhábitats identificados en el Sistema manglar de la localidad de Araya, están basadas en lo establecido por García *et al.* (2016), para el Suprasistema de aguas continentales y ajustado a las condiciones del sistema evaluado de la localidad de Araya.

Tabla 3. Microhábitats identificados en el Sistema Manglar, Suprasistema aguas marino-costeras, presentes en la localidad de Araya. 1 *Ramentum*-salobre, 2 *Caenum*-salobre, 3 *Spaqua*-salobre, 4 *Supaqua*-salobre, 5 *Radix*-salobre, 6 *Hercircum*-salobre; Sistema Manto Residual de Hojarascas: 7 *Folia decidunt*-salobre.

Microhábitat	Descripción
1 <i>Ramentum</i> -mangle Los Hidrofilidos e Hidrenidos, se encuentran enterrados en el medio arenoso orgánico, los cuales son liberados por remoción.	Gránulos de arena entre 0,5 y 1,0 mm, como fondo sustrato y sobre los márgenes del cuerpo de agua. Interiormente formando una gruesa capa negra de material lodoso orgánico en descomposición, con altas concentraciones de sal disuelta.
2 <i>Caenum</i> -mangle Las larvas de Sífidos se arrastran en este medio salobre.	Material orgánico de restos de plantas vasculares y algas, que se depositan por encima del <i>Ramentum</i> , formando una cubierta gelatinosa en el fondo sustrato y sobre los márgenes litorales de los manglares
3 <i>Spaqua</i> -mangle Sobre el cual se mantienen las especies de Veliidae.	Extendiéndose entre la <i>Supaqua</i> y el <i>Ramentum</i> por debajo de la superficie del agua del manglar.
4 <i>Supaqua</i> -mangle Mantienen las especies de Corixidae.	Espacio húmedo sobre la superficie del agua, sobre el cual se desplazan las especies o permanecen sobre ella sin romper la tensión superficial.
5 <i>Radix</i> -mangle Mantienen las especies de Corixidae y otros invertebrados acuáticos como cochinillas de agua (crustáceos).	Formado por las raíces de manglares y otras pequeñas plantas vasculares, que dan lugar a habitáculos o cavidades.
6 <i>Hercircum</i> -mangle Larvas y adultos de hidrofilidos e hidrenidos y Corixidos.	Formado por plantas vasculares adaptadas a un pH salino como <i>Batis maritima</i> L., arraigadas en el <i>Ramentum</i> sustrato.
7 <i>Folia decidunt</i> -mangle Este tipo de hábitat alberga invertebrados marinos (crustáceos) y larvas de especies de Dípteros.	Acumulación de hojas caducas en el fondo sustrato y sobre los márgenes litorales, da lugar a este tipo de microhábitat común en los sistemas de agua dulce.

Las características de los microhábitats dependerán de la estructura del manglar. Por ejemplo, los neumatóforos (estructuras modificadas con geotropismo negativo, que crecen en dirección opuesta al suelo) de *Avicennia germinans* y las raíces aéreas de origen adventicio, simples o dicotómicamente ramificadas de *Rhizophora mangle* forman parte del *Radix* (raíces), en los sistemas de manglar. Mientras que las macroalgas asociadas a las raíces de los manglares, conforman el *Hercicum* y es ocupado por diferentes invertebrados.

Las raíces sumergidas de *R. mangle* y los neumatóforos de *A. germinans*, permiten que diversas especies se adhieran o asocien, y a su vez proporcionan en gran medida un sustrato de fijación para otras especies, como el caso de las valvas o conchas de los moluscos, donde se adhieren principalmente cirrípedos o especies bentónicas de menor tamaño. Así mismo, las partes aéreas de los manglares (tallos, flores, hojas y frutos), conforman otros microhábitats, que, aunque no fueron considerados en esta investigación son ocupados por una variedad de invertebrados y vertebrados al cual se adhieren y/o asocian organismos como moluscos, artrópodos, tunicados, equinodermos y diversas.

En el Sistema de manglar evaluado, se registraron 12 especies de insectos, pertenecientes a tres órdenes (Coleoptera, Hemiptera, Diptera) de artrópodos, siendo los coleópteros los mejor representados con siete especies de las familias Hydrophilidae (6 spp.) y Hydraenidae (1 sp.), todos colectados en etapa adulta, principalmente en los microhábitats *Ramentum* y *Hercicum*. Las seis especies de Hydrophilidae, ocupan el nivel trófico de depredadores en estadio larval y detritívoro- fitófago en estadio adulto. Las especies de Hemiptera y Diptera se colectaron en estadio larval y adulto o larval y pupa, respectivamente, distribuidos entre la superficie del agua (*Spaqua* y *Supaqua*) o en el material orgánico (*Caenum*) acumulado sobre el *Ramentum*, siendo especies depredadoras en todos los estadios encontrados, a excepción de *Sigara* sp., que es fitófago (Tabla 4).

En conjunto con las especies de insectos descritas se observó la presencia de diversas especies de crustáceos, que aunque no fueron incluidas en esta investigación, forman parte de la trama ecológica que se desarrolla en el sistema manglar, ocupando un lugar dentro de los diferentes microhábitats, donde desempeñan una labor preponderante en la fragmentación de la hojarasca, dando origen al *Folia decidunt-mangle* y contribuyendo a su degradación y enriquecimiento orgánico del sistema.



Figura 9. Microhábitats del sistema manglar. A. *Ramentun* y B. *Hercircum*.

Tabla 4. Listado de insectos colectados en el Suprasistema aguas marinos-costeras, sistema Manglar y en el sistema asociado Manto Residual de Hojarascas en el sector La Reguera, Península de Araya, Venezuela.

Orden	Familia	Especie	M	E
Coleoptera	Hydraenidae	<i>Ochthebius (Ochthebius) leonesae</i> García y Jiménez-Ramos, 2021	C	A
		Hydrophilidae	<i>Enochrus (Methyrus) arayeris</i> García y Jiménez-Ramos, 2020b	R
	<i>Enochrus (Methyrus) longus</i> García y Jiménez-Ramos, 2020b		R	A
	<i>Enochrus (Methyrus) manglaris</i> García y Jiménez-Ramos, 2020b		R-H	A
	<i>Paracymus acostae</i> García y Jiménez-Ramos, 2020a		R-H	A
	<i>Paracymus marinus</i> García y Jiménez-Ramos, 2020a		R-H	A
	<i>Paracymus solarys</i> García y Jiménez-Ramos, 2020a	R-H	A	
Hemiptera	Corixidae	<i>Sigara</i> sp.	Spq	L-A
	Mesovellidae	<i>Mesovellia</i> sp.	Spq	L-A
	Notonectidae	<i>Notonecta</i> sp.	Supq	L-A
Diptera	Ephydriidae	<i>Ephydra</i> sp.	C	L-P
	Tendipedidae	<i>Tendipes (Tendipes) plumosus</i> Linnaeus, 1758	C	L-P

M: Microhábitat, C: *Caenum*, H: *Hercicum*, R: *Ramentun*, F: *Folia decidunt*, Spq: *Spaqua*, Supq: *Supaqua*. E: Estadio, L: Larva, P: Pupa, A: Adulto.

Clasificación actualizada de los sistemas hidroecológicos.

En García *et al.* (2016) se clasificó y describió los diferentes microhábitats como parte de un sistema determinado, en el cual se establecieron una serie de parámetros que representaron el inicio del estudio habitológico, partiendo de una serie de divisiones que tratan de explicar la conformación y distribución de los microhábitats en los diferentes espacios húmedos. En esta oportunidad se plantea que los microhábitats no son únicos de cada sistema y pueden estar presentes en varios, pero con características y bajo condiciones diferentes, dando como resultado la separación de los grupos y reordenarlos según las propiedades de cada uno.

El esquema clasificatorio (Fig. 10) muestra las propiedades establecidas en García *et al.* (2016), pero incluye un nuevo subsistema, el Límnico-léntico de agua salobre, que en su momento fue descrito como otro sistema, por sus características diferentes al agua dulce. En este sentido se eliminaron los grupos y se reagruparon en sistemas, denotando que los microhábitats están tan conectados entre sí, con propiedades dependientes del medio ambiente, permitiendo su existencia en todos los ecosistemas.

Los microhábitats son los mismos en la mayoría de los ambientes acuáticos, bajo condiciones diferentes, y habitados por una o varias especies, a excepción del sistema Fitotelmata que presenta microhábitats muy específicos y que no se encuentran en los diferentes cuerpos de aguas, de igual manera el sistema del manto residual con su microhábitat *Folia decidunt*, es el único que está presente en todos los sistemas, pero solo en forma superpuesta (García 2017).

Los microhábitats son identificados cuando los organismos han desarrollado bases de supervivencias, demarcando sus nichos y distribuyéndose en uno o varios. Los diferentes huéspedes que hacen vida en cualquier biotopo transforman los entornos con base en sus necesidades, generando una diversidad de microhábitats; en este sentido, el medio brinda el espacio físico con diversas características, a las que deben adaptarse y comenzar un nuevo ciclo de vida o simplemente desplazarse a otro microhábitat u otro ecosistema.

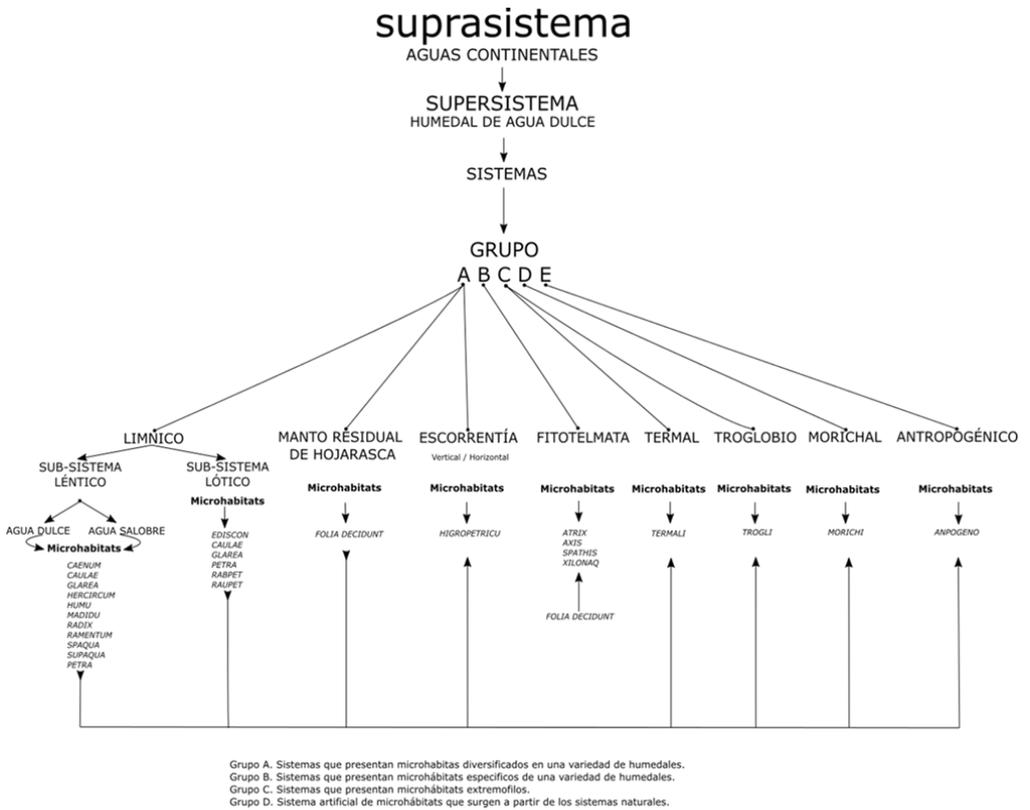


Figura 10. Clasificación de los microhábitats acuáticos. La flecha hacia abajo indica la existencia de cada uno de los microhábitats y la contra flecha indica la presencia de los mismos en otros sistemas.

DISCUSIÓN.

Los sistemas hidroecológicos evaluados comparten los mismos microhábitats; sin embargo, las condiciones de cada microhábitats varían entre sistemas. El sistema Límnico-léntico salobre evaluado, constituye una extensión de suelo inundado de 0,5 a 1 m de profundidad (Macsotay *et al.* 1995), cuyo hidroperíodo varía anualmente, dando origen a una laguna temporal de duración intermedia (3 a 4 meses) o una laguna temporal de larga duración (8 meses o más), según la intensidad de las lluvias, quedando reducida a pequeñas charcas durante la época seca.

En el caso del manglar evaluado (uno de los manglares más intervenidos de la Península de Araya), la entrada de agua de mar se encuentra restringida por un canal artificial, además de recibir descargas continuas de aguas residuales desde las viviendas cercanas, originándose una mezcla de agua salobre, por lo que, las especies de insectos registradas y otros macroinvertebrados presentes, no se ven afectadas por la época de sequía. A diferencia del sistema Límnico-léntico, en el *Supaqua* del manglar, no se registraron algas Cianophytas.

Las características hídricas del sistema Límnico temporal, mantienen a las poblaciones de insectos acuáticos (y de otros grupos) en un constante reacondicionamiento, obligándolas a colonizar medios acuáticos cercanos, desde donde recolonizan este humedal una vez las condiciones lo permitan, en este sentido se plantea que los insectos presentes en la laguna “Cerro El Macho”, se desplazan o provienen de medios húmedos *Anpogeno* presentes en las cercanías, zona donde se encuentra una laguna de oxidación (sistema Antropogénico), además de asentamientos humanos (García y Jiménez-Ramos 2020d, e).

Por su parte, los manglares, son el equivalente costero de los bosques tropicales, siendo el refugio de una importante diversidad de especies, principalmente aves y organismos que viven adheridos a sus raíces (Acosta *et al.* 2019). En este medio la materia orgánica, se produce a partir de la descomposición de la hojarasca, que constituye una parte sustancial de la productividad neta del manglar (entre 20 y 40%) conformada por hojas, flores, frutos y espículas que eventualmente, caen al suelo, donde son fragmentados por organismos residentes del *Folia decidunt*, como los artrópodos, mientras que la acción de microorganismos, la influencia de los factores ambientales y edafológicos (Palacios- Moreno *et al.* 1990), remineralizan la materia orgánica (hojarasca), que se acumula en el *Ramentum* del manglar y aporta nutrientes hacia otros ecosistemas, enriqueciendo las cadenas alimentarias del medio (Cintrón y Scheaffer 1983).

Por lo tanto, la productividad del manto residual de la hojarasca, juega un papel fundamental en el establecimiento de microorganismos e invertebrados, que a su vez se traduce en las sostenibilidad y funcionamiento de los primeros eslabones de la cadena trófica dentro de los diferentes sistemas. De acuerdo al ambiente en el cual se encuentre el manglar, la descomposición de la hojarasca se hace más o

menos efectiva, por ejemplo en el medio hídrico, la velocidad de descomposición aumenta, generando una mayor productividad (Acosta *et al.* 2019).

La acumulación de hojarasca constituye uno de los microhábitats más importantes dentro de un sistema hidroecológico de agua dulce o salobre. El *Folia decidunt* a su vez, es colonizado por diferentes organismos, entre ellos los insectos, que una vez completado su ciclo biológico pasan a formar parte del detritus orgánico, fortaleciendo la productividad orgánica dentro de los sistemas hidroecológicos (García *et al.* 2016; García 2017; Dávila- Recinos *et al.* 2019).

Las diferencias en las características físicas y biológicas de cada sistema, condicionan la presencia de las especies recolectadas, de esta forma entre las familias de Coleoptera acuática que habitan ambos sistemas de agua salobre se encuentran: Limnichidae, Heteroceridae, Hydrophilidae, Hydraenidae y Carabidae, las cuales ocupan zonas con alto contenido de detritus orgánico (*Caenum*) del cual se alimentan, contrario a las especies de Carabidae, que recorren este microhábitat en busca de alimento, depredando a pequeños microorganismos que los habitan, esta familia ya ha sido reportado para ambientes salinos (Huctchison 1931, Polhemus y Hendrikson 1974).

Las especies de Hydrophilidae e Hydraenidae, se han reportado en medios acuáticos extremos, temporales o *Anpogeno* de la península de Araya (García y Jiménez-Ramos 2020d, 2020e), sometidos a condiciones muy variadas, donde el pH es relativamente ácido, mientras que las especies de Heteroceridae son registradas comúnmente en el lodo de riberas y márgenes de lagunas temporales y riachuelos, por lo que los reportes de ejemplares de esta familia en el interior de las Cianobacterias (*Hercircum*), en aguas con cierto grado de salinidad, constituye una novedad (García y Jiménez-Ramos 2020c), y ocupan el mismo microhábitat que la familia Limnichidae (García y Jiménez-Ramos 2019).

Aun cuando las familias de coleópteros identificados se presentan en ambos medios, esto no significa que exista una similitud en las especies que los integran, ya que las especies de *Ochthebius*, *Enochrus* y *Paracymus* colectadas en el manglar no comparten el mismo medio con las especies de *Ochthebius*, *Enochrus* y *Paracymus* registradas en la laguna temporal, aunque presenten los mismos microhábitats. Los ejemplares de *Enochrus*, *Paracymus* y *Ochthebius* fueron

encontrados en el suelo cenagoso (*Caenum* y *Ramentum*), de color negro a gris obscuro producto de la descomposición orgánica o inmersa en el *Hercircum* de la laguna Cerro El Macho, en conjunto con especies omnívoras de los géneros *Haraia* y *Ercus*. En el manglar, los representantes de tres primeros géneros (*Enochrus*, *Paracymus* y *Ochthebius*) aprovechan la acumulación de material orgánico presente en el *Folia decidunt*, enterrado en el *Ramentum*, disperso en el *Hercircum* y flotando entre el *Spaqua* y *Supaqua*, donde coexisten con *Sigara* sp., hemíptero fitófago y *Mesovellia* sp., *Notonecta* sp. y la especie de Vellidae, hemípteros depredadores, que probablemente se alimenten de ellos.

Desde el punto de vista biológico y habitológico, el número de nuevos taxones encontrados tiene gran relevancia, considerando las condiciones de aridez y salinidad a las que están sometidas. Pallarés et al. (2017) planteó que la adaptación a la aridez ha ayudado a los insectos acuáticos a colonizar ambientes de salinidad extrema, logrando ocupar diferentes hábitats terrestres y acuáticos, desarrollando mecanismos que les permiten tolerar las condiciones de ambientes tan exigentes como los desiertos, las altas montañas o los medios con salinidades muy altas.

En cuerpos de agua dulce, los insectos están diseñados para capturar sales de manera activa, por lo que su adaptación al estrés salino supone un caso tan curioso como extremo, ya que, para colonizar medios salobres o salinos, han debido modificar sus mecanismos de retención de sales a mecanismos que les permitan deshacerse de ellas, así mismo los insectos presentes en medios salinos (temporal o permanentes), están expuestos a condiciones de desecación producto de sequías periódicas, durante las cuales se ven forzados a desplazarse a lugares húmedos, lo que conlleva a un importante estrés hídrico que puede causar daños celulares o incluso la muerte (Pallarés et al. 2017; Velasco et al. 2018; Villastrigo et al. 2020).

La salinidad y desecación tienen efectos similares a nivel fisiológico, provocan deshidratación y un aumento de la concentración de sales en los fluidos internos, por lo tanto, los mecanismos para hacerles frente son parecidos, de este modo, la resistencia a la desecación podría facilitar la tolerancia a la salinidad, y viceversa (Pallarés et al. 2017; Velasco et al. 2018; Villastrigo et al. 2020).

El origen evolutivo de estos mecanismos en escarabajos acuáticos se desconoce, aunque se ha sugerido que podrían provenir de adaptaciones para resistir la desecación desarrolladas por sus ancestros terrestres. En el caso del género

Enochrus, las especies más tolerantes a la salinidad también tienen una alta resistencia a la desecación, encontrando que la mayoría de las especies de agua dulce son también muy resistentes a la desecación y algunas son capaces de tolerar salinidades muy superiores a las de los medios dulces que comúnmente habitan (Pallarés *et al.* 2017), de esta manera, estos insectos han ocupado hábitats con distinto grado de salinidad, generándose una diversificación de las especies.

Las características biogeográficas de la Península de Araya, dificultan el desplazamiento de estas especies a otras regiones cercanas, aun cuando estas presenten mecanismos que le permitan soportar la desecación y el estrés hídrico. En este sentido, se sugiere que los nuevos taxones descritos, son endémicos de la Península de Araya, lo que supondría la determinación de un área de endemismo, fundamentada en el aislamiento provocado por la geología del terreno, considerando que la Península se encuentra rodeada por el mar Caribe (norte y oeste) y el Golfo de Cariaco (sur), y con contacto vía terrestre (este) solo con la Península de Paria; sin embargo, el clima, la sequía prolongada y la ausencia de ambientes acuáticos de agua dulce o salobre limitan su distribución, particularmente a la zona occidental.

Polunin (1960) afirma que un área endémica es el área de una especie u otro taxón, cuya distribución, se limita a cierta región natural o hábitat único por causas históricas y/o ecológicas, representando un área de distribución reducida (Noguera-Urbano 2017; Anderson 1994; Peterson y Watson 1998), tal y como ocurre con las especies *Haraia cerromachensis*, *H. pallida*, *Ochthebius (Ochthebius) riberai*, *Enochrus (Methydrus) belloi*, *E. (M.) peninsularis*, *E. (M.) pusilli*, *Paracymus balkei*, *P. ramosae*, *P. mercedesae* y *Ercus bitipus*, especies descritas solo en “Cerro El Macho” y *Ochthebius (Ochthebius) leonesae*, *E. (M.) arayeris*, *E. (M.) longus*, *E. (M.) manglaris*, *P. acostae*, *P. marinus* y *P. solarys*, especies colectadas solo en el manglar La Reguera, sin que se conozca su presencia en otras regiones de la Península.

El endemismo toma un valor ecológico e histórico, si se considera que define zonas geográficas que incluyen taxones integrados espacio-temporalmente (Nelson y Platnick 1981; Stattersfield *et al.* 1998; Morrone 2009). La importancia del endemismo radica en los atributos biológicos e historia evolutiva que representan los taxones endémicos y sus patrones biogeográficos (Noguera-Urbano 2017). En este sentido Cracraft (1985), relaciona al endemismo con el

área geográfica que se tome para la comparación, así que un área endémica podía ser un concepto equivalente al área de distribución.

Noguera-Urbano (2017) plantea que la definición de área endémica, centro de endemismo y área de endemismo, toma en cuenta que las áreas de distribución de los organismos proveen información sobre la relación compleja entre los ambientes físicos y los atributos biológicos de los organismos, sin embargo, emplean criterios diferentes, las áreas endémicas y los centros de endemismo, se basan en la restricción a un área de tamaño y límites arbitrarios, mientras que las áreas de endemismo se basan en la superposición de las áreas de distribución geográfica.

Aunque la mayoría de estas consideraciones sobre el endemismo están aplicadas a grupos de animales superiores, es posible encontrar que los mismos factores que han llevado a establecer endemismo entre especies de vertebrados no se limiten, por lo que las especies de invertebrados puedan ser afectados por estos factores y representar cambios zoogeográficos en su distribución sobre un área espacial determinada, donde la climatología y habitología juega un inmenso papel biogeográfico.

El bosque de manglar La Reguera y la Laguna de Cerro El Macho, son zonas complejas, variables y únicas, que, aunque la distancia entre ellas es poca, difieren en cuanto a las especies, aunque sí, comparten los mismos géneros de Hydrophilidae, Hydraenidae y Corixidae. Lo antes señalado induce a señalar que existe un tipo de endemismo local, relacionado más con la habitología que con los procesos de distribución espacial.

CONCLUSIÓN

La Península de Araya, constituye una de las regiones más áridas de Venezuela, donde los bajos niveles de pluviosidad han restringido a las especies a microhábitats cambiantes en sistemas hidroecológicos temporales, antropogénicos o salobres, donde las altas temperaturas y las concentraciones de sal condicionan el desarrollo y distribución habitológica de las mismas, dando como resultado una adaptación al medio, que involucran nichos insustituibles, que puede interpretarse como lugares únicos o endémicos y que contribuyen a la diversificación de las especies.

AGRADECIMIENTOS.

A Noris Margarita Ramos y Lederle Hernández, por su colaboración y apoyo logístico para realizar este estudio.

LITERATURA CITADA

ACOSTA, V., G. LA MANNA, R. VELÁSQUEZ, J. IMERY, A. SANTANA y C. YANIS. 2019. Descomposición de la hojarasca del mangle rojo (*Rhizophora mangle*) en un sector del Caribe Venezolano. Ebook Manglares de América. Link de libro completo [http:// manglaresdeamerica.com/index.php/ec/article/view/64/118](http://manglaresdeamerica.com/index.php/ec/article/view/64/118).

ANDERSON, S. 1994. Area and Endemism. *The Quarterly Review of Biology*. 69: 451- 471.

BELLO-PULIDO, J., V. FRANCO-SALAZAR y A. VÁSQUEZ-SUÁREZ. 2020. Florística de tres afloramientos geológicos y sus adyacencias en el extremo occidental de la Península de Araya, Venezuela. *Saber* 32 81-95.

CASTELLANOS, P., R. VARELA y F. MULLER-KARGER. 2002. Descripción de las áreas de surgencia al sur del Mar Caribe examinadas con el sensor infrarrojo AVHRR. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales*. 154: 55-76

CEREGHINO, R., J. BIGGS, B. OERTLI y S. DECLERK. 2008. The ecology of Eropean ponds: defining the characteristics of a neglected freshwater habitat. *Hydrobiología*. 597: 1-6.

CITRON, G. y Y. SCHAEFFER-NOVELLI. 1983. Introducción a la ecología del manglar. UNESCO-ROSTLAC, Montevideo.

COLLINSON, N., J. BIGGS, A. CORFIELD, M. HODSON, D. WALKER, M. WHITFIELD y P. WILLIAMS. 1995. Temporaty and permanent ponds: an assessment of the effects of drying out on the conservation value of aquatic macroinvertebrate communities. *Biological Conservation*. 74: 125-133.

CRACRAFT, J. 1985. Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemism. *Ornithological Monographs*. 36: 49-84.

CUMANA, L. (1999). Caracterización de las formaciones vegetales de la Península de Araya, estado Sucre, Venezuela. *Saber*. 11(1): 7-16.

DÁVILA-RECINOS, G., J. R. ORTÍZ-ALDANA y F. REYES-MORALES. 2019. Efecto del microhábitat sobre la abundancia y riqueza específica de los macroinvertebrados bentónicos en dos ríos tropicales de montaña, Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud* 6 (1).

GARCÍA, M. (2017). *La Habitalogía*. Editorial Académica Española. 130 pp.

GARCÍA, M., A. VERA, C. J. BENETTI y L. BLANCO-BELMONTE. (2016). Identificación y clasificación de los microhábitats de agua dulce. *Acta Zoológica Mexicana*. 32: 12-31.

GARCÍA, M. y E. JIMÉNEZ-RAMOS. 2021. Dos nuevas especies de *Ochthebius* del Caribe, costa peninsular de Araya, Venezuela (Coleoptera: Hydraenidae: Ochthebiinae). *Novitates Caribaea*. 17: 45–58.

GARCÍA, M. y E. JIMÉNEZ-RAMOS. 2020a. Nuevas especies de *Paracymus* Thomson (Coleóptera: Hydrophilidae: Hydrophilinae: Laccobiini) de la Península de Araya, nororiente de Venezuela. *Folia Entomológica Mexicana* (n. s.). 6(3): 103-127.

GARCÍA, M. y E. JIMÉNEZ-RAMOS. 2020b. Nuevas especies de *Enochrus* Thomson (Coleóptera: Hydrophilidae: Enochrinae) para la Península de Araya, nororiente de Venezuela. *Folia Entomológica Mexicana* (n. s.). 6(3): 128-147

GARCÍA, M. y E. JIMÉNEZ-RAMOS. 2020c. Nueva tribu, nuevo género y nuevas especies de Heteroceridae (Coleoptera) de la Península de Araya, noreste de Venezuela. *Revista Chilena de Entomología*. 46(3): 459-472.

GARCÍA, M. y E. JIMÉNEZ-RAMOS. 2020d. *Berosus elsae*, nueva especie de coleóptero acuático (Hydrophilidae: Hydrophilinae: Berosini) de un microhábitat anopogeno en la Península de Araya, Venezuela. *Novitates Caribaea*. 16: 98-109.

GARCÍA, M. y E. JIMÉNEZ-RAMOS. 2020e. Registro de insectos acuáticos (Artropoda: Insecta) en dos hábitats anopogeno de Venezuela. *Revista Chilena de Entomología*. 46(4): 725-734.

GARCÍA, M. y E. JIMÉNEZ-RAMOS. 2019. *Ercus bitipus* nuevo género y especie de Cephalobyrrhinae (Coleoptera: Limnichidae) de la península de Araya, nororiente de Venezuela. *Bol. Centro Invest. Biol.* 53(3): 219-235

GÓMEZ, A. 2007. Producción primaria al sureste de la isla de Margarita, Venezuela. *Boletín Instituto Oceanográfico de Venezuela*. 46 (2): 97-105.

GÓMEZ-RODRÍGUEZ, C., C. DÍAZ-PANIAGUA y J. BUSTAMANTE. 2011. Cartografía de lagunas temporales del Parque Nacional Doñana. Agencia Andaluza del Agua, Consejería Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla, España. 54 pp.

HUTCHINSON, G. E. 1931. On the occurrence of *Trichocorixa* Kirkaldy (Corixidae, Hemiptera, Heteroptera) in salt water and its zoo-geo-graphical significance. *The American Naturalist*. 65(701): 573-574.

JIMÉNEZ, E., V. ACOSTA y R. VELÁSQUEZ. 2017. Aspectos florísticos, fenológicos y etnobotánicos en el sector suroccidental de la Península de Araya, Venezuela. *Acta Botánica Venezuéllica*. 40 (2): 211-237

KING, J. G., J. R. STARR y P. K. LAGO. (2011). Molecular data resolves relationships within Heteroceridae (Coleoptera: Dryopoidea). *Systematic Entomology*. 36: 435-445.

LLAMOZAS, S., R. DUNO DE STEFANO, W. MEIER, R. RIINA, F. STAUFFER, G. AYMARD, O. HUBER y R. ORTIZ. 2003. Flora rojo de la flora venezolana. Proviata, Fundación Polar, Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser, Conservación Internacional. Caracas, Venezuela.

LÓPEZ-MONROY, F. y L. TRÓCCOLI-GHINAGLIA. 2014. Aproximación sobre la climatología de la Isla de Margarita y su importancia en los procesos oceánicos. *Saber*. 26(4): 465-471.

MACSOTAY, O., Y. PERAZA y M. WEHRMANN. 1995. Grupo Cubagua: Ciclo molásico marino (III) de edad Mioceno tardío-Plioceno temprano de Venezuela nororiental. *Boletín. Geología del Ministerio de Energía y Minas, Caracas, publicación especial*. 10: 164-176.

MORRONE, J. J. 2009. *Evolutionary biogeography: an integrative e approach with case studies*. Columbia University Press, New York, 304 pp.

NELSON, G. y N. PLATNICK. (1981). *Systematics and biogeography: cladistics and vicariance*. Columbia University Press, New York, 567 pp.

NOGUERA-URBANO, E. A. 2017. El endemismo: diferenciación del término, métodos y aplicaciones. *Acta Zoológica Mexicana*. 33(1): 89-197.

PALACIOS-MORENO, M. A., E. L. VARGAS y M. L. DE LA PAVA. 1990. Determinación del aporte de materia orgánica del Manglar en la zona de Boca grande. *Boletín Científico CCCP Tumaco-Nariño*. 1: 55-72.

PALLARÉS, S., P. ARRIBAS, D. T. BILTON, A. MILLÁN, J. VELASCO y I. RIBERA. (2017) The chicken or the egg. Adaptation to desiccation and salinity tolerance in a lineage of water beetles. *Molecular Ecology*. 26: 5614-5628.

PETERSON, A. T. y D. M. WATSON. 1998. Problems with areal definitions of endemism: the effects of spatial scaling. *Diversity and Distributions*. 4:189-194.

POLHEMUS, J. T. y J. R. HENDRIKSON. 1974. The occurrence of *Trichocorixa reticulata* in the Gulf of California (Hemiptera: Corixidae). *Pan-Pacific Entomologist*. 50 (1): 52

POLUNIN, N. 1960. Introduction to plant geography and some related sciences. McGraw-Hill Book Co., New York. 659 pp.

SEMLITSCH, D. y J. BODIE. 1998. Are small, isolated wetlands expandable?. *Conservation Biology*. 12: 1129-1133

STATTERSFIELD, A. J., M. L. CROSBY, A. J. LONG Y D. C. WEGE. 1998. Endemic bird areas of the world: priorities for biodiversity conservation. Bird Life International, Cambridge, 815 pp.

VELASCO, J., C. GUTIÉRREZ-CANOVAS, M. BOTELLA-CRUZ, P. SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, P. ARRIBAS, J. CARBONELL y S. MILLAN PALLARES. 2018. Efectos de los cambios de salinidad en organismos acuáticos en un contexto de estrés múltiple. *Transacciones filosóficas de la Royal Society B: Ciencias Biológicas*. 374: 17-64.

VILLASTRIGO, A., P. ARRIBAS y I. RIBERA. 2020. La especialización del hábitat irreversible no limita la diversificación en los escarabajos de aguas hipersalinas. *Ecología Molecular*. 29: 3637-3648.

EATING THE FORBIDDEN FRUIT? AVOCADO CONSUMPTION BY NEOTROPICAL BIRDS AT AN URBAN GARDEN.

ANDRÉS E. SEIJAS

Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora”,
Guanare, Venezuela. aseijas@gmail.com

ABSTRACT

The consumption of fruits by birds that visited a feeder in an urban garden in Guanare, Venezuela, was evaluated. There was an emphasis in the analysis of the consumption of avocado (*Persea americana*) whose fruit, leaves and seed have been found to be toxic for some animals. The number of visits to the feeder of each species was counted. The time spent in the consumption of each fruit type was calculated prorating the duration of every visit according to the number of pecks in each one of them. In a first trial, avocado, papaya, plantain, banana, and mango were offered simultaneously. Birds of the Turdidae family (*Turdus leucomelas* and *T. nudigenis*) consumed exclusively avocado, while *Sicalis flaveola* and *Thraupis episcopus* preferred mango and plantain, respectively. In a second trial, Musaceae fruits (plantain or banana) and avocado were offered. Of the total time devoted to the consumption of avocado, 80% belonged to only three species: the two thrushes and the Red-crowned Woodpecker (*Melanerpes rubricapillus*). The other species either did not consume avocado or consumed Musaceae fruits during a high percentage of their time at the feeder, as was the case of *T. episcopus* (92.2%), *Mimus gilvus* (87.8%), *Cacicus cela* (97.9%), *Psarocolius decumanus* (92.9%) and *Euphonia lanirostris* (83.1%) It is the first time that the consumption of the *P. americana* fruit has been evaluated in Neotropical birds. The non-preference (or rejection) of some birds for avocado deserves to be investigated in more detail.

Key words: Avocado; *Persea americana*; birds; fruit selection; feeder; urban.

¿COMIENDO LA FRUTA PROHIBIDA? CONSUMO DE AGUACATE POR AVES NEOTROPICALES EN UN COMEDERO DE UN JARDÍN URBANO.

RESUMEN

Se evaluó el consumo de frutas por parte de animales silvestres que visitaron un comedero en un jardín urbano de Guanare, Venezuela, con énfasis en el análisis del consumo de aguacate (*Persea americana*) cuya fruta, hojas y semilla han sido señaladas como tóxicas para algunos animales. Para cada especie se cuantificó el número de visitas al comedero. Se calculó el tiempo empleado en el consumo de cada fruta prorrateando el tiempo total de la visita de acuerdo al número de picoteos en cada una de ellas. En una primera prueba se ofreció simultáneamente aguacate, papaya, plátano, y mango. Las aves de la familia Turdidae (*Turdus leucomelas* y *T. nudigenis*) consumieron exclusivamente aguacate, mientras que *Sicalis flaveola* y *Thraupis episcopus* prefirieron mango y musáceas (plátano o banana), respectivamente. En una segunda prueba se ofreció solo musáceas y aguacate. Del total del tiempo dedicado por todas las especies al consumo del aguacate, 80% correspondió a solo tres especies: los dos Turdidae y *Melanerpes rubricapillus*. Las otras especies o bien no consumieron aguacate o consumieron frutos de Musaceae en un alto porcentaje de sus tiempos en el comedero, como fue el caso de *T. episcopus* (92.2%), *Mimus gilvus* (87.8%), *Cacicus cela* (97.9%), *Psarocolius decumanus* (92,9%) y *Euphonia laniirostris* (83.1%). Es la primera vez que se evalúa el consumo del fruto *P. americana* en aves neotropicales. La no preferencia (o rechazo) de algunas aves por el aguacate merece ser investigado con más detalle.

Palabras clave: Aguacate; *Persea americana*; aves; selección de frutas; comedero; urbano.

Recibido / Received: 02-02-2021 ~ **Aceptado / Accepted:** 05-04-2021.

INTRODUCTION

The investigations carried out in Latin American countries on the fauna that visit feeders are scarce. The main goals of the few papers that have been found were to test some ecological theories about behavior, such as neophobia (aversive responses to novel stimuli) by some birds (Echeverría *et al.* 2006, Echeverría and

Vasallo 2008), the interactions and hierarchies established among birds that access to the feeder (Levín *et al.* 2000; Sainz-Borgo 2017), or the possible anti-predatory function of the grouping of certain species when accessing to the feeder (Sainz-Borgo and Levín 2012). The food offered in all these studies has been very varied and in no case has food preference been the object of analysis.

Since 2005, informal notes began to be taken on the preferences of animals for the fruits or fruit remains offered in feeders placed in the same garden where the present investigation took place. Preliminary analyzes of these observations have already been published (Seijas and Seijas-Falkenhagen 2020a). It should be noted that whenever pieces of avocado (*Persea americana*) were placed in the feeder, only birds of the Turdidae family (*Turdus leucomelas* and *T. nudigenis*) seemed to be interested in that fruit.

In the search for bibliographical references on avocado consumption by wildlife, it was found that the scarce available literature accounts mostly on the toxicity of the leaves, bark, seeds and even the ripe fruit of *P. americana* for various domestic or captive animals, as will be discussed later. A few references were found on the consumption of avocado by wild animals. Hardy (1973), for example, mentioned having received information that the Canary-winged parakeet *Brotogeris versicolurus* (a species native to South America) feeds on the fruits of this tree and Clark (1976) indicated that the House finch (*Carpodacus mexicanus*) has been identified as causing damage to immature fruits of *P. americana*. Vereá *et al.* (2016) reported that the thrushes *Turdus leucomelas* and *T. nudigenis* consume avocado fruits in orchards of that plant.

The objective of this study is to evaluate the consumption of fruits by birds that visit a feeder. Even though in the trials carried out various types of fruits were offered, the study focuses on avocado consumption, considering that given the toxicity demonstrated by different parts of this plant in some animals, feeding on its fruit constitutes a novelty that deserves to be highlighted.

MATERIALS AND METHODS.

The study was carried out in the garden of a house on the outer edge of the city of Guanare, Portuguesa state, Venezuela. Details on the characteristics of this garden

and the feeder are found in Seijas and Seijas-Falkenhagen (2020a, b). The feeder used to attract the animals consisted of a square cement block (40cmx40cm and 5 cm thick) placed at ground level. On the surface of this block, pieces of selected fruits were placed and covered with a mesh (5x5) of plastic-covered wires. The mesh prevented the animals from taking away or turning around the food, and also served as a perch for the birds when accessing the food. The activities of the animals were recorded on video with a cell phone placed on a tripod at a height of 30 cm and 70 cm away from the feeder. The storage capacity on the phone card (3.6 MB) limited the duration of the recorded videos. For each sampling day, the first recording started at sunrise. Before every new recording, if necessary, the pieces of fruits were replenished to ensure the offer of each type of fruit was *ad libitum*. For each species, the number of visits per recording hour (v/h) and the time at the feeder (in minutes) per recording hour (min/h) were calculated. The time spent consuming each fruit piece was estimated prorating the total time of the visit according to the number of pecks in each one of them.

Two trials were carried out. In the first one, on May 20, 2020, pieces of four fruits were offered simultaneously: mango (*Mangifera indica*), papaya (*Carica papaya*), plantain (*Musa paradisiaca*) and avocado (*Persea americana*). Pieces of each of them were placed in a different corner of the feeder. Six recordings of 9 ± 0.68 minutes were made with approximately 15 minutes in between, so the time elapsed between the beginning of the first recording and the end of the last one was just over two hours. Preliminary analysis of this first trial seemed to indicate a rejection by some bird species to feed on avocado. Thus, a second trial was performed where pieces of a Musaceae (most frequently plantain, but occasionally *Musa sapientum*) and avocado were offered to the animals. Plantain was selected to contrast with avocado, since in previous studies this fruit always turned out to be preferred by birds. During five consecutive days (December 21 to 25, 2020), four or five video-recordings were made with an average duration of 10.3 minutes, for a mean duration of daily recordings of 47.3 minutes. A piece of Musaceae was placed in one corner of the feeder, in another corner a piece of avocado and, in a third one, pieces of these two fruits were placed close to each other, although not in contact. Each day of recording, the arrangement of the fruits was varied, to reduce a possible bias in the selection of the animals due to the location of the pieces in the feeder. With this second trial, it was expected to

determine not only that some animals did not consume avocado, but that they visited less the piece of Musaceae that was next to the avocado, which would be taken as an indication of rejection of that fruit.

Two-sample paired tests (Wilcoxon) were performed to determine the significance of the differences in times used by each species in the consumption of pairs of fruit offered simultaneously. Statistical analyzes were carried out with the open access program Past 4.02 (Hammer *et al.* 2001, Hammer 2020).

RESULTS

Sixteen species of birds visited the feeder during the two trials; only nine of them in the first trial and thirteen in the second (Table 1).

Table 1. Number of visits to the feeder and total time spend consuming fruits (in seconds) by the different bird species. Total recording time of each trial, in hours, is indicated within brackets. Only visits in which birds pecked any of the fruit pieces at least once were used for calculations of Time (min/hour).

Families and species	Four fruits [0.90h]			Avocado & plantain [3.94h]		
	Visits(*)	Time (s)	min/hour	Visits(*)	Time (s)	min/hour
Fringillidae						
<i>Euphonia laniirostris</i>	-	-	-	42(29)	525	2.2
Icteridae						
<i>Cacicus cela</i>	-	-	-	17(16)	580	2.5
<i>Psarocolius decumanus</i>	-	-	-	17(13)	386	1.6
Mimidae						
<i>Mimus gilvus</i>	-	-	-	46(38)	1948	8.2
Picidae						
<i>Melanerpes rubricapillus</i>	-	-	-	17(15)	968	4.1
Thraupidae						
<i>Ramphocelus carbo</i>	4(4)	140	2.6	-	-	-

Continuación **Tabla 1.**

<i>Saltator coerulescens</i>	-	-	-	8(5)	81	0.3
<i>Sicalis flaveola</i>	20(19)	609	11.3	-	-	-
<i>Sporophila intermedia</i>	8(6)	217	4.0	-	-	-
<i>Stilpnia cayana</i>	5(3)	55	1.0	23(17)	137	0.6
<i>Thraupis episcopus</i>	18(16)	375	6.9	613(398)	4519	19.1
<i>Thraupis palmarum</i>	3(3)	109	2	17(10)	71	0.3
Troglodytidae						
<i>Campylorhynchus nuchalis</i>	2(2)	56	1	1(0)	-	-
Turdidae						
<i>Turdus leucomelas</i>	18(17)	511	9.5	318(243)	5081	21.5
<i>Turdus nudigenis</i>	6(4)	48	0.9	22(15)	336	1.4

*Visits in which birds pecked any of the fruit pieces at least once.

In the first trial, the mango pieces were the ones where birds spent most of their consuming time (37%), followed, in decreasing order, by papaya (23.9%), avocado (20.1%) and plantain (19.1%). The preeminence of mango over other fruits was due to the time spent by the Saffron Finch (*Sicalis flaveola*) and, to a lesser extent, by the Gray Seedeater (*Sporophila intermedia*) on its consumption. These two birds were also the ones that spent the most time consuming papaya.

Given the short duration of the trial, the number of visits by some birds was too low for statistical analysis. Most of the species consumed at least two fruits, but the Turdidae (*Turdus leucomelas* and *T. nudigenis*) were the only ones to consume avocado (Fig. 1). These two thrushes spent 76.0% of the time in their 21 visits to the feeder consuming that fruit. The Saffron Finch, in 19 visits to the feeder, consumed mainly mango (73.2%) instead of papaya. Finally, the Blue-gray Tanager (*Thraupis episcopus*, n = 16) spent 72.8% of its time to the consumption of plantain.

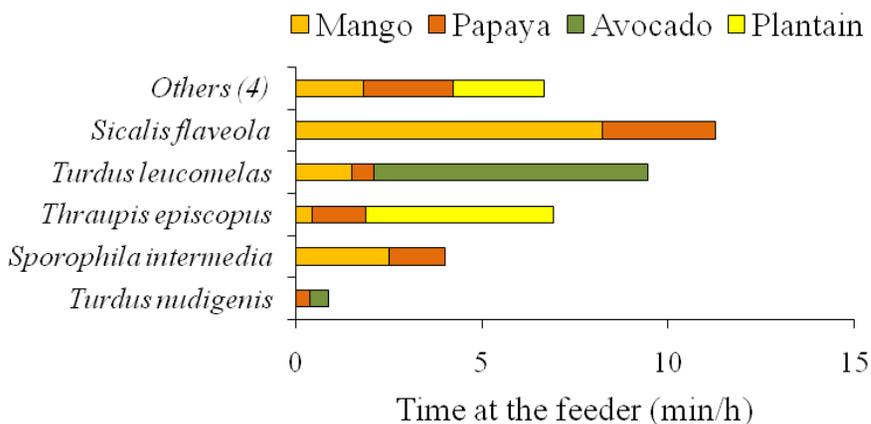


Figure 1. Cumulative time at the feeder of each species feeding on the fruits offered. The species included in “Others” are *Ramphocelus carbo*, *Thraupis palmarum*; *Stilpnia cayana* and *Campylorhynchus nuchalis*.

The second trial, in which pieces of plantain (or occasionally banana) and avocado were offered, was carried out seven months after the first one, and with a recording effort 4.4 times greater. The location and arrangement of the fruit pieces was not found to influence the frequency of visits by the animals, and would not be considered from here on. In this trial, even though there was a preference for the consumption of Musaceae, animals other than the thrushes feed also on the avocado. The Blue-gray Tanager (92.2%), the Tropical Mockingbird (*Mimus gilvus*, 87.7%), the Yellow-rumped Cacique (*Cacicus cela*, 97.9%), the Crested Oropendola (*Psarocolius decumanus*, 92.6%) and the Thick-billed Euphonia (*Euphonia laniirostris*, 83.1%) showed a clear preference for Musaceae (Fig. 2). To this group favoring Musaceae we can add species that visited the feeder with relative low frequency and were not included in Fig. 2. That was the case of the Grayish Saltator (*Saltator coerulescens*), the Burnished-buff Tanager (*Stilpnia cayana*) and the Palm Tanager (*Thraupis palmarum*). The first one never ate avocado in its eight visits, while *S. cayana* only pecked that fruit once (in 23 visits) and *T. palmarum* pecked it twice (in 17 visits).

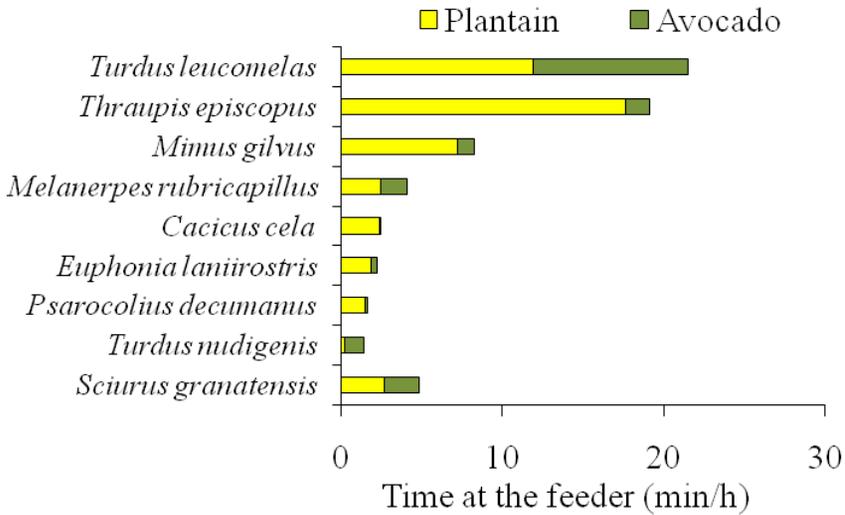


Figure 2. Time spent consuming plantain or avocado by the different bird species.

The thrushes and the Red-crowned Woodpecker (*Melanerpes rubricapillus*) accounted for 80% of the total time dedicated to the consumption of avocado by all visitors. However, with the exception of *T. nudigenis*, these species consumed plantain in a higher proportion than avocado, although in any case the differences were statistically significant (Wilcoxon paired tests, $P > 0.17$ or greater). A species not included in this study that also visited the feeder was the Red-tailed Squirrel (*Sciurus granatensis*) which consumed mainly plantain (55% of the time at the feeder).

DISCUSSION

To highlight the courage and bravery of someone, there is a saying in Venezuela that expresses: “he [or she] is braver than the person who ate the first avocado” which refers to how risky it seems to be to consume a fruit that never loses its color green (in the most common varieties in Venezuela) and that,

supposedly, wild animals do not eat. The fear that the avocado fruit could be poisonous, as the aforementioned saying implies, seems to have some basis, although there is no evidence that humans are in danger after its consumption. On the contrary, its high content in calories, proteins, fatty acids and vitamins (Burger 1994; Borchert *et al.* 2008; Gouegni and Abubakar 2013) has made it a highly appreciated fruit whose cultivation has spread throughout the world. However, the leaves, bark, immature fruits, and seed of *P. americana* have been identified as toxic for various animals, such as laboratory mice, rabbits, cattle, goats, horses, and ostriches (McKenzie and Brown 1991, Buoro *et al.* 1994, Burguer *et al.* 1994, Padilla-Camberos *et al.* 2013). The toxicity of ripe fruit has also been demonstrated for cage birds such as Australian parakeets (Budgerigar, *Melopsittacus undulatus*; Cockatiel, *Nymphicus hollandicus*) and canaries (*Serinus canaria*) (Hargis *et al.* 1989). These cases of poisoning have turned avocado into a kind of “forbidden fruit” that, in the opinion of Kovalkovicova *et al.* (2009) “Feeding avocados to any non-human animal should be completely avoided”.

Not all varieties of avocados have been shown to be toxic to wildlife and one native to Guatemala seems to have the strongest effects (Burger *et al.* 1994, Hargis *et al.* 1989). The variety of avocado used in the present research is not known, but it was probably a local variety, or a hybrid between the many varieties that have been developed over the years.

Isolated avocado trees planted in family gardens offer few opportunities for birds and other animals to consume its fruits. Fruits remain green on the tree and ripen only after they have been harvested. It is a highly valued and expensive fruit, and it is not usually offered to animals. Even in commercial plantations of *P. americana*, at least in Venezuela, the consumption by animals of fruits that ripen as they fall from trees has gone unnoticed, if we take into account that Vereza *et al.* (2011) did not mention in their research in an avocado orchard, whether or not any of the birds they observed ate the fruits of that tree. However, Borchert *et al.* (2008) showed that in orchards of *P. Americana* in California (USA), avocado fruits is consumed by various species of mammals (bears, domestic dogs, coyotes, squirrels and other wild animals) but not by birds.

The consumption of avocado by Neotropical wild birds is for the first time evaluated in the present study. Birds of the family Turdidae (thrushes) were the

ones that showed the highest consumption of avocado, which confirms preliminary observations in Seijas and Seijas- Falkenhagen (2020a). It was rather surprising to observe the consumption of avocado by Red- crowned woodpeckers and by Red-tailed squirrels, animals that had never been observed eating this fruit. Some other species of birds also pecked the pieces of avocado supplied, but seemingly, consumption was always low (if there was any) since in many occasions birds (especially *T. episcopus*) were observed to shake their beaks as if to get rid of the collected portion. A case that is worth highlighting is that of the Burnished-buff Tanager, a species that only pecked on the avocado once in its 28 visits to the feeder (taking the two trials together). This species, in a previous study (Seijas and Seijas-Falkenhagen 2020b), was regarded as the most generalist of all the birds visiting the feeder, since it never showed a preference for any of the pairs of fruits that were offered, which included papaya, plantain, banana and mango, so avoiding avocado consumption may be interpreted as a rejection of that fruit.

The Saffron Finch and the Gray Seedeater only went down to the feeder when mangoes were offered, as had happened in previous trials carried out in mid-May 2020 (Seijas and Seijas- Falkenhagen 2020b) even though these species are observed in the garden throughout the year. The Blue-gray Tanager, for its part, confirmed its preference for Musaceae fruits, as had been shown in the cited article.

No strange behavior was observed in the animals that ate avocado repeatedly (thrushes, woodpeckers and squirrels) during the five days that the videos of the second trial were recorded. The negative effects described for some species that have consumed this fruit manifest themselves in a matter of a few hours (Hargis *et al.* 1989, Kovalkovicova *et al.* 2009). The animals that came to the feeder were not marked, but a few birds had physical features that allowed them to be individualized. This is the case of a Blue-gray Tanager with only one leg, another with a deformed neck; a Tropical Mockingbird with a partially broken beak, and a Thickbilled Euphonia with a scar on its chest. All of them pecked the avocado at least once and were still observed in the feeder weeks after the samplings.

The animals that consume avocado without ostensible consequences, including those in the present study, are original from the American continents, while those

that have been mentioned in the literature (horses, goats, mice, rabbits, ostriches, Australian Psittacines and others) as affected by the consumption of some part of the *P. americana* tree, are original from other continents. It is beyond the scope of this study to investigate whether this is merely a coincidence. The apparent rejection or non-preference of some birds to avocado deserves to be investigated in more detail. Many chemical compounds have been found in the avocado fruit (Bhuyan *et al.* 2019) and the role they play in defining preferences for consumption by birds and other animals is worth investigating.

The present investigation is based on samplings carried out in two short periods with a separation of several months between them. One could speculate on the effect that this fact may have had on the results. Although it is necessary to carry out more samplings, the results in previous publications (Seijas and Seijas-Falkenhagen 2020a,b) and data that are still being processed for the rainy season, seem to indicate that even though the frequency of visits to the feeder by each bird species may vary over time, their preferences per fruit type do not change.

It must be mentioned that this research is part of a project with samplings carried out over a whole year. In the published works, the preferences of the birds for the different fruits offered in the feeder and the interactions established among them have been analyzed. New publications could complement the findings of those already published. The information collected throughout the articles that emerge will allow planning new studies aimed at laying the foundations for the management of these feeders, in such a way that they better fulfill the objective of conserving and enhancing the wildlife of urban environments.

ACKNOWLEDGEMENTS

Jorge Seijas-Méndez helped with the search for some of the articles cited in the bibliography. Lemnie Falkenhagen, Sara and Andrés Seijas-Falkenhagen made valuable observations on an early version of the manuscript. Three anonymous reviewers made significant observations and recommendations that helped to improve this paper.

REFERENCES

BORCHERT, M., F. W. DAVIS and J. KREITLER. 2008. Carnivore use of an avocado

orchard in Southern California. California Fish and Game. 94(2): 61-74.

BUORO, I. B. J., S. B. NYAMWANGE, D. CHAI and S. M. MUNYUA. 1994. Putative avocado toxicity in two dogs. Onderstepoort Journal of Veterinary Research. 61: 107- 109.

BURGER, W. P., T. W. NAUDÉ, I. B. J. VAN RENSBURG, C. J. BOTHA and A. C. E. PIENAAR. 1994. Cardiomyopathy in ostriches (*Struthio camelus*) due to avocado (*Persea americana* var. *guatemalensis*) intoxication. Journal of South Africa Veterinary Association. 65(3): 113-118.

BHUYAN, D. J., M. A. ALSHERBINY, S. PERERA, M. LOW, A. BASU, O. A. DEVI, M. S. BAROOAH, C. G. LI and K. PAPOUTSIS. 2019. The odyssey of bioactive compounds in avocado (*Persea americana*) and their health benefits. Antioxidants. 8(426): 1-53.

CLARK, D. O. 1976. An overview of depredating bird damage control in California, p. 21-27. In: Bird Control Seminar Proceedings. University of Nebraska, Lincoln.

ECHEVERRÍA, A. I. and A. I. VASSALLO. 2008. Novelty responses in a bird assemblage inhabiting an urban area. Ethology 114: 616-624.

ECHEVERRÍA, A. I., A. I. VASSALLO and J. P. ISACCH. 2006. Experimental analysis of novelty responses in a bird assemblage inhabiting a suburban marsh. Canadian Journal of Zoology. 84: 974-980.

GOUEGNI, E. F. and H. ABUBAKAR. 2013. Phytochemical, toxicological, biochemical and haematological studies on avocado (*Persea americana*) in experimental animals. Nigerian Food Journal. 31(1): 64-69.

HAMMER, O. 2020. Past: Paleontological STatistics. Version 4.02 reference manual. Natural History Museum, University of Oslo, Oslo, Norway.

HAMMER, O., D. A. T. HARPER and P. D. RYAN. 2001. PAST: Paleontological statistical software package for education and data analysis. Paleontologia Electronica. 4(1): 1-9.

HARDY, J. W. 1973. Feral exotic birds in Southern California. *The Auk*. 85(4): 506-512.

HARGIS, A. M., E. STAUBER, S. CASTEEL and D. EITNER. 1989. Avocado (*Persea americana*) intoxication in caged birds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 194(1): 64-66.

KOVALKOVICOVA, N., I. SUTIAKOVA, J. PIST and V. SUTIAK. 2009. Some food toxic for pets. *Interdisciplinary Toxicology*. 2(3): 169-176.

LEVÍN, L., L. FAJARDO and N. CEBALLOS. 2000. Orden de llegada y agresiones en aves urbanas en una fuente de alimento controlada. *Ecotropicos*. 13(2): 75-80.

MCKENZIE, R. A. and O. P. BROWN. 1991. Avocado (*Persea americana*) poisoning of horses. *Australian Veterinary Journal*. 68(2): 77-78.

PADILLA-CAMBEROS, E., M. MARTÍNEZ-VELÁZQUEZ, J. M. FLORES-FERNÁNDEZ and S. VILLANUEVA-RODRÍGUEZ. 2013. Acute toxicity and genotoxic activity of avocado seed extract (*Persea americana* Mill., c.v. Hass). *The Scientific World Journal* (Article ID 245828):4.

SAINZ-BORGO, C. 2017. Estudio del comportamiento de aves que visitan una fuente artificial de alimento. *Bol. Centro de Invest. Biol.* 50(3): 212-224.

SAINZ-BORGO, C. and L. E. LEVÍN. 2012. Análisis experimental de la función antidepredadora del agrupamiento en aves que visitan una fuente de alimento. *Ecotropicos*. 25(1):15-21.

SEIJAS, A. E. and S. F. Seijas-Falkenhagen. 2020a. *Fauna de mi casa*. Kindle Direct Publishing. Columbia, S.C. (USA). ISBN-979-86-19-52082-8.

—. 2020b. Birds at a feeder in an urban garden in Venezuela: Abundances, interactions and fruit preferences. *Anartia*. 31: 1-15.

VEREA, C., O. Navas and A. SOLÓRZANO. 2011. La avifauna de un aguacatero del norte de Venezuela. *Bol. Centro Invest. Biológicas*. 45(1): 35-54.

VEREA, C., N. ESPÓSITO and M. LENTINO. 2016. *Paraulatas de Venezuela*. Kindle Direct Publishing, Columbia, S. C. (USA). ISBN-978-15-37-668994.

MICROMOLUSCOS DEL CONTENIDO ESTOMACAL DE ASTEROIDEOS DEL GÉNERO *ASTROPECTEN*: ORIGEN DE UNA COLECCIÓN DE REFERENCIA

Bitter-Soto, Ricardo¹ y Rivas-Suarez, Ronald²

1. Centro de Investigaciones Marinas (CIMAR), Universidad Francisco de Miranda, Venezuela. Correo-e: cardenalcoriano@gmail.com
2. Departamento de Física y Matemáticas, Universidad Francisco de Miranda. Correo-e: r.rivas.suarez@gmail.com

RESUMEN

Se analizó el contenido estomacal de 1.530 asteroideos del género *Astropecten*: *A. brasiliensis*, *A. cf articulatus* y *A. marginatus* colectados en la zona de golfo Triste, ensenada extensa de la costa centro-occidental de Venezuela. De un total de 8000 ejemplares separados, se identificaron 80 especies de micromoluscos agrupadas en 34 familias: gasterópodos (20), bivalvos (13) y escafópodos (01). Estos ejemplares una vez identificados fueron contados y medidos, luego constituyeron la base de una colección de referencia de micromoluscos, única en el occidente de Venezuela. Con base en el número de especies, las familias más diversas de gasterópodos fueron: Turridae (13 spp.), Pyramidellidae (6 spp.), Vitrinellidae (5 spp.) y Olividae (4 spp.). Las familias de bivalvos más abundantes fueron: Veneridae (5 spp.), Lucinidae y Nuculanidae (3 spp. c/u). Entre los gasterópodos la especie más abundante fue *Finella dubia*, mientras que el resto de los gasterópodos representó el 20%. Entre los bivalvos, *Varicorbula operculata* fue la especie más abundante (9%). Globalmente los moluscos, marcadamente gasterópodos, bivalvos y escafópodos, aglutinaron entre el 86% y el 94% de los grupos de presa identificados. El análisis del contenido estomacal indica que las tres especies de *Astropecten* consumen cuatro grupos de presas, moluscos principalmente, con marcada preferencia por los gasterópodos. Se encontraron diferencias a nivel de la proporción de cada grupo, en las especies-presa en las tallas de éstas, con preferencia por los gasterópodos, en proporciones y tallas diferentes.

Palabras clave: micro moluscos; comunidades bentónicas; relación trófica; colección de referencia; sobreposición de nicho.

MICROMOLLUSCS OF THE STOMACH CONTENT OF ASTEROIDS GENUS *ASTROPECTEN*: ORIGIN OF REFERENCE COLLECTION

ABSTRACT

It was analyzed the stomach contents of 1530 asteroids of the genus *Astropecten*: *A. brasiliensis*, *A. cf articulatus* y *A. marginatus*, collected at golfo Triste, wide cove of center-west coast of Venezuela of a total of 8000 separated specimens, 80 species of micro mollusks grouped into 34 families were identified: gastropods (20), bivalves (13) and scaphopods (01). Once identified, these specimens were counted and measured, and formed the basis of a reference collection of micromolluscs, unique in western Venezuela. Based on the number of species, the most diverse gastropods families were: Turridae (13 spp.), Pyramidellidae (six spp.), Vitrinellidae (five spp.) and Olividae (four spp.). The most abundant bivalve families were Veneridae (five spp.), Lucinidae and Nuculanidae (three spp. each). Among the gastropods, the most abundant species was *Finella dubia*. The rest of the gastropods represented 19.9%. Among the bivalves, *Varicorbula operculata* was the most abundant species (9.2%). Globally, mollusks, markedly gastropods, bivalves and scaphopods, agglutinated between 75% - 88% of the identified species. The analysis of stomach content indicates that the three *Astropecten* species mainly consume four groups of mollusk prey, with a marked preference for gastropods. Differences were found at the level of the proportion of each group and in the species-prey and their sizes. This shows that all three species of asteroids have overlapping trophic niches. Although some authors may find any type of prey in the stomach contents of these asteroids, consumption is preferentially for gastropods, in different proportions and sizes.

Keywords: micromollusks, benthic communities, trophic relationship, reference collection, niche overlap.

Recibido / Received: 24-02-2021 ~ **Aceptado / Accepted:** 08-04-2021.

INTRODUCCIÓN

Los asteroideos del género *Astropecten* presentan digestión intraoral y no evierten el estómago como la mayoría de los asteroideos, careciendo de mecanismos para triturar su alimento, por lo que deben ingerir sus presas enteras y digerirlas internamente. El éxito ecológico de estos asteroideos es atribuido a varias características, entre ellas su historia de vida que incluye la digestión intraoral, lo cual

le confiere la posibilidad de acceder a una dieta diversa (Luna Salguero y Reyes Bonilla 2010). Con base en esto, es posible a través del análisis del contenido estomacal de individuos de la especie, conocer su dieta (Bitter y Penchaszadeh 1983; Ortega *et al.*2011). Los representantes de *Astropecten* han sido descritos como depredadores activos con una dieta generalista, aunque presentan predominancia de Moluscos (gastropodos y bivalvos) pequeños, aunque cualquier tipo de presa se puede encontrar en su estómago según Christensen (1970); ha sido descrita como un buen muestreador bentónico y tienen la capacidad de ubicar presas enterradas en el fondo marino, excavando en el sustrato para llegar a ellas (Ortega *et al.*2011). *Astropecten* es capaz de elegir la calidad de su presa usando sus habilidades quimo-receptivas (Guillherme y Rosa 2014).

Con las consideraciones anteriores, se analizó el contenido estomacal de *Astropecten* spp. con énfasis en los micromoluscos presentes, con el objeto de conformar una colección de referencia con ejemplares de talla pequeña, lo cual sería casi imposible utilizando un muestreador bentónico convencional

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 38 muestras de asteroideos, colectadas a profundidades entre los 19 y 67 m, en golfo Triste, extensa ensenada de la zona centro-occidental de Venezuela (Fig. 1), utilizando un muestreador de 0,16 m² y una rastra de 0,16m de abertura mayor. Se analizó el contenido estomacal de 1530 asteroideos: *Astropecten brasiliensis* (987 ejemplares), *Astropecten* cf. *articulatus* (469 ejemplares) y *A. marginatus* (80 ejemplares). Los ejemplares una vez a bordo, fueron fijados en formol al 10% en agua de mar, luego identificados taxonómicamente. Con el objeto de obtener el contenido estomacal, se cortó con un bisturí la parte adoral del cuerpo, luego se retiró el contenido estomacal con ayuda de pinzas finas (relojero), se separó en grandes grupos, posteriormente se procedió a la identificación taxonómica de los moluscos, utilizando una colección de referencia formada para este fin; el análisis se realizó bajo una lupa estereoscópica. Las especies de moluscos fueron identificadas, contadas (Hyslop 1980) y medidas. La medición se hizo con ayuda de un micrómetro ocular. En la clasificación de la presas según su tamaño se siguió a Christensen (1970). Para los efectos de la alimentación, se adoptó como esquema de clasificación a Simberloff y Dayan (1991).

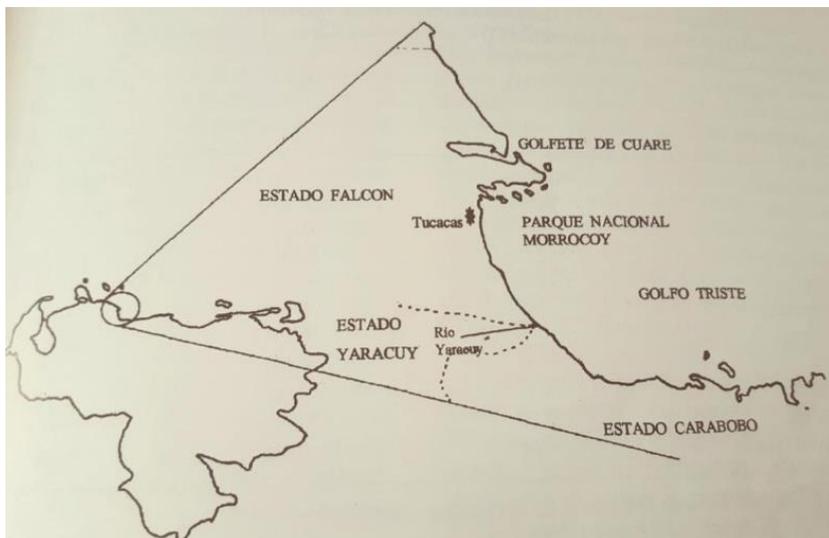


Figura 1. Ubicación geográfica de golfo Triste.

En la identificación taxonómica de los micromoluscos se siguió a Abbot (1974, 1982), además del asesoramiento del Prof. Jack Gibson Smith.

Análisis estadístico

En el tratamiento estadístico de los datos, se utilizó la Prueba G ($R \times C$). Después de analizado el contenido estomacal de cada especie de asteroideo, se aplicó el índice de diversidad de Shannon-Wiever (Pla 2006), los números de Hill (1973), el índice de diversidad trófica (TD) (Prej y Colomine 1981), el cociente TD/H' (Herrera 1976), y el Índice de Jaccard (similitud): C_j (Pontasch y Brusven1988;Southwood y Henderson 2000).

Se realizó un ajuste de curvas en el caso del consumo de presas por clases de tamaño y sumatoria del número de presas de las clases de tamaño (Soberón y Llorente 1993) Se comprobó en nivel de significación de R^2 al 95%.

RESULTADOS

De un total de 8000 ejemplares separados, se identificaron 80 especies de micro moluscos agrupadas en 34 familias y 80 spp: gasterópodos (20 fam., 54 spp), 13 bivalvos (13fam., 25 spp) y escafópodos (01fam., (01 sp) (Tabla 1 y Fig. 2). Con base en los micromoluscos identificados en el contenido estomacal, las familias con mayor número de especies entre los gasterópodos fueron: Turridae (13 spp.), Pyramidellidae (6 spp.) y Olividae (4 spp.). Entre los bivalvos, las familias con mayor número de especies fueron: Veneridae (5 spp.), Lucinidae y Nuculanidae (3 spp. c/u). Entre los gasterópodos la especie más abundante fue *Finella dubia*, que representó el 41 % del total de especies identificadas. El resto de gasterópodos más abundantes (4 spp.) representó el 20 %. Entre los bivalvos, *Varicorbula operculata* fue la especie más abundante (9 %). Las 3 especies restantes especies más abundantes fueron: *Corbula contracta*, *Pitar fulminatus* y *Trigonocardia antillarum*, constituyeron el 4 % de especies identificadas.

Analizando en detalle el contenido estomacal, se encontró que *A. brasiliensis* consume principalmente moluscos (68% gasterópodos y 20% bivalvos), el resto estuvo constituido por Crustáceos Escafópodos, Briozoarios, Foraminíferos, Poliquetos, Insectos, Ophiuroideos y escamas de peces (12%).

En *A. cf. articulatus* su contenido estomacal mostró que estuvo conformado principalmente por moluscos (71% gasterópodos y 21% bivalvos), el resto estuvo constituido por Crustáceos Escafópodos, Briozoarios, Foraminíferos, Poliquetos, Insectos, Ophiuroideos y escamas de peces (8%).

En *A. marginatus* la situación se presentó como: Moluscos (49% gasterópodos y 32% bivalvos), el resto, Crustáceos Escafópodos, Briozoarios, Foraminíferos, Poliquetos, Insectos, Ophiuroideos y escamas de peces (17%) (Fig. 2).

Globalmente, gasterópodos, bivalvos y escafópodos aglutinaron entre 85 % y 95 % de las especies identificadas de micro moluscos; de los tres grupos, los más abundantes en forma notoria, fueron los gasterópodos y bivalvos (Fig. 2).

Grupos de presa y especies-presa

El grupo de los moluscos abarcó entre el 85% y 95% de los grupos de presa identificados en el contenido estomacal (Fig. 2a, b y Figs. 3 y 4). La preferencia estuvo con los gasterópodos, seguido de los bivalvos y en tercer lugar los

Tabla 1. Especies identificadas de micromoluscos en el contenido estomacal de *Astropecten* spp.

CLASE	FAMILIAS	ESPECIES
Gastropoda	Acilidae	<i>Bermudaclis</i> sp.
	Acteonidae	<i>Acteón punctostriatus</i> (C. B. Adams)
	Architectonidae	<i>Architectonica nobilis</i> Röding
	Cerithiidae	<i>Finella dubia</i> Orbigny
	Fossaridae	<i>Iselica anomala</i> (C. B. Adams)
	Columbellidae	<i>Parvanachis obesa</i> (C. B. Adams)
		<i>Mitrella nitens</i> (C. B. Adams) M
	Marginellidae	<i>Marginella</i> sp.
		<i>Dentimargo</i> sp.
		<i>Granulina ovuliformis</i> (Orbigny)
	Melanellidae	<i>Strombiformis bifasciatus</i> Orbigny
		<i>Strombiformis auticinctus</i> Abbott
		<i>Niso</i> cf. <i>aeglees</i> Bush
	Muricidae	<i>Murex (Murex)</i> sp.
		<i>Chicoreus brevifons</i> (Lamarck)
		<i>Poirieria (Panamurex) velero</i> Vokes
	Nassariidae	<i>Nassarius</i> sp. A
		<i>Nassarius</i> sp. B
	Naticidae	<i>Natica (Tectonatica) pusilla</i> Say
	Olividae	<i>Oliva reticularis</i> Lamarck
		<i>Oliva scripta</i> Lamarck
		<i>Olivela (O.)</i> cf. <i>petiolita</i> Duclos
		<i>Olivella (Minioliva) myrmecoön</i> Dall
	Phasianellidae	<i>Tricolia</i> sp.
	Pyramidellidae	<i>Odostomia (Eulimastoma)</i> cf. <i>dotella</i> , Dall y Bartsch
		<i>Odostomia (Ivadella)</i> sp. A
		<i>Turbonilla (Turbonilla)</i> sp. A

Continuación **Tabla 1**

CLASE	FAMILIAS	ESPECIES
		<i>Turbonilla (Striotur bonilla)</i> sp. A
		<i>Turbonilla (Striotur bonilla)</i> sp. B
		<i>Turbonilla (Striotur bonilla) elegans</i> Orbigny
	Rissoinidae	<i>Rissoina (Phosinella) cancellata</i> Philippi
		<i>Rissoina (Zebinella) striatocostata</i> Orbigny
	Strombidae	<i>Strombus pugilis</i> Linneo
		<i>Strombus</i> sp.
	Terebridae	<i>Terebra (Strioterebum) dislocata</i> (Say)
	Trochidae	<i>Calliostoma</i> cf. <i>Curucutianum</i> Weisbord
	Turridae	<i>Polystira</i> cf. <i>albida</i> Perry
		<i>Microdrillia</i> cf. <i>trina</i> Mansfield
		<i>Cerodrillia</i> sp. A
		<i>Inodrillia</i> sp.
		<i>Splendrillia (Syntomodrillia)</i> sp.
		<i>Leptadrillia</i> cf. <i>splendida</i> Bartsch
		<i>Kurtziella</i> sp. A
		<i>Kurtziella</i> sp. B
		<i>Kurtziella</i> sp.
		<i>Ithycythara lanceolata</i> (C. B. Adams)
		<i>Vitricythara</i> cf. <i>metria</i> Dall
		<i>Nannodiella</i> sp. A
		<i>Miraclathurella</i> cf. <i>vittata</i> Woodring
	Vitrinellidae	<i>Vitrinella</i> sp. A
		<i>Vitrinella</i> sp. B
		<i>Cyclostremiscus pentagonus</i> Gabb
		<i>Solariorbis</i> sp.
		<i>Teinostoma</i> cf. <i>megastoma</i> (C. B. Adams).

Continuación **Tabla 1.**

CLASE	FAMILIAS	ESPECIES
Bivalvia	Arcidae	<i>Anadara notabilis</i> Röding
	Cardiidae	<i>Trigonocardia antillarum</i> (Orbigny)
		<i>Trigonocardia</i> sp.
	Chamidae	<i>Arcinella (Arcinella) arcinella</i> Linneo
	Corbulidae	<i>Varicorbula operclata</i> Philippi
		<i>Corbula (Caryocorbula) contracta</i> Say
	Cuspidariidae	<i>Cardiomy aornatissima</i> (Orbigny)
	Glycymeridae	<i>Glycymeris (Tucetona) pectinata</i> (Gmelin)
		<i>Glycymeris (Tucetona) cf. Oculata</i> Reeve
	Limopsidae	<i>Limopsis antillensis</i> Dall
	Lucinidae	<i>Lucina</i> sp.
		<i>Codakia (Ctena) orbiculata</i> (Montagu)
		<i>Myrteasp.</i>
	Mytilidae	<i>Crenella divaricada</i> (Orbigny)
	Nuculanidae	<i>Nuculana cestrota</i> (Dall)
		<i>Nuculana marella</i> Weisbord
		<i>Nuculana</i> sp.
	Nuculidae	<i>Nucula (Nucula) venezuelana</i> Weisbord
		<i>Nucula (Eunucula) mareana</i> “
	Pandoridae	<i>Pandora (Padorella) bushiana</i> Dall
Veneridae	<i>Chione (Chione) cancellata</i> (Linneo)	
	<i>Gouldia cerina</i> (C. B. Adams)	
	<i>Pitar fulminata</i> (Menke)	
	<i>Dosinia cocentrica</i> (Born)	
	<i>Ventricolaria</i> sp	
Scaphopoda	Dentaliidae	<i>Dentalium laqueatum</i> (Werril, 1885)

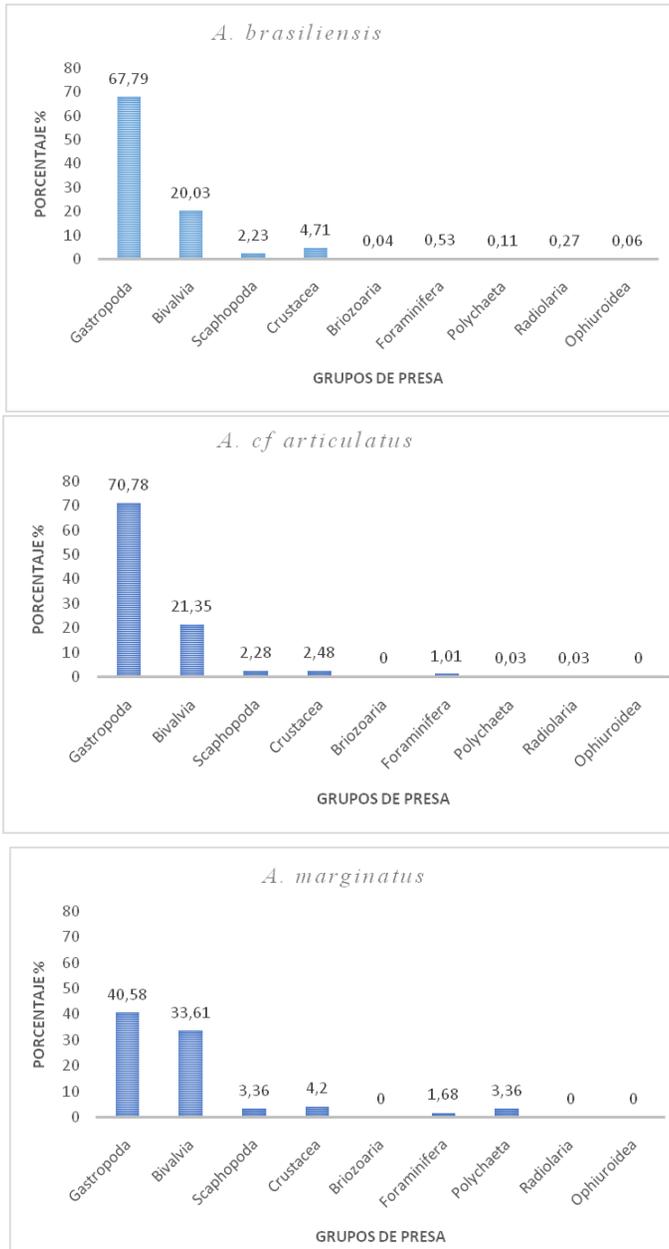


Figura 2. Grupos de presa integrantes del contenido estomacal de (a) *Astropecten brasiliensis*, (b) *A. cf. articulatus* y (c) *A. marginatus*.

escafópodos, con un porcentaje muy inferior a los otros dos grupos de moluscos. Aparentemente no había diferencia salvo los porcentajes de cada grupo; la diferencia se encontró al analizar las especie-presa de los gasterópodos, bivalvos y escafópodos.

Entre las especies-presa, las más abundantes entre los gasterópodos fueron: 1.- *Finella dubia*, 2.- *Olivella myrmecoön*, 3.- *Turbonilla* sp. y 4.- *Odostomia* cf *dotella*; estas especies mostraron preferencias de consumo muy distintas para las tres especies de asteroideos; en *A. brasiliensis*, 1. (50%) del contenido estomacal, 2. (5 %), 3. (3,2%), 4. (2%). En *A. cf. articulatus*, 1. (25%), 2. (27%), 3. (6,2%), 4. (0,7%). En *A. marginatus*, 1. (26%), 2. (0%), 3. (4%), 4. (7%) (Fig. 2a).

En el grupo de los bivalvos, las especies-presa más abundantes fueron: 1. *Varicorbula operculata*, 2. *Corbula contracta*, 3. *Pitar fulminatus* y 4. *Trigocardia antillarum* (Fig. 2b). Estas especies-presa tuvieron preferencia de consumo: en *A. brasiliensis*: 1. (9%), 2. (3,4%), 3. (2%) y 4. (0,3%). En *A. cf. articulatus*: 1. (9%), 2. (5%), 3. (1 %) y 4. (2%).

Otros grupos de presa

Escafópodos: Este grupo de presas ocupó el cuarto lugar en importancia, y constituyó el 2,23% de la dieta de *A. brasiliensis*. Se registraron especies de los géneros *Episiphon* y *Gadila*.

Crustáceos: varios grupos de Crustáceos están representados en el alimento de *A. brasiliensis* y nunca fueron encontrados en gran número; ordenados en forma decreciente según su abundancia relativa fueron: Amphipoda (Dentro de este grupo cabe mencionar a los Caprélidos y a los Foronímidos), Cumacea, Ostracoda, Decapoda (Se destacó el grupo de los Portúnidos). También se registraron Anomura, larvas de Crustáceos (aunque en pequeño número) y megalopas de Decápodos, Copepoda e Isopoda.

Foraminíferos: Se registraron 28 ejemplares de Foraminíferos, en *A. brasiliensis* analizadas, que pertenecen a dos especies, una del género *Quinqueloculina*.

El mayor porcentaje de presas promedio se encontró en *A. brasiliensis* (32%), *A. articulatus* (21%) y 1,5% en *A. marginatus*. Mediante la prueba G, se determinó que las diferencias entre los porcentajes de las especies-presa es significativo ($G= 13,50$, $p < 0,01$). (Fig. 2a, b, y Figs. 3 y 4).

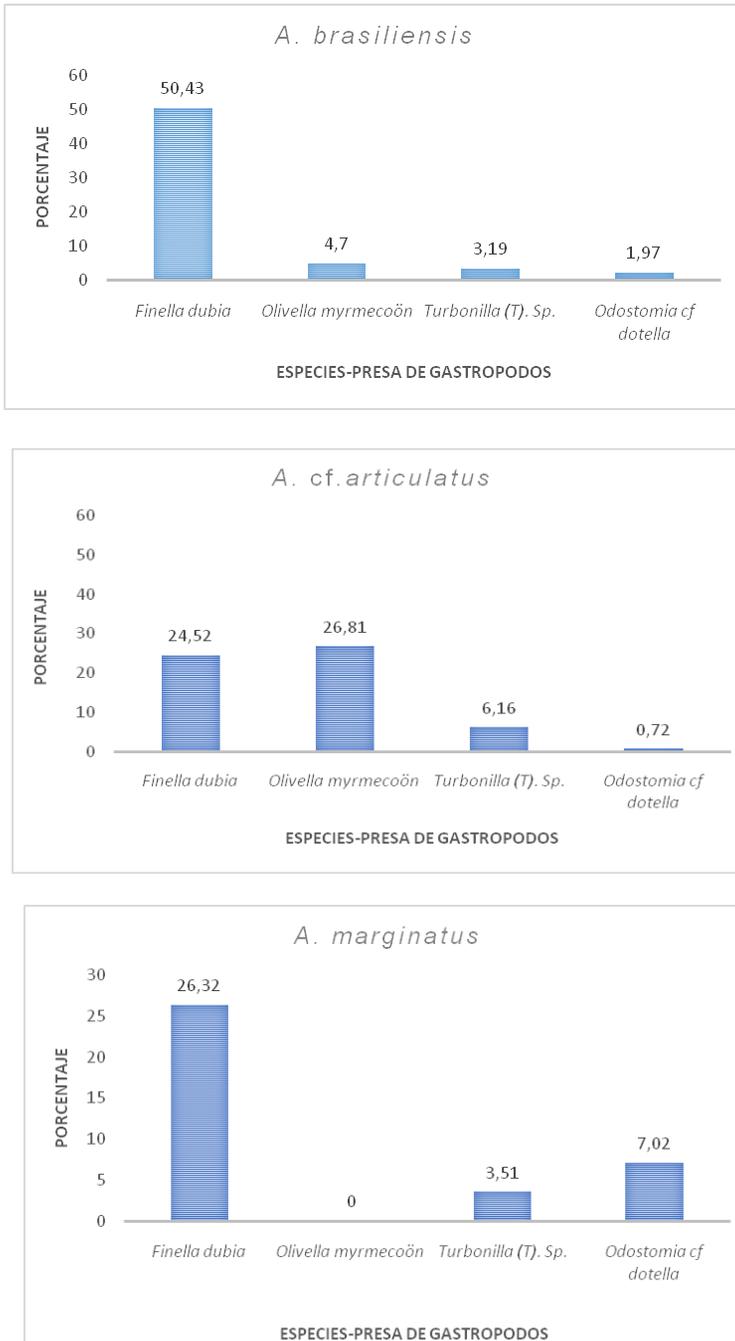


Figura 2a. Especies-presa (gasterópodos) más abundantes integrantes del contenido estomacal de *Astropecten* spp.

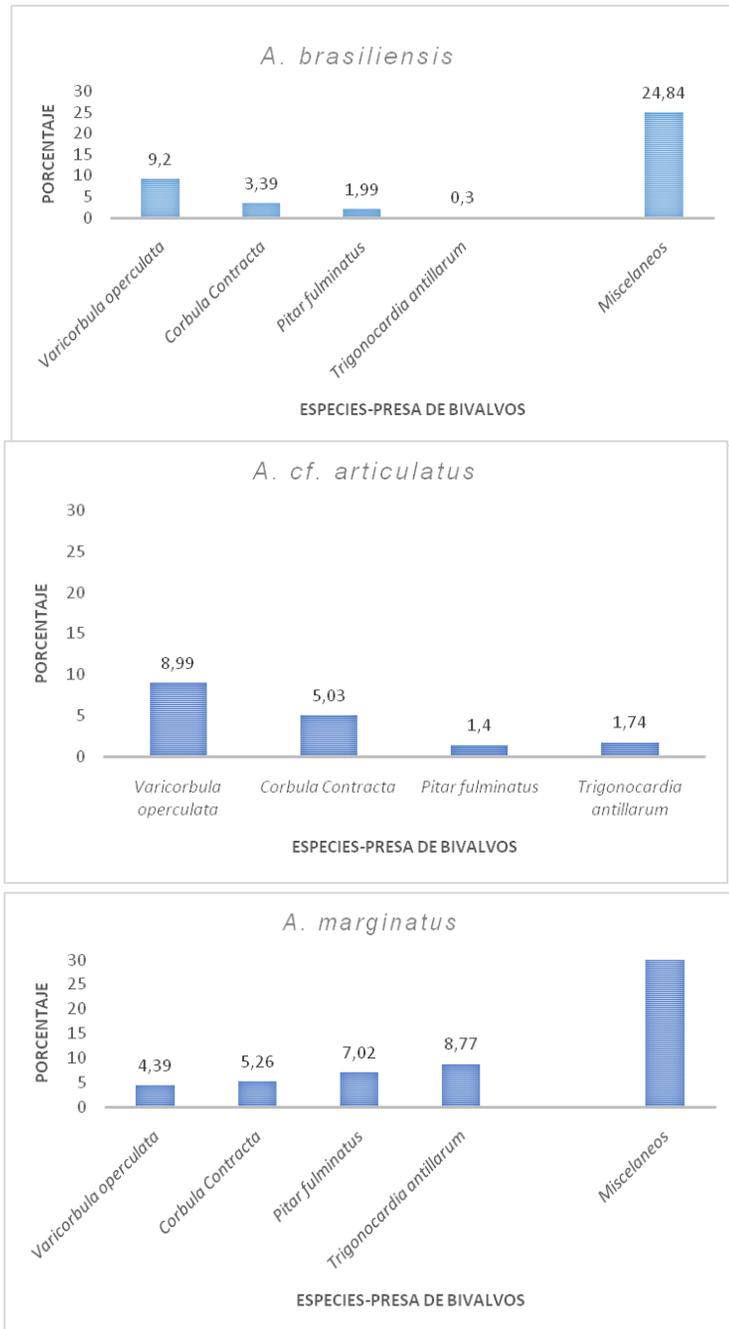
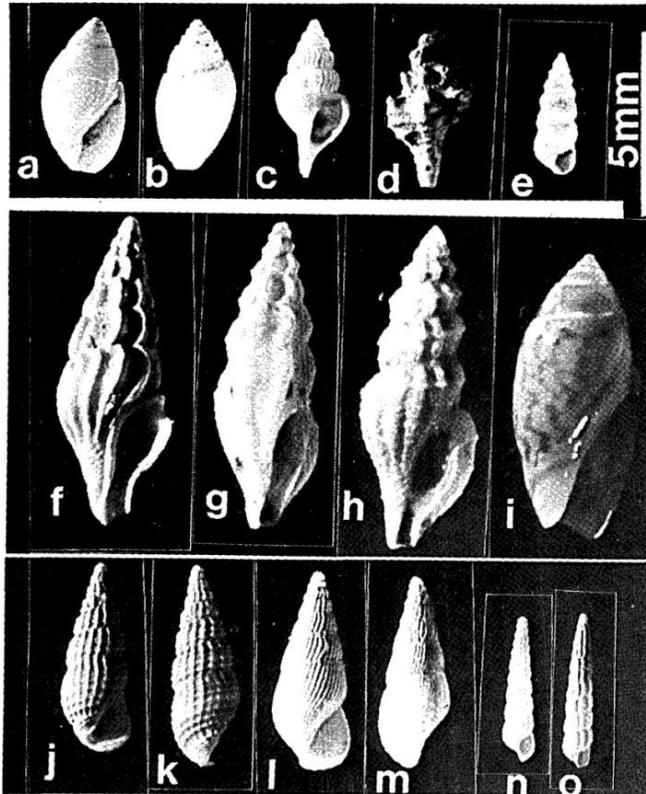


Figura 2b. Especie-presa (bivalvos) más abundantes del contenido estomacal de *Astropecten* spp.



a, b- *Olivella (Minioliva) myrmecoön*

c- *Strombus pugilis*

d- *Murex* sp.

e- *Finella dubia*

f- *Leptadrillia* cf. *splendida*

g, h- *Ithycythara lanceolata*

i- *Oliva reticularis*

j, k- *Rissoina (Phosinella) cancellata*

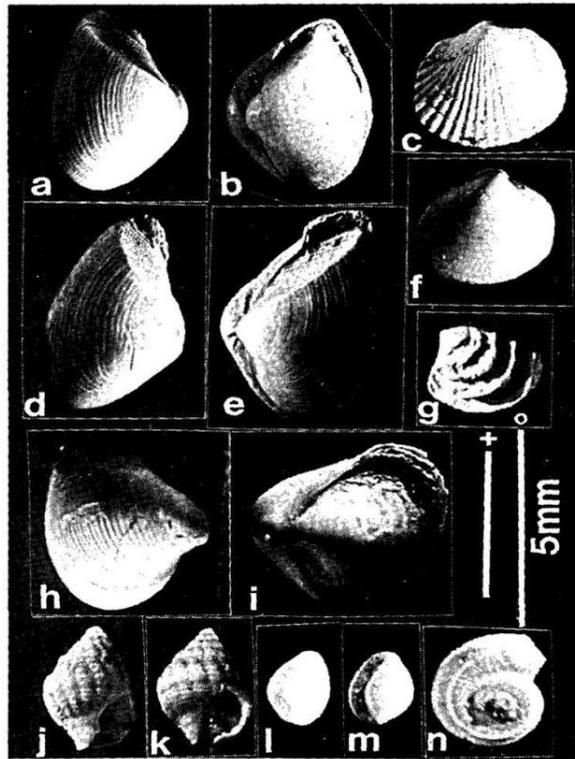
L, m- *Rissoina (Zebinella) striatocostata*

n- *Turbonilla (Striotur bonilla)* sp

o- *Turbonilla (Turbonilla)* sp.

Figura 3. Micromoluscos del contenido estomacal (gasterópodos) de *Astropecten* spp. Colección de referencia.

Fuente: Bitter y Penchaszadeh (1983).



a, b- *Corbula*
c- *Glycymeris (Tucetona) cf occulata*
d, e- *Corbula caribaea*
f- *Pitar fulminatus*
g- *Chione (Chione) cancellata*

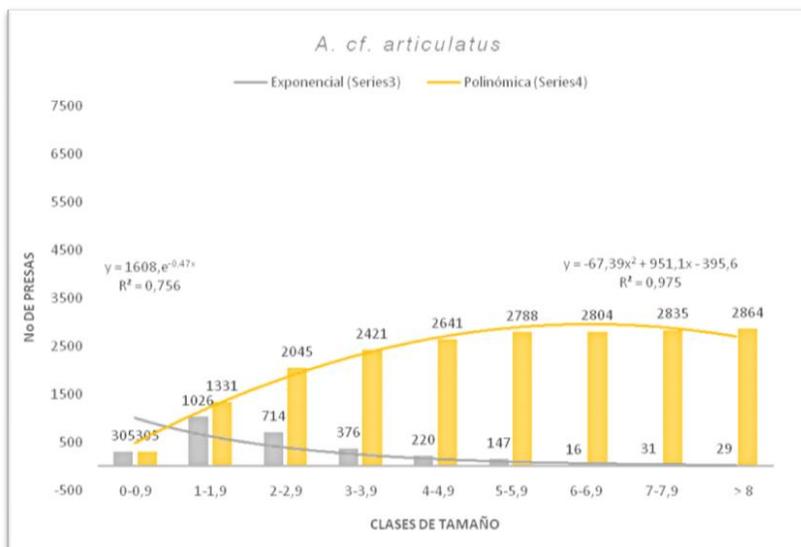
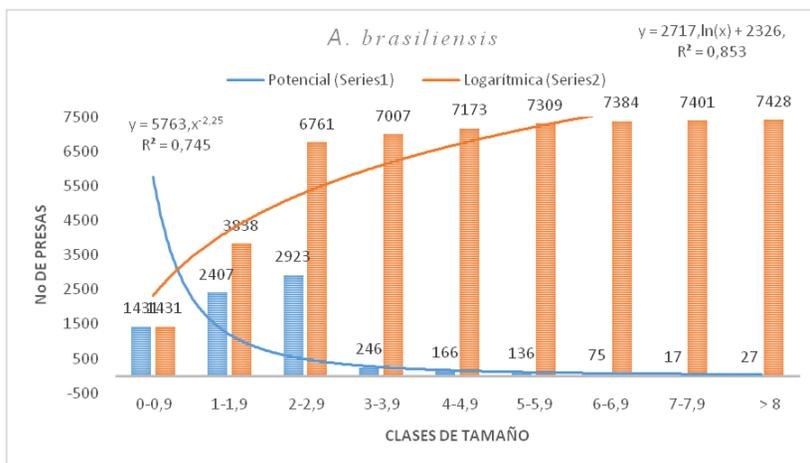
h, i- *Varicorbula operculata*
j- *Nassarius* sp A
k- *Nassarius* sp B
l, m- *Granulina ovuliformis*
n- *Cyclotremiscus pentagonus*

Figura 4. Micromoluscos bivalvos más abundantes y algunos gasterópodos. Colección de referencia. Todas las fotografías están en escala 0, excepto l, m y n en escala +

Fuente: Bitter y Penchaszadeh (1983)

Talla de las especies-presa

Al analizar la talla de las especies-presa encontradas en el contenido estomacal, se determinó que para *A. brasiliensis* el 76 de las presas consumidas pertenecían a la meiofauna y el 24 % a la macrofauna; en el caso de *A. articulatus*, el resultado fue al contrario: el porcentaje más bajo fue para la meiofauna (46 %) y el mayor para la macrofauna (55 %), es decir, había presas de mayor tamaño. Para *A. marginatus* el porcentaje para la meiofauna fue de 73 % y para la macrofauna 27 %. Estas cifras muestran que el promedio de la talla de las especies- presa fue mayor en *A. articulatus* (2,5 mm), *A. brasiliensis* (1,7 mm) y *A. marginatus* (1,6 mm) (Fig. 4).



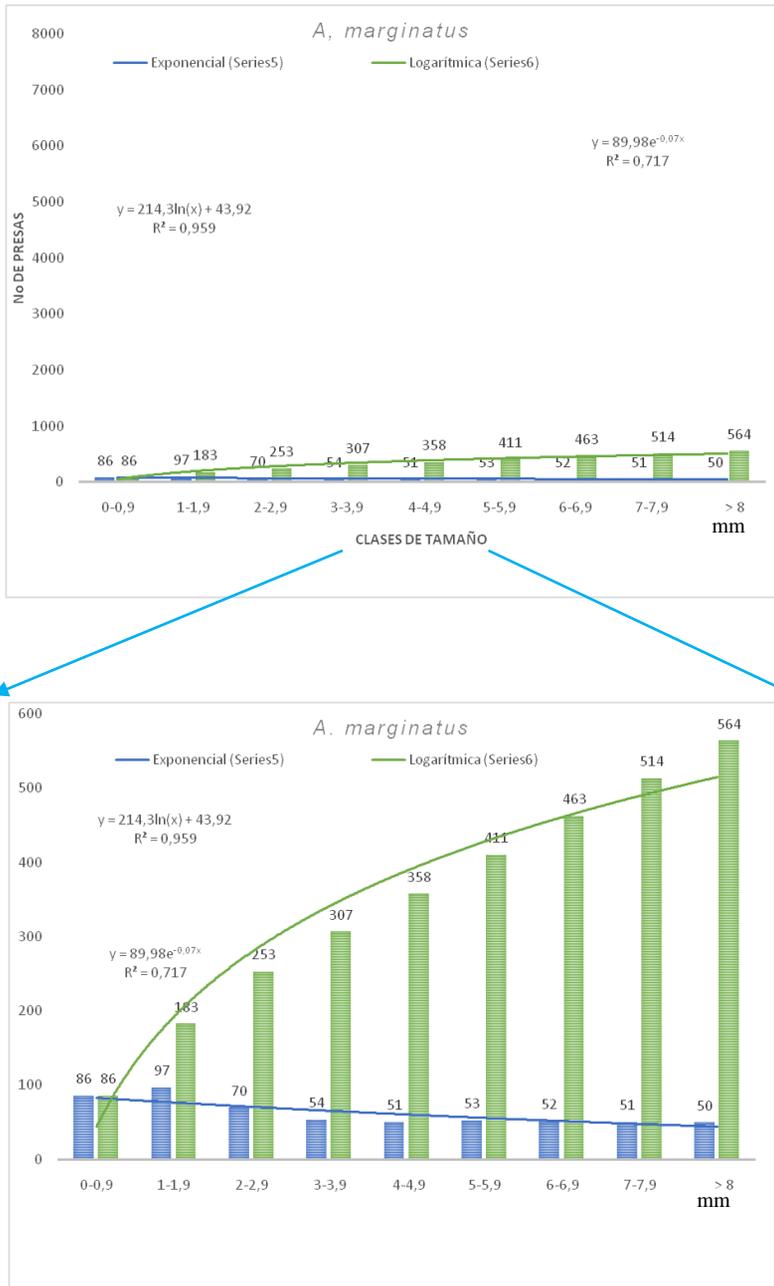


Figura 4. Clases de tamaño de las especies-presas encontradas en el contenido estomacal de *Astropecten* spp.

Sobreposición de nicho

El cálculo del Coeficiente de Similitud (Cj) evidenció que, la diferencia entre las dietas fue mayor entre *A. brasiliensis* y *A. cf. Articulatus* (60%) y en menor grado entre *A. marginatus* con respecto a *A. brasiliensis* (19%) y *A. articulatus* (16%).

Nicho trófico

El cálculo de la sobreposición de nicho, con base en la similitud de las dietas de *Astropecten* spp. indicó que el porcentaje de sobreposición de nicho fue bastante variable, así, entre *A. brasiliensis*, *A. articulatus* y *A. marginatus* fue de 74% y 62% respectivamente. En cuanto a *A. articulatus* y *A. marginatus* la sobreposición fue de 50% (Tabla 2).

Tabla 2. Índices de diversidad trófica, sobreposición de nicho y similitud de dietas de *Astropecten* spp.

Índices	<i>A. brasiliensis</i>	<i>A. cf articulatus</i>	<i>A. marginatus</i>
Hill (N1)	8,84	11,82	12,71
TD	59,39	54,21	29,29
TD/H'	27,20	21,95	11,53
Sobreposición Nicho			
	<i>A. brasiliensis</i>	<i>A. cf articulatus</i>	<i>A. marginatus</i>
<i>A. brasiliensis</i>	-0-	73,98 %	62,04 %
<i>A. cf articulatus</i>	73,98 %	-0-	49,77 %
<i>A. marginatus</i>	62,04 %	49,77 %	-0-

Discusión

Los *asteroideos* han desarrollado adaptaciones que les han permitido sobresalir en su entorno, convirtiéndolas en especies exitosas desde el punto de vista trófico, ya que juegan un papel muy importante en la forma como se organizan las comunidades marinas bentónicas. Son muy efectivas y voraces, y se han adaptado a diferentes tipos de hábitos alimenticios (Calva 2002).

Se ha reportado que hay diferencias básicas entre la mayor parte de los asteroideos y las familias Astropectinidae y Luididae. Por ejemplo, no extrovierten sus estómagos, y tienen digestión intraoral; deben ingerir sus presas enteras y digerirlas internamente por no poseer ventosas en sus podios ni brazos largos flexibles (Bitter y Penchaszadeh 1983). El género *Astropecten* está reportado como exclusivamente carnívoro (Guilherme y Rosa 2014). *Astropecten brasiliensis* constituye un elemento principal (56%) en la dieta de *Tethyaster vestitus*, asteroideo constituyente del cuarto nivel de consumidores (Bitter *et al.* 1980).

Este asteroideo podría actuar como controlador de la densidad de *A. brasiliensis*, que es la especie más abundante en el estudio, mientras que la especie *Luidia senegalensis* (familia Luidae) también consume a *A. brasiliensis*, ocupando un lugar importante dentro de su dieta (28% de las presas consumidas) (Penchaszadeh y Lera 1977), aunque su principal consumo es de equinodermos, de preferencia ofiuroideos (60%). Esta especie se ha reportado como carnívoro facultativo. Los moluscos ocuparon un segundo lugar, pero en un porcentaje bajo (12%) (Ganmanee *et al.* 2003). Siendo *T. vestitus* un depredador especializado de *A. riensis* y éste último de moluscos, la primera actuaría como regulador indirecto de la población de moluscos, por el control directo de la densidad de *Astropecten*.

Astropecten spp. sería un elemento importante en la estructura trófica de la comunidad estudiada, constituyendo los niveles 2^o y 3^o de consumidores; por su parte *T. vestitus* es en esta comunidad uno de los escasos constituyentes del 4^o nivel de consumidores, aunque también participa del nivel de consumidores terciarios (Bitter *et al.* 1980). Hay otro depredador de *Astropecten* spp., se trata del llamado Canario (*Conodon nobilis*), integrante de la fauna ictícola de la zona de golfo Triste (Iglesias y Penchaszadeh 1983), esta pez consume el ejemplar de

Astropecten y con ayuda de sus dientes faríngeos, tritura el cuerpo del asteroideo y consume el contenido estomacal.

Con base en las gráficas, se puede decir que las estrellas no comen indiscriminadamente, cazan según cierta preferencia de tamaño, ya que consumen más de los tamaños menos abundantes. Es decir, que para las presas la probabilidad de ser cazados va disminuyendo a medida que crecen, en algunos un aumento de un milímetro puede representar una disminución de hasta un 50% en la probabilidad de ser consumido (Soberón y Llorente 1993). Las especies de *Astropecten* han evolucionado y se han especializado en consumir presas de tamaños y en proporciones diferentes (Hawkins y MacMahon 1989). Al ver las gráficas, hay un punto de corte que representaría el punto crítico entre abundancia y consumo. En ese punto específico la proporción de la población y la probabilidad de ser consumido parecen ser equivalentes.

En *A. brasiliensis* se encontró que a medida que aumenta la talla de la estrella, aumenta el número de presas en el estómago y disminuye la talla de las mismas, lo que ya se había comprobado con anterioridad. *A. cf. articulatus* tiene un comportamiento relativamente distinto: las correlaciones de tallas de la estrella con respecto al número de presas o la talla de las mismas son ambas positivas (Bitter y Penchaszadeh 1983).

En relación a las especies de *Astropecten*, las diferencias en recursos alimenticios al parecer, utilizan patrones que parecen ser una función del tamaño del cuerpo.

Astropecten brasiliensis según Ventura *et al.* (2001), tiene el nicho más amplio que otros asteroideos con los cuales convive, consume moluscos (gasterópodos y bivalvos). El nicho de alimentación de cada asteroideo: *A. cingulatus* y *L. ludwigiscotti* parece ser parte del nicho de *A. brasiliensis*. Esto mismo parece que es la situación de *A. brasiliensis* con respecto a *A. cf. articulatus* y *A. marginatus*. A pesar de estar relacionadas en forma estrecha, estas especies evidencian diferencias en algunas características biológicas relevantes tales como la relación alométrica entre la longitud y el peso según su la capacidad de empaquetar presas en sus estómagos, ciclos reproductivos y tasas de crecimiento.

Nuestros datos sugieren que estas especies de asteroideos tienen estrategias de comportamiento que les permiten evitar la competencia y permitir la coexistencia. Con base en el análisis del ancho del nicho de alimentación, los datos indicaron que *A. brasiliensis* evidenció el nicho de alimentación más amplio, a tal punto que los de *A. cf. articulatus* y *A. marginatus* forman parte del nicho de *A. brasiliensis* como se ha apuntado anteriormente.

REFERENCIAS

ABBOT, R. T. 1974. American Seashell. Van Nostran Reinhold Company, New York. 663 pp.

ABBOT, R. T. 1982. Kingdom of the Seashell. Bonanza Books, New York. 256 pp.

BITTER, R. A., R. MOLINET y P. E. PENCHASZADEH. 1980. Interacción trófica entre dos estrellas de mar (*Astropecten riensis* y *Tethyater vestitus*) en Golfo Triste, Venezuela. Boletim do Instituto Oceanográfico. 29(2):61-63.

BITTER, R. y P. E. PENCHASZADEH. 1983. Ecología trófica de dos estrellas de mar del género *Astropecten* coexistentes en Golfo Triste, Venezuela. Studies on Neotropical Fauna and Environment. 18(3): 163-180.

CALVA, L. G. 2002. Hábitos alimenticios de algunos equinodermos. Parte 1. Estrellas de mar y estrellas serpiente. Contactos. 46: 59-68.

CHRISTENSEN, A. M. 1970. Feeding biology of the sea star *Astropecten irregularis* Pennant. Ophelia. 8: 1-134.

GANMANEE, M., T. NARITA, S. IIDA y H. SEKIGUCHI. 2003. Feeding habits of asteroids, *Luidia quinaria* and *Astropecten scoparius*, in Ise Bay, Central Japan. Fisheries Science. 69(6): 1121-1134.

GUILHERME, P. D. y L. C. ROSA. 2014. Seasonal variation in body size and diet of the sea star *Astropecten marginatus* (Paxillosida, Astropectinidae) off coast of Paraná, Southern Brazil. Rev. Biol. Trop. 62(1): 73-83.

HAWKINS, CH. P. y J. A. MACMAHON. 1989. Guilds: The Multiple Meanings of a Concept. *Ann. Rev. Entomol.* 34:423-451.

HERRERA, C. M. 1976. A trophic diversity index for presence-absence food data. *Oecologia*, 25(2): 187-191.

HILL, M. O. 1973. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. *Ecology*, 54(2): 427-432.

HYSLOP, E. J. 1980. Stomach contents analysis a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*. 17(4): 411-429.

IGLESIAS, N. y P. E. PENCHASZADEH. 1983. Mercury in sea stars from Golfo Triste, Venezuela. *Marine pollution bulletin*. 14(10): 396-398.

LUNA SALGUERO, B. M. y H. REYES BONILLA. 2010. Estructura comunitaria y trófica de las estrellas de mar (Echinodermata: Asteroidea) en arrecifes rocosos de Loreto, Golfo de California, México. *Hidrobiológica*. 20(2): 127-134.

ORTEGA, I., A. MARTÍN y Y. DÍAZ. 2011. Distribución, parámetros poblacionales y dieta de *Astropecten marginatus* (Asteroidea: Astropectinidae) en el Atlántico venezolano. *Rev. Biol. Trop.* 59(1): 53-69.

PENCHASZADEH, P. E. y M. E. LERA. (1977). Comportamiento trófico de tres especies tropicales de *Luidia* (Echinodermata, Asteroidea). In Res. IV Simp. Latinoam. Oceanogr. Biol. (p. 110).

PLA, L. 2006. Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia*. 31(8): 583-590.

PONTASCH, K. W. y M. A. BRUSVEN. 1988. Diversity and community comparison indices: assessing macroinvertebrate recovery following a gasoline spill. *Water Research*. 22(5): 619-626.

PREJS, A. y G. COLOMINE. 1981. Métodos para el estudio de los alimentos y las relaciones tróficas de los peces. Universidad Central de Venezuela, Instituto de Zoología Tropical. 129 p.

SIMBERLOFF, D. y T. DAYAN. 1991. The guild concept and the structure of ecological communities. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 22: 115-143.

SOBERÓN M., J. y J. LLORENTE B. 1993. The Use of Species Accumulation Functions for the Prediction of Species Richness. *Conserv. Biol.* 7(3): 480-488.

SOUTHWOOD, T. R. E. y P. A. HENDERSON. 2000. *Ecological Methods*—Blackwell Science.

VENTURA, C. R. R., M. C. G. GRILLO y F. C. FERNANDES. 2001, January. Feeding niche breadth and feeding niche overlap of paxillosid starfishes (Echinodermata: Asteroidea) from a midshelf upwelling region, Cabo Frio, Brazil. In *Proc. 10th International Echinoderm Conference, Dunedin, New Zealand. Echinoderms (2000: 227-233).*

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

El **Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas** es una revista internacional que publica trabajos originales (básicos o aplicados) en el campo de las ciencias biológicas. Esta revista recibe investigaciones realizadas en Venezuela y en otros países que aporten soluciones aplicables a la región Neotropical. Se publican contribuciones en español, portugués e inglés. Entre los diversos campos de la Biología básica, incluyen la Zoología, Botánica, Taxonomía y la Ecología, mientras que la Biología aplicada puede incluir trabajos en Biología pesquera, Agroecología, Economía ecológica, Genética, Biología celular, Acuicultura, Biología conservacionista y Microbiología ambiental, entre otros. Además de trabajos generales, se aceptan comunicaciones breves, revisiones y comentarios.

Proceso de arbitraje

Los manuscritos originales se revisarán en primera instancia por el Comité Editorial, el cual los remitirá a tres expertos en la materia para su evaluación, utilizando la modalidad doble ciego. Una vez recibidos los comentarios de los árbitros anónimos, el Comité Editorial devolverá el manuscrito a los autores. En base a las observaciones realizadas por los árbitros y el Comité Editorial, el Editor podrá aceptar el manuscrito, solicitar la revisión o rechazar el trabajo. Al consignar ante el Comité Editorial, la nueva versión corregida, los autores deben dar respuesta por escrito, a la sugerencia de cada árbitro. Luego el Comité Editorial corrobore que se tomaron en cuenta estas últimas correcciones, el trabajo será aceptado y solo a partir de ese momento se podrá emitir una carta de aceptación del manuscrito.

Nota importante: La nueva versión corregida debe ser devuelta al Editor dentro de un lapso de tres meses. Los manuscritos enviados después de este tiempo pueden ser considerados como nuevos y enviados otra vez a arbitraje.

Los manuscritos con errores tipográficos, con un estilo no adecuado, o que no se ajusten a la temática o estilo de la revista serán devueltos por el Comité Editorial sin pasar por el arbitraje. Para mejorar la presentación de su manuscrito, es altamente recomendable enviarlo a un “arbitraje o crítica” entre sus colegas, antes de enviarlo a la revista. Estas personas deben ser citadas en los Agradecimientos.

REQUISITOS PARA EL ENVIO DE LOS MANUSCRITOS

1. El manuscrito, incluyendo las tablas y figuras, debe ser enviado por correo electrónico como un archivo Microsoft Word. Al consignarlo, el primer autor debe enviar una comunicación al Editor indicando que el artículo enviado al Boletín no se ha publicado anteriormente y que tampoco ha sido remetido simultáneamente en otra revista. En adición, cada coautor debe de enviar también por vía electrónica, un correo certificado de que es un coautor del artículo y que está de acuerdo con el orden asignado y en la publicación del manuscrito en la revista.

Los manuscritos deben enviarse a: boletincibluz@gmail.com. A los autores que desean utilizar el correo convencional, se les indica la siguiente dirección: Dra. Teresa Martínez Leones, Editora, Centro de Investigaciones Biológicas, Edificio Ciencia y salud, lado derecho (detrás del Hospital Universitario) Maracaibo, estado Zulia, Venezuela.

2. En el oficio dirigido al Editor, el autor incluirá una lista posibles árbitros nacionales o internacionales (4 ó 5). Estas personas deben ser expertas en la materia, y no deben haber colaborado con los autores, ni tampoco ser miembros del mismo instituto donde laboran los autores. La lista debe incluir el correo electrónico de cada potencial árbitro, dirección del instituto (a enviar correo), y teléfono (si es posible).
3. Los manuscritos deben ser escritos a tamaño carta, a doble espacio, alineación justificada, con márgenes de 2,5 cm, y con letra Times New Roman a 12 puntos. La numeración de las páginas es consecutiva y debe aparecer la misma en el margen superior derecho. No se debe incluir información en el encabezado ni en el pie de página.
4. Los gráficos deben ser realizados en Excel u otro programa similar. Estos deben conservar las propiedades del programa, en caso de que se requiera hacer modificaciones por parte del comité editorial. Las tablas deben diseñarse con un programa para tal fin, y tomar en cuenta el formato de la revista (más largo que ancho). Se recomienda evitar las tablas grandes y complejas. Pueden realizarse a un espacio y medio y en letra Times New Roman a 10 puntos.
5. Las observaciones de los árbitros se enviarán por vía electrónica, en caso contrario el autor debe indicar una dirección de la oficina principal de MRW o DOMESA, entre otros, para enviarlo con cobro a destinatario.
6. En general, no existe un costo para publicar en la revista. Sin embargo, si los autores poseen fondos para tal fin dentro de un proyecto de investigación financiado, agradeceríamos que se considerara realizar una donación.

7. También agradeceríamos a los autores que se suscribieran a la revista. Aunque los artículos se encuentran disponibles gratis “online”, de forma gratuita, los fondos recibidos a través de esta modalidad reduciría nuestra dependencia de los subsidios universitarios, y fortalecería más aún a la revista.

Preparación de los manuscritos

Los manuscritos deberán seguir el siguiente formato general: Título, Nombre del autor(es) con su dirección, Resumen, Abstract (con título en inglés), Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Conclusiones (si hay), Agradecimientos y Literatura Citada. Los artículos deben ser desarrollados en 25 páginas, aproximadamente, incluyendo tablas y figuras. Se recomienda revisar cuidadosamente los números más recientes de la revista como guía en la preparación del manuscrito.

Las comunicaciones breves son trabajos con datos preliminares, estudios con muestreos o ensayos cortos en espacio y tiempo o reportes de eventos puntuales, entre otras modalidades. El formato es el mismo que para los artículos, pero el manuscrito debe poseer hasta un máximo de 8 páginas o menos, incluyendo tablas y figuras.

Las revisiones son trabajos realizados por investigadores con varios años de experiencia en su campo e involucran la síntesis de información de una disciplina específica, basado en una buena revisión bibliográfica que puede incluir 100 citas o más.

Los comentarios son de dos tipos. Los que se hacen sobre otros trabajos publicados en la revista, o aquellos que reflejan el punto de vista del autor sobre algún tema de la Biología. En general, el formato de los comentarios incluye solo los reconocimientos y literatura citada.

Título: Deberá ser breve y específico, y generalmente menor de veinte palabras. Debe incluir las palabras clave más importantes utilizadas por los programas de búsqueda en el Internet.

Autores: Se debe indicar los nombres, apellidos y direcciones completos (incluir dirección de correo electrónico). Es necesario señalar a quién se debe dirigir la correspondencia, en caso de que no sea el primer autor. No utilizar los títulos o categorías universitarias, como Prof., Licdo., M.Sc. y Dr., entre otros.

Resumen: Se elaborará un resumen en español y un abstract en inglés, ambos no deben exceder de 250 palabras (150 para comunicaciones breves). El resumen describe el propósito de la investigación, presenta los resultados y conclusiones más

importantes. Los objetivos se deben escribir en tiempo presente. Los métodos son explicados brevemente. El *abstract* debe ser una traducción del resumen, sin tener información diferente o adicional. Se debe incluir aproximadamente seis o siete palabras clave por orden de importancia en los idiomas correspondientes. El resumen debe ser entendible sin referir al texto.

Introducción. La Introducción debe contener los antecedentes, planteamiento del problema de la investigación, una breve revisión bibliográfica pertinente al trabajo y a los objetivos del mismo (generalmente con referencias recientes de los últimos cinco años). El objetivo debe redactarse en tiempo presente y en concordancia con el título del trabajo. El objetivo es generalmente presentado al final de la introducción, pero también, puede presentarse al comienzo.

Materiales y Métodos. Los métodos deben estar escritos de manera clara, con suficiente detalle a objeto que permita repetir el muestreo o experimento. La metodología planteada se debe describir haciendo énfasis en los métodos originales o a las modificaciones importantes a técnicas o equipos conocidos. Con el objeto de facilitar la organización de esta sección, el autor, de acuerdo al tipo de investigación (de campo o laboratorio), puede dividirla en sub-secciones:

- Área de estudio: Debe especificar las coordenadas, estado, país, y describir brevemente las principales características (clima, fisiografía, entre otras). Es recomendable incluir una figura (mapa).
- Estaciones de muestreo: Se darán los detalles más importantes de las mismas y deben estar señaladas en la figura. Si las artes de recolecta y los procedimientos son suficientemente conocidos en la literatura, solo se deben colocar las referencias; en caso de haber realizado alguna modificación a los mismos, estas se pueden explicar brevemente.
- Análisis estadístico y diseño experimental: En el diseño experimental se especificará el número de muestras, número de réplicas, nivel de significancia, pruebas estadísticas empleadas e información del software utilizado. Los análisis estadísticos deben estar en correspondencia con los objetivos planteados y el diseño experimental utilizado.
- Análisis biológico: Se resaltaré brevemente el uso de los índices de diversidad, equidad, densidad y frecuencia, entre otros.
- Identificación de los ejemplares: Incluir las referencias bibliográficas (obras taxonómicas) consultadas, así como las consultas a los especialistas en el área y las colecciones científicas revisadas. Se debe especificar el lugar donde están deposita-

dos los ejemplares.

Resultados. Se describen en forma lógica, objetiva, exacta y de manera fácil de comprender e interpretar las tendencias más relevantes del trabajo, las cuales son expresadas principalmente en forma de tablas y figuras. Debe contener los hallazgos más importantes de la investigación acorde con el objetivo del trabajo, las variables y el diseño experimental. *No se debe repetir* la misma información de las tablas y las figuras en la descripción del texto. *Es preferible* mantener los Resultados como una sección aparte de la Discusión.

Discusión. En esta sección, el autor debe plantear el análisis o interpretación de sus resultados. Esto se refiere, a contrastar sus hallazgos con los reportados por otros investigadores en la literatura. *No se deben repetir* la descripción de los resultados, materiales y métodos. Es recomendable finalizar esta sección con un párrafo donde se reflejen las implicaciones prácticas o teóricas de la investigación, donde el autor incluya las conclusiones y recomendaciones (si las hay).

Conclusiones. Generalmente, las conclusiones forman parte de la discusión, pero en trabajos más largos, pueden estar aparte como una sub-sección. Se refiere a plasmar de forma concisa los mayores alcances o logros (los hechos nuevos descubiertos) del trabajo en base a los objetivos de la investigación. El autor debe evitar presentar nuevamente los resultados y la discusión. Solo incluir las conclusiones más importantes, generalmente no más de tres.

Recomendaciones (si las hubiere). Se podrán incluir recomendaciones, que constituyan la acción a seguir basándose en las conclusiones. Las recomendaciones forman la última parte de la discusión. También, el autor debe limitarse a las recomendaciones más importantes. En los trabajos más largos, con varias conclusiones y recomendaciones, se puede presentar en sub-secciones aparte.

Agradecimientos. En esta sección se incluye a todas aquellas personas o entes que hayan participado de una manera importante en la ejecución o colaboración técnica para el logro de la investigación. Se debe reconocer a las fuentes (instituciones o personas particulares) de financiamiento, curadores de colecciones y directores de los laboratorios donde realizó el trabajo, entre otros. En el caso de las personas se debe omitir los títulos o categorías universitarias (profesor, Lic., M.Sc., Dr., Ph.D.), así como las expresiones Sr., Sra., Sta., técnico, ayudante y secretaria, entre otros.

Literatura Citada: Se debe ordenar alfabéticamente. Las abreviaturas de los nombres de las revistas deberán ajustarse a lo indicado en los códigos internacionales vigentes. Utilizar solo abreviaturas conocidas como: Biol. (Biológica, Biología), Bol. (Boletín), Invest. (Investigaciones), Soc. (Sociedad), Univ. (Universidad) y Dpto. (Departamento), entre otros.

Para revistas menos conocidas o donde existen dudas, se recomienda escribir el nombre completo. No abreviar los nombres de los países. En general, no debe exceder de 25 referencias en trabajos normales y 15 en comunicaciones breves. Los nombres de los autores deben ser escritos en letra tipo Versalles. Cada referencia citada en el texto debe estar en la Literatura Citada y viceversa. Por favor *revisar cuidadosamente* su manuscrito.

Seguir los siguientes ejemplos para la Literatura Citada:

- Revistas:

García, M. y E. Jiménez-Ramos. 2021. Dos nuevas especies de *Ochthebius* del Caribe, costa peninsular de Araya, Venezuela (Coleoptera: Hydraenidae: Ochthebiinae). *Novitates Caribaea*. 17: 45–58.

González, L. W., N. Eslava, F. Guevara., F. Díaz y J. M. Rodríguez. 2017. Evaluación de la pesquería artesanal de El Tirano, isla de Margarita, Venezuela, durante la temporada de pesca enero-diciembre 2012. *Bol. Centro Invest. Biol.* 51(1): 43-58.

Guédez, C., L. Cañizalez, L. Avendaño, J. Scorza, C. Castillo, R. Olivar, Y. Méndez y L. Sánchez. 2014. Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.). *Rev. Soc. Vzlan. Microbiol.* 34:81-85.

- Libros:

En general, se puede omitir el número de páginas para los libros, pero se debe incluir las páginas cuando se quiere referir a una solo parte del libro.

González, L. W., N. Eslava y F. Guevara. 2006. Catálogo de la pesca artesanal del estado Nueva Esparta, Venezuela. Editorial Radoca. Cumaná. 218 pp.

Rodríguez, J.P., García-Rawlins y F. Rojas-Suárez. 2015. Libro Rojo de la Fauna Venezolana. Cuarta Edición. Provita y Fundación Empresas Polar, Caracas, Venezuela.

- Capítulos de libros

Medina, E. y F. Barboza. 2000. Los manglares del Sistema de Maracaibo. Pp. 175-182, en G. Rodríguez (ed.), *El Sistema de Maracaibo* (2 ed.). Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela.

- Tesis o Trabajos de grado:

Las tesis son identificados como: Trabajo Especial de Grado, Tesis de Maestría, o Tesis de Doctorado.

Moreno, J. C. 2019. Biomasa total como indicador de variabilidad ambiental en 6 especies de mariposas (Lepidóptera, Nymphalidae) en Venezuela. Trabajo Especial de Grado, Dpto. de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Univ. del Zulia, Maracaibo.

Van Der Biest, N. 2016. Análisis de los parámetros pesqueros e indicadores económicos de la pesca artesanal con nasa en el puerto pesquero El Tirano durante el periodo enero-diciembre 2015. Tesis de pregrado. Universidad de Oriente, Boca del Río, Venezuela. 41 pp.

- Informes Técnicos:

Lentino, M., A. Rodríguez-Ferraro, A. Nagy, M. Rojas, V. Malave, M. A. García y A. López. 2016. Manual de Anillado e Identificación de las aves del Paso Portachuelo, Parque Nacional Henri Pittier, Venezuela (2° Ed). Sociedad Conservacionista Audubon de Venezuela (Caracas, Venezuela). Informe Técnico.

Casler, C. L. y J. R. Lira. 1983. Estudio faunístico de los manglares del sector Los Olivitos, Dto. Miranda–Edo. Zulia. Serie Informes Cient. Zona 5/IC/50, MARNR, Maracaibo, 46 pp.

- Resúmenes de congresos:

Morales, L. G. y J. Pacheco y J. Pinowski. 1980. Ecología energética de la avifauna ictiófaga del alto Apure, Venezuela. Resúmenes, 8 Congr. Latinoamer. Zool., 5 al 11 de octubre de 1980, Mérida, Venezuela, p. 188.

Vega, D. y Rodríguez. 2008. Estudio de los posibles del flavonoides del jugo de la parchita amarilla (*Passiflora edulis* var. *flavicara*), AsoVAC LVIII Convención Anual San Felipe, Yaracuy.

- Publicaciones gubernamentales, como decretos:

República Bolivariana de Venezuela. 2000. Decreto No. 730 del 09 de Marzo de 2000, sobre creación de la Reserva de Fauna Silvestre Ciénaga de La Palmita e Isla de Pájaros. Gaceta Oficial No. 36.911 del 15 de Marzo de 2000, 2 pp.

- Revistas y bases de datos electrónicas:

Las revistas y bases de datos electrónicas deben ser accesibles al público sin ser protegidos por palabras clave.

FAO. 2020. La lucha contra tres conceptos que está cambiando el sector de la pesca. Roma. [Documento en línea] Disponible en: <http://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1279164/>. [Consulta 14-01-2020].

Liu, X., X. Yan, J. Bi, J. Liu, M. Zhou, X. Wu y Q. Chen. 2018. Determination of Phenolic Compounds and Antioxidant Activities from Peel, Flesh, Seed of Guava (*Psidium guajava* L.). Electrophoresis. 1-32. doi:10.1002/elps.201700479.

Miranda, J. y J. León. (2017). Lista oficial de las Aves de Venezuela por estados: Zulia. Versión Junio 2017. Disponible en: http://uvo.ciens.ucv.ve/?page_id=3035, consultado el 21/08/2018.

En general, las referencias a trabajos no publicados, como reportes e informes, o manuscritos en preparación, deberán ser citadas en el texto como comunicaciones personales. Sin embargo, se puede incluir en la literatura citada, tesis de licenciatura, maestría y doctorado, además de informes provenientes de institutos gubernamentales o no gubernamentales. Estos últimos se pueden incluir siempre y cuando se encuentren disponibles al público, en la biblioteca del instituto correspondiente o base de datos. Los informes deben poseer una nomenclatura fija, con nombre y número. Los trabajos de ascenso y otros informes, sin nombre ni enumeración son citados en el texto como comunicaciones personales.

Tablas y figuras: Las tablas y las figuras deben ser citadas en el texto y numeradas en orden consecutivo. Se puede colocar más que una tabla o figura en la misma página. Cada tabla y figura llevará una leyenda e irá numerada con números arábigos. Para las tablas, se debe colocar la leyenda al comienzo, y para las figuras en la parte inferior. Las leyendas deben mostrar información suficiente para ser entendible sin referirse al texto.

Las ilustraciones (fotografías) deben ser muy nítidas. Todas las figuras deben incluir una escala gráfica y el tamaño, grosor de las líneas, dimensiones de los símbolos, entre otros, deberán calcularse para una reducción óptima. El carácter más pequeño luego de la reducción no debe ser menor de 1,5-2 mm, o letras a 9 puntos.

Los mapas deben ser sencillos y realizados con líneas negras en fondo blanco; evitar las escalas de grises. No deben tener muchos símbolos en la leyenda; es mejor colocar los nombres en el mapa. Utilizar letra Arial para los mapas; evitar el uso de

líneas finas en las figuras. El Comité Editorial, se reserva hacer las correcciones de estilo que considere convenientes una vez que el trabajo se haya aceptado para su publicación. Cuando el Comité Editorial haya revisado las correcciones realizada por los autores, enviará a éstos por correo electrónico una prueba de galera. Ésta constituye una versión final del artículo a ser publicado, y será la última oportunidad de los autores para realizar las correcciones de forma que sean necesarias. El autor debe devolver la prueba de galera dentro de tres días.

Instrucciones generales

Los manuscritos deben enviarse en tamaño carta, a doble espacio, alineación justificada, con márgenes de 2,5 cm, y con letra Times New Roman a 12 puntos. Se debe numerar consecutivamente todas las páginas (margen derecho superior) y no se debe incluir información en el encabezado ni en el pie de página. No separar palabras con guiones al final de las líneas. Escribir en cursivas, en vez de subrayar, las palabras que deben ser escritas en itálicas. Nombres científicos y términos latinos, como *et al.*, *in situ*, *ad libitum*, *a priori*, *a posteriori*, *in vivo*, *in vitro*, entre otros, deben ser escritos en cursivas.

Nombres científicos: Escribir los nombres científicos en cursivas. En el texto, el nombre del género siempre se escribe en mayúscula, mientras que la segunda (tercera) palabra del nombre de la especie (subespecie), es con minúscula (*Xus albus*, *Xus albus albus*). En el Boletín, el título de cada artículo está escrito en mayúsculas. Así, cualquier nombre científico dentro del título también se escriba todo en mayúsculas (además cursivas). Se utilizan las palabras taxón (singular) y taxones (plural). En general, después de escribir un nombre científico por primera vez, se puede abreviar (por ejemplo, *Xus albus* = *X. albus*). Sin embargo, en el comienzo de una frase, el género siempre se escribe completamente.

Las abreviaturas como *sp.*, *spp.*, no forman parte del nombre científico, y no se escriben en cursivas. Si incluye el nombre del autor original de la especie, u otra información, hágalo cuando escriba el nombre de la especie por primera vez en el texto del manuscrito. No coloque el nombre del autor de la especie en el título, excepto si forma parte del tema a tratar

Cada Figura y Tabla debe ser citada en el texto, y estas deben seguir la misma secuencia de las citas. Utilizar “Fig.” en paréntesis (Fig. 3, Figs. 3 y 4, Figs. 3-5) y “Figura” fuera de las mismas. Utilizar “Tabla” con mayúscula dentro y fuera de los paréntesis.

Las medidas siempre deben estar en unidades métricas. Evite el uso de muchos decimales en el texto y en las tablas, generalmente el uso de un *decimal* es suficiente. En español, el decimal se indica con una coma

(30,6); en inglés coloque un punto en los números de mil o más (1.500). Utiliza el sistema continental para las fechas (15 de octubre de 2016), reloj de 24 horas (0900 h, 2400 h).

Se debe utilizar las siguientes abreviaturas o símbolos: g (gramos), µg (microgramos), mg (miligramos), h (hora), ha (hectárea), kg (kilogramo), Km (kilómetro), L (litro), m (metro), m³ (metro cúbico), mm (milímetros), mL (mililitro), mM (milimole), % (porcentaje), ‰ (salinidad en partes por mil, esta unidad puede ser omitida), s (segundo), min (minuto), ton (tonelada) escribir temperatura como 25 °C, no abreviar las palabras día, semana y año. En el texto, las abreviaturas se escriben sin punto, excepto No. (número). En la Literatura Citada, utilizar un punto después de las abreviaturas: p. (página), pp. (páginas), ed. (editor o edición), eds. (Editores), coor. (Coordinador). Escribir (2 ed.), no (2nd ed.).

Utilizar las siguientes abreviaturas relacionadas con la estadística: ANOVA, DE (desviación estándar), ES (error estándar), GL (grados de libertad), CV (coeficiente de variación), ns (no significativo), *n* (tamaño de una muestra), *P*, *r*, *F*, y χ^2 .

Para las siglas como CP (componentes principales), CPUE (captura por unidad de esfuerzo) y DQO (demanda química de oxígeno), o las siglas creadas por el autor, se deben escribir completamente cuando la utilizan por primera vez. Escribir las siglas sin puntos.

Los números: Escribir los números de uno a nueve como palabras, excepto si se trata de una medida, pero para cantidades de 10 o más, escribir como números (por ejemplo, tres machos, 7 m, 20 g, 30 hembras, 2 g). Si tiene una serie de medidas, con por lo menos una de las medidas es mayor a 9, escribir todos como números (5 machos y 20 hembras). Utilizar un punto en números ≥ 1.000 , y 0,02, en vez de ,02; escribir 40% en vez de 40 por ciento. Si una frase empieza con un número, siempre escriba en letras.

Citas en el texto:

Utiliza las siguientes maneras para citar la literatura en el texto:

- * Para un autor: Medina (2018), o (Medina 2018).
- * Para dos autores: González y García (2018) o (González y García 2018).
- * Para tres autores o más: Urdaneta *et al.* (2016) o (Urdaneta *et al.* 2016). En la Literatura Citada, escribir los nombres de todos los autores.

Manuscritos aceptados pero aun no publicados: López (2017 en prensa) o López (en prensa). Para información no publicada: (López, datos no publ.), (López, obs. pers.), o (López, comun. pers.)

Para citas dentro de paréntesis: (Viloria 2019, Chourio 2003, Vera 2016), (Martínez 2018; Yépez 2015, 2016; León y García 2014), (Casler 2002a, b, c).

En general, se colocan las citas en orden cronológico.

INSTRUCTIONS FOR CONTRIBUTORS

The **Boletín of Biologic Investigations Center** is an international journal that publishes original works (basic or applied) in the field of the biological sciences. The journal publishes research done in Venezuela and in other countries that produce solutions applicable to the Neotropical region. Contributions are published in Spanish, Portuguese and English. Among the diverse fields of basic biology, are zoology, botany, taxonomy and ecology, whereas in applied biology are included works in fishery biology, agroecology, ecological economics, genetics, cellular biology, aquaculture, conservation biology, and environmental microbiology, among others. In addition to feature articles, short communications, revisions and commentaries are also accepted.

REVIEW PROCESS

Manuscripts are first reviewed by the Editorial Committee (EC), and then sent to be evaluated by three experts in the field of the subject, using the manner of double blind. Upon receipt of the observations from anonymous referees, the EC will return the manuscript to the author(s). Based on the observations of the reviewers and EC, the Editor will accept the manuscript, invite the authors to revise the manuscript, or reject the work. When handing in the new, revised the manuscript again to the EC, the authors must include a written statement showing how the observations of each reviewer were taken into account. Once the EC collaborates that the author(s) took into account the observations, the work will be accepted, and only at this time, will a correspondence be sent, showing that the work is accepted for publication.

Note: The revised manuscript should be returned within three months. Manuscripts returned after three months may be considered as new works and sent again to the reviewers.

Manuscripts with typographical errors, with poor style, or that are not in accord with the style of the journal, will be returned by the EC without passing for the review process. To improve the presentation of the manuscript, it is highly recommended that the author(s) send it to a “review process” among their colleges, before sending it to the journal. These persons should be cited in the acknowledgments.

MANUSCRIPT SUBMISSION

1. The manuscript should be sent by e-mail in a Word-compatible file containing text, tables, and figures. At time of submission, the first author should include a cover letter (signed by all co-authors) indicating that the article is an original work not published previously, and has not been sent simultaneously to another journal. If an original cover letter is not sent by regular mail, each co-author must e-mail the Editor directly, stating they are co-authors of the article and agree to publication in the Boletín.

Please send your manuscript to: boletincibluz@gmail.com. Use the following address for original cover letters sent by regular mail: Dra. Teresa Martínez Leones, Editora, Centro de Investigaciones Biológicas, Edificio Ciencia y Salud, low level, right side (detrás del Hospital Universitario), Maracaibo, estado Zulia, Venezuela.

2. Include in the cover letter, the names of at least four potential reviewers. These potential reviewers should be specialists (national or international) qualified to review the manuscript, and not have any collaboration with the author(s) or be affiliated with the universities, institutes or research laboratories of the author(s). For each potential reviewer, include the street address of the institute (for regular mail), e-mail address, and phone number, if possible.
3. Manuscripts should be typed in 12-point, Times New Roman font, double-spaced, and on letter-size pages with 2.5 cm margins on all sides (right margin justified). All pages should be numbered consecutively, in the upper right hand corner. Do not include any information in headings or footnotes.
4. Graphics should be done in Excel® or other similar program. Program data should remain available in case style modifications are needed by the Editorial Committee. Tables should be made with a program for that purpose, and take into consideration the journal format (longer than wide). Avoid large, complex tables. Tables may be in 10 or 11-point Times New Roman font, and 1½ spaced.
5. Results of the review process are usually sent by e-mail, but if needed, may be sent by regular mail. The author must give a street address and telephone number for MRW or DOMESA, among others, to be sent COD.
6. In general, there are no page charges to authors. However, if authors have funds for publication in their research projects, we would appreciate receiving a donation.

7. Authors are also encouraged to subscribe to the journal. Although articles are available free on the Internet, funds received via subscriptions help strengthen the journal by reducing our dependency on university subsidies.

MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscripts should be written in the following general format: Title, name and address of author(s), Abstract. Abstract in Spanish (with title in Spanish), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, and Literature Cited. Authors are strongly advised to consult recent issues of the Boletín to help guide manuscript preparation.

Short communications are for short-term studies, descriptions of onetime events, and brief field or laboratory observations with preliminary data. The format is the same as that for complete articles, except manuscript length is usually eight pages or less, including tables and figures.

Revisions are works usually written by experienced investigators, and involve synthesis of information on a specific subject, based on a bibliographic revision that may include 100 or more citations.

There are two types of commentaries. Commentaries that include constructive criticism on articles previously published in the journal, or works that reflect individual points of view on topics of biological interest. In general, the commentary format includes only acknowledgements and literature cited.

Title. The title should be short and specific, usually not more than twenty words, and include the most important key words that may be used by Internet search engines.

Authors. Give complete names (at least first name, initial of second name, and first last name (first and second last names, if common), and mailing addresses (include e-mail). Indicate author to receive correspondence, if not the first author. No not use titles or university positions such as Prof., Lic., M.Sc., and Dr., among others.

Abstract. Prepare two abstracts (one in English and one in Spanish) that do not exceed 250 words each (150 for short communications). The abstract describes the objective of the investigation and summarizes the most important results and conclusions. Methods are mentioned briefly. The *Spanish abstract* is a translation of the English abstract, without additional or different information. Include about six or seven key words in order of importance, in the corresponding languages. The abstract must be understandable, without referring to the text.

Introduction. The introduction defines the problem to be solved, and should contain a brief review of the literature (usually with references published within the last five years) relevant to the aims of the research. In the Boletín, the objective is written in the present tense, and must agree with the content of the title. The objective is usually presented at the end of the introduction, but may also be at the beginning. Keep the introduction brief. Details may be presented in the materials and methods or discussion sections.

Materials and Methods. Methods should be written in sufficient detail to enable other scientists to duplicate your experiments or field sampling procedures, if necessary. Put emphasis on those methods that are original or important modifications of known techniques. For well-known methods, cite the references in which they are described. To help with organization of this section, in more extensive papers, the author may use sub-sections.

- Description of study area. Give coordinates, state, and country, and briefly describe the principal characteristics, such as geography, vegetation, precipitation, and temperature, etc. A map may be included.
- Sampling stations. Describe the most important characteristics of each station, and show their location on a map. If collecting methods and other procedures are well known in the literature, just cite the references; in cases of modifications of previous methods, explain briefly.
- Statistical analysis and experimental design. Information about the experimental design should include number of samples, number of replications, level of significance, and types of statistical analyses and software programs employed. Statistical analyses must be in accord with the objectives and experimental design of the study.
- Biological indices. Briefly describe or cite references about the types of indices used, such as species diversity, similarity, evenness, density, and frequency.
- Identification of specimens. Cite references (keys and other taxonomic works) used to identify specimens, and give names of any specialists consulted or museum collections examined. For taxonomic papers, give names of museums or other collections where specimens are deposited.

Results. Results are described objectively, concisely, in logical order, and in a way as to easily understand and interpret the most relevant trends of the study. Most results are given in tables and figures. Give the most important findings, in accord with the objectives, variables and experimental design of the study. *Do not repeat* in the text the same information given in tables and figures. *We recommend* keeping the results section separate from the Discussion.

Discussion. In this section, the author analyzes or interprets the results. This implies that important findings must be compared with those reported in the literature by other investigators. *Please do not repeat* results, and materials and methods in this section. We recommend ending this section with a paragraph reflecting the theoretical or practical implications of the investigation. In general, conclusions and recommendations (if any) are given in this section.

Conclusions. Conclusions may be placed in a separate sub-section in more extensive articles, and should be concise statements based on the objectives and new findings of the study. Please avoid repeating results and discussion in this section. Include only the most important conclusions, usually not more than three.

Recommendations (if any). Recommendations usually form the last part of the discussion section, but in more extensive articles, may be placed in a separate subsection. Any recommendations for future strategies or studies must be based on the conclusions of the article. Again, be concise, and give only the most important recommendations.

Acknowledgments. Include in this section, persons and institutions that played an important role in achieving the objectives of the investigation. Also, financial sources (persons or institutions) should be thanked, as well as curators of museums, and directors of laboratories, among others. For persons, omit titles or categories such as Dr., Sr., Sra., lab technician, secretary, etc.

Literature cited. Put in alphabetical order, according to last name of senior author, followed by first name of co-authors. Abbreviations of journal names should be in accord with international standards. Use only well-known abbreviations such as Biol. (Biology, Biological), Bull. (Bulletin), Invest. (Investigation), Soc. (Society), Univ. (University), and Dept. (Department), among others.

For lesser known journals or when in doubt, spell out completely. Do not abbreviate names of countries. Regular articles usually have no more than 25 references; 15 for short communications. Write author names in Versailles font. All references included in the Literature Cited must be cited in the text, and visa versa. Please *revise your manuscript carefully*.

Use the following examples for references in the Literature Cited:

- Journal articles:

García, M. y E. Jiménez-Ramos. 2021. Dos nuevas especies de *Ochthebius* del

Caribe, costa peninsular de Araya, Venezuela (Coleoptera: Hydraenidae: Ochthebiinae). *Novitates Caribaea*. 17: 45–58.

González, L. W., N. Eslava, F. Guevara., F. Díaz y J. M. Rodríguez. 2017. Evaluación de la pesquería artesanal de El Tirano, isla de Margarita, Venezuela, durante la temporada de pesca enero-diciembre 2012. *Bol. Centro Invest. Biol.* 51(1): 43-58.

Guédez, C., L. Cañizalez, L. Avendaño, J. Scorza, C. Castillo, R. Olivar, Y. Méndez y L. Sánchez. 2014. Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.). *Rev. Soc. Vzlana. Microbiol.* 34:81-85.

- Books: In general, omit page numbers for books, except when citing a specific part of the book.

González, L. W., N. Eslava y F. Guevara. 2006. Catálogo de la pesca artesanal del estado Nueva Esparta, Venezuela. Editorial Radoca. Cumaná. 218 pp.

Rodríguez, J.P., García-Rawlins y F. Rojas-Suárez. 2015. Libro Rojo de la Fauna Venezolana. Cuarta Edición. Provita y Fundación Empresas Polar, Caracas, Venezuela.

- Chapter in a book:

Medina, E. and F. Barboza. 2000. Los manglares del sistema de Maracaibo. Pp 175-182, *in* G. Rodríguez (ed.), *El Sistema de Maracaibo* (2 ed). Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela.

- Theses: Theses are denoted as Undergraduate Thesis, Masters Thesis, or Doctoral Thesis.

Moreno, J. C. 2019. Biomasa total como indicador de variabilidad ambiental en 6 especies de mariposas (Lepidóptera, Nynplalidae) en Venezuela. Trabajo Especial de Grado, Dpto. de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Univ. del Zulia, Maracaibo.

Van Der Biest, N. 2016. Análisis de los parámetros pesqueros e indicadores económicos de la pesca artesanal con nasa en el puerto pesquero El Tirano durante el periodo enero-diciembre 2015. Tesis de pregrado. Universidad de Oriente, Boca del Río, Venezuela. 41 pp.

- Research or Technical Reports:

Lentino, M., A. Rodríguez-Ferraro, A. Nagy, M. Rojas, V. Malave, M. A. García y A. López. 2016. Manual de Anillado e Identificación de las aves del Paso Portachuelo, Parque Nacional Henri Pittier, Venezuela (2° Ed). Sociedad Conservacionista Audubon de Venezuela (Caracas, Venezuela). Informe Técnico.

Casler, C. L. y J. R. Lira. 1983. Estudio faunístico de los manglares del sector Los Olivitos, Dto. Miranda Edo. Zulia. Serie Informes Cient. Zona 5/ IC/50, MARNR, Maracaibo, 46 pp.

- Congress abstracts:

Morales, L. G., J. Pacheco, and J. Pinowski. 1980. Ecología energética de la avifauna ictiófaga del alto Apure, Venezuela. Abstracts, 8 Congr. Latinoamer. Zool., 5 - 11 October 1980, Mérida, Venezuela, p. 188.

Vega, D. y Rodríguez. 2008. Estudio de los posibles del flavonoides del jugo de la parchita amarilla (*Passiflora edulis* var. *flavicara*), AsoVAC LVIII Convención Anual San Felipe, Yaracuy.

- Government publications: Decrees:

República Bolivariana de Venezuela. 2000. Decreto N° 730 of March 2000, about the cration of the Wildlife Refuge Ciénaga de La Palmita e Isla de Pájaros. Official Gazetter N°. 36.9111 of 15 March 2000, 2 pp.

- Electronic journals and data bases:

Electronic journals and data bases must be accessible to the public, and not password protected.

FAO. 2020. La lucha contra tres conceptos que está cambiando el sector de la pesca. Roma. [Documento en línea] Disponible en: <http://www.fao.org/faostories/article/es/c/1279164/>. [Consulta14-01-2020].

Liu, X., X. Yan, J. Bi, J. Liu, M. Zhou, X. Wu y Q. Chen. 2018. Determination of Phenolic Compounds and Antioxidant Activities from Peel, Flesh, Seed of Guava (*Psidium guajava* L.). Electrophoresis. 1-32. doi:10.1002/elps.201700479.

Miranda, J. y J. León. (2017). Lista oficial de las Aves de Venezuela por estados: Zulia. Versión Junio 2017. Disponible en: http://uvo.ciens.ucv.ve/?page_id=3035, consultado el 21/08/2018.

Unpublished references such as technical reports, manuscripts in preparation, should be cited in the text as personal communications. However, undergraduate, masters and doctoral theses may be placed in the literature cited, as well as reports of public and private institutions, as long as these documents are available in the library of the corresponding institution or other data base, and accessible to the public. Technical reports do not need to be periodic, but should have a fixed nomenclature, with name and number. Works such as “Trabajos de Ascenso” or scientific reports lacking volume or number nomenclature are cited in the text as personal communications.

Tables and figures. In the manuscript, tables and figures are placed after the literature cited, and must be cited in the text. Each table and figure should have a legend, and be numbered with Arabic numbers. The legend is placed above the table, but below the figure. Legends should give enough information so as to be understandable, without referring to the text.

The illustrations (photos) should have good definition. Figures (where pertinent) should have a scale. Figures should be large enough to permit reduction to the size that they will appear in print, including the size and thickness of lines and letters. After reduction, letter height should not be less than 1.5-2 mm, or about 9-point.

Maps should be simple, with black lines on a white background, without shades of gray. Legend should not contain many symbols; it is better to put names directly on the map. Use Arial font for maps. *Prevent the use of fine lines* in figures. The Editorial Committee reserves the right to make corrections in style once the article has been accepted for publication. Proofs will be sent to authors (by email) prior to publication and these should be returned within 3 days of receipt. Because this is the last opportunity to detect and correct any errors, authors should examine proofs carefully.

General instructions

Manuscripts should be typed in 12-point, Times New Roman font, double-spaced, on letter-size pages, with 2.5 cm margins on all sides (right margin justified). All pages should be numbered consecutively in the upper right hand corner. Do not include any information in headings or footnotes, and do not hyphenate words at ends of lines. Words to be italicized should be written in italic type, and not underlined. Scientific names and Latin terms, such as *et al.*, *in situ*, *ad libitum*, *a priori*, *a posteriori*, *in vivo*, and *in vitro*, should be italicized.

Scientific names: Scientific names are italicized. Names of genera always start with a capital letter, but the second word of the species name and third word of

the subspecies name are uncapitalized (*Xus albus*, *Xus albus albus*). In the Boletín, the entire title of each article is capitalized, including scientific names. After the first citation, scientific names may be abbreviated (*Xus albus* = *X. albus*). However, genus names are never abbreviated at the beginning of a sentence.

Abbreviations such as sp., spp., are not part of the scientific name and are not italicized. Author names of species or other information may be included when citing the species for the first time in the text. Do not include author names of species in the title unless they concern the theme of the article.

All figures and tables must be cited in the text, and sequenced in the order cited. Use “Fig.” in parentheses (Fig. 3, Figs. 3 y 4, Figs. 3-5), but “Figure” out-side of parentheses. Capitalize the words Figure and Table.

Measurements are in metric units. Avoid citing numbers with many *decimals*, in text and tables. Usually one decimal is sufficient (8.261 = 8.3). Use continental dating (e.g. 15 October 2016), and the 24 hour clock (0900 h, 2400 h).

Use the following abbreviations or symbols: g (gram), µg (microgram), mg (milligram), h (hour), ha (hectare), kg (kilogram), km (kilometer), L (liter), m (meter), m³ (cubic meter), mm (millimeter), mL (milliliter), mM (millimole), % (percent), ‰ (salinity in parts per thousand), s (second), and min (minute). Write temperature as 25 °C; do not abbreviate the words day, week and year. In the text, abbreviations are written without a period, except for the word number (No.). In the Literature Cited, use a period after the abbreviations p. (page), pp. (pages), ed. (editor or addition), eds. (editors), and coor. (Coordinator). Write (2 ed.), not (2nd ed.).

Use the following statistical abbreviations: ANOVA, SD, SE, df, CV, ns, *n*, *P*, *r*, *F*, *t*-test, and χ^2 .

For acronyms such as CP (principal components) CPUE (capture per unit of effort) and COD (chemical oxygen demand), or ones created by the author should be written in full when cited for the first time. Write acronyms without periods.

Numbers. Write numbers one to nine in words, unless they are measurements; numbers 10 and higher are written as numerals (three males, 7 m, 20 g, 30 females, 2 g). In a series of numbers, where at least one is 10 or more, write all numbers as numerals. (5 males and 20 females). In Spanish, the decimal is separated with a comma (30,6), and a period is used in numbers of 1.000 or more. In English, the decimal is separated with a period, and numbers of 1,000 or more use a comma. Write 0.02, not 02; write 40% instead of 40 percent. Numbers are always written as words at the beginning of a sentence.

Citations in text.

Use the following examples to cite literature in the text:

- For one author: Medina (2018) or (Medina 2018),
 - For two authors: González y García (2002) or (González y García 2002), and
 - For three authors or more: Urdaneta *et al.* (2016) or (Urdaneta *et al.* 2016).
- However, give names of all authors in Literature Cited section.

For manuscripts accepted for publication but not yet in print: López (2017 in press) or López (in press). For unpublished information: (González, unpubl. data), (López, pers. obs.), or (López, pers. comm.).

For citations within parentheses: (Viloria 2019, Chourio 2003, Vera 2016), (Martínez 2018; Yépez 2015, 2016; León y García 2014), (Casler 2002a, b, c).

In general, citations are given in chronological order.

CONDES

Consejo de desarrollo Científico y Humanístico



Vicerrectorado Académico
Universidad del Zulia (LUZ)
República Bolivariana de Venezuela.



ALIADO FIRME DEL INVESTIGADOR

OBJETIVOS DE DESARROLLO

- Consolidar una plataforma de investigación en LUZ que ofrezca al país y a la comunidad Científica avances y resultados de investigación Científica innovadores y comprometidos con el entorno social.
- Generar y desarrollar conocimiento competitivo y alto valor social.
- Formar profesionales capaces de generar soluciones alternativas e innovadoras a los problemas del contexto venezolano y mundial a partir de una investigación científica rigurosa y exigente.
- Difundir los resultados y avances de la investigación Científica que se cumple en LUZ a través de diferentes estrategias (publicaciones, eventos científicos, intercambios, ruedas de negociación, entre otros).
- Lograr que todos los docentes a dedicación exclusiva y a tiempo completo de LUZ participen activamente en actividades de investigación.
- Generar vínculos y alianzas entre las unidades y grupos de investigación de LUZ y sus homólogos en las otras universidades y centros de producción de conocimientos de Venezuela y el mundo.
- Integrar la investigación Científica y el postgrado en LUZ.

ESTRUCTURA ORGANIZACIONAL

Comisiones CONDES

Para llevar a cabo sus funciones, el CONDES cuenta con la Comisión de Desarrollo Científico y la Comisión de Estudios Humanísticos y social, las cuales están conformadas por un delegado representante de cada Facultad y un delegado representante del Consejo Universitario.

Coordinación Secretaría

La Coordinación Secretaría preside ambas comisiones, las cuales forman un equipo y cumplen con las actividades planteadas para la aprobación y ejecución de cada uno de los programas de apoyo que este organismo financia, además de fijar lineamientos de políticas de investigación para el desarrollo y fomento de dichas actividades.

Departamento de Planificación, Gestión y Control.

Se encarga de:

1. Planificar y gestionar adecuada y oportunamente las solicitudes de financiamiento de programas del CONDES, a fin de verificar el cumplimiento de los aspectos de carácter académico, así como la distribución presupuestaria de los recursos solicitados, previo la evaluación de las Comisiones Técnicas del CONDES.

2. Asesorar de forma acertada a los delegados de las Comisiones y a la comunidad Científica intra y extrauniversitaria respecto a los trámites y políticas del CONDES para el otorgamiento de subvenciones así como de brindar información sobre las decisiones tomadas.

Este departamento cuenta con el apoyo de la Sección Evaluación de Proyectos el cual tiene bajo su responsabilidad la evaluación académico-administrativa de los diferentes programas que financia el CONDES.

Departamento de Administración

Tiene a su cargo planificar y ejecutar los desembolsos financieros, para lograr la entrega oportuna de los requerimientos contemplados en las partidas a ejecutar por el investigador; cuenta con el apoyo de la Sección de Compras.

Sección de Compras:

Verifica, procesa y garantiza la adquisición de equipos y materiales de apoyo a la investigación.

Departamento de Divulgación y Relaciones Públicas.

Es el responsable de:

1. Difundir los resultados de las investigaciones financiadas por el CONDES.
2. Organizar, Coordinar y supervisar los eventos institucionales del CONDES.
3. Diagramar los diseños de divulgación relativos a la actividad científica generada en LUZ a fin de mantener informada a la comunidad universitaria.
4. Difundir información sobre políticas de investigación CONDES y de otros organismos promotores de la actividad científica a nivel nacional e internacional.

Departamento de informática

Responde del Sistema Automatizado de Información sobre la Investigación de LUZ (SAINVELUZ), de la presentación y actualización del sitio web: www.condesluz.org.ve. Asimismo, se encarga por velar por el funcionamiento de los equipos de computación utilizados en los departamentos del CONDES y de proveer a todos los usuarios de herramientas tecnológicas para el cumplimiento de sus funciones. Además de brindar asesorías necesarias a los usuarios del CONDES como a los investigadores, en términos de manejo y aplicación de software y hardware.

Departamento de Archivo

Clasifica, codifica y almacena toda la documentación que se recibe y se genera en el CONDES, a fin de poder suministrar la información solicitada por las Comisiones, el personal administrativo y la comunidad científica en general.

FINANCIAMIENTOS

Programas y proyectos de Investigación:

Contribuye con el desarrollo de la investigación científica y humanística a través del financiamiento de los programas y proyectos de los miembros del personal Docente y de Investigación en LUZ.

Asistencia a Eventos Nacionales e Internacionales:

Promueve y apoya a la comunidad científica de investigadores a participar en diferentes eventos nacionales e internacionales con el fin de enriquecer la formación académica a través del intercambio entre pares integrados.

Organización de Eventos Científicos:

Este financiamiento es asignado a las diferentes facultades, siempre y cuando los mismos, estén enmarcados en el desarrollo de las actividades de investigación.

Publicaciones de Revistas Arbitradas:

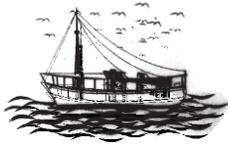
Para cumplir sus funciones de divulgación científica, el CONDES asigna fondos para la edición de revistas arbitradas, siempre y cuando cumplan con la rigurosidad científica exigida a nivel nacional e internacional.

Apoyo a la Investigación Científica estudiantil:

El CONDES estimula y asesora la conformación de sociedades científicas estudiantiles. Financia la participación de estudiantes de pregrado en los programas/proyectos en condición de colaboradores y subvenciona la asistencia de los mismos a eventos científicos nacionales.

DIRECCIÓN

Av. 4 Bella Vista con calle 74, Edificio FUNDALUZ, Piso 10 y 4. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Código postal: 4002. Telf. – Fax: 0261-4126860, 7926307, 7926308. E-mail: condes@luz.ve Website: www.condesluz.org.ve



Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas

Suscripción

Subscription

Favor enviarme / *Please send me:*

Vol. 48

Volúmenes anteriores / *Back issues*

Vol(s). _____

Nombre / *Name:* _____

Dirección / *Address:* _____

Ciudad / *City:* _____ País / *Country:* _____

Correo electrónico / *E-mail:* _____

Costo anual / *Annual price:*

Bs 1.400.000 (Venezuela) US\$ 20 (Otros países / *Other countries*)

Ejemplar único / *Single issue:*

Bs. 350.000 (Venezuela) US\$ 5 (Otros países)

En Venezuela, el pago debe ser depositado en el Banco Occidental de Descuento, en la cuenta corriente N° 0116-0121-94-2121046701 (LUZ. Fac. de Humanidades y Educación-Ingresos Propios). Favor enviar una copia del depósito bancario por correo electrónico.

Para pagos desde el exterior, enviar los dólares al mismo número de cuenta bancaria, pero con el número SWIFT: BODEVE2M-0116-0121-94-2121046701. *From other countries payment should be made as follows: Banco Occidental de Descuento, cuenta corriente N° 0116-0121-94-2121046701 (LUZ. Fac. de Humanidades y Educación-Ingresos Propios). Please send copy via e-mail.*

ACTUALMENTE ESTÁN DISPONIBLES los VOLÚMENES 13 AL 55

Dirección/Address: Dra. Teresa Martínez Leones, Editora, Centro de Investigaciones Biológicas,
Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Apartado 526.
Maracaibo 4001-A, estado Zulia, Venezuela.
ww.condes.luz.edu.ve // boletincibluz@gmail.com



**UNIVERSIDAD
DEL ZULIA**

**BOLETÍN DEL CENTRO DE
INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS**

Vol. 55 N° 1 _____

**Esta revista fue editada en formato digital y publicada
en Junio de 2021, por el Fondo Editorial Serbiluz,
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela**

**www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve**



Universidad del Zulia

Rectora (E)

Judith Aular de Duran

Vicerrectora Académica

Cleotilde Navarro

Vicerrectora Administrativa

Marlene Primera Galúe

Secretaria

Ixora Gómez

Coordinador Secretario del CONDES

Gilberto Vizcaíno

Facultad de Humanidades y Educación

Decana

Doris Salas de Molina

Director del Centro de Investigaciones Biológicas

Antonio Vera

BOLETÍN
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
AN INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGY
PUBLISHED BY THE UNIVERSITY OF ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA
Vol. 55, N° 1, 2021

CONTENTS

RATE OF PHAGOCYTOSIS OF ACANTHAMOEBA SPECIES FROM GROUNDWATER. PART I. <i>Silvana B. Pertuz Belloso, Deyamira Matuz Mares, Emelia Campoy, Miroslav Macek y Elizabeth Ramírez Flores.....</i>	1
CLASSIFICATION OF NEW BRACKISH WATER MICROHABITATS IN VENEZUELA. BIOECOLOGICAL CONSIDERATIONS ON THE SPECIES OF AQUATIC INSECTS IN THE ARAYA PENINSULA <i>Erickxander Jiménez-Ramos, Mauricio García y Vanessa Acosta.....</i>	29
EATING THE FORBIDDEN FRUIT? AVOCADO CONSUMPTION BY NEOTROPICAL BIRDS AT AN URBAN GARDEN. <i>Andrés E. Seijas.....</i>	69
MICROMOLLUSCS OF THE STOMACH CONTENT OF ASTEROIDS GENUS ASTROPECTEN: ORIGIN OF REFERENCE COLLECTION. <i>Ricardo, Bitter-Soto y Ronald Rivas-Suarez</i>	70
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS.....	102

Vol.55, N° 1, Enero-Junio 2021

UNA REVISTA INTERNACIONAL DE BIOLOGÍA
PUBLICADA POR LA
UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO,
VENEZUELA

