

Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras

Since 1967

Bulletin of Marine and Coastal Research



Serie de Publicaciones Periódicas

Año 2020 • Volumen 49 (1)



Santa Marta • Colombia

ISSN: 0122-9761

ISSN [Electrónico]: 2590-4671

BOLETÍN DE INVESTIGACIONES MARINAS Y COSTERAS

Bulletin of Marine and Coastal Research

(Bol. Invest. Mar. Cost.)

ISSN 0122-9761 • e-ISSN 2590-4671 (en línea)

La revista científica *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* está dirigida a la comunidad científica y a las personas relacionadas con temas medioambientales en zonas marino-costeras, con particular énfasis en América tropical. Considera para su publicación trabajos inéditos sobre cualquier tópico de investigación en el mar o en ambientes acuáticos de la zona costera, realizados en las áreas tropicales y subtropicales de América. Es editada desde 1967 por el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives de Andrés” (INVEMAR). Hasta el volumen 8 llevó el nombre de “Mitteilungen aus dem Instituto Colombo-Alemán de Investigaciones Científicas Punta de Betín” y entre los volúmenes 9 y 24 se denominó “Anales del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras”. A partir del año 2008 se publican dos números por volumen anual manteniendo esta periodicidad hasta la fecha. La revista se encuentra indexada en Web of Knowledge, SciELO-Colombia, en SCOPUS (ubicándose en el Q4 del Scimago Journal Ranking (SJR) en la categoría “Animal Science and Zoology”) y recientemente en Publindex (**categoría B**).

El Boletín es una publicación completamente bilingüe (inglés y español) de **libre acceso**, que puede ser consultada en www.invemar.org.co/boletin y que es distribuida nacional e internacionalmente a través del sistema de canje y donación. Las instrucciones a los autores para la preparación y el envío de manuscritos se encuentran en las últimas páginas de este número y en el portal de Internet.

El *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* se acoge a normas éticas para la publicación de documentos científicos, en particular, a la evaluación por pares (simple ciego) de todos los manuscritos aceptados. Así mismo, se espera que todos los autores hagan seguimiento de un código ético que garantice el avance de la ciencia y la protección del ambiente natural.

.....

The scientific journal Bulletin of Marine and Coastal Research is written for the science community and any person interested in environmental issues in marine and coastal areas, with emphasis in the tropical Americas region. It considers unedited works about research topics on the sea or coastal aquatic environments, undertaken in the tropical and subtropical areas of the Americas. It has been edited since 1967 by the Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives de Andrés” (INVEMAR) (Marine and Coastal Research Institute). Volumes 1-8 were named “Mitteilungen aus dem Instituto Colombo-Alemán de Investigaciones Científicas Punta de Betín” and between volumes 9 and 24 it was called “Anales del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras”. Since 2008, the journal has published two issues per annual volume.

The journal is indexed in Web of Science, SciELO-Colombia, Scopus (in Q4 of Scimago Journal Ranking (SJR) on Animal Science and Zoology category) and currently on Publindex (category B).

The Bulletin is a bilingual (English and Spanish) and an open access publication, which can be consulted on www.invemar.org.co/boletin and it is also distributed nationally and internationally through exchange and donation systems. Instructions to authors for preparation and submission of manuscripts are in the final pages of this issue and in our website.

The Bulletin of Marine and Coastal research is based on ethical standards for the publications of scientific documents, in particular about peer review process (single peer review) of all accepted manuscripts. In the same way, The Bulletin expects an ethic code from authors as a guaranty of science advance and natural environment protection.

Director del INVEMAR / General Director

Francisco A. Arias Isaza, *Ph. D.*

Director de la revista / Journal Director

Jesús A. Garay, *M. Sc.*

INVEMAR, Colombia

Editor general / Editor-in-Chief


Arturo Acero Pizarro, *Ph.D.*

Universidad Nacional de Colombia sede Caribe (Cecimar), Colombia

Comité editorial / Editorial Board


Antonio Baeza, *Ph.D.*

Clemson University y Smithsonian Marine Station at Fort Pierce, EE. UU.

 0000-0002-2573-6773


Arturo Acero Pizarro, *Ph.D.*

Universidad Nacional de Colombia sede Caribe (Cecimar), Colombia

 0000-0002-6637-9901


Diego L. Gil Agudelo, *Ph.D.*

Texas A&M University at Galveston, EE. UU.

 0000-0001-7873-4694


Gabriel R. Navas S., *Ph.D.*

Universidad de Cartagena, Colombia

 0000-0001-9554-6345


Glady Bernal, *Ph.D.*

Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Colombia

 0000-0001-6333-6028


Guillermo Díaz Pulido, *Ph.D.*

Griffith University, Australia

 0000-0002-0901-3727


Javier A. Díaz Ochoa, *Ph.D.*

Universidad de Magallanes, Chile

 0000-0002-1911-0467


Jorge Enrique Páramo, *Ph.D.*

Universidad del Magdalena, Colombia

 0000-0002-8380-2716


José Horrillo Caraballo, *Ph.D.*

Swansea University, Reino Unido

 0000-0001-7694-3812


José Julián Tavera, *Ph.D.*

Universidad del Valle, Colombia

 0000-0003-4517-9238


Luisa Villamil, *Ph.D.*

Universidad de La Sabana, Colombia

 0000-0003-2188-5453


Marco Alejandro Correa, *Ph.D.*

INVEMAR, Colombia

 0000-0002-4714-9553


María del Pilar Blanco Parra, *Ph.D.*

Universidad de Quintana Roo, México

 0000-0003-2492-2168


Maribeb Castro, *Ph.D.*

Universidad Militar Nueva Granada, Colombia

 0000-0001-6353-1018

Mateo López Victoria, *Dr.rer.nat.*

Pontificia Universidad Javeriana Cali, Colombia

 0000-0002-7307-8680

Nikita Gaibor, *Ph.D.*

Instituto Nacional de Pesca, Ecuador

 0000-0002-4773-3434

Jefe de Comunicación Científica / Head of Scientific Communication Team


Isabela Katime Arroyave INVEMAR, Colombia

Asistente del comité editorial / Editorial Board Professional


Nesly Melissa Bello INVEMAR, Colombia

Comité científico / Scientific Board

Adolfo Sanjuan Muñoz, *M. Sc.* Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia

 0000-0002-4786-862X


Alfredo Gómez Gaspar, *M. Sc.* Museo Marino de Margarita y Universidad de Oriente (Nueva Esparta), Venezuela

 0000-0002-2430-2738


Efraín Rodríguez Rubio, *Ph. D.* Centro de Innovación y Tecnología ICP y Ecopetrol, Colombia

Gloria E. Sánchez, *Ph. D.* Universidad de Magallanes, Chile

Juan Manuel Díaz, *Dr. rer. nat.* Fundación Marviva, Colombia


 0000-0002-2026-6522

Kludia Hernández, *Ph. D.* Universidad Andrés Bello, Chile

 0000-0002-8490-2882

Marie Luise Schmetter, *Dr. rer. nat.* Justus-Liebig-Universität Gießen, Alemania

Mónica Puyana, *Ph. D.* Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia

 0000-0001-7600-3118

Yves François Thomas, *Ph. D.* Université Paris 1 Panthéon-Sorbonne, Francia

Evaluadores de este número / Reviewers for this issue

Adolfo Sanjuan Muñoz, *M. Sc.* Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia

Ángela Marulanda Gómez, *M. Sc.* Pontificia Universidad Javeriana Cali, Colombia

Arturo Ángulo Sibaja Universidad de Costa Rica, Costa Rica

Beatriz Beltrán León Investigadora independiente, Colombia

Carlos López, *Ph. D.* Escuela Superior Politécnica del Litoral y Universidad Técnica de Manabí, Ecuador

Diego L. Gil Agudelo, *Ph. D.* Texas A&M University at Galveston, Estados Unidos

Ernesto J. González, *Ph. D.* Universidad Central de Venezuela, Venezuela

Gorgonio Ruiz Campos, *Ph. D.* Universidad Autónoma de Baja California, México

Guillermo Duque Nivia, *Ph. D.* Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Colombia

Javier Gómez León, *Ph. D.* INVEMAR, Colombia

José Julián Tavera, *Ph. D.* Universidad del Valle, Colombia

José Manuel Gutiérrez, *M. Sc.* INVEMAR, Colombia

Julio César Herrera, *Ph. D.* Universidad del Valle, Colombia

Luis Tróccoli Ghinaglia, *Ph. D.* Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador

María Isabel Criales, *Dr. rer. nat.* Universidad Industrial de Santander, Colombia

Martha Vives Flórez, *Ph. D.* Universidad de los Andes, Colombia

Néstor Hernando Campos, *Dr. rer. nat.* Universidad Nacional de Colombia sede Caribe (Cecimar), Colombia

Rocío del Pilar García Uruña, *Ph. D.* Universidad del Magdalena, Colombia

Sven Eloy Zea, *Ph. D.* Universidad Nacional de Colombia sede Caribe (Cecimar), Colombia

Foto portada / Cover Photo

Pez león *Pterois volitans*, Banco de las Ánimas, Colombia, 13/10/2013 (Foto: Luis Chasqui).

Traducción / Translation

Springer

Diagramación y montaje / Layout and Assembly

John Khatib (Ediprint SAS)

Impresión / Print

Ediprint SAS, Bogotá D.C., Colombia

Canje / Exchange

Centro de Documentación / Documentation Center (CDO) • E-mail: bibliote@invemar.org.co

Distribución / Distribution

Asistente del comité editorial / Editorial Board Professional • E-mail: boletin@invemar.org.co

Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives de Andrés” (INVEMAR)

Calle 25 No. 2-55, Playa Salguero Santa Marta, Colombia

Boletín en línea / Online Bulletin

www.invemar.org.co/boletin

Derechos reservados conforme a la ley
El Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras está bajo la licencia de Creative Commons
Atribución-No comercial-Compartir igual 4.0 Internacional

All rights reserved by law. The Bulletin of Coastal and Marine Research is under
Creative Commons license BY-NC-SA 4.0



Citar los artículos/ Citation Style:

Autores. 2020. Título del artículo. Bol. Invest. Mar. Cost., 49 (1): rango de páginas.

Authors. 2020. Title of article or note. Bull. Cost. Mar. Res., 49 (1): page range.

BOLETÍN DE INVESTIGACIONES MARINAS Y COSTERAS

Bulletin of Marine and Coastal Research

(Bol. Invest. Mar. Cost.)

Registrado en SCOPUS, Biological Abstracts, Biosis Previews,
Periódica, Zoological Record, Latindex, Scielo-Colombia
DOAJ e ISI Web of Knowledge

49 (1)



**Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras
“José Benito Vives de Andrés”**

Vinculado al Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible

Santa Marta, Colombia, 2020

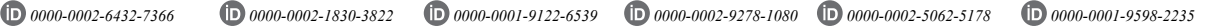
TABLA DE CONTENIDO/CONTENTS

Luis Felipe Freites, Miguel Guevara, Adrián Márquez, Jormil Revilla, Mariela Narváez y César Lodeiros Relación entre variables ambientales y el crecimiento de <i>Pteria colymbus</i> (Mollusca Bivalvia: Pteriidae) en tres profundidades de cultivo Relationship between environmental variables and growth of <i>Pteria colymbus</i> (Mollusca Bivalvia: Pteriidae) at three cultivation depths	9
Rafael Chávez-López, Arturo Rocha-Ramírez y Ángel Morán-Silva Presencia de <i>Poecilia mexicana</i> Steindachner en un estuario hiperhalino temporal del golfo de México Presence of <i>Poecilia mexicana</i> Steindachner in a temporary hyperhaline estuary of the Gulf of Mexico.	27
Alexander Araya-Vargas, Linnet Busutil, Andrea García-Rojas, José Miguel Pereira Chaves y Liliana Piedra-Castro Evaluación de la estructura comunitaria de las esponjas marinas en parches arrecifales del Caribe sur, Costa Rica Evaluation of the community structure of marine sponges in reef patches of the southern Caribbean, Costa Rica	39
Jordan Steven Ruiz-Toquica, Laura Milena Becerra-Real y Luisa Marcela Villamil-Díaz Evaluación del efecto de <i>Bacillus firmus</i> C101 en el crecimiento de <i>Litopenaeus vannamei</i> Boone (camarón blanco) y <i>Brachionus plicatilis</i> s.s. Müller (rotífero) Effect of <i>Bacillus firmus</i> C101 on the growth of <i>Litopenaeus vannamei</i> Boone, (White Shrimp) post-larvae, and <i>Brachionus plicatilis</i> s.s. Müller (Rotifer)	63
Patricio Colón Velásquez-López, Ivonne Yadira López Sánchez y María Fernanda Rivera Velásquez Estimación del riesgo ecológico y a la salud humana del mercurio en una zona de manglar del estuario La Puntilla, provincia de El Oro, sur del Ecuador Estimation of the ecological and human health risk of mercury in a mangrove area of the La Puntilla estuary, El Oro province, southern Ecuador.	81
Ángela Marulanda-Gómez, Mateo López-Victoria y Sven Zea Colonización a largo plazo de corales por una esponja excavadora del Caribe Long-term coral colonization by an excavating Caribbean sponge	101
Brightdoom Márquez-Rojas, Luis Tróccoli y Evelyn Zoppi de Roa† Variación estacional de la comunidad de copépodos en el sector oriental del golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela Seasonal variation of the community of copepods in the eastern sector of the Gulf of Cariaco, Sucre state, Venezuela	113
Gregoria Calderón-Peralta, Gabriela Ayora-Macias y Pilar Solís-Coello Variación espacio-temporal de larvas de peces en el golfo de Guayaquil, Ecuador Temporal space-variation of fish larvae in the Gulf of Guayaquil, Ecuador	135
Luis Chasqui, Natalia Rincón-Díaz y María Juliana Vanegas Abundancia del pez león invasor <i>Pterois volitans</i> en los arrecifes de coral costeros del Caribe colombiano Abundance of the invasive lionfish <i>Pterois volitans</i> in the coastal coral reefs from Colombian Caribbean.	157
Guía de autores/Author's guide	171
Ética de publicación/Publication ethics	176



Relación entre las variables ambientales y el crecimiento de *Pteria colymbus* (Mollusca Bivalvia: Pteriidae), en tres profundidades de cultivo

Relationship between environmental variables and growth of *Pteria colymbus* (Mollusca Bivalvia: Pteriidae), at three cultivation depths

Luis Felipe Freites^{1*}, Miguel Guevara^{1,4}, Adrián Márquez^{1,2}, Jormil Revilla^{1,2}, Mariela Narváez¹ y César Lodeiros^{1,3}


1. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. mnarvaezruiz@gmail.com, lfreitesv@yahoo.es *Autor para correspondencia.
2. Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), Guayaquil, Ecuador. ajmm16@hotmail.com, jormilesteban@gmail.com
3. Grupo de Investigación en Biología y Cultivo de Moluscos, Escuela de Acuicultura y Pesquerías, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Bahía de Caráquez, Manabí, Ecuador. cesarlodeirosseijo@yahoo.es
4. Instituto Superior de Formación Docente Salomé Ureña (Isfodosu), Santo Domingo, República Dominicana. miguevara2003@yahoo.es

RESUMEN

Se estudió la influencia de las variables ambientales asociadas con tres profundidades de agua (2, 6 y 10 m) en el crecimiento de la concha, la masa seca de los tejidos blandos (MSTB) y la supervivencia de la ostra alada del Caribe *Pteria colymbus* (Roding, 1798). La clorofila *a* (Chl-*a*), el oxígeno disuelto, la materia orgánica particulada (POM) y la temperatura se estudiaron a cada profundidad. Las ostras se colocaron en 135 cestas de plástico con cinco individuos en cada cesta. Se eligieron tres cestas en cada profundidad a intervalos mensuales para las mediciones de parámetros biométricos, bioincrustaciones y supervivencia. Al final del estudio, la masa seca de los individuos cultivados a 10 m fue significativamente menor (prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis KW, $P < 0,05$), mientras que los valores más altos de MSTB correspondientes a las ostras cultivadas a 2 m de profundidad. El análisis del componente principal mostró una relación inversa (temperatura) y directa (Chl-*a* y POM) con la varianza observada en el MSTB. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los rendimientos (crecimiento/supervivencia) de *P. colymbus*, recomendamos llevar a cabo su cultivo a profundidades de agua entre 2 y 6 m.

PALABRAS CLAVE: bioincrustación, ambiente, profundidad, ostra, supervivencia.

ABSTRACT

We studied the influence of environmental variables associated with three water depths (2, 6 and 10 m) on shell growth, soft tissues dry mass (STDM) and survival of the Caribbean winged oyster *Pteria colymbus* (Roding, 1798). chlorophyll-*a* (Chl-*a*), dissolved oxygen, particulate organic matter (POM) and temperature were studied at each depth. Oysters were placed in 135 plastic baskets with five individuals in each basket. Three baskets at each depth were chosen at monthly intervals for measurements of biometric parameters, biofouling, and survival. At the end of the study, dry mass of the individuals grown at 10 m was significantly lower (Kruskal-Wallis non-parametric test KW, $P < 0.05$) with the highest values of STDM corresponding to oysters cultivated at 2 m depth. The principal component analysis showed an inverse (temperature) and direct relationship (Chl-*a* and POM) with respect to the variance observed in the STDM. Taking into account the results obtained in the yields (growth/survival) of *P. colymbus* we recommend carrying out their culture at water depths between 2 and 6 m.

KEYWORDS: biofouling, environment, depth, oyster, survival.

INTRODUCCIÓN

La ostra alada *Pteria colymbus* es un molusco bivalvo con una concha que se asemeja a unas alas, formada por una extensión de la charnela de ambas valvas. El tamaño de la concha de los individuos adultos puede alcanzar 60-80 mm. Normalmente están fijadas a octocorales en la zona submareal desde Carolina del Norte hasta el sur de Brasil, a profundidades de agua entre 3 y 10 m (Díaz y Puyana, 1994; Lodeiros *et al.*, 1999a). Las ostras aladas tienen un ciclo reproductivo casi continuo en aguas tropicales (Urban, 2001). Estudios relacionados con la ecofisiología y el cultivo de *P. colymbus* realizados en el Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano (Urban, 2001; Urban y Riascos, 2001; Velasco y Barros, 2010) y el golfo de Cariaco, Venezuela (Lodeiros *et al.*, 1999b; Marques *et al.*, 2000; Mengual *et al.*, 2011; Freitas *et al.*, 2017) indicaron que esta especie tiene un gran potencial de acuicultura.

Los bivalvos, como organismos poiquilotérmicos, son susceptibles a las fluctuaciones en las variables ambientales (Yukihira *et al.*, 2000, 2006; Saxby, 2002). Se han observado relaciones entre la temperatura y la disponibilidad de alimentos (de origen fitoplancton y/o seston orgánico) con la tasa de crecimiento en especies de bivalvos de aguas templadas (Thompson y MacDonald, 1991; Pilditch y Grant, 1999; Freitas *et al.*, 2017). En general, una disminución en el crecimiento se asocia con un aumento de la profundidad debido a que las condiciones ambientales se vuelven menos favorables (Tomaru *et al.*, 2002). Sin embargo, utilizando la profundidad de cultivo como una estrategia para generar variabilidad ambiental, se observó un bajo crecimiento cerca de la superficie (MacDonald y Bourne, 1989; Román *et al.*, 1999), mientras que se informó un crecimiento reducido por debajo de una profundidad crítica, donde las condiciones de temperatura, la disponibilidad de alimentos y la turbidez a menudo exhiben un gradiente vertical subóptimo (Frechette y Daigle, 2002).

Se han demostrado diferencias significativas en el grosor de las perlas y la profundidad de cultivo en *Pteria penguin* (Kanjanchatree *et al.*, 2003). Estas diferencias estaban relacionadas con el aumento en la disponibilidad de alimentos fitoplanctónicos a profundidades más bajas. Por lo tanto, comprender cómo las variables ambientales relacionadas con la profundidad del cultivo afectan el crecimiento de los bivalvos es fundamental para establecer estrategias de cultivo en áreas tropicales, particularmente en aquellas con alta variabilidad ambiental.

INTRODUCTION

The winged oyster *Pteria colymbus* is a bivalve mollusk characterized by a “winged” shell, formed by an extension of the hinge out of the shell. Shell size of the adult individuals can reach 60-80 mm. normally they are attached to octocorals in the subtidal zone from North Carolina to southern Brazil, at water depths between 3 and 10 m (Díaz and Puyana, 1994; Lodeiros *et al.*, 1999a). Winged oysters have a nearly continuous reproductive cycle in tropical waters (Urban, 2001). Studies related to ecophysiology and culture of *P. colymbus* conducted in the Parque Nacional Natural Tayrona, Colombian Caribe (Urban, 2001; Urban and Riascos, 2001; Velasco and Barros, 2010) and in the Gulf of Cariaco, Venezuela (Lodeiros *et al.*, 1999b; Marques *et al.*, 2000; Mengual *et al.*, 2011; Freitas *et al.*, 2017) indicated this species has great aquaculture potential.

Bivalves, as poikilothermic organisms, are susceptible to fluctuations in environmental variables (Yukihira *et al.*, 2000, 2006; Saxby, 2002). Relationships between temperature and food availability (phytoplankton origin and/or organic seston) with growth rate have been observed in bivalve species of temperate waters (Thompson and MacDonald, 1991; Pilditch and Grant, 1999; Freitas *et al.*, 2017). In general, a decrease in growth is associated with increasing depth due to environmental conditions becoming less favourable (Tomaru *et al.*, 2002). However, using the culture depth as a strategy to generate environmental variability, low growth has been observed near the surface (MacDonald and Bourne, 1989; Román *et al.*, 1999) while reduced growth has been reported below a critical depth where conditions of temperature, food availability and turbidity often exhibit a suboptimal vertical gradient (Frechette and Daigle, 2002).

Significant differences in the thickness of pearls in relation to culture depth have been demonstrated in the winged oyster *Pteria penguin* (Kanjanchatree *et al.*, 2003), and that these differences were related to the increase in the availability of phytoplanktonic food at shallower depths. Therefore, understanding how environmental variables related to culture depth affect bivalve growth is critical to establish cultivation strategies in tropical areas, particularly in those with high environmental variability.

The Gulf of Cariaco, in northeastern Venezuela, displays marked variations in temperature and biomass phytoplankton throughout the water column due to the

El golfo de Cariaco, en el noreste de Venezuela, muestra marcadas variaciones en la temperatura y la biomasa fitoplanctónica, en toda la columna de agua, debido al régimen de vientos alisios que provocan períodos de afloramiento (Muller-Karger *et al.*, 1994, 2013). Debido a esta variabilidad ambiental, se han llevado a cabo estudios del cultivo a diferentes profundidades con vieiras con potencial para el cultivo, como *Nodipecten nodosus* y *Euvola ziczac*, que mostraron efectos significativos de la profundidad en el crecimiento y la reproducción (Freites *et al.*, 1996; Lodeiros *et al.*, 1998; Lodeiros y Himmelman, 2000). Es de esperar entonces que la variabilidad ambiental propia de la columna de agua del golfo de Cariaco probablemente también genere cambios en el crecimiento de otras especies, como la ostra alada *P. colymbus*. El presente estudio examina las influencias de la profundidad del cultivo y las variables ambientales asociadas al crecimiento de la ostra alada *P. colymbus* en cultivos suspendidos en el golfo de Cariaco, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó entre abril de 2013 y enero de 2014 en el sitio de Turpialito, golfo de Cariaco (Figura 1), noreste de Venezuela ($10^{\circ} 27' 30''$ N, $64^{\circ} 01' 52''$ W). Los juveniles silvestres de *P. colymbus* fueron cosechados a mano en poblaciones naturales asentadas en redes de jaulas

regime of trade winds that provoke periods of upwelling (Muller-Karger *et al.*, 1994, 2013). This environmental variability has led to studies at different water depths with scallops of potential culture importance such as *Nodipecten nodosus* and *Euvola ziczac* that showed significant effects of depth on growth and reproduction (Freites *et al.*, 1996; Lodeiros *et al.*, 1998; Lodeiros and Himmelman, 2000). Here, the typical environmental variability in the column water in the Gulf of Cariaco would presumably also generate changes in the growth of other species, such as the winged oyster *P. colymbus*. The present study examines the influences of the culture depth and related environmental variables on growth of the winged oyster *P. colymbus* in suspended culture in the Gulf of Cariaco, Venezuela.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The study was conducted from April 2013 to January 2014 at Turpialito site, Gulf of Cariaco (Figure 1), northeastern Venezuela ($10^{\circ} 27' 30''$ N, $64^{\circ} 01' 52''$ W). Wild *P. colymbus* juveniles were harvested by hand from natural populations settled in nets of floating cages used for fish culture in the Charagato Bay, Cubagua Island, Nueva Esparta State, Venezuela ($10^{\circ} 49' 49,17''$ N; $64^{\circ} 09' 40,42''$ O). The pearl oysters were transferred to

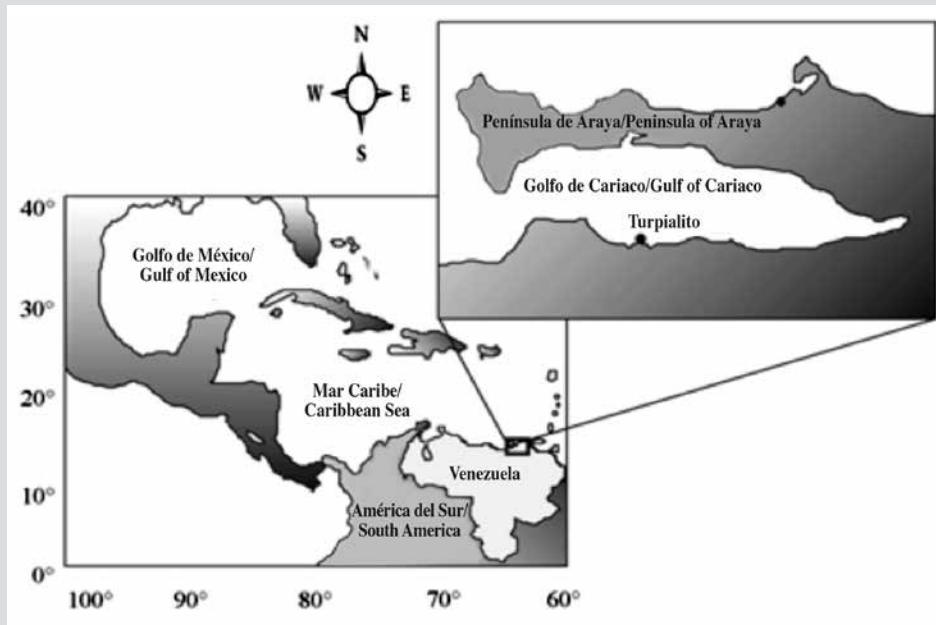


Figura 1. Ubicación geográfica del sitio Turpialito, golfo de Cariaco, Estado Sucre, Venezuela.

Figure 1. Geographical location of the Turpialito site, Gulf of Cariaco, Sucre State, Venezuela.

flotantes utilizadas para el cultivo de peces en la bahía Charagato, isla Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela (10° 49' 49,17" N; 64° 09' 40,42" O). Las ostras aladas se transfirieron a la estación de investigación en Turpialito en contenedores aislados, empacados con capas de espuma humedecidas para mantener un ambiente fresco y limitar el estrés.

Condiciones de crecimiento

Las ostras aladas juveniles ($29,03 \pm 5,48$ mm de altura de concha –talla dorsoventral– y $0,15 \pm 0,05$ g de masa seca total de tejidos) fueron colocadas en cestas cilíndricas hechas de malla de plástico de malla de 2 cm y 25 cm de altura y 15 cm de diámetro, con una superficie total de 1531 cm^2 . Estas fueron suspendidas de una larga línea ubicada a ~ 100 m de la costa y 20 m de profundidad, mientras que las cestas se desplegaron a 2 m de profundidad, durante una semana, para aclimatarse antes de los ensayos. El experimento comenzó colocando 30 cestas experimentales más 5 cestas de sustitución para cada una a una de las profundidades de cultivo de 2, 6 y 10 m (Figura 2).

Se colocaron cestas de sustitución para mantener la densidad inicial durante todo el período experimental. Al comienzo del experimento, la altura de la concha no varió significativamente entre las ostras que serían colocadas a las tres profundidades (Kruskal-Wallis; $P=0,935$). Mensualmente, se recolectaban tres canastas de cada profundidad de cultivo para determinar el número de individuos vivos y muertos. En el resto de las canastas experimentales, las ostras muertas fueron contadas y reemplazadas por especímenes vivos para mantener la densidad de población inicial y las canastas fueron limpiadas para eliminar las bio-incrustaciones. La altura del eje de la concha se determinó con un calibrador digital ($\pm 0,01$ mm). Las incrustaciones en las conchas de las ostras se extrajeron cuidadosamente y se pesaron después del secado. Se retiraron los tejidos blandos de cada ostra usando equipo de disección y se separaron para determinar la masa seca de tejidos y conchas. Estos componentes se secaron en un horno (60 °C, 48 h) para obtener valores de masa seca utilizando una balanza analítica ($\pm 0,001$ g).

El número de ostras vivas se registró en cada canasta y la tasa de supervivencia total (%) se calculó en cada muestreo de la siguiente manera:

$$\text{Tasa de supervivencia} = (N_t/N_0) \times 100$$

Donde,

N_t es el número de ostras vivas en el momento t

N_0 es el número de ostras vivas al comienzo del experimento

a research station in Turpialito in insulated containers packed with moistened foam layers to maintain a cool environment and limit stress.

Growth conditions

Juveniles oysters (29.03 ± 5.48 mm shell height (dorso-ventral axis) and 0.15 ± 0.05 g total tissues dry mass) were placed in cylindrical baskets made of 2 cm mesh size plastic net and 25 cm in height and 15 cm in diameter, with a total surface of 1531 cm^2 . They were suspended from a long line located at ~100 m offshore and 20 m depth, while baskets were deployed at 2 m depth for one week for acclimatization prior to the trials. The experiment began by placing 30 experimental baskets plus 5 substitution baskets by each at 2, 6 and 10 m culture depth (Figure 2).

Substitution baskets were placed to maintain the initial density throughout experimental period. Shell height did not significantly vary among the oysters at the three depths at the start of the experiment (Kruskal-Wallis; $P=0.935$). Monthly, three baskets were collected from each culture depth to determine the number of living and dead individuals. In the rest of the experimental baskets, the dead oysters were counted and replaced by live specimens to maintain the initial population density and the baskets were cleaned to eliminate the biofouling. Shell axis height was determined with a digital caliper (± 0.01 mm). The fouling on the oyster shells was carefully extracted and weighed after drying. Soft tissues were removed from each oyster using dissecting equipment and separated to determine the dry mass of tissues and shell. These components were dried in an oven (60 °C, 48 h) to obtain dry mass values using an analytical balance (± 0.001 g).

The number of live oysters was recorded in each basket and total survival rate (%) was calculated at each sampling time as follows:

$$\text{Survival rate} = (N_t/N_0) \times 100$$

Where,

N_t is the number of live oysters at time t

N_0 is the number of live oysters at the beginning of the experiment

Diseño experimental/Experimental design

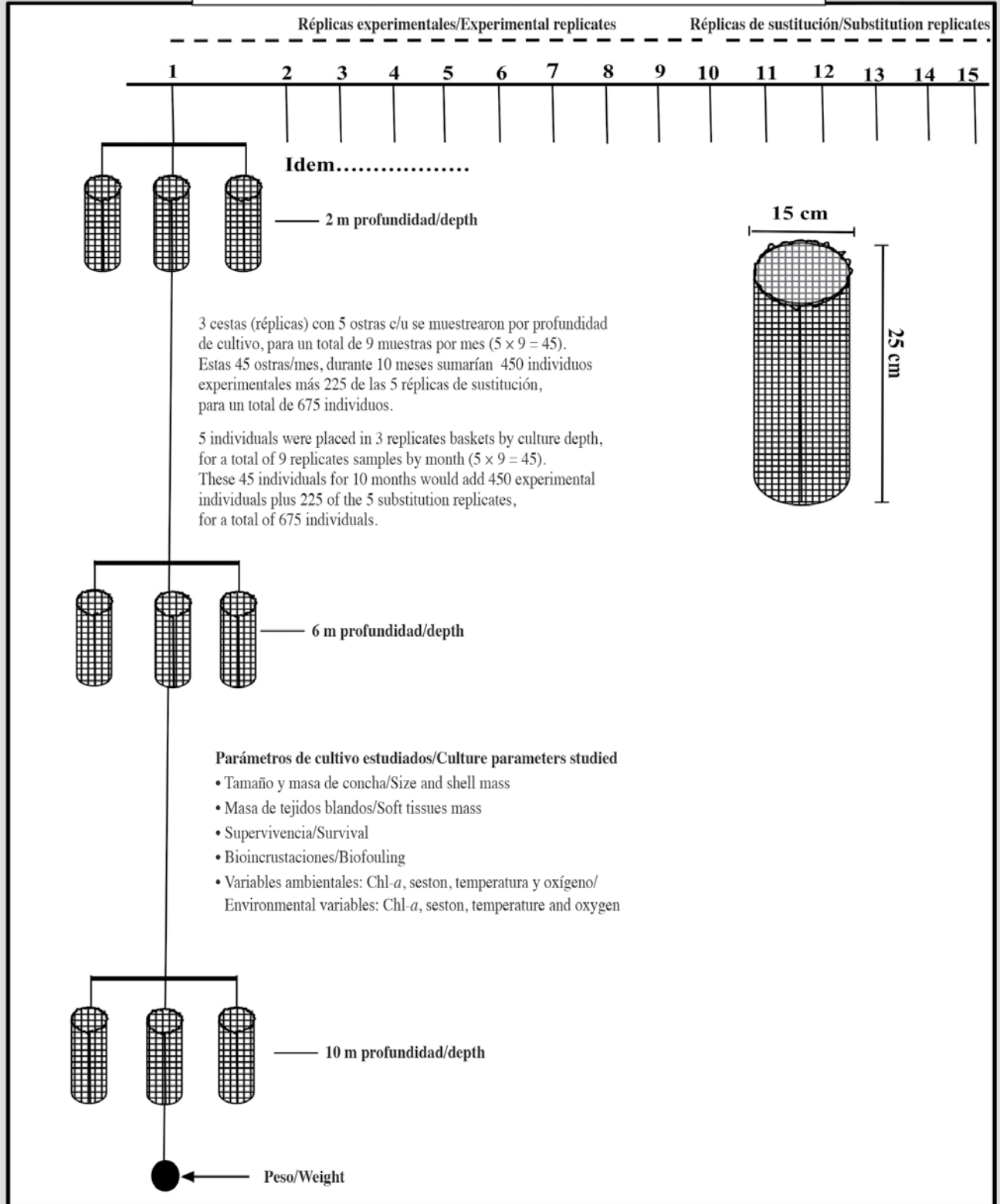


Figura 2. Diseño experimental del estudio.

Figure 2. Experimental design of the study.

Variables ambientales

La temperatura del agua se controló continuamente a cada profundidad de agua utilizando termógrafos electrónicos (Sealog-Vemco) con una periodicidad de 30 min. Se tomaron muestras de agua cada quince días usando una botella Niskin. Se tomó cuidadosamente una alícuota de cada muestra para evitar burbujas de aire en la determinación de oxígeno disuelto utilizando el método Winkler, dentro de las 6 h posteriores al muestreo (límite de detección $0,07 \text{ mg L}^{-1}$). Las muestras de agua se transportaron al laboratorio en un recipiente de plástico opaco para la determinación de la salinidad con un refractómetro Atago (1 UPS de precisión). Las muestras de biomasa del fitoplancton, determinadas como clorofila *a* (Chl-*a*), y el seston total se transfirieron a una botella de plástico opaca. Todas las muestras fueron transportadas al laboratorio en contenedores isotérmicos. Posteriormente, dos réplicas de 1 L se prefiltraron ($153 \mu\text{m}$) para eliminar partículas grandes y zooplancton y luego se usaron para determinar Chl-*a* y el seston total para cada una de las profundidades de agua. Las muestras de agua de mar se tamizaron en filtros GF/F de $0,7 \mu\text{m}$ prequemados y pesados ($450 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 4 h), y se enjuagaron con formiato de amonio isotónico ($0,5 \text{ M}$). El seston total se estableció después de secar los filtros a una masa constante obtenida a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ (48 h). La materia orgánica particulada (POM) correspondió a la pérdida de peso después de su combustión a $450 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 4 h en una mufla. La abundancia de fitoplancton se estimó determinando la concentración de Chl-*a* por el método espectrofotométrico siguiendo a Strickland y Parsons (1972).

Análisis estadístico

El análisis estadístico general sobre la altura y masa de la concha, la masa de los tejidos blandos y de las bioincrustaciones, y la supervivencia de las ostras se analizó utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (KW), expresada gráficamente en gráficos de caja y bigotes. Este gráfico muestra la mediana, el rango y la distribución de los datos, además de servir como un ANOVA gráfico y no paramétrico. Los datos biométricos de las ostras aladas y la bioincrustación se transformaron en Log10 y el porcentaje de supervivencia se transformó en arcocoseno (Sokal y Rohlf, 1979). Se utilizó una probabilidad de 0,05 para los análisis estadísticos.

Para establecer la relación entre las variables ambientales en cada profundidad de cultivo estudiada, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) basado en la matriz de correlación. Las variables consideradas

Environmental variables

Water temperature was monitored continuously at each water depth using electronic thermographs (Sealog-Vemco) with a periodicity of 30 min. Water samples were taken fortnightly using a Niskin bottle. One aliquot of each sample was carefully taken to avoid air bubbles for the determination of dissolved oxygen using the Winkler method within 6 h of sampling (detection limit 0.07 mg L^{-1}). Water samples were transported to the onshore laboratory in an opaque plastic container for salinity determination with a refractometer Atago (one PSU precision). Salinity was determined with an Atago refractometer. Samples for phytoplankton biomass, determined as chlorophyll-*a* (Chl-*a*), and total seston were transferred on board to an opaque plastic bottle. All samples were transported to the laboratory in isothermal containers. Thereafter, two 1 L replicates were pre-filtered ($153 \mu\text{m}$) to remove large particulate matter and zooplankton and then used to determine Chl-*a* and total particulate matter for each water depth. Seawater samples were filtered on pre-combusted and weighed GF/F $0.7 \mu\text{m}$ filters ($450 \text{ }^\circ\text{C}$ for 4 h) and rinsed with isotonic ammonium formate (0.5 M). Total dry mass was established after drying the filters to constant mass obtained at $60 \text{ }^\circ\text{C}$ (48 h). Particulate organic matter (POM) corresponded to the weight loss after ignition at $450 \text{ }^\circ\text{C}$ for 4 h in a muffle furnace. The phytoplankton abundance was estimated by determining the concentration of Chl-*a* by the spectrophotometric method following Strickland and Parsons (1972).

Statistical analysis

Overall statistical analysis on shell height and mass, tissues and biofouling mass, and survival of oysters were analyzed using the non-parametric Kruskal-Wallis test (KW), expressed graphically in box and whisker plots. The box-and-whisker plot shows the median, range, distribution of the data as well as serving as a graphical, nonparametric ANOVA. Biometric data of winged oysters and biofouling were transformed into Log10 and survival percentage was transformed to arccosine (Sokal and Rohlf, 1979). A probability of 0.05 was used for statistical analyses.

To establish the relationship between the environmental variables at each cultivated depth studied, a Principal Component Analysis was performed based on the correlation matrix. The variables considered were temperature, STD, Chl-*a* and particulate organic matter,

fueron temperatura, MSTB, Chl-*a* y POM, que ocurrieron durante todo el período experimental (Chatfield y Collins, 1980; Clarke y Warwick, 2001). A este respecto, es necesario mencionar que no se consideró el oxígeno disuelto porque no mostró una correlación previa con ninguna de las variables utilizadas en el análisis.

RESULTADOS

Tamaño de la concha

La tasa de crecimiento en la altura de la concha de la ostra mostró un incremento progresivo en las tres profundidades de cultivo (Figura 3a), que fue más evidente desde abril hasta finales de julio de 2013. Posteriormente, las tasas de crecimiento fueron más lentas pero sostenidas, mostrando una pendiente más baja hasta enero de 2014, cuando alcanzaron alturas las conchas de $69,76 \pm 0,46$, $68,19 \pm 1,71$ y $65,38 \pm 1,58$ mm a 2, 6 y 10 m, respectivamente, mostrando una relación estrecha, pero inversamente proporcional entre el crecimiento y la profundidad del cultivo. Sin embargo, al final del período de cultivo, no se observaron diferencias significativas (KW, $P > 0,05$) de los individuos cultivados en las tres profundidades (Figura 3b).

Masa de tejidos blandos

En mayo, junio y julio hubo un marcado aumento en la masa de las ostras cultivadas a las tres profundidades, pero con menor magnitud en las ostras cultivadas a 10 m (Figura 3c). Estas tendencias fueron revertidas con una marcada caída durante agosto por las ostras cultivadas a 2, 6 y 10 m. Posteriormente, hubo una recuperación casi sostenida de la masa de tejidos blandos. Al final del experimento, los individuos tenían una masa seca de tejidos blandos a 2 m ($1,67 \pm 0,14$ g), 6 m ($1,78 \pm 0,15$ g) y 10 m ($1,55 \pm 0,10$ g), siendo la masa seca de los individuos cultivados a 10 m significativamente más baja (KW, $P < 0,05$) que la de los cultivados a 2 y 6 m (Figura 3d).

Masa de la concha

Similar al patrón de crecimiento descrito en la altura de la concha de la ostra, la masa de la concha mostró un crecimiento sostenido durante todo el período de estudio (Figura 3e). Al final del estudio, los individuos tenían una masa seca máxima cultivada a 2, 6 y 10 m de $8,29 \pm 0,60$, $8,44 \pm 0,40$, $7,48 \pm 0,67$ g, respectivamente. Durante el período experimental, solo se observaron diferencias significativas (KW, $P < 0,05$) entre los individuos cultivados a 2 m y 10 m (Figura 3f).

which occurred during the entire experimental period (Chatfield and Collins, 1980; Clarke and Warwick, 2001) In this regard, it is necessary to mention that dissolved oxygen was not considered because it did not show a previous correlation with any of the variables used in the analysis.

RESULTS

Shell size

The growth rate in the height shell axis of the oyster showed a progressive increment at three culture depths (Figure 3a), being more evident from April to the end of July 2013. Thereafter, the growth rates were slower but sustained, showing a lower slope until January 2014, when they attained shell heights of 69.76 ± 0.46 , 68.19 ± 1.71 and 65.38 ± 1.58 mm at 2, 6 and 10 m, respectively, showing a narrow but inversely proportional relationship between growth and culture depth. However, at the end of the cultivation period, no significant differences (KW, $P > 0.05$) of the individuals grown in the three culture depths were observed (Figure 3b).

Soft tissue mass

In May, June and July there was a marked increase in oyster mass grown at the three depths, but with lesser magnitude in the oysters grown a 10 m (Figure 3c). These trends were then reversed, with a marked fall during August by the oysters grown at 2, 6 and 10 m. Thereafter, there was an almost sustained recovery of the soft tissue mass. At the end of the experiment, individuals had a dry mass of soft tissues at 2 m (1.67 ± 0.14 g), 6 m (1.78 ± 0.15 g) and 10 m (1.55 ± 0.10 g), being the dry mass of the individuals grown at 10 m significantly lower (KW, $P < 0.05$), than those grown at 2 and 6 m (Figure 3d).

Shell mass

Similar to the described pattern of growth in shell height of oysters, the mass of the shell showed sustained growth throughout the study period (Figure 3e). At the end of the study, individuals had a maximum dry mass cultivated at 2, 6 and 10 m of 8.29 ± 0.60 , 8.44 ± 0.40 , 7.48 ± 0.67 g, respectively. Over the experimental period, significant differences (KW, $P < 0.05$) were only observed between individuals grown at 2 m with respect to those cultivated at 10 m (Figure 3f).

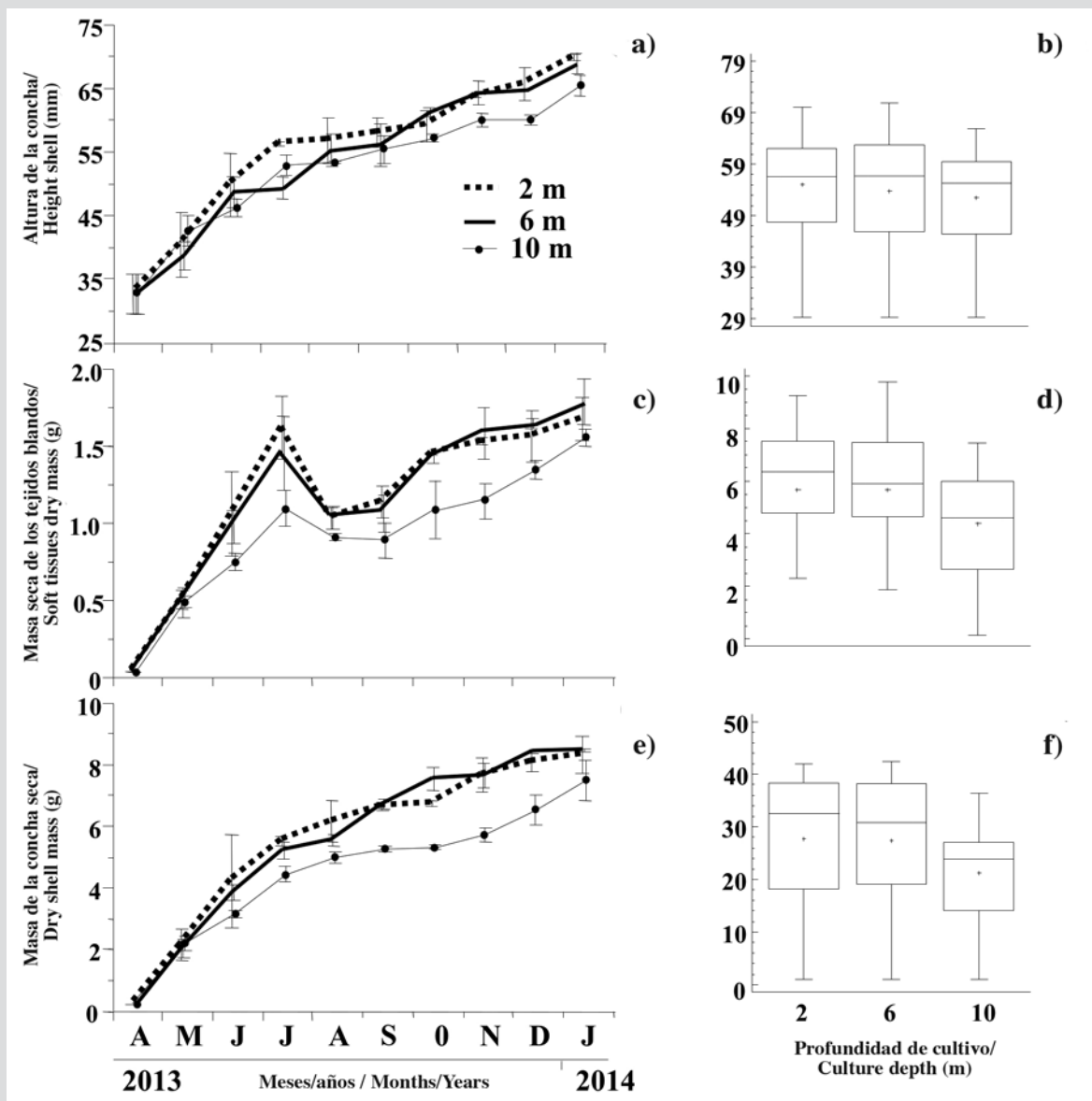


Figura 3. Variación de: a) altura de la concha, c) masa seca de los tejidos blandos y e) masa de la concha de *P. colymbus* cultivada a las diferentes profundidades estudiadas y sus respectivas figuras de prueba Kruskal Wallis b), d) y f). Los símbolos y las barras de error representan los valores mensuales medios más la desviación estándar, respectivamente. En las gráficas de caja y bigotes, la línea horizontal central de la caja es la mediana de los datos, la parte superior e inferior de la caja son los percentiles (cuartiles) de 25 % y 75 %, y los extremos de los bigotes son los 5 y 95 % percentiles. La muesca en el cuadro es el intervalo de confianza de 95 % de la mediana. Cuando las muescas entre las cajas no se superponen, las medianas se consideran significativamente diferentes (Briceño y Boyer, 2010).

Figure 3. Variation of: a) height shell, c) soft tissues dry mass and e) shell mass of *P. colymbus* cultivated at the different depths studied and its respective Kruskal Wallis test figures b), d), f). Symbols and error bars represent mean monthly values plus the standard deviation, respectively. In box and whisker plots, the center horizontal line of the box is the median of the data, the top and bottom of the box are the 25 % and 75 % percentiles (quartiles), and the ends of the whiskers are the 5 and 95 % percentiles. The notch in the box is the 95 % confidence interval of the median. When notches between boxes do not overlap, the medians are considered significantly different (Briceño and Boyer, 2010).

Masa de las bioincrustaciones

La masa seca de las bioincrustaciones fijada en los individuos cultivados a las 3 profundidades mostró un aumento similar y moderado hasta julio (Figura 4a), y luego un aumento mayor y sostenido hasta diciembre y una disminución en enero. Después del período experimental, la acumulación de bioincrustación en los individuos no fue significativa (KW, $P > 0,05$) entre las tres profundidades (Figura 4b). Esto se atribuyó, en parte, a la alta variación de masa de bioincrustación de las réplicas, en cada profundidad de cultivo.

Biofouling mass

Dry mass of the biofouling settled on the individuals grown at the 3 depths showed a similar and moderate increase until July (Figure 4a), and then a greater and sustained increase until December and decline in January. At the conclusion of the experimental period, biofouling accumulation on individuals was not significantly (KW, $P > 0.05$) between the three depths (Figure 4b). This was attributed in part to the high biofouling mass variation from replicates at each culture depth.

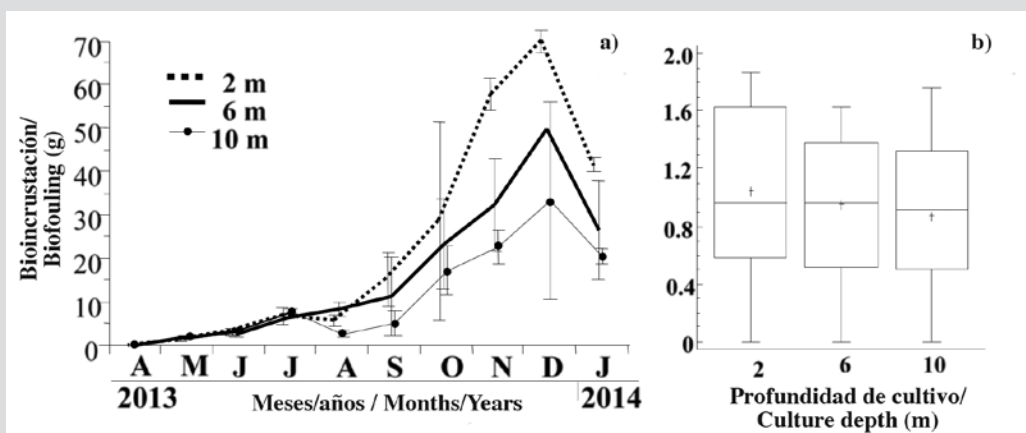


Figura 4. a) Variación de la masa seca de las bioincrustaciones fijadas sobre *P. colymbus*, cultivadas a las diferentes profundidades estudiadas, y b) sus respectivas pruebas de Kruskal Wallis. Los símbolos y las barras de error representan los valores mensuales medios más la desviación estándar, respectivamente.

Figure 4. a) Variation of the fixed biofouling dry mass of *P. colymbus*, cultivated at the different depths studied, and b) its respective Kruskal Wallis test. Symbols and error bars represent mean monthly values plus the standard deviation, respectively.

Supervivencia

La supervivencia fue de 100 % en individuos cultivados a profundidades de 2 y 6 m hasta noviembre, y por encima de 80 y 93,3 % al final del período experimental, respectivamente (Figura 5a). Por el contrario, los individuos que crecieron a 10 m tuvieron una caída en la supervivencia desde octubre hasta el final del período de estudio, con un porcentaje final ligeramente superior al 40 %. En consecuencia, al final del período experimental se observó una supervivencia significativamente mayor (KW, $P < 0,05$) de individuos cultivados a 6 m (Figura 5b).

Variables ambientales

La concentración de oxígeno disuelto en las tres profundidades experimentales varió entre 6 y 9 mg L⁻¹ durante todo el período de estudio (Figura 6a). Se observaron dos períodos de marcadas caídas, particularmente a 10 m (abril-mayo/2013, agosto-septiembre/2013) con valores más bajos de $\approx 6,5$ mg L⁻¹, y dos períodos con aumentos a las

Survival

Survival was 100 % in individuals grown at depths of 2 and 6 m until November, and above 80 and 93.3 % respectively, at the end of the experimental period (Figure 5a). In contrast, individuals grown at 10 m had a fall in the survival from October until the end of the study period, with a final percentage of slightly above 40 %. In consequence, at the end of the experimental period was observed a significantly higher survival (KW, $P < 0.05$) of individuals grown at 6 m than 10 m (Figure 5b).

Environmental variables

Dissolved oxygen concentration at the three experimental depths varied between 6 to 9 mg L⁻¹ throughout the study period (Figure 6a). Two periods of sharp decline were observed, particularly at 10 m (April-May/2013, August-September/2013) with lowest values of ≈ 6.5 mg L⁻¹, and two periods with increases at three depths (July-August/2013, December/2013-

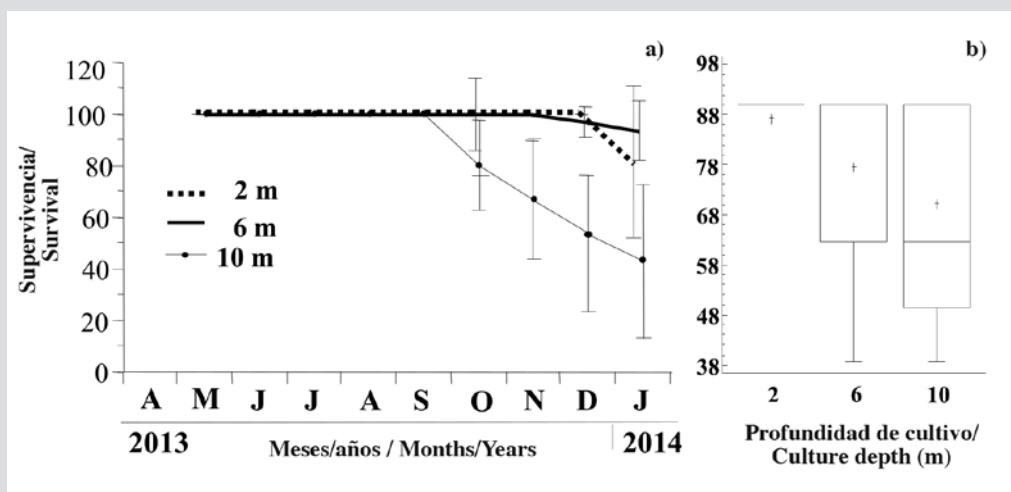


Figura 5. a) Supervivencia de *P. colymbus* cultivado a las diferentes profundidades estudiadas, y b) sus respectivas figuras de la prueba de Kruskal Wallis. Los símbolos y las barras de error representan los valores mensuales medios más la desviación estándar, respectivamente.

Figure 5. a) Survival of *P. colymbus* cultivated at the different depths studied, and b) its respective Kruskal Wallis test figures. Symbols and error bars represent mean monthly values plus the standard deviation, respectively.

tres profundidades (julio-agosto/2013, diciembre/2013-enero/2014), donde el oxígeno disuelto alcanzó los valores más altos ($\approx 8,5 \text{ mg L}^{-1}$). El oxígeno disuelto mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tres profundidades (Figura 6b), con concentraciones más altas a profundidades más bajas.

La temperatura mostró una clara tendencia al alza desde abril hasta septiembre de 2013, donde los valores máximos excedieron los $28 \text{ }^\circ\text{C}$ en las tres profundidades (Figura 6c). Posteriormente, se observó una disminución marcada y sostenida hasta el final del estudio, con valores de alrededor de $23 \text{ }^\circ\text{C}$ en las tres profundidades de cultivo. No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre la profundidad y la temperatura durante el período de estudio (Figura 6d).

En general, las curvas de la materia orgánica particulada (POM) observada en cada profundidad mostraron tendencias similares a las descritas para el oxígeno disuelto, alcanzando valores mínimos en julio de 2013 (Figura 6e), especialmente a 10 m ($1,17 \text{ mg L}^{-1}$), y un aumento general hasta septiembre de 2013 de alrededor de $2,2 \text{ mg L}^{-1}$. Finalmente, en enero de 2014, la materia orgánica alcanzó valores máximos, especialmente a profundidades de 2 y 6 m ($3,67$ y $2,78 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente). No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las concentraciones de materia orgánica en las tres profundidades de cultivo (Figura 6f). La Chl-*a* aumentó en cada profundidad de agua desde abril hasta julio de 2013 con valores entre $4,8$ y $3,2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 6g), con las concentraciones más altas a 2 m, comenzando en agosto

January/2014), where dissolved oxygen reached highest values ($\approx 8.5 \text{ mg L}^{-1}$). Dissolved oxygen showed significant differences ($P < 0.05$) between three depths (Figure 6b), with higher concentrations at lower depths.

Temperature showed a clear increasing trend from April 2013 until September 2013 where maximum values exceeded $28 \text{ }^\circ\text{C}$ at the three depths (Figure 6c). Thereafter, a marked and sustained decline was observed until the end of the study, with values around $23 \text{ }^\circ\text{C}$ in the three culture depths. No significant differences ($P > 0.05$) were observed between the depth and temperature over the study period (Figure 6d).

In general, the trends in particulate organic matter (POM) at each depth showed similar trends as those described for the dissolved oxygen, reaching minimum values in July 2013 (Figure 6e), especially at 10 m (1.17 mg L^{-1}), and a general increase until September 2013 to around 2.2 mg L^{-1} . Finally, in January 2014, organic matter reached maximum values, especially at depths of 2 and 6 m (3.67 and 2.78 mg L^{-1} , respectively). No significant differences ($P > 0.05$) were observed between organic matter concentrations at the three culture depths (Figure 6f). Chl-*a* was elevated for each water depth from April-July 2013 with values between 4.8 and $3.2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (Figure 6g), with the highest concentrations at 2 m, beginning in August and continuing through November, where Chl-*a* concentrations declined sharply between 0.2 to $1.2 \text{ } \mu\text{g}$. Thereafter, Chl-*a* peaked from December 2013 until January 2014, with concentrations between 5.4 and

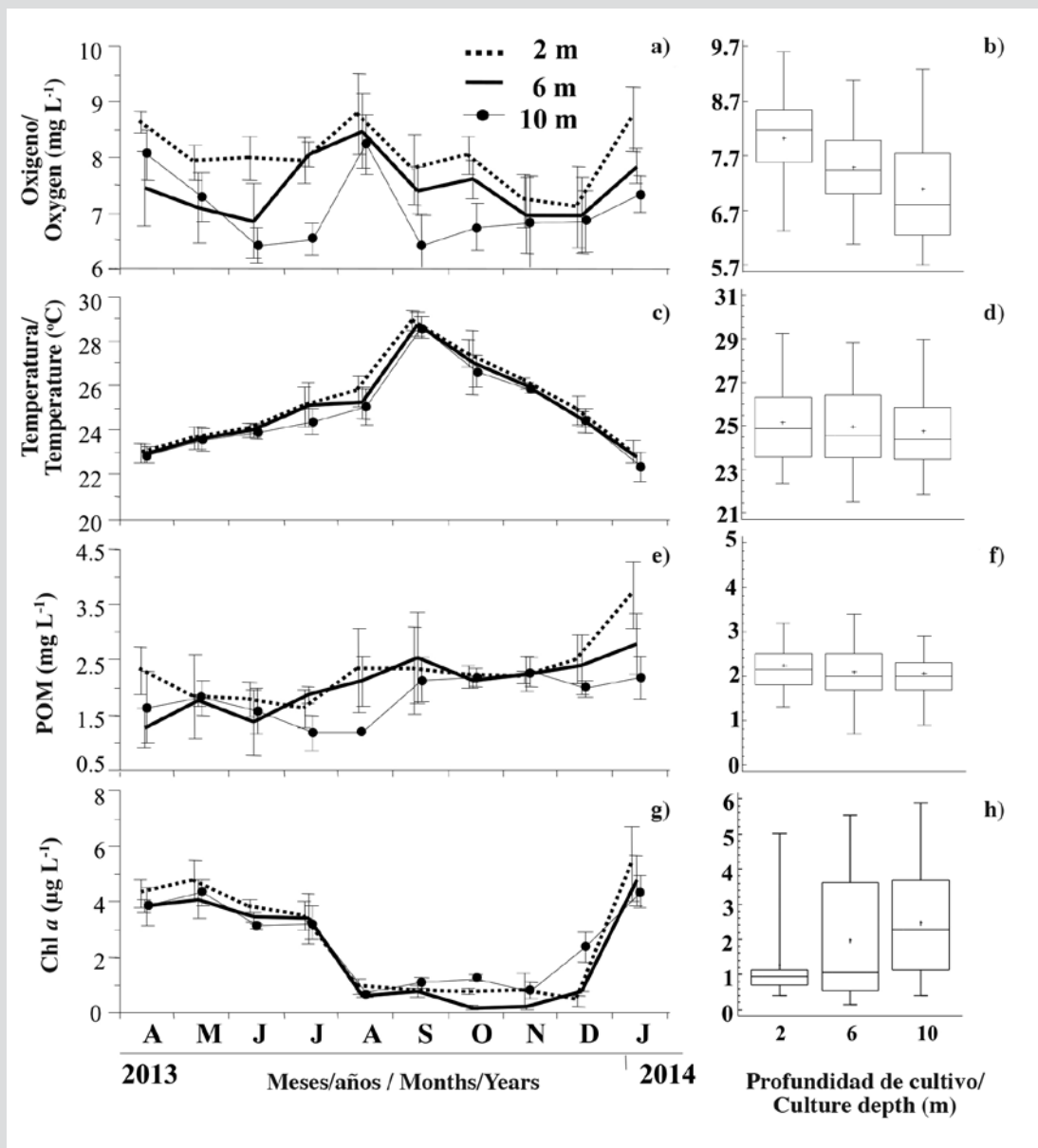


Figura 6. Variación de las variables ambientales: a) oxígeno disuelto; c) temperatura; e) POM y g) Chl-a, a las diferentes profundidades estudiadas y sus respectivas cifras de prueba de Kruskal Wallis b), d), f), h). Los símbolos y las barras de error representan valores mensuales medios más la desviación estándar, respectivamente.

Figure 6. Variation of environmental variables: a) dissolved oxygen; c) temperature; e) POM and g) Chl-a, at the different depths studied and its respective Kruskal Wallis test figures b), d), f), h). Symbols and error bars represent mean monthly values plus the standard deviation, respectively.

y continuando hasta noviembre, donde las concentraciones de Chl-a disminuyeron bruscamente entre 0,2 a 1,2 µg. Posteriormente, la Chl-a alcanzó su punto máximo desde diciembre de 2013 hasta enero de 2014, con concentraciones entre 5,4 y 4,3 µg L⁻¹, respectivamente, con los valores más altos a 2 m. Durante el estudio, Chl-a mostró diferencias significativas entre profundidades (KW, P < 0,05), con una relación inversa con la profundidad del agua, influenciada por las concentraciones más altas observadas entre septiembre y diciembre a 10 m (Figura 6h).

4.3 µg L⁻¹, respectivamente, and the highest values at 2 m. Over the study, Chl-a showed significant differences between depths (KW, P < 0.05), with an inverse relation with water depth, influenced by the higher concentrations observed between September and December at 10 m (Figure 6h).

Influencia de las variables ambientales en la masa del tejido

El análisis de ACP resultó en ecuaciones que muestran una relación entre las diferentes variables estudiadas (MSTB, Chl-*a*, POM y temperatura), de la siguiente manera:

a) 2 m = 0,375*MSTB + 0,670*

Chl-*a* – 0,329*Temperatura + 0,550*POM

b) 6 m = 0,052*MSTB + 0,700*

Chl-*a* – 0,709*Temperatura + 0,076*POM

c) 10 m = 0,477*MSTB + 0,594*

Chl-*a* – 0,619*Temperatura + 0,191*POM

La ecuación general que tiene en cuenta toda la variabilidad en las tres profundidades de cultivo es:

d) 2-10 m = 0,253*MSTB + 0,662*

Chl-*a* – 0,634*Temperatura + 0,309*POM

El ACP entre las diferentes variables estudiadas mostró que los dos primeros componentes explicaron un 77 % (2 m), 90 % (6 m), 76 % (10 m) y 73 % (2-10 m) de la varianza observada, lo que indica que estas son representaciones gráficas aceptables (Tabla 1). En todas las ecuaciones, las variables que contribuyen a la varianza a 2, 6 y 10 m fueron Chl-*a*, MSTB y POM con una correlación positiva, todas ellas inversamente relacionadas con la temperatura. Además, la relación descrita previamente para cada profundidad de cultivo fue similar a la obtenida en el intervalo de columna de agua de 2-10 m (d).

Tabla 1. Porcentaje de varianza explicado por dos componentes de los datos de PCA correspondientes a MSTB de las ostras y a variables ambientales como partículas de materia orgánica (POM,) Chl-*a* y temperatura.

Componentes/Components	Profundidad de cultivo/Culture depth			
	2 m	6 m	10 m	2-10 m
1	48.942	56.105	46.727	41.443
2	28.402	33.973	29.728	31.938
Varianza acumulada/Cumulate variance	77.344	90.078	76.455	73.381

Influence of environmental variables on the tissues mass

The PCA analysis resulted in equations that show a relationship between the different variables studied (STDM, Chl-*a*, POM and temperature), as follows:

a) 2 m = 0.375*STDM + 0.670*

Chl-*a* – 0.329*Temperature + 0.550*POM

b) 6 m = 0.052*STDM + 0.700*

Chl-*a* – 0.709*Temperature + 0.076*POM

c) 10 m = 0.477*STDM + 0.594*

Chl-*a* – 0.619*Temperature + 0.191*POM

The general equation that takes into account all variability in the three culture depth is:

d) 2-10 m = 0.253*STDM + 0.662*

Chl-*a* – 0.634*Temperature + 0.309*POM

PCA between the different variables studied showed that the first two components explained a 77 % (2 m), 90 % (6 m), 76 % (10 m) and 73 % (2-10 m) of the variance observed, indicating that these are acceptable graphical representations (Table 1). In all equations, the variables that contribute to variance at 2, 6 and 10 m were Chl-*a*, STDM and POM with a positive correlation, all being inversely related to the temperature. Moreover, the relationship described previously for each culture depth was similar to the obtained at the 2-10 m water column interval (d).

Table 1. Percentage of variance explained by two components of the PCA data corresponding to STDM of the oyster and environmental variables such as particle organic matter (POM), Chl-*a*, and temperature.

DISCUSIÓN

La disponibilidad y calidad del alimento pueden considerarse factores importantes que afectan los procesos fisiológicos relacionados con el crecimiento (Bayne y Newel, 1983). Las partículas de comida suspendidas varían en calidad y cantidad para los bivalvos y, en general, forman parte del seston, que es una mezcla compleja de organismos pelágicos (principalmente fitoplancton) y detritos suspendidos, frecuentemente asociados positivamente con la temperatura (Navarro y Thompson, 1995; Cranford y Hill, 1999; Hawkins *et al.*, 2001). En este estudio, la biomasa de fitoplancton (Chl-*a*) mostró los valores más altos en el período de abril-mayo de 2013 y enero de 2014 ($1,85\text{-}2,78 \mu\text{g L}^{-1}$) cuando la temperatura fue más baja, mientras que se observaron bajas concentraciones ($0,79 \mu\text{g L}^{-1}$) en septiembre, durante la temperatura más alta. Según Lodeiros y Himmelman (2000), la relación inversa entre la temperatura y la abundancia de fitoplancton en la mayoría de los estudios concuerda con los períodos observados de afloramiento costero y estratificación del agua establecidos en el golfo de Cariaco. Los valores de Chl-*a* mostrados por Mengual *et al.* (2011) en las cercanías de la bahía de Mochima también mostraron un patrón inverso con la temperatura, es decir, la Chl-*a* estaba por debajo de 1 mg L^{-1} cuando se registró la temperatura máxima. Sin embargo, las tendencias del POM no mostraron un patrón definido, con valores generalmente superiores a $1,5 \text{ mg L}^{-1}$. Estos valores son similares a los registrados por Prieto *et al.* (2001) y Villarroel *et al.* (2004) en el golfo de Cariaco. Las concentraciones más altas de POM observadas en los últimos tres meses de estudio ($2\text{-}3,7 \text{ mg L}^{-1}$) coincidieron con un aumento en la masa de tejidos blandos. En este sentido, Cranford y Grant (1990) informaron que, aunque el fitoplancton es una fuente importante de alimento para los bivalvos, los detritos orgánicos pueden contribuir a la absorción de energía en períodos en los que las concentraciones de fitoplancton son demasiado escasas para satisfacer las demandas de energía. Resultados similares han resaltado la importancia de la concentración de POM en ensayos comparativos para evaluar diferentes ubicaciones del cultivo de algunas especies de bivalvos, como *Corbicula japonica* (Kasay y Nakata, 2005), *Chlamys islandica* (Blicher *et al.*, 2010), *Crassostrea gigas* (Beninger *et al.*, 2008), *Perna canaliculus* (Gardner y Thompson, 2001), *Chlamys farreri* (Zhang *et al.*, 2010), *Nodipecten nodosus* (Freites *et al.*, 2003) y *Moerella rutila* (Kang *et al.*, 2006).

DISCUSSION

The availability and quality of food can be considered an important factor that affects the physiological processes linked to growth (Bayne and Newel, 1983). Suspended food particles for bivalves vary in quality and quantity and, in general, are composed of seston which itself is a complex mixture of pelagic organisms (principally phytoplankton) and suspended detritus, frequently positively associated with temperature (Navarro and Thompson, 1995; Cranford and Hill, 1999; Hawkins *et al.*, 2001). In the study phytoplankton biomass (Chl-*a*) showed the highest values in the period April-May 2013 and January 2014 when the temperature was lower ($1.85\text{-}2.78 \mu\text{g L}^{-1}$), while low concentrations were observed during the highest temperature in September ($0.79 \mu\text{g L}^{-1}$). According to Lodeiros and Himmelman (2000), the inverse relationship between temperature and phytoplankton abundance in most studies agrees with the observed periods of coastal upwelling and water stratification established in the Gulf of Cariaco. Chl-*a* values reported by Mengual *et al.* (2011) in the nearby of Mochima Bay generally showed an inverse pattern to temperature as well, that is, Chl-*a* was below 1 mg L^{-1} when maximum temperature was recorded. However, the trends of POM showed no definite pattern, with values generally above 1.5 mg L^{-1} . These values are similar to those reported by Prieto *et al.* (2001) and Villarroel *et al.* (2004) in the Gulf of Cariaco. Higher concentrations of POM observed in the last three months of study ($2\text{-}3.7 \text{ mg L}^{-1}$) coincided with an increase in soft tissue mass. Therefore, Cranford and Grant (1990) reported that, although phytoplankton is an important food source for bivalves, organic detritus can contribute to energy uptake in periods when phytoplankton concentrations are too scarce to satisfy energy demands. Similar results have highlighted the importance of POM concentration in comparative trials to test for differences between culture locations of some bivalve species, such as: *Corbicula japonica* (Kasay and Nakata, 2005), *Chlamys islandica* (Blicher *et al.*, 2010), *Crassostrea gigas* (Beninger *et al.*, 2008), *Perna canaliculus* (Gardner and Thompson, 2001), *Chlamys farreri* (Zhang *et al.*, 2010), *Nodipecten nodosus* (Freites *et al.*, 2003) and *Moerella rutila* (Kang *et al.*, 2006).

In this study, the different equations (A, B, C) obtained from the PCA showed that the variables that participated in the variance observed were POM, Chl-*a*, temperature and STDM of the oysters. These results agree

En este estudio, las diferentes ecuaciones (A, B, C) obtenidas de la PCA mostraron que las variables que participaron en la varianza observada fueron POM, Chl-*a*, temperatura y MSTB de las ostras. Estos resultados concuerdan con otros estudios realizados en el golfo de Cariaco, donde se demostró que la influencia de las variables ambientales asociadas con la profundidad del cultivo puede influir en el crecimiento de algunas especies de bivalvos marinos (Lodeiros *et al.*, 1998; Acosta *et al.*, 2009; García *et al.*, 2016).

Las longitudes de concha alcanzadas en diez meses por la ostra alada cultivada a tres profundidades fueron 69,76 mm (2 m), 67,19 mm (6 m) y 65,38 mm (10 m) mientras que su aumento promedio relativo alcanzó 118, 112 y 104 %, respectivamente (altura inicial \approx 32 mm). Este crecimiento difiere notablemente de los resultados obtenidos por Gaytan-Mondragon *et al.* (1993), quienes encontraron un aumento de \approx 144 % en la altura dorsal-ventral de *P. sterna* en 10 meses. Un incremento de tamaño similar para *P. colymbus* se obtuvo en 8 meses (\approx 94 %) (Lodeiros *et al.*, 1999b).

Nuestros resultados implican la factibilidad de cultivo de las ostras aladas en el sitio de Turpialito, donde Lodeiros *et al.* (2002) también informaron aumentos del 100 % en el crecimiento de la concha de la ostra perla *Pinctada imbricata*. Los valores encontrados en este estudio para la longitud de la concha fueron más altos que los mostrados por Mengual *et al.* (2011), quienes cultivaron *P. colymbus* en la bahía de Mochima y mostraron un aumento menor en el crecimiento del eje longitudinal del 68 %, con un tamaño y un período de cultivo inicial similares. Seis meses después del período experimental, los individuos obtuvieron un incremento de la altura de la concha de 58, 54 y 52 % a profundidades de 2, 6 y 10 m, respectivamente. Estos valores son más altos que el incremento (41 %) observado durante el mismo tiempo de cultivo en la ostra alada *Pteria hirundo* (tamaño inicial de 39,40 mm) cultivada en Brasil a 1-2 m de profundidad (Albuquerque *et al.*, 2012).

Los individuos muertos solo se observaron en el último muestreo, lo que puede estar relacionado con la presencia de dos especies de gasterópodos de la familia Rannellidae (*Linatella caudata* y *Monoplex pilearis*). Estos caracoles también son responsables de la mortalidad de las ostras de perla comercialmente importantes *Pinctada martensis* (Zhou y Pan, 1999), *P. margaritifera* (Aji, 2011) y *P. imbricata* (Malavé *et al.*, 2012).

with other studies carried out in the Gulf of Cariaco, where it was demonstrated that the influence of the environmental variables associated with the culture depth can influence the growth of some species of marine bivalves (Lodeiros *et al.*, 1998; Acosta *et al.*, 2009; García *et al.*, 2016).

The shell lengths attained in ten months by the winged oyster grown at three depths were 69.76 mm (2 m), 67.19 mm (6 m) and 65.38 mm (10 m), while their relative average increase reached 118, 112 and 104 %, respectively (initial height \approx 32 mm). This growth differs markedly from the results obtained by Gaytan-Mondragon *et al.* (1993) who found an increase of \approx 144 % in the dorsal-ventral height of *P. sterna* in 10 months. A similar size increment was obtained for *P. colymbus* (Lodeiros *et al.*, 1999b) in 8 months (\approx 94%).

Our results imply feasibility of cultivation of winged oyster at the Turpialito site, where Lodeiros *et al.* (2002) also reported increases of 100 % in the shell growth of the pearl oyster *Pinctada imbricata*. The values found for the length axis in this study were higher than those showed by Mengual *et al.* (2011), who cultivated *P. colymbus* in Mochima Bay and showed a smaller growth increase of length axis of 68 %, with a similar size and initial culture period. Six months into the experimental period, individuals obtained a shell height increment of 58, 54 and 52 % at depths of 2, 6 and 10 m, respectively. These values are higher than the increment (41 %) observed over the same culture time in the winged oyster *Pteria hirundo* (initial size of 39.40 mm) cultured in Brazil at 1-2 m depth (Albuquerque *et al.*, 2012).

Dead individuals were only observed in the last sampling, which may be related to the presence of two gastropods species of the Rannellidae family (*Linatella caudata* and *Monoplex pilearis*). These snails are also responsible for the mortality of commercially important pearl oysters *Pinctada martensis* (Zhou and Pan, 1999), *P. margaritifera* (Aji, 2011) and *P. imbricata* (Malavé *et al.*, 2012).

Decreases in soft tissue mass in the August-September period for the oysters grown at the three depths could be related to spawning, as shown by Marquez *et al.* (2000) who observed a peak in the spat recruitment of *P. colymbus* at the same site and annual period of the present study. However, from October until the end of the culture period, the tissue mass increased in individuals grown at the three culture depths, which is consistent with a previous

Las disminuciones en la masa de tejidos blandos observados en el período de agosto a septiembre para las ostras cultivadas a las tres profundidades podrían estar relacionadas con el desove, puesto que Márquez *et al.* (2000) observaron un pico en el reclutamiento de *P. colymbus* en el mismo sitio y período anual del presente estudio. Sin embargo, desde octubre hasta el final del período de cultivo, la masa de tejido aumentó en individuos cultivados en las tres profundidades de cultivo, lo que es consistente con el desarrollo de la gónada antes del pico de desove principal mostrado en diciembre por Márquez *et al.* (2000).

Al final del período experimental, nuestros resultados mostraron un mayor crecimiento de la biomasa de tejidos blandos de individuos cultivados en aguas poco profundas (2 y 6 m) que en aguas profundas (10 m). Esto concuerda con los resultados de Smitasiri *et al.* (1994) y Kanjanachatee *et al.* (2003), quienes registraron un mayor crecimiento de individuos de *Pteria penguin* cultivados en aguas poco profundas (2-5 m de profundidad) que en las profundas (15 m de profundidad). Estos autores atribuyeron esta diferencia a una mayor disponibilidad de alimentos a poca profundidad. Sims (1994) y Lee *et al.* (2008) también observaron un mayor crecimiento de juveniles de *Pinctada margaritifera* y *P. maxima*, respectivamente, cuando se cultivaron en aguas poco profundas. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el rendimiento (crecimiento/supervivencia) de los individuos de la ostra alada *P. colymbus*, recomendamos llevar a cabo su cultivo entre 2 y 6 m de profundidad.

AGRADECIMIENTOS

El estudio fue financiado con subvenciones de proyectos UDO-FONACIT 2011000344 Estación Hidrobiológica de Turpialito del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente como Centro de Monitoreo Ambiental y Producción de Semillas de Moluscos Bivalvos. Los autores agradecen a Andrew Dale por mejorar el idioma inglés.

gonadal mass prior to the main spawning peak shown by Marquez *et al.* (2000) in December.

At the end of the experimental period, our results showed a higher growth of the soft tissue biomass of individuals grown in shallower waters (2 and 6 m) than in deep waters (10 m). This agrees with the results by Smitasiri *et al.* (1994) and Kanjanachatee *et al.* (2003) who reported a higher growth of *Pteria penguin* individuals cultivated in shallow waters (2-5 m depth) than in deep ones (15 m depth). These authors attributed this difference to higher food availability at the shallow depth. Furthermore, Sims (1994) and Lee *et al.* (2008) also observed higher growth of *Pinctada margaritifera* and *P. maxima* juveniles, respectively, when cultivated in shallow waters. Taking into account the results obtained in the performance (growth/survival) of the individuals of the winged oyster *P. colymbus*, we recommend carrying out their culture between 2 and 6 m water depth.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was funded with grants from projects UDO-FONACIT 2011000344 Estación Hidrobiológica de Turpialito del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente como Centro de Monitoreo Ambiental y Producción de Semillas de Moluscos Bivalvos. The authors thank Andrew Dale for improving the English-language.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Acosta, V., C. Lodeiros, A. Prieto, M. Glem e Y Natera. 2009. Efecto de la profundidad sobre el crecimiento de los mejillones *Perna perna* y *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) en cultivo suspendido en el golfo de Cariaco, Venezuela. *Zoot. Trop.*, 27(3): 315-328.
- Aji, L.P. 2011. An overview of the method, management, problem, and their solution in the pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) culture. *J. Coastal Develop.*, 14(3): 181-190.
- Albuquerque, M.C.P., R. Alves, A. Zanandrea, J. Ferreira, C. Melo and A. Magalhães. 2012. Growth and survival of the pearl oyster *Pteria hirundo* (L., 1758) in an intermediate stage of culture in Santa Catarina, Brazil. *Braz. J. Biol.*, 72: 175-180.
- Bayne, B. and R. Newell. 1983. Physiological energetics of marine mollusc: 407-515. In: Salenium, A. and K. Wilbur (Eds.). *The Mollusca*. Academic Press. New York.
- Beninger, P.G., A. Valdizan, P. Decottignies and B. Cognie. 2008. Impact of seston characteristics on qualitative particle selection sites and efficiencies in the pseudolamellibranch bivalve *Crassostrea gigas*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 360: 9-14.
- Blicher, M.E., S. Rysgaard and M.K. Sejr. 2010. Seasonal growth variation in *Chlamys islandica* (Bivalvia) from sub-Arctic Greenland is linked to food availability and temperature. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 407: 71-86.
- Briceño, H.O. and J.N. Boyer. 2010. Climatic controls on phytoplankton biomass in a sub-tropical estuary, Florida Bay, USA. *Estuar. Coasts*, 33: 541-553.
- Chatfield, C. and A. Collins. 1980. *Introduction to multivariate analysis*. Chapman and Hall, London.
- Clarke, K. and R. Warwick. 2001. *Change in marine communities: An approach to statistical analysis and interpretation*. PRIMER-E Ltd., Plymouth. 82 p.
- Cranford, P.J. and J. Grant. 1990. Particle clearance and absorption of phytoplankton and detritus by the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 137: 105-121.
- Cranford, P.J. and P.S. Hill. 1999. Seasonal variation in food utilization by the suspension-feeding bivalve mollusks *Mytilus edulis* and *Placopecten magellanicus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 190: 223-239.
- Díaz, J.M. y M. Puyana, 1994. *Moluscos del Caribe colombiano. Un catálogo ilustrado*. Colciencias Fundación Natura-INVEMAR. Presencia, Bogotá. 291 p.
- Frechette, M. and G. Daigle. 2002. Growth, survival and fluctuating asymmetry of Iceland scallops in a test of density-dependent growth in a natural bed. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 270: 73-91.
- Freites, L., A. Vélez y L. Hurtado. 1996. Crecimiento y producción secundaria de *Euvola (Pecten) ziczac* (L), en cultivo suspendido a tres profundidades. *Bol. Inst. Oceanog. Venez.*, 35(1 y 2): 17-26.
- Freites, L., C. Lodeiros, N. Narváez, G. Estrella and J.M.F. Babarro, 2003. Growth and survival of the scallop *Lyropecten (=Nodipecten) nodosus* (L., 1758) in suspended culture in the Cariaco Gulf (Venezuela), during a non-upwelling period. *Aquacult. Res.*, 34: 709-718.
- Freites, L., M. Rojas, A.W. Dale, A. Márquez, J. Revilla, C. Lodeiros and L. Tróccoli. 2017. Influence of environmental variables during seasonal upwelling on the growth of the winged oyster *Pteria colymbus* in a tropical ecosystem. *Aquacult. Intern.*, 25: 1653-1666.
- García, M., C. Lodeiros, L. Freites, H. Córdova and J. Babarro. 2016. Comparative performance of the mussels *Perna perna* and *Perna viridis*, cultivate at four different depths. *Braz. J. Oceanog.*, 64(3): 249-262.
- Gardner, J.P.A. and R.J. Thompson, 2001. Naturally low seston concentration and the net energy balance of the greenshell mussel (*Perna canaliculus*) at Island Bay, Cook Strait, New Zealand. *NZ J. Mar. Freshwater Res.*, 35: 457-468.
- Gaytan-Mondragon, I., C. Cáceres-Martínez and M. Tobias-Sánchez. 1993. Growth of the pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* in different culture structures at La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico. *J. World Aquacult. Soc.*, 24(4): 541-546.
- Hawkins, A.J.S., J.G. Fang, P.L. Pascoe, J.H. Zhang, X.L. Zhang and M.Y. Zhu. 2001. Modelling short-term responsive adjustments in particle clearance rate among bivalve suspension-feeders: separate unimodal models of seston volume and composition in the scallop *Chlamys farreri*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 261: 61-73.
- Kanjanachatee, K., K. Piyathamrongrut and N. Inthongjaroen. 2003. Effects of sea depths and sizes of winged pearl oysters (*Pteria penguin*) on pearl culture. *Songklanakarin J. Sci. Techn.*, 25(5): 659-671.
- Kasai, A. and A. Nakata, 2005. Utilization of terrestrial organic matter by the bivalve *Corbicula japonica* estimated from stable isotope analysis. *Fish. Sci.*, 71: 151-158.
- Lee, A.M., A. Williams and P.C. Southgate. 2008. Modelling and comparison of growth of the silverlip pearl oyster *Pinctada maxima* (Mollusca: Pteriidae) cultured in West Papua, Indonesia. *Mar. Freshwater Res.*, 59: 22-31.



- Lodeiros C., B. Marín y A. Prieto. 1999a. Catálogo de moluscos de las costas nororientales de Venezuela. Clase Bivalvia. Apudons, Caracas. 103 p.
- Lodeiros, C. and J.H. Himmelman. 2000. Identification of factors affecting growth and survival of the tropical scallop *Euvola (Pecten) ziczac* in the golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquaculture*, 182: 91-114.
- Lodeiros, C., D. Pico, A. Prieto, N. Narváez and A. Guerra. 2002. Growth and survival of the pearl oyster *Pinctada imbricata* (Roding 1758) in suspended and bottom culture in the golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquacult. Intern.*, 10: 327-339.
- Lodeiros, C., J. Rengel and J.H. Himmelman. 1999b. Growth of *Pteria colymbus* (Roding, 1798) in the golfo de Cariaco, Venezuela. *J. Shellfish Res.*, 18: 155-158.
- Lodeiros, C., J. Rengel, L. Freites, F. Morales, and J.H. Himmelman. 1998. Growth and survival of the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* maintained in suspended culture at three depths. *Aquaculture*, 165: 41-50.
- Malavé, C., L. Freites, C. Lodeiros, J. Mendoza, L. Tróccoli and A.W. Dale. 2012. Annual recruitment, predation rates, and biocontrol of *Linatella caudata* (MOLLUSCA: GASTROPODA) in suspended enclosure culture of the pearl oyster *Pinctada imbricata*. *Aquaculture*, 354-355: 75-83.
- Márquez, B., C. Lodeiros, M. Jiménez y J.H. Himmelman. 2000. Disponibilidad de juveniles por captación natural de la ostra *Pteria colymbus* (Bivalvia: Pteriidae) en el golfo de Cariaco, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.*, 48(1): 151-158.
- Mengual, M., C. Lodeiros y A. Márquez. 2011. Crecimiento y supervivencia de la ostra alada *Pteria colymbus* (Röding 1798), en estructuras tubulares en la Bahía de Mochima, estado Sucre, Venezuela. *Zootec. Trop.*, 29(2): 219-229.
- Müller-Karger, F., G.T. Taylor, Y. Astor, R.C. Thunnell, M.I. Scranton, R. Varela, L. Tróccoli, L. Lorenzoni, E. Montes, K.A. Fanning and C. Benitez-Nelson. 2013. The Cariaco Basin Ocean Time-Series. LOICZ Inprint, 1: 3-17.
- Müller-Karger, F., R. Aparicio and R. Castro. 1994. Mesoscale processes affecting phytoplankton abundance in the southern Caribbean Sea. *Cont. Shelf Res.*, 14(2-3): 199-221.
- Navarro, J.M. and R.J. Thompson. 1995. Seasonal fluctuations in the size spectra, biochemical composition and nutritive value of the seston available to a suspension-feeding bivalve in a subarctic environment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 125: 95-106.
- Pilditch, C.A. and J. Grant. 1999. Effect of temperature fluctuations and food supply on the growth and metabolism of juvenile sea scallops (*Placopecten magellanicus*). *Mar. Biol.*, 134: 235-248.
- Prieto, A., O. Ramos, D. Arrieche, J. Villalba y C. Lodeiros. 2001. Producción secundaria e índice de condición en *Arca zebra* (Molusca: Bivalvia) del golfo de Cariaco, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.*, 49: 599-608.
- Román, G., M.J. Campos, C.P. Acosta and J. Cano. 1999. Growth of the queen scallop (*Aequipecten opercularis*) in suspended culture: influence of density and depth. *Aquaculture*, 178: 43-62.
- Saxby, S.A. 2002. A review of food availability, seawater characteristics, and bivalve growth performance at coastal culture sites in temperate and warm temperate regions of the world. *Fish. Res. Rep. (W. Australia)*, 132: 1-42.
- Sims, N.A., 1994. Growth of wild and cultured black-lip pearl oysters, *Pinctada margaritifera* (L.) (Bivalvia, Pteriidae). *Aquaculture*, 122: 181-191.
- Smitasiri, R.R., J. Kajitwimat and P. Tantichodok. 1994. Growth of a winged oyster *Pteria penguin* suspended at different depths. *Phuket Mar. Biol. Cent. Spec. Publ.*, 13: 213-216.
- Sokal, R.R. and F.J. Rohlf. 1979. *Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Blume, Madrid. 832 p.
- Strickland, J. and T. Parsons. 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Bull. Fish. Res. Board Canada, 167, 310 p.
- Thompson, R. and B. MacDonald. 1991. Physiological integrations and energy partitioning. In: *An international compendium of scallops' biology and culture*. Shumway, S. and P. Sandifer (Eds.). Workshops World Aquac. Soc., Baton Rouge, 14(1): 28-35.
- Tomaru, Y., Y. Kumatabara, Z. Kawabata and S. Nakona. 2002. Effect of water temperature and chlorophyll abundance on the shell growth of Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*, in suspended culture at different depths and sites. *Aquaculture Res.*, 33: 109-116.
- Urban, H.J. 2001. Reproductive strategies in tropical bivalves (*Pteria colymbus*, *Pinctada imbricata* and *Pinna carnea*): Temporal coupling of gonad production and spat abundance related to environmental variability. *J. Shellfish Res.*, 20: 1127-1134.
- Urban, H.J. and J.M. Riascos. 2001. Estimating gonado-somatic indices in bivalves with fused gonads. *J. Shellfish Res.*, 21(1): 249-253.
- Velasco, L.A. and J. Barros. 2010. Spat collection and experimental culture of the Atlantic pearl oyster, *Pinctada imbricata* (Bivalvia: Pteriidae), under suspended conditions in the Caribbean. *J. World Aquacult. Soc.*, 41: 281-297.
- Villarroel, E., E. Buitrago and C. Lodeiros. 2004. Identification of environmental factors affecting growth and survival of the tropical oyster *Crassostrea rhizophorae* in suspended culture in the golfo de Cariaco, Venezuela. *Rev. Cient. Facult. Cienc. Veterin., Univ. Zulia*, 14: 28-35.

- Yukihira, H., J.S. Lucas and D.W. Klumpp, 2006. The pearl oysters, *Pinctada maxima* and *P. margaritifera*, respond in different ways to culture in dissimilar environments. *Aquaculture*. 252: 208-224.
- Yukihira, H., J.S. Lucas and D.W. Klumpp. 2000. Comparative effects of temperature on suspension-feeding and energy budgets of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *P. maxima*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 195: 79-188.
- Zhang, J.H., J.G. Fang and X.M. Liang. 2010. Variations in retention efficiency of bivalves to different concentrations and organic content of suspended particles. *Chin. J. Oceanol. Limn.*, 28: 10-17.
- Zhou Y. and J. Pan. 1999. Species, distribution, and damage of *Cymatium* in seawater pearl oyster culture zones of Hainan Island. *Trop. Oceanog.*, 18(1): 83-89.

RECIBIDO/RECEIVED: 20/11/2018

ACEPTADO/ACCEPTED: 05/09/2019



Presencia de *Poecilia mexicana* Steindachner en un estuario hiperhalino temporal del golfo de México

Presence of *Poecilia mexicana* Steindachner in a temporary hyperhaline estuary of the Gulf of Mexico

Rafael Chávez-López*, Arturo Rocha-Ramírez y Ángel Morán-Silva

0000-0002-0936-7365

0000-0002-6105-4294

0000-0002-7545-2269

Lab. Ecología Estuarina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Estado de México, México. rafaelcl@unam.mx *Autor para correspondencia.

RESUMEN

En esta contribución se registra por primera vez a *Poecilia mexicana* en un estuario ciego bajo condiciones de hiperhalinidad en el golfo de México y se analizan diversas características ecológicas de la especie. Los especímenes, 170 en total (128 hembras y 42 machos), se recolectaron en mayo de 2013 en el estuario Laguna El Llano, Veracruz, México, el cual presentó aguas cálidas (31,4°C), bien oxigenadas (9,45 mg/L), transparentes, e hiperhalinas (promedio 73 UPS). Las hembras se recolectaron en un intervalo de tallas de 4,28-59,21 mm de longitud patrón y de 0,04-5,48 g en peso; los machos se colectaron en un intervalo de tallas de 15,73-51,41 mm LP y de 0,091-2,97 g en peso. El intervalo de talla más numeroso fue de 10-29 mm de longitud patrón. Las hembras presentaron un crecimiento alométrico negativo; los machos presentaron un crecimiento isométrico. La hiperhalinidad del agua no pareció afectar el proceso de reproducción de *P. mexicana*, pues se encontraron hembras maduras con ovocitos, huevos y embriones, algunas de ellas con superfecundación. La fecundidad se registró entre 12-179 ovocitos/hembra, 8-162 huevos/hembra y 29-72 embriones/hembra. El factor de condición se correlacionó positivamente con la longitud patrón y el peso. Esta especie se puede clasificar como un consumidor detritívoro que complementa su dieta con proporciones mínimas de diatomeas.

PALABRAS CLAVE: Laguna El Llano, Poeciliidae, Topote del Atlántico, Veracruz.

ABSTRACT

In this contribution, *Poecilia mexicana* is recorded for the first time in a blind estuary study under hyperhalin conditions in the Gulf of Mexico and various ecological characteristics of the species are analyzed. 170 specimens in total (128 females and 42 males), were collected in May 2013 in the Laguna El Llano estuary, Veracruz, Mexico, which presented warm waters (31.4 °C), well-oxygenated (9.45 mg/L), transparent, and hyperhaline (average 73 UPS). Females were collected in a size range of 4.28-59.21 mm in standard length and 0.04-5.48 g by weight; males were collected in a size range of 15.73-51.41 mm LP and 0.091-2.97 g by weight. Largest size range was 10-29 mm standard length. The females presented a negative allometric growth; the males presented an isometric growth. Hyperhalinity of the water did not seem to affect the reproduction process of *P. mexicana*, since mature females were found with oocytes, eggs, and embryos, some of them presenting superfecundation. Fertility was recorded between 12-179 oocytes/female, 8-162 eggs/female and 29-72 embryos/female. Condition factor was positively correlated with the standard length and weight. This species can be classified as a detritivorous consumer that supplements its diet with minimal proportions of diatoms.

KEYWORDS: Laguna El Llano, Poeciliidae, Shortfin Molly, Veracruz.

INTRODUCCIÓN

Los estuarios son ecosistemas de alta productividad. Su dinámica ambiental está controlada por combinaciones temporales de factores físicos, hidrológicos y meteorológicos que determinan patrones ecológicos cambiantes (Brito, 2012), por lo que se ven como mosaicos naturales compuestos por distintos hábitats que aportan servicios ecosistémicos a las poblaciones de peces como zonas de refugio, crianza y alimentación (Needles *et al.*, 2015). Las especies marinas son las más numerosas en las comunidades estuarinas de peces, que ocupan estos hábitats en las fases jóvenes de sus ciclos de vida; en contraste, se afirma que las especies de origen dulceacuícola se encuentran en número reducido y en abundancias bajas solo cuando hay aportes consistentes de agua dulce (Potter *et al.*, 2015), por lo que se califican como especies en tránsito o visitantes accidentales (Whitfield, 2015).

Sin embargo, varias especies de la familia Poeciliidae son capaces de colonizar estuarios desde la costa Atlántica de los Estados Unidos hasta Argentina e islas del mar Caribe. En particular, el género *Poecilia* es nativo de hábitats dulceacuícolas y algunas especies como *P. sphenops*, *P. latipinna* y *P. mexicana* se han registrado en otros estuarios del golfo de México (Rodríguez-Varela *et al.*, 2010; Vega-Cendejas *et al.*, 2013; Chávez-López *et al.*, 2015). Hasta ahora, no se ha reconocido la tolerancia a la salinidad de *P. mexicana*, por lo que en este escrito se describen características de la ecología de esta especie dulceacuícola en el estuario Laguna El Llano de Veracruz, México, bajo condiciones de hiperhalinidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estuario Laguna El Llano (ELEL) se localiza a 19°40' 05" N y 96°23' 54" O, en el municipio de Actopan, Veracruz (Figura 1). Es un cuerpo de agua de 226 ha y la profundidad en los márgenes internos es menor de 1 m de profundidad, pero en el canal central alcanza un intervalo de profundidad que varía estacionalmente de 2 a 4 m.

El clima es cálido húmedo con lluvias en verano (Aw2) (García, 2004), la precipitación anual media es de 1286 mm y la temperatura media anual de 24 °C. En la región se diferencian tres estaciones climáticas: la cálida transcurre entre abril y junio; la de lluvias, entre julio y octubre, y la estación fría sucede de noviembre a marzo (Morán-Silva *et al.*, 2005). Precisamente en esta estación se forma una barra

INTRODUCTION

Estuaries are highly productive ecosystems. Their environmental dynamics are controlled by temporal combinations of physical, hydrological, and meteorological factors that are determined to change ecological patterns (Brito, 2012), which is why they are seen as natural mosaics made up of different habitats that provide ecosystem services to fish stocks as a refuge, breeding, and feeding areas (Needles *et al.*, 2015). Marine species are the most numerous in estuarine fish communities, which occupy these habitats in the young phases of their life cycles; in contrast, it is stated that species of freshwater origin are in reduced numbers and low abundances only when there are consistent contributions of freshwater (Potter *et al.*, 2015), which is why they are classified as species in transit or as accidental visitors (Whitfield, 2015).

However, several species in the family Poeciliidae are capable of colonizing estuaries from the Atlantic coast of the United States to Argentina and islands in the Caribbean Sea. In particular, the genus *Poecilia* is native to freshwater habitats and some species such as *P. sphenops*, *P. latipinna* and *P. mexicana* have been recorded in other estuaries in the Gulf of Mexico (Rodríguez-Varela *et al.*, 2010; Vega-Cendejas *et al.*, 2013; Chávez-López *et al.*, 2015). Until now, the tolerance to salinity of *P. mexicana* has not been recognized, so this paper describes characteristics of the ecology of this freshwater species in the Laguna El Llano estuary of Veracruz, Mexico, under hyperhalinity conditions.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The Laguna El Llano (ELEL) estuary is located at 19°40'05" N and 96° 23'54" W, in the municipality of Actopan, Veracruz (Figure 1). It is a 226 ha body of water and the depth at the internal margins is less than 1 m deep, but in the central channel, it reaches a depth interval that varies seasonally from 2 to 4 m.

The climate is warm humid with rains in summer (Aw2) (García, 2004), the average annual precipitation is 1286 mm and the average annual temperature is 24 °C. Three climatic seasons are different in the region: the warm one runs between April and June, the rainy season between July and October, and the cold season occurs from November to March (Morán-Silva *et al.*, 2005).

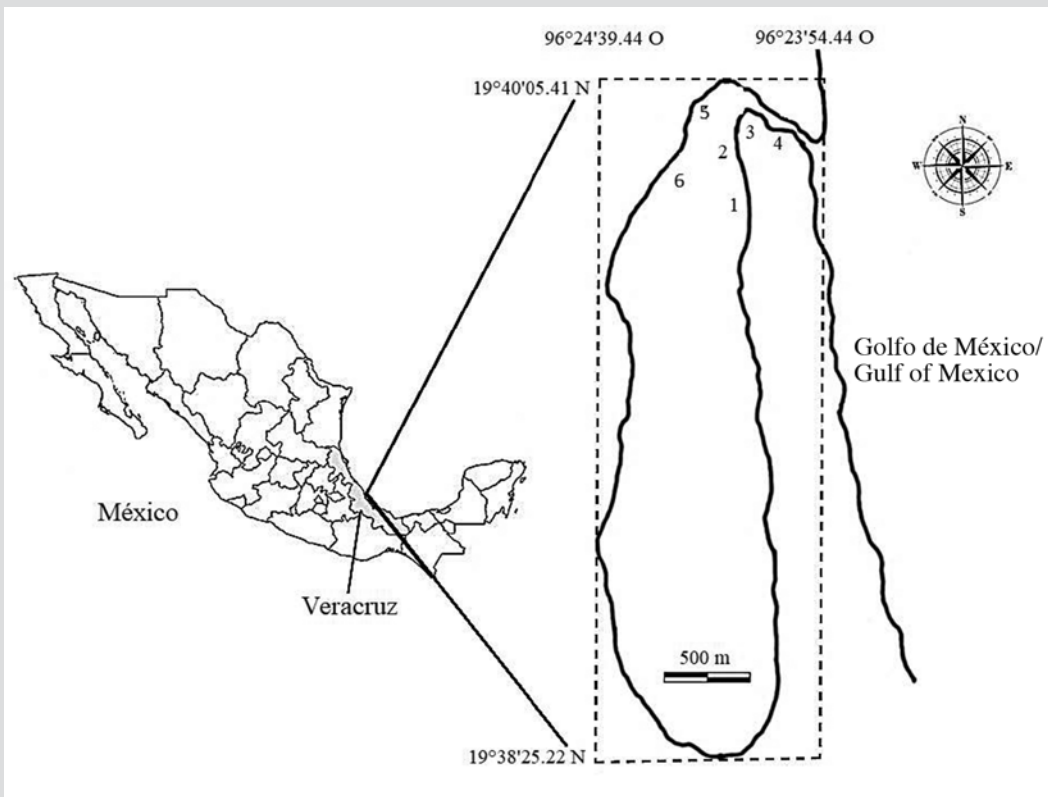


Figura 1. Ubicación del estuario Laguna El Llano (ELEL), municipio de Actopan, Veracruz, México. Los números indican los sitios de muestreo (SM1-SM6) en mayo de 2013.

Figure 1. Location of the Laguna El Llano estuary (ELEL), Actopan municipality, Veracruz, Mexico. The numbers indicate the sampling sites (SM1-SM6) in May 2013..

arenosa en la boca de comunicación del estuario debido a procesos sedimentarios costeros. Por esta característica geomorfológica, aquí se usa la definición de estuario de Potter *et al.* (2010), que alude al aislamiento temporal del estuario y a la potencialidad de que este evento provoque condiciones de hiperhalinidad.

Los especímenes de *P. mexicana* solo se colectaron en mayo de 2013. Este fue el muestreo inicial de una investigación sobre la comunidad de peces de ELEL que se realizó entre ese mes y mayo de 2014. Las recolectas se realizaron en seis sitios de muestreo (SM) cercanos a riberas de mangle rojo *Rhizophora mangle* y de mangle negro *Avicennia germinans*, caracterizados por fondos lodosos y cercanos a arrecifes del ostión *Crassostrea virginica*. El muestreo se restringió a profundidades menores de 1,2 m; no se extendió hacia la zona sur del estuario debido a lo somero de la columna de agua (menos de 30 cm) y a la consistencia lodosa (> 1 m) del horizonte superior del sustrato. Los SM se ubicaron con un GPS Garmin 10X GPS. También se registró el oxígeno disuelto (mg/L) y la temperatura del agua (°C) con un oxímetro Oakton DO 300 con precisión de 0,1 °C; salinidad (UPS), con un refractómetro Vista A366ATC con

Precisely at this season, a sandy bar forms at the mouth of the estuary due to coastal sedimentary processes. For this geomorphological feature, the definition of the estuary by Potter *et al.* (2010) is used here. That alludes to the temporary isolation of the estuary and the potential that this event causes hyperhalinity conditions.

The specimens of *P. mexicana* were only collected in May 2013. This was the initial sampling of an investigation on the ELEL fish community that was carried out between that month and May 2014. The collections were made in six sampling sites (SM) near the banks of the red mangrove *Rhizophora mangle* and the black mangrove *Avicennia germinans*, characterized by muddy bottoms and close to reefs of the *Crassostrea virginica* oyster. Sampling was restricted to depths less than 1.2 m; it did not extend to the southern part of the estuary due to the shallowness of the water column (less than 30 cm) and the muddy consistency (> 1 m) of the upper horizon of the substratum. The SMs were located with a Garmin 10X GPS. Dissolved oxygen (mg/L) and water temperature (°C) was also recorded with an Oakton DO 300 oximeter with 0.1 °C accuracy; salinity (UPS) with a Vista

precisión de 0,1 UPS; turbidez, con un turbidímetro La Motte 2020 (UNT) con precisión de 0,1 UNT; pH, con un pHmetro Oakton pH 110 Meter con precisión de 0,1 unidad de pH, y profundidad (cm), con una sonda Echotest II Plastimo con precisión de 0,1 cm. Las categorías de salinidad se definieron con base en la propuesta del Sistema de Venecia (Ito, 1959).

Los especímenes fueron capturados usando una red de arrastre tipo chinchorro de 25 m de largo por 2 m de alto con una luz de malla de 6,5 mm. Se procuró que el área de colecta en cada SM fuese de 300 m²; solo en la SM 2 fue de 125 m². Todos los especímenes colectados se colocaron en hielo y luego en frascos con etanol al 70 %. En el laboratorio se lavaron, se fijaron con formalina al 5 % y se almacenaron en etanol al 70 %. Los especímenes se identificaron con Álvarez del Villar (1970) y Miller *et al.* (2009). Cada pez se midió con una escala en longitud patrón (LP) hasta 0,01 mm. El peso individual (P), de las gónadas (PG) y del hepatopáncreas (PH) se midieron con una balanza electrónica Cole-Parmer Simmetry con precisión de 0,001 g. La diferencia de P menos PG se tomó como el peso somático (PS).

Análisis estadístico

Se estableció la estructura por tallas separando a los organismos en intervalos de 10 mm de longitud. Las tallas se definieron usando el método de análisis de frecuencias de Pope *et al.* (2010). El crecimiento relativo se evaluó con base en la relación biométrica LP vs. P, donde LP fue la variable independiente. Esta relación biométrica se ajustó usando una función potencial ($Y = aX^b$), donde a es la ordenada al origen (coeficiente de crecimiento inicial) y b es la pendiente (coeficiente de crecimiento o también llamado coeficiente de alometría). Los valores de LP y P se transformaron a logaritmos y el resultado de la relación lineal se ajustó con una regresión de mínimos cuadrados usando P como variable dependiente (Le Creen, 1951; Ricker, 1975). El grado de asociación entre las variables se estableció mediante el coeficiente de determinación (r^2). Se calcularon las relaciones LP vs. P para toda la muestra de peces y por cada sexo.

Para probar la hipótesis de crecimiento isométrico se usó una prueba de t student probando $H_0: b = 3$ contra $H_1: b \neq 3$ con $n-1$ grados de libertad y un nivel de significancia de $P = 0,05$. De la misma manera, para determinar si ocurrieron diferencias entre los valores de b de machos y hembras, se probó $H_0: b_{\text{machos}} - b_{\text{hembras}} = 0$, lo que indica diferencias entre las pendientes; contra $H_1: b_{\text{machos}} - b_{\text{hembras}} \neq 0$, que indica diferencias en el valor de b entre los grupos. Además se usó una prueba de ANCOVA para comparar las

A366ATC refractometer with 0.1 UPS accuracy; turbidity with a La Motte 2020 (UNT) turbidimeter with 0.1 UNT accuracy; pH with an Oakton pH 110 Meter with 0.1 pH unit accuracy, and the depth (cm) was recorded with an Echotest II Plastimo probe with a precision of 0.1 cm. The salinity categories were defined based on the proposal of the Venice System (Ito, 1959).

Specimens were captured using a 25 m long by 2 m high seine net with a 6.5 mm mesh span. It was tried that the collection area in each SM was 300 m²; only in SM 2 it was 125 m². All the collected specimens were placed on ice and then in bottles with 70 % ethanol. In the laboratory they were washed, fixed with 5 % formalin and stored in 70 % ethanol. The specimens were identified with Álvarez del Villar (1970) and Miller *et al.* (2009). Each fish was measured with a standard length scale (LP) up to 0.01 mm. The individual weight (P), the gonads (PG), and the hepatopancreas (PH) were measured with a Cole-Parmer Simmetry electronic balance with a precision of 0.001 g. The difference of P minus PG was taken as the somatic weight (PS).

Statistical analysis

The size structure was established by separating the organisms in 10 mm length intervals. The sizes were defined using the frequency analysis method of Pope *et al.* (2010). Relative growth was evaluated based on the biometric relationship LP vs. P, where LP was the independent variable. This biometric relationship was adjusted using a potential function ($Y = aX^b$), where a is the ordinate to the origin (initial growth coefficient) and b is the slope (growth coefficient or also called coefficient of allometry). The LP and P values were transformed into logarithms and the result of the linear relationship was adjusted with a least-squares regression using P as the dependent variable (Le Creen, 1951; Ricker, 1975). The degree of association between the variables was established utilizing the determination coefficient (r^2). The LP vs. P ratios were calculated for the entire fish sample and each sex.

To test the isometric growth hypothesis, a student's t-test was used, testing $H_0: b = 3$ against $H_1: b \neq 3$ with $n-1$ degrees of freedom and a significance level of $P = 0.05$. In the same way, to determine if differences occurred between the values of b of males and females, H_0 was tested: $b_{\text{males}} - b_{\text{females}} = 0$, indicating differences between the slopes, against $H_1: b_{\text{males}} - b_{\text{females}} \neq 0$, indicating



diferencias entre las relaciones biométricas de LP vs. P entre sexos usando LP como covariado. Todos los procedimientos estadísticos se calcularon con el programa PAST (Hammer *et al.*, 2001) con significancia de $P = 0,05$.

Se estimó el factor de condición de Fulton K, que se usó para comparar el bienestar de los peces con la suposición de que un pez más pesado a una longitud determinada tiene mejor condición (Le Creen, 1951), de acuerdo con la ecuación:

$$K = 100 \frac{PT}{LP^b}$$

Donde,

P = peso de cada pez en g

LP = longitud patrón individual en mm

b se usó como la constante de crecimiento relativo y el factor 100, para escalar K a la unidad. Este modelo se aplicó por separado al grupo de machos y de hembras, usando el valor respectivo del coeficiente de alometría *b*.

Los valores individuales de K de machos y hembras se correlacionaron a sus valores respectivos de LP y P como variables independientes. El Índice Gonadosomático (IGS, De Vlaming *et al.*, 1982) de machos y hembras también se correlacionó con LP, P, PS, PG y PH (Vazzoler, 1996). En todos los casos se usó la prueba de correlación de Pearson con $P = 0,05$.

La madurez gonádica y los estadios de desarrollo embrionario se definieron con base en los criterios de Riesch *et al.* (2011). En las gónadas de 50 hembras se contaron los ovocitos y embriones. Con estos registros se estimó la fecundidad.

La composición de la dieta se determinó con el método numérico de rejilla (Trujillo-Jiménez y Toledo, 2007). Los tipos alimentarios se identificaron al nivel taxonómico más preciso posible. Las especies de diatomeas se identificaron con Prescott (1978) y Bellinger y Sigeo (2010). La composición de la dieta entre tallas se comparó con una prueba ANDEVA de una vía con $P = 0,05$.

RESULTADOS

Los registros hidrológicos de mayo de 2013 correspondieron a agua cálida, ligeramente alcalina, bien oxigenada e hiperhalina (Tabla 1). En junio de 2013, la barra arenosa se desintegró y se reanudó el intercambio de agua entre el estuario con la plataforma marina.

differences in the value of *b* between the groups. Also, an ANCOVA test was used to compare the differences between the biometric relationships of LP vs. P between sexes, using LP as a covariate. All statistical procedures were calculated with the PAST program (Hammer *et al.*, 2001) with a significance of $P = 0.05$.

The Fulton K condition factor was estimated, which was used to compare the welfare of the fish with the assumption that a heavier fish at a given length has a better condition (Le Creen, 1951), according to the equation:

$$K = 100 \frac{PT}{LP^b}$$

Where,

P = weight of each fish in g

LP = individual standard length in mm

b was used as the relative growth constant and factor 100 is used to scale K to unity. This model was applied separately to the group of males and females, using the respective value of the allometric coefficient *b*.

The individual values of K of males and females were correlated to their respective values of LP and P as independent variables. The Gonadosomatic Index (IGS, De Vlaming *et al.*, 1982) of males and females was also correlated to LP, P, PS, PG and PH (Vazzoler, 1996). In all cases the Pearson's correlation test was used with $P = 0.05$.

Gonadic maturity and stages of embryonic development were defined based on the criteria of Riesch *et al.* (2011). Oocytes and embryos were counted in the gonads of 50 females. With these records, fertility was estimated.

The composition of the diet was determined with the numerical grid method (Trujillo-Jiménez and Toledo, 2007). Food types were identified at the most precise taxonomic level possible. Diatom species were identified with Prescott (1978) and Bellinger and Sigeo (2010). Diet composition between sizes was compared with a one-way ANOVA test with $P = 0.05$.

RESULTS

The hydrological records for May 2013 corresponded to warm, slightly alkaline, well-oxygenated and hyperhaline water (Table 1). In June 2013 the sandy bar disintegrated and the exchange of water between the estuary and the marine platform resumed.

Tabla 1. Registros hidrológicos en ELEL para mayo de 2013 durante la fase de boca estuarina cerrada. UNT: Unidades Nefelométricas de Turbidez, UPS: Unidades Prácticas de Salinidad, DS: Desviación Estándar.

	SM 1	SM 2	SM 3	SM 4	SM 5	SM 6	Promedio/Average ± DS
pH	7.59	8.49	7.6	7.61	7.6	7.62	7.75 ± 0.36
O ₂ mg/L	8.22	8.91	10.2	9.5	9.86	10.01	9.45 ± 0.76
T °C	30.2	31.9	31.5	31.8	31.9	31.4	31.45 ± 0.65
Turbidez/Turbidity (UNT)	23	19.1	13.6	10.37	10.45	29.1	17.60 ± 7.52
Salinidad/Salinity (UPS)	71	74	72	70	76	76	73.17 ± 2.56

Poecilia mexicana solo se colectó en mayo de 2013 y fue la especie más abundante. También se obtuvieron otras tres especies: *Mugil cephalus*, *Centropomus undecimalis* y *Lutjanus griseus*. De los 170 individuos, 128 fueron hembras en un intervalo de LP de 4,28-59,21 mm y de 0,04-5,48 g P y 42 fueron machos en un intervalo de 15,73-51,41 mm LP y de 0,091-2,97 g P. Las clases de talla de 10-19 y 20-29 mm LP fueron las más numerosas. Los organismos de estos intervalos agruparon al 90,5 % de la abundancia de los machos y al 79,7 % de la abundancia de las hembras (Tabla 2).

Tabla 2. Clases de talla y abundancia de *P. mexicana* en ELEL en mayo de 2013.

	Clase de talla/Size class	I	II	III	IV	V	VI
	LP mm	1-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59
Abundancia/Abundance	Machos/Males	0	6	32	2	1	1
	Hembras/Females	5	46	56	16	2	3

Las hembras de *P. mexicana* presentaron crecimiento alométrico negativo ($P < 0,001$) mientras que los machos tendieron hacia un crecimiento isométrico ($P < 0,001$) (Tabla 3). Los incrementos en peso no fueron diferentes entre machos y hembras ($P > 0,05$).

Tabla 3. Parámetros del modelo de crecimiento relativo (Peso P vs. Longitud Patrón LP) para hembras, machos y todos los individuos de *P. mexicana* en ELEL.

Grupo/Group	n	LPmin-LPmax ($\bar{x} \pm DE$)	Pmin-Pmax ($\bar{x} \pm DE$)	A	IC	b	IC	r ²	Relación prueba t/ Test relationship t ($P < 0.05$)
Hembras/Females	128	4.28-59.21 (22.62 ± 8.985)	0.04-5.48 (0.42 ± 0.624)	-3.073	(-3.649, -2.33)	1.878	(1.342, 2.305)	0.67	Alométrico negativo/ Negative allometric
Machos/Males	42	15.0-51.41 (25.01 ± 6.82)	0.91-2.97 (0.424 ± 0.51)	-4.623	(-4.736, -4.381)	2.914	(2.798, 3.055)	0.988	Isométrico/Isometric
Todos/All	170	4.28-59.21 (23.2 ± 8.54)	0.04-5.48 (0.42 ± 0.596)	-3.194	(-3.744, -2.444)	1.963	(1.424, 2.35)	0.697	Alométrico negativo/ Negative allometric

Table 1. Hydrological records in ELEL for May 2013 during the closed estuarine inlet phase. UNT: Nephelometric Turbidity Units, UPS: Practical Salinity Units, DS: Standard Deviation.

Poecilia mexicana was only collected in May 2013 and was the most abundant species. Three other species were also obtained: *Mugil cephalus*, *Centropomus undecimalis*, and *Lutjanus griseus*. Of the 170 individuals, 128 were females in an LP range of 4.28-59.21 mm and 0.04-5.48 g P and 42 were males that presented in an interval of 15.73-51.41 mm LP and 0.091-2.97 g P. The size classes of 10-19 and 20-29 mm LP were the most numerous. The organisms from these ranges grouped 90.5 % of the abundance of males and 79.7 % of the abundance of females (Tabla 2).

Table 2. Size classes and abundance of *P. mexicana* in ELEL in May 2013.

Females of *P. mexicana* presented negative allometric growth ($P < 0.001$) while males tended towards isometric growth ($P < 0.001$) (Table 3). The weight increases were not different between males and females ($P > 0.05$).

Table 3. Parameters of the relative growth model (Weight P vs. Standard Length LP) for females, males, and all individuals of *P. mexicana* in ELEL.

El factor de condición K de las hembras se registró en un intervalo de 0,036-4,31 (promedio \pm DE: 0,33 \pm 0,488) y para los machos, de 0,86-2,64 (promedio \pm DE: 0,405 \pm 0,464). K se correlacionó positivamente a LP y P de hembras y machos ($P < 0.001$) (Figura 2a y Figura 2b).

The condition factor K of the females was recorded in a range of 0.036-4.31 (mean \pm SD: 0.33 \pm 0.488) and for males in a range of 0.86-2.64 (mean \pm SD: 0.405 \pm 0.464). K was positively correlated to LP and P of females and males ($P < 0.001$) (Figure 2a and Figure 2b).

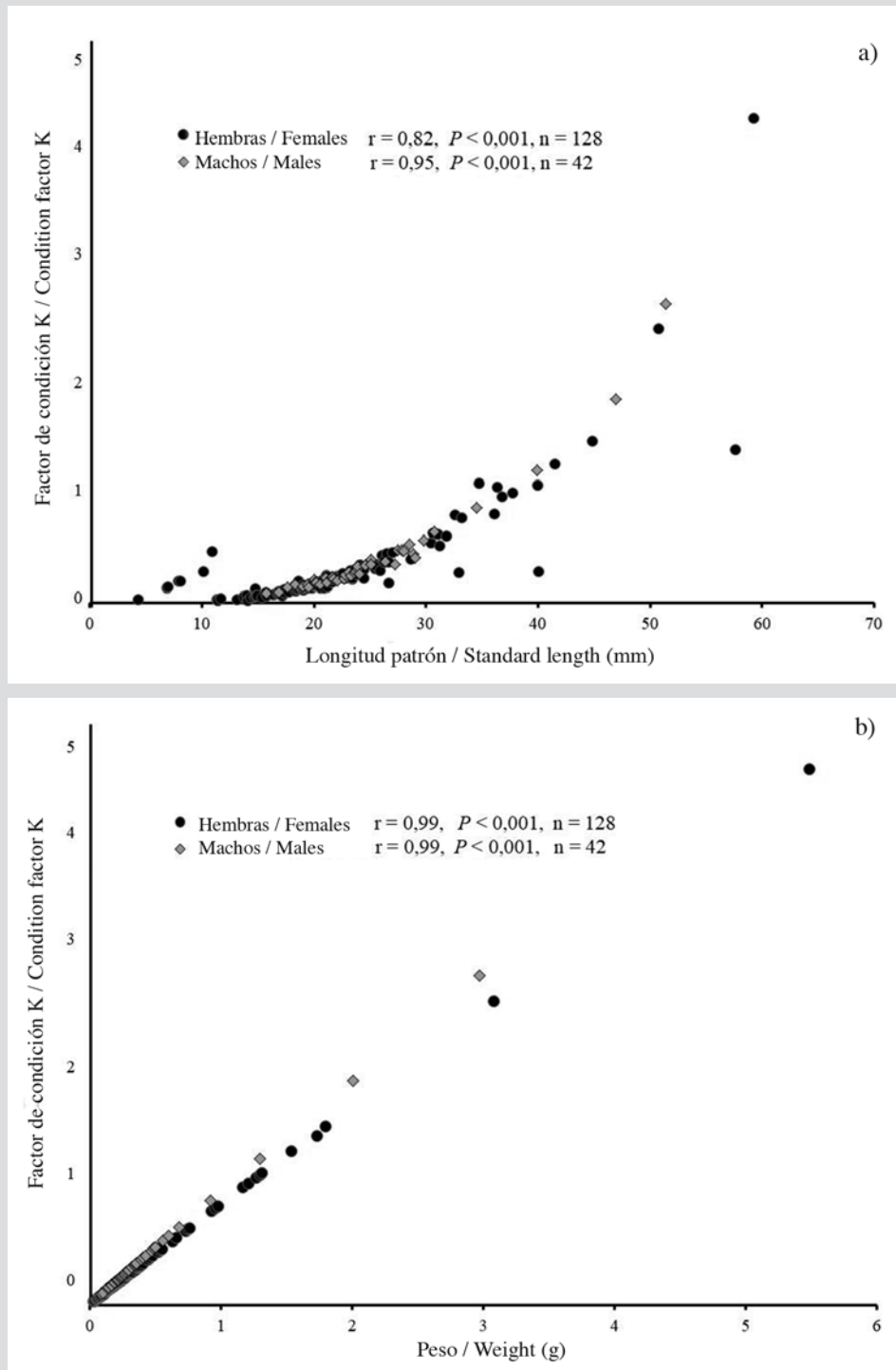


Figura 2. Factor de condición (K) por sexos de *P. mexicana* en ELEL. a) factor de condición K correlacionado a LP como variable independiente; b) factor de condición K correlacionado a P como variable independiente.

Figure 2. Condition factor (K) by sex of *P. mexicana* in ELEL. a) condition factor K correlated to LP as an independent variable; b) condition factor K correlated to P as an independent variable.

La LP de las hembras mostró relaciones positivas con PS, PG e IGS; por otro lado, el peso (P) tuvo una correlación alta con PS y una correlación positiva con PG, que a su vez mostró correlación positiva con IGS. Estos resultados indican que los incrementos de LP y P de las hembras no influyeron en el desarrollo gonádico. Todas las correlaciones fueron significativas ($P < 0,001$). En el caso de los machos, se encontraron correlaciones positivas entre LP y P respecto a PS, PG y PH. Las correlaciones con el índice gonadosomático fueron más altas entre LP y P respecto a PG e IGS. También todas las correlaciones fueron significativas ($P < 0,001$) (Tabla 4).

Tabla 4. Correlaciones entre variables somáticas y variables gonádicas de *P. mexicana* bajo condiciones de hiperhalinidad en ELEL.

	Hembras/Females			Machos/Males		
	n	r	P	n	R	P
LP vs. PS	50	0.85	< 0.001	42	0.79	< 0.001
LP vs. PG	38	0.77	< 0.001	19	0.68	< 0.001
LP vs. PH	39	0.56	< 0.001	20	0.72	< 0.001
P vs. PS	50	0.91	< 0.001	42	0.88	< 0.001
P vs. PG	38	0.64	< 0.001	19	0.82	< 0.001
P vs. PH	39	0.63	< 0.001	20	0.78	< 0.001
PS vs. PG	38	0.78	< 0.001	19	0.91	< 0.001
LP vs. IGS	38	0.66	< 0.001	19	0.57	< 0.001
PT vs. IGS	38	0.52	< 0.001	19	0.72	< 0.001
PS vs. IGS	38	0.59	< 0.001	19	0.87	< 0.001
PG vs. IGS	38	0.89	< 0.001	19	0.97	< 0.001

De 50 hembras revisadas, 11 no mostraron desarrollo gonádico. Las hembras con algún nivel de madurez gonádica estuvieron en intervalos de 13,7-34,7 mm LP y de 0,07-1,31 g P. Diez hembras entre 36,3-50,7 mm LP cargaban productos reproductivos como huevos y embriones. De estas últimas, en cuatro se encontraron embriones en diferentes niveles de desarrollo. Finalmente, una hembra de 50,69 mm LP presentó ovocitos, huevos y embriones. La fecundidad se registró entre 12-179 ovocitos/hembra (promedio 31,3 ovocitos/hembra), 8-162 huevos/hembra (promedio 54,3 huevos/hembra) y 29-72 embriones/hembra (promedio 51,2 embriones/hembra). Solo se encontró correlación positiva entre LP de las hembras con el número de ovocitos ($n = 7, r = 0,85, P < 0,05$).

La dieta de *P. mexicana* en ELEL se compuso principalmente de detritus (97,7 %). En la porción restante se encontraron diatomeas (1,5 %), algas no identificadas, foraminíferos y restos de crustáceos (0,26 % cada ítem). Las

The female LP showed positive relationships with PS, PG, and IGS; on the other hand, weight (P) had a high correlation with PS and a positive correlation with PG, which in turn showed a positive correlation with IGS. These results indicate that the increases of LP and P of the females did not influence the gonad development. All the correlations were significant ($P < 0.001$). In the case of males, positive correlations were found between LP and P with respect to PS, PG, and PH. The correlations with the gonadosomatic index were higher between LP and P with respect to PG and IGS. All the correlations were also significant ($P < 0.001$) (Table 4).

Table 4. Correlations between somatic variables and gonadic variables of *P. mexicana* under hyperhalinity conditions in ELEL.

Of 50 females reviewed, 11 did not show gonad development. Females with some level of gonad maturity were in intervals of 13.7-34.7 mm LP and 0.07-1.31 g P. Ten females between 36.3-50.7 mm LP loaded reproductive products such as eggs and embryos. Of the latter, in four embryos were found at different levels of development. Finally, a 50.69 mm LP female presented oocytes, eggs, and embryos. Fertility was recorded between 12-179 oocytes/female (average 31.3 oocytes/female), 8-162 eggs/female (average 54.3 eggs/female), and 29-72 embryos/female (average 51.2 embryos/female). Only positive correlation was found between female LP with the number of oocytes ($n = 7, r = 0.85, P < 0.05$).

The diet of *P. mexicana* in ELEL was mainly composed of detritus (97.7 %). In the remaining portion diatoms (1.5 %), unidentified algae, foraminifera, and crustacean remains (0.26 % each item) were found. The diatoms observed correspond to *Navicula radiosa*, *N.*

diatomeas observadas corresponden a *Navicula radiosa*, *N. chryptocephala*, *Diatoma hemiale*, *Surirella robusta* var. *splendida*, *Cymbella* sp. y *Nitzschia* sp. La comparación de la dieta entre las clases de talla no mostró diferencias ($P < 0,05$); esta composición alimentaria identifica a *P. mexicana* como un consumidor detritívoro.

DISCUSIÓN

Este es el primer registro de *P. mexicana* en aguas estuarinas hiperhalinas. Respecto a su tolerancia a la salinidad, Miller (1983) publicó su ocurrencia en estuarios del golfo de México. En escritos posteriores se ha registrado en salinidades menores a 15 UPS (Castro-Aguirre y Mora-Pérez, 1984; Rodríguez-Varela *et al.*, 2010; Aguirre-León *et al.*, 2014; Chávez-López *et al.*, 2015).

La capacidad de *P. mexicana* para soportar salinidades elevadas puede explicarse por procesos bioquímicos y morfológicos descritos en otras especies, como la secreción de carbohidratos en el intestino (Lavery y Skadhauge, 2015) que provoca la precipitación del calcio y aumenta la capacidad de absorber el cloruro de sodio de las aguas hipersalinas (Whittamore, 2012). Otras investigaciones consideran la reducción de la permeabilidad branquial mediante la regulación de los niveles de proteínas aquaporinas en los epitelios branquiales (Tipsmarck *et al.*, 2010; Verkman, 2012), que se pueden relacionar con cambios en las tasas de ingestión de agua que se incrementan en los peces que colonizan aguas salinas (Nordlie, 2006). Otras evidencias indican que disminuye la permeabilidad iónica de la superficie corporal y en las células secretoras de iones de las branquias, que son esenciales para eliminar grandes cantidades de sales en hábitats marinos e hiperhalinos (González, 2012).

La hiperhalinidad del agua no limitó la reproducción de *P. mexicana*. La evidencia aportada por las hembras al presentar ovocitos y embriones demuestra el uso de energía para procesos reproductivos, a pesar de que se propone que bajo condiciones de estrés ambiental el presupuesto energético se reorienta hacia el mantenimiento fisiológico basal (Stearns, 1992). Incluso los promedios del número de ovocitos (31,3 ovocitos/hembra) y de huevos (54,3 huevos/hembra) fueron similares a los encontrados en una laguna costera oligohalina de la región (Chávez-López *et al.*, 2015). Además, tanto el factor de condición como el peso gonádico se correlacionaron positivamente con los incrementos de longitud y de peso. Los intervalos

chryptocephala, *Diatoma hemiale*, *Surirella robusta* var. *splendida*, *Cymbella* sp., and *Nitzschia* sp. A comparison of diet between length classes showed no difference ($P < 0.05$); this food composition identifies *P. mexicana* as a detritivorous consumer.

DISCUSSION

This is the first record of *P. mexicana* in hyperhaline estuarine waters. Regarding its tolerance to salinity, Miller (1983) published its occurrence in estuaries of the Gulf of Mexico. In later writings, it has been recorded in salinities less than 15 UPS (Castro-Aguirre and Mora-Pérez, 1984; Rodríguez-Varela *et al.*, 2010; Aguirre-León *et al.*, 2014; Chávez-López *et al.*, 2015).

The ability of *P. mexicana* to withstand high salinities can be explained by biochemical and morphological processes described in other species, such as the secretion of carbohydrates in the intestine (Lavery and Skadhauge, 2015), which causes calcium precipitation and increases the ability to absorb the sodium chloride from hypersaline waters (Whittamore, 2012). Other investigations consider the reduction of branchial permeability by regulating the levels of aquaporin proteins in the branchial epithelia (Tipsmarck *et al.*, 2010; Verkman, 2012), which can be related to changes in the water ingestion rates that increase in fish that colonize saline waters (Nordlie, 2006). Other evidences indicate that it decreases the ionic permeability of the body surface and in the gill ion-secreting cells, that are essential to eliminate large amounts of salts in marine and hyperhaline habitats (González, 2012).

The hyperhalinity of the water did not limit the reproduction of *P. mexicana*. The evidence provided by the females when presenting oocytes and embryos demonstrates the use of energy for reproductive processes, although it is proposed that under conditions of environmental stress the energy budget should be reoriented towards basal physiological maintenance (Stearns, 1992). Even the averages of the number of oocytes (31.3 oocytes/female) and eggs (54.3 eggs/female) were similar to those found in an oligohaline coastal lagoon in the region (Chávez-López *et al.*, 2015). Furthermore, both the condition factor and the gonadal weight were positively correlated to the length and weight increases. The intervals of these two parameters were similar to those found in females collected in superficial aquatic and cave habitats in southern Mexico (Riesch *et al.*, 2006).

de estos dos parámetros fueron similares a los encontrados en hembras colectadas en hábitats acuáticos superficiales y de cavernas del sur de México (Riesch *et al.*, 2006).

El promedio de embriones (51,2 embriones/hembra) fue similar al encontrado para hembras del Sistema Lagunar de Alvarado (promedio 58,9 embriones/hembra). Estos valores contrastan con el intervalo de embriones portados por hembras que habitan aguas sulfurosas en cavernas (1-14 embriones) (Tobler y Plath, 2011). Aunque se hubiese esperado un número bajo de huevos y embriones en las hembras de ELEL por la influencia de la hiperhalinidad, los intervalos registrados en ELEL son más aproximados a los registrados en hábitats oligohalinos de la región, lo que indicaría un efecto mínimo de la salinidad en el esfuerzo reproductivo de las hembras.

En otros cyprinodontiformes se ha encontrado que esta respuesta implica altas inversiones de energía para la reproducción, pero el nivel de la condición corporal disminuye como en *Gambusia holbrooki* (Alcaraz y García-Berthou, 2007). Los aumentos de la salinidad crean niveles de estrés subletales que provocan un gasto de energía mayor por la osmoregulación adicional y reducen la energía destinada para la reproducción, el mantenimiento de la condición corporal y el aprovisionamiento lecitotrófico (Martin *et al.*, 2009).

El análisis de la dieta mostró que el detritus fue el alimento principal de *P. mexicana*, por lo que se le reconoce como consumidor detritívoro (Miller, 2009). Esta especie es capaz de modificar su dieta en diferentes condiciones hidrológicas con base en la disponibilidad de otros alimentos; por ejemplo, se encontraron diferentes especies de algas como alimento principal en especímenes del Sistema Lagunar de Alvarado, Veracruz (Chávez-López *et al.*, 2015). En condiciones extremas de cuevas con aguas sulfurosas de Tabasco, México, se consumieron artrópodos acuáticos principalmente, pero en cuevas con corrientes de agua dulce, se encontró un consumo combinado de detritus con guano de murciélago (Tobler, 2008). Con esta evidencia, la alimentación detritívora de *P. mexicana* destaca como una gran ventaja para sobrevivir en aguas hiperhalinas. Por la vasta disponibilidad del detritus en el estuario, el alimento deja de ser un factor ambiental limitante.

Con base en esta información, *P. mexicana* es una excepción a las razones que propone Whitfield (2015) para explicar por qué las especies de peces dulceacuícolas están subrepresentadas en los estuarios. La primera razón señala su incapacidad para soportar fisiológicamente intervalos amplios de salinidad. La información que se presenta aquí

The average of embryos (51.2 embryos/female) was similar to that found for females of the Alvarado Lagoon System (average 58.9 embryos/female). These values contrast with the interval of embryos carried by females that inhabit sulfurous waters in caverns (1-14 embryos) (Tobler and Plath, 2011). Although a low number of eggs and embryos would have been expected in ELEL females due to the influence of hyperhalinity, the intervals recorded in ELEL are more approximate to those recorded in oligohaline habitats in the region, which would indicate a minimal effect of salinity in the reproductive effort of females.

In other cyprinodontiforms, this response has been found to imply high energy investments for reproduction, but the level of body condition decreases as in *Gambusia holbrooki* (Alcaraz and García-Berthou, 2007). Increases in salinity create sub-lethal stress levels that lead to increased energy expenditure due to additional osmoregulation, reducing the energy destined for reproduction, maintenance of body condition, and lecithotrophic provisioning (Martin *et al.*, 2009).

Diet analysis showed that detritus was the main food for *P. mexicana*, which is why it is recognized as a detritivorous consumer (Miller, 2009). This specie is capable of modifying its diet under different hydrological conditions based on the availability of other foods; for example, different species of algae were found as the main food in specimens from the Lagunar System of Alvarado, Veracruz (Chávez-López *et al.*, 2015). Under extreme conditions in caves with sulphurous waters in Tabasco, Mexico, aquatic arthropods were mainly consumed, but in caves with freshwater currents, combined consumption of detritus with bat guano was found (Tobler, 2008). With this evidence, the detritivorous diet of *P. mexicana* stands out as a great advantage to survive in hyperhaline waters. Due to the vast availability of detritus in the estuary, food is no longer a limiting environmental factor.

Based on this information, *P. mexicana* is an exception to the reasons proposed by Whitfield (2015) to explain why freshwater fish species are underrepresented in estuaries. The first reason indicates its inability to withstand physiologically wide salinity intervals. The information presented here revealed the tolerance levels of this species. The second reason refers to adaptation to altered food resources in estuaries compared to freshwater systems. In the case of *P. mexicana*, its detritivorous habits facilitate this condition. The third reason indicates that freshwater



reveló los niveles de tolerancia de esta especie. La segunda razón se refiere a la adaptación a recursos alimentarios alterados en los estuarios comparados a los sistemas dulceacuícolas. En el caso de *P. mexicana*, sus hábitos detritívoros le facilitan esta condición. La tercera razón señala que las especies dulceacuícolas no son competidoras hábiles respecto a especies marinas y estuarinas en los estuarios. Aquí se demuestra lo contrario por la mayor abundancia registrada respecto a las especies marinas recolectadas, así como por el mantenimiento de sus procesos reproductivos. La cuarta razón se refiere a su posible combinación en ensamblajes de peces de origen marino y la última razón sugiere que las especies de agua dulce difícilmente logran superar los obstáculos ambientales entre los estuarios y las corrientes de agua dulce. La distribución de *P. mexicana* en esta región del golfo de México y su ocurrencia en hiperhalinidad señalan una gran capacidad para colonizar hábitats estuarinos en condiciones ambientales extremas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la cooperativa El Llano, Tinajitas y El Viejón, representada por el señor Faustino Carmona Prieto, por las facilidades para la colecta de los especímenes y al señor Sergio Montero “Chaleco” por su apoyo y asistencia durante el trabajo de campo. Este trabajo fue apoyado parcialmente por la División de Investigación de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

species are not skillful competitors with respect to marine and estuarine species in estuaries. Here, the contrary is demonstrated by the greater abundance registered for collected marine species, as well as by the maintenance of their reproductive processes. The fourth reason refers to their possible combination in assemblages of fish of marine origin and the last reason suggests that freshwater species are difficult to overcome environmental obstacles between estuaries and freshwater streams. The distribution of *P. mexicana* in this region of the Gulf of Mexico and its occurrence in hyperhalinity indicates a great capacity to colonize estuarine habitats in extreme environmental conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the El Llano, Tinajitas, and El Viejón Cooperative, represented by Mr. Faustino Carmona Prieto, for the facilities for collecting the specimens and Mr. Sergio Montero “Chaleco” for their support and assistance during the fieldwork. This work was partially supported by the Research Division of the Iztacala Faculty of Higher Studies, National Autonomous University of Mexico, Mexico.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Aguirre-León, A., H. E. Pérez-Ponce y S. Díaz-Ruiz. 2014. Heterogeneidad ambiental y su relación con la diversidad y abundancia de la comunidad de peces en un sistema costero del golfo de México. *Rev. Biol. Trop.*, 62(1): 145-163.
- Alcaraz, C. and E. García-Berthou. 2007. Life history variation of invasive mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) along a salinity gradient. *Biol. Conserv.*, 139: 83-92.
- Álvarez, J. 1970. Peces mexicanos (claves). Instituto Nacional de Investigaciones Biológicas y Pesqueras, México. 166 p.
- Bellinger, G.B. and D.C. Sigeo. 2010. Freshwater algae. Identification and use as bioindicators. Oxford University Press. UK. 271 p.
- Brito, A. C. 2012. A changing definition of estuary? Adjusting concepts to intermittently closed and open coastal systems. *J. Ecosyst. Ecogr.*, 2(1): 1000e106. doi: 10.4172/2157-7625.1000e106
- Castro-Aguirre, J.L. y C. Mora-Pérez. 1984. Relación de algunos parámetros hidrometeorológicos con la abundancia y distribución de peces en la Laguna de la Mancha, Veracruz. *An. Esc. Nal. Cienc. Biol. Méx.*, 75: 657- 702.
- Chávez-López, R., A. Rocha-Ramírez and H. Cortés-Garrido. 2015. Some ecology features of *Poecilia mexicana* Steindachner, 1863 (Osteichthyes: Poeciliidae) from Alvarado Lagoonal System, Veracruz, Mexico. *Am. J. Life Sci.*, 3(2): 76-84.
- De Vlaming, V., G. Grossman and F. Chapman. 1982. On the use of the gonosomatic index. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73A: 31 -39.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 91 p.
- González, R. 2012. The physiology of hyper-salinity tolerance in teleost fish: a review. *J. Comp. Physiol. B*, 182: 321-329.
- Hammer, Ø., D.A.T. Harpe and P.D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleont. Electr.*, 4: 9.

- Ito, T. 1959. The Venice system for the classification of marine waters according to salinity: Symposium on the classification of brackish waters, Venice, 8-14 April 1958. Jap. J. Limnol., 20(3): 119-120.
- Lavery, G. and E. Skadhauge. 2015. Hypersaline environments: 85-106. En: Riesch, R., M. Tobler and M. Plath (Eds.). Extremophile fishes. Springer International Publishing, Switzerland. 325 p.
- Le Cren, E. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). J. Anim. Ecol., 66: 1504-1512.
- Martin, S.B., A.T. Hitch, K.M. Purcell, P.L. Klerks and P.L. Leberg. 2009. Life history variation along a salinity gradient in coastal marshes. Aq. Biol., 8: 15-28. doi: 10.3354/ab00203
- Miller, R.R. 2009. Peces dulceacuicolas de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Sociedad Ictiológica Mexicana A.C., El Colegio de la Frontera Sur y Consejo de los Peces del Desierto México-Estados Unidos. México. 559 p.
- Miller, R.R. 1983. Checklist and key to the mollies of Mexico (Pisces: Poeciliidae: *Poecilia*, subgenus *Mollienesia*). Copeia, (3): 817-822. Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/1444354>
- Morán-Silva, A., L. Martínez-Flores, R. Chávez-López, F. Contreras, F. Gutiérrez, N. Brown-Peterson and M. Peterson. 2005. Seasonal and spatial patterns in salinity, nutrients, and chlorophyll-*a* in the Alvarado Lagoonal System, Veracruz, México. Gulf Carib. Res., 17: 133-143.
- Needles, L.A., S.E. Lester, R. Ambrose, A. Andren, M. Connor, J. Eckman, B. Costa-Pierce, S.D. Gaines, M.S. Peterson, A. Scaroni, J. Weis and D.E. Wendt. 2015. Managing bay and estuarine ecosystems for multiple services. Estuar. Coast. 38(Suppl.1): S35-S48. doi: 10.1007/s12237-013-9602-7
- Nordlie, F.G. 2006. Physicochemical environments and tolerances of cyprinodontoid fishes found in estuaries and salt marshes of eastern North America. Rev. Fish Biol. Fish., 16: 51-106.
- Pope, K.L., S.E. Lochman and M.K. Young. 2010. Methods for assessing fish populations: 325-351. In: Quist, M.C. and W.A. Hubert (Eds.). Inland fisheries management in North America. American Fisheries Society, Maryland. 736 p.
- Potter, I.C., B.M. Chuwena, S.D. Hoeksema and M. Elliott. 2010. The concept of an estuary: A definition that incorporates systems which can become closed to the ocean and hypersaline. Estuar. Coast. Shelf Sci., 87(3): 497-500.
- Potter, I.C., J.R. Tweedley, M. Elliott and A.K. Whitfield. 2015. The ways in which fish use estuaries: a refinement and expansion of the guild approach. Fish Fish., 16(2): 230-239. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/faf.12050/full>
- Prescott, G.W. 1978. How to know the freshwater algae. W. C. Brown Co., Iowa. 293 p.
- Ricker, W.E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Fisheries and Marine Service, Ottawa. 382 p.
- Riesch, R., I. Schlupp, M. Tobler and M. Plath. 2006. Reduction of the association preference for conspecifics in cave-dwelling Atlantic mollies, *Poecilia mexicana*. Behav. Ecol. Sociobiol., 60(6): 794-802. doi:10.1007/s00265-006-0223-z.
- Riesch, R., I. Schlupp, R.B. Langerhans and M. Plath. 2011. Shared and unique patterns of embryo development in extremophile poeciliids. PLoS ONE, 6(11): e27377. doi:10.1371/journal.pone.0027377
- Rodríguez-Varela, A.C., A. Cruz-Gómez and H. Vázquez-López. 2010. List of ichthyofauna in the Sontecomapan lagoon, Veracruz, México. Biocyt, 3(9): 107-121.
- Stearns, S.C. 1992. The evolution of life histories. Oxford University Press, Oxford. 249 p.
- Tipsmark, C.K., K.J. Sørensen and S.S. Madsen. 2010. Aquaporin expression dynamics in osmoregulatory tissues of Atlantic salmon during smoltification and seawater acclimation. J. Exp. Biol., 213:368- 379.
- Tobler, M. 2008. Divergence in trophic ecology characterizes colonization of extreme habitats. Biol. J. Linn. Soc., 95: 517-528.
- Tobler, M. and M. Plath. 2011. Living in extreme environments: 120-127. In: Evans, J., A. Pilastro and I. Schlupp (Eds.): Ecology and evolution of poeciliid fishes. Chicago University Press, Chicago. 424 p.
- Trujillo-Jiménez, P. y B.H. Toledo. 2007. Alimentación de los peces dulceacuicolas tropicales *Heterandria bimaculata* y *Poecilia sphenops* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). Rev. Biol. Trop., 55(2): 603-615.
- Vazzoler, A. 1996. Biología da reprodução da peixes teleosteos. EDUEM, São Paulo. 169 p.
- Vega-Cendejas, M.E., M. Hernández de Santillana and S. Norris. 2013. Habitat characteristics and environmental parameters influencing fish assemblages of karstic pools in southern Mexico. Neotrop. Ichthyol., 11(4): 859-870.
- Verkman, A.S. 2011. Aquaporins at a glance. J. Cell Sci., 124:2107-2112.
- Whitfield, A.K. 2015. Why are there so few freshwater fish species in most estuaries? J. Fish Biol., 86: 1227-1250. doi:10.1111/jfb.12641.
- Whittamore, J.M. 2012. Osmoregulation and epithelial water transport: lessons from the intestine of marine teleost fish. J. Comp. Physiol. B, 182: 1-39.



Evaluación de la estructura comunitaria de las esponjas marinas en parches arrecifales del Caribe sur, Costa Rica

Evaluation of the community structure of marine sponges in reef patches of the southern Caribbean, Costa Rica

Alexander Araya-Vargas^{1*}, Linnet Busutil², Andrea García-Rojas¹, José Miguel Pereira Chaves¹ y Liliana Piedra-Castro¹

0000-0001-7481-1699

0000-0002-9222-3230

0000-0003-3451-7094

0000-0001-7609-4224

0000-0003-4878-1531

1. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. alex.araya.vargas@gmail.com *Autor para correspondencia.
2. Departamento de Biología, Instituto de Ciencias del Mar, La Habana, Cuba.

RESUMEN

Las esponjas marinas cumplen un gran número de funciones críticas para los arrecifes coralinos. A su vez, las variaciones en la estructura comunitaria de los poríferos pueden indicar cambios en las condiciones ambientales de los ecosistemas donde habitan. Sin embargo, su estudio ha sido escaso en el Caribe de Costa Rica, principalmente en el ámbito ecológico. Por tanto, se evaluó la estructura comunitaria de estos organismos en cuatro parches arrecifales (Perezoso, Pequeño, Coral Garden y el 0,36) y se determinó si podía ser explicada por la sedimentación, el sustrato y la profundidad. Se calculó la abundancia relativa (AR) y la cobertura relativa (CR) para cada especie, la densidad de esponjas e índices de diversidad (riqueza de especies, heterogeneidad de Shannon, equitatividad de Pielou y dominancia de Simpson) para cada sitio de muestreo. Se comparó la similitud entre sitios respecto a las abundancias relativas de esponjas *versus* sedimentación, sustrato y profundidad. Se encontraron 13 nuevos registros de esponjas para el país. Perezoso presentó la mayor cobertura de esponjas (CR = 6,1 %) compuesta principalmente por *Cliona caribbaea* (CR = 2,0 %) y con *Niphates erecta* como especie dominante (AR = 59,3 %). La riqueza de especies aumentó a medida que aumentaba la profundidad en los sitios. Perezoso y Coral Garden mostraron la mayor similitud en cuanto a la abundancia de especies y compartieron a *N. erecta*, *Iotrochota birotulata* y *Scopalina ruetzleri* como las especies más abundantes. Asimismo, compartieron las mayores frecuencias de aparición (40 %) de esponjas perforadoras del género *Siphonodictyon* y la presencia de la especie bioerosionadora *C. caribbaea*. La similitud entre Perezoso y Coral Garden podría estar influenciada en mayor medida por la alta disponibilidad de pavimento calcáreo como sustrato predominante (48 < PC % < 67), el cual parece favorecer la abundancia de esponjas heterotróficas y generalistas, así como la de especies perforadoras y bioerosionadoras.

PALABRAS CLAVE: Porífera, arrecife de coral, sedimentación, sustrato, profundidad.

ABSTRACT

Marine sponges fulfill many critical functions to coral reefs. In turn, variations in the community structure of the poriferans may indicate changes in the environmental conditions of the ecosystems where they live. However, their study has been scarce in the Caribbean of Costa Rica, mainly in the ecological field. Therefore, the community structure of these organisms was evaluated in four reef patches (Perezoso, Pequeño, Coral Garden, and the 0.36) and it was determined whether it could be explained by sedimentation, substrate, and depth. Relative abundance (RA) and relative coverage (RC) for each species, sponge density, and diversity indices (species richness, Shannon heterogeneity, Pielou's evenness, and Simpson's dominance) were calculated for each sampling site. Similarity between sites was compared to the relative abundance of sponges versus sedimentation, substrate, and depth. 13 new sponge records were found for the country. Perezoso had the highest sponge coverage (RC = 6.1 %) composed mainly by *Cliona caribbaea* (RC = 2.0 %) and with *Niphates erecta* as the dominant species (RA = 59.3 %). Species richness increased as site depth increased. Perezoso and Coral Garden showed the biggest similarity in terms of species abundance and shared *N. erecta*, *Iotrochota birotulata* and *Scopalina ruetzleri* as the most abundant species. These sites also shared the highest occurrence frequencies (40 %) of excavating sponges of the genus *Siphonodictyon* and the presence of the boring species *C. caribbaea*. Similarity between Perezoso and Coral Garden could be influenced to a greater extent by the high availability of calcareous pavement as a predominant substrate (48 < PC % < 67), which seems to favor the abundance of heterotrophic and generalist sponges, as well as that of excavating species and boring sponges.

KEYWORDS: Porifera, coral reef, sedimentation, substrate, depth.

DOI: 1025268/bimc.invemar.2020.49.1.773

Publicado por INVEMAR

Este es un manuscrito de acceso abierto bajo la licencia CC Reconocimiento-No Comercial-Compartir Igual

Published by INVEMAR

This is an open Access article under the CC BY-NC-SA

INTRODUCCIÓN

Las esponjas (filo Porifera) conforman uno de los grupos de animales sésiles más diversos y abundantes de los fondos marinos, y se encuentran en ecosistemas tan importantes y diversos como los manglares, pastos marinos, arrecifes de coral y mar profundo (Díaz, 2012; Cruz-Barraza *et al.*, 2012; Carballo *et al.*, 2014). Para los arrecifes coralinos del mar Caribe se han registrado más de 325 especies de esponjas, y se considera que la diversidad y biomasa de estos organismos en dicho ecosistema puede exceder a la de los corales escleractíneos (orden Scleractinia) y a la de los octocorales (subclase Octocorallia) (Cedro *et al.*, 2007; Cortés *et al.*, 2009; Díaz, 2012). En países de la región caribeña, como Belice, Colombia, Cuba y Panamá, se han desarrollado estudios taxonómicos exhaustivos en arrecifes donde se han registrado más de 90 especies (Rützler *et al.*, 2000; Alcolado, 2002; Díaz, 2005; Valderrama y Zea, 2013).

A su vez, los poríferos cumplen roles fundamentales dentro de los ecosistemas arrecifales. Estos brindan refugio a larvas, juveniles y adultos de muchos otros organismos; filtran grandes volúmenes de agua, por lo que se consideran descontaminadores; constituyen alimento para algunos peces, tortugas (*Eretmochelys imbricata*) e invertebrados; sirven de sustrato; contribuyen a incorporación de material particulado al fondo; y establecen variadas e importantes relaciones simbióticas con otros organismos. Dado que cumplen tan diversas funciones dentro de los arrecifes y otros ecosistemas, resulta de vital importancia el estudio de sus comunidades (Díaz y Rützler, 2001; Rützler, 2004; Wulff, 2006, 2012; Bell, 2008).

Sin embargo, las investigaciones sobre las esponjas marinas de Costa Rica han sido muy escasas y, específicamente para el Caribe costarricense, solo existen seis trabajos sobre las esponjas del litoral (Risk *et al.*, 1980; Loaiza, 1989, 1991; Cortés, 1996; Van der Hal, 2006; Cortés *et al.*, 2009). Además, no se conocen estudios que aborden aspectos ecológicos o de aprovechamiento de estos organismos en los arrecifes coralinos costarricenses. Entre los trabajos que más han aportado al conocimiento de este grupo en el Caribe del país se encuentran los realizados por Loaiza (1989, 1991), los cuales describen 17 especies de la clase Demosporia para isla Uvita y Puerto Vargas en el Caribe costarricense. Cortés (1996) registró 38 especies de esponjas marinas para esta región del país a partir de revisiones bibliográficas, identificación de ejemplares preservados en el Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica,

INTRODUCTION

Sponges (phylum Porifera) make up one of the most diverse and abundant groups of sessile animals on the seabed and are found in ecosystems as important and diverse as mangroves, seagrasses, coral reefs and the deep sea (Díaz, 2012; Cruz-Barraza *et al.*, 2012; Carballo *et al.*, 2014). For the coral reefs of the Caribbean Sea, more than 325 species of sponges have been registered, and it is considered that the diversity and biomass of these organisms in reef ecosystems may exceed that of scleractinian corals (order Scleractinia) and that of octocorals (subclass Octocorallia) (Cedro *et al.*, 2007; Cortés *et al.*, 2009; Díaz, 2012). In countries of the Caribbean region, such as Belize, Colombia, Cuba and Panama, exhaustive taxonomic studies have been carried out on reefs where more than 90 species have been registered (Rützler *et al.*, 2000; Alcolado, 2002; Díaz, 2005; Valderrama and Zea, 2013).

In turn, poriferans play fundamental roles within reef ecosystems. These provide refuge for larvae, juveniles, and adults of many other organisms; they filter large volumes of water, which is why they are considered decontaminators; they constitute food for some fish, turtles (*Eretmochelys imbricata*) and invertebrates; they serve as a substrate; contribute to the incorporation of particulate material into the bottom, and they establish varied and important symbiotic relationships with other organisms. Given that they fulfill such diverse functions within reefs and other ecosystems, the study of their communities is vitally important (Díaz and Rützler, 2001; Rützler, 2004; Wulff, 2006, 2012; Bell, 2008).

However, research on sea sponges in Costa Rica has been very scarce and, specifically for the Costa Rican Caribbean, there are only six works on shoreline sponges (Risk *et al.*, 1980; Loaiza, 1989, 1991; Cortés, 1996; Van der Hal, 2006; Cortés *et al.*, 2009). Also, there are no known studies that address ecological aspects or the use of these organisms in coral reefs. Among the works that have contributed the most to the knowledge of this group in the country's Caribbean are those carried out by Loaiza (1989, 1991), which describe 17 species of the Demosporia class for Uvita island and Puerto Vargas in the Costa Rican Caribbean. Cortés (1996) recorded 38 species of sea sponges for this region of the country from bibliographic reviews, identification of specimens preserved in the Zoology Museum of the University

consultas a expertos y trabajos en progreso durante ese momento. Por su lado, Van der Hal (2006) ha sido el único en realizar un estudio ecológico sobre esponjas marinas para su tesis, específicamente en los pastos marinos y arrecifes someros (1-4 m) de la costa caribeña. Posteriormente, Cortés *et al.* (2009) registraron 65 especies para el Caribe costarricense comprendidas en una clase, dos subclases, 10 órdenes, 29 familias y 45 géneros. En dichos estudios, los autores concluyeron sobre la necesidad de realizar más investigaciones, principalmente relacionadas con las especies presentes, su distribución, estado de conservación y ecología.

La poca información ecológica generada para el filo Porifera en Costa Rica ha resultado en el desconocimiento del valor ecológico para el desarrollo de planes de manejo de este grupo, y en el poco aprovechamiento de estos organismos como posible fuente de ingresos económicos para las comunidades costeras. Las esponjas, al ser seres sésiles, filtradoras, de amplia distribución, persistentes en el tiempo, de rápido crecimiento y con tasas de cambio en su cubrimiento del fondo, reflejan las condiciones promedio del ambiente. Por tales motivos, variaciones en su estructura comunitaria pueden indicar cambios en las condiciones ambientales de los ecosistemas donde habitan (Alcolado, 2007). Considerando lo anterior, surge la necesidad de desarrollar un estudio de línea base donde se evalúe la estructura comunitaria de las esponjas marinas en los parches arrecifales del Caribe sur costarricense y se determine si puede ser explicada por la influencia de factores abióticos como la sedimentación, el sustrato y la profundidad. Los resultados de este estudio conformarán un insumo importante para el desarrollo de pautas para la conservación y el uso de las esponjas marinas en el país.

ÁREA DE ESTUDIO

El Caribe sur costarricense se caracteriza por poseer playas arenosas con algunas protuberancias rocosas de arrecifes de coral fósil, dos islas cerca de la costa con formaciones coralinas, además de sustratos calcáreos, arenosos y sedimentos terrígenos costa afuera (Cortés y Wehrtmann, 2009). El clima es húmedo (70-100 %) y caluroso, con temperaturas máximas de 32 °C; presenta dos estaciones lluviosas (noviembre a marzo y junio a agosto) con un promedio de 2500 mm anuales en la parte sur (Cortés y Wehrtmann, 2009; Cortés *et al.*, 2010). Las mareas son de tipo mixto, con diurnas predominantes, las cuales varían entre los 30 y 50 cm de amplitud (Fonseca, 2003; Cortés y

of Costa Rica, consultations with experts, and work in progress during that time. For his part, Van der Hal (2006) has been the only one to carry out an ecological study on sea sponges for his thesis, specifically in seagrasses and shallow reefs (1-4 m) in the Caribbean area. Subsequently, Cortés *et al.* (2009) recorded 65 species for the Costa Rican Caribbean included in one class, two subclasses, 10 orders, 29 families, and 45 genera. In these studies, the authors concluded on the need for more research, mainly related to the species present, their distribution, conservation status, and ecology.

The little ecological information generated for the Porifera ridge in Costa Rica has resulted in ignorance of the ecological value for the development of management plans for this group, and the little use of these organisms as a possible source of economic income for coastal communities. The sponges, being sessile, filtering beings, of wide distribution, persistent in time, of fast growth and with rates of change in their bottom coverage, reflect the average conditions of the environment. For these reasons, variations in their community structure may indicate changes in the environmental conditions of the ecosystems where they inhabit (Alcolado, 2007). Considering the above, the need arises to develop a baseline study evaluating the community structure of sea sponges in the reef patches of the Costa Rican South Caribbean and determining if it can be explained by the influence of abiotic factors such as sedimentation, substrate, and depth. The results of this study will form an important input for the development of guidelines for the conservation and use of sea sponges in the country.

STUDY AREA

The Costa Rican South Caribbean is characterized by having sandy beaches with some rocky protrusions of fossil coral reefs, two islands near the coast with coral formations, in addition to calcareous, sandy substrates and terrigenous offshore sediments (Cortés and Wehrtmann, 2009). The climate is humid (70-100 %) and hot, with maximum temperatures of 32 °C; it presents two rainy seasons (November to March and June to August) with an average of 2500 mm per year in the southern part (Cortés and Wehrtmann, 2009; Cortés *et al.*, 2010). The tides are of mixed type, with predominant diurnal ones, which vary between 30 and 50 cm in width (Fonseca, 2003; Cortés and Wehrtmann, 2009; Cortés *et al.*, 2010). Also, the current

Wehrtmann, 2009; Cortés *et al.*, 2010). Además, la corriente cercana a la costa es fuerte, así como el oleaje que genera; y se mueve de noroeste a sureste (Fonseca, 2003; Cortés *et al.*, 2010).

Los arrecifes de esta región pueden dividirse en dos secciones: los parches de arrecife y bancos carbonatados del Parque Nacional Cahuita, y los arrecifes de franja, parches, crestas algales y bancos carbonatados entre Puerto Viejo y Punta Mona. Dentro de estos arrecifes se han registrado en total 41 especies de corales escleractíneos y 26 de octocorales (Cortés y Jiménez, 2003; Cortés y Wehrtmann, 2009).

Dentro del área descrita, se identificaron y georreferenciaron cuatro parches arrecifales con presencia de esponjas marinas (Tabla 1, Figura 1) mediante premuestreos (febrero-abril de 2015) y consultas a *tour*-operadores, buzos y pescadores locales con extenso conocimiento del área marina. Estos sitios, además, se caracterizaron por ser importantes para la economía de la zona debido a la actividad pesquera y turística. Dos de los sitios (Pequeño y el 0,36) quedaron ubicados fuera de áreas protegidas, donde no existe un control sobre las actividades que se realizan (Figura 1).

near the coast is strong, as well as the waves it generates; and it moves from northwest to southeast (Fonseca, 2003; Cortés *et al.*, 2010).

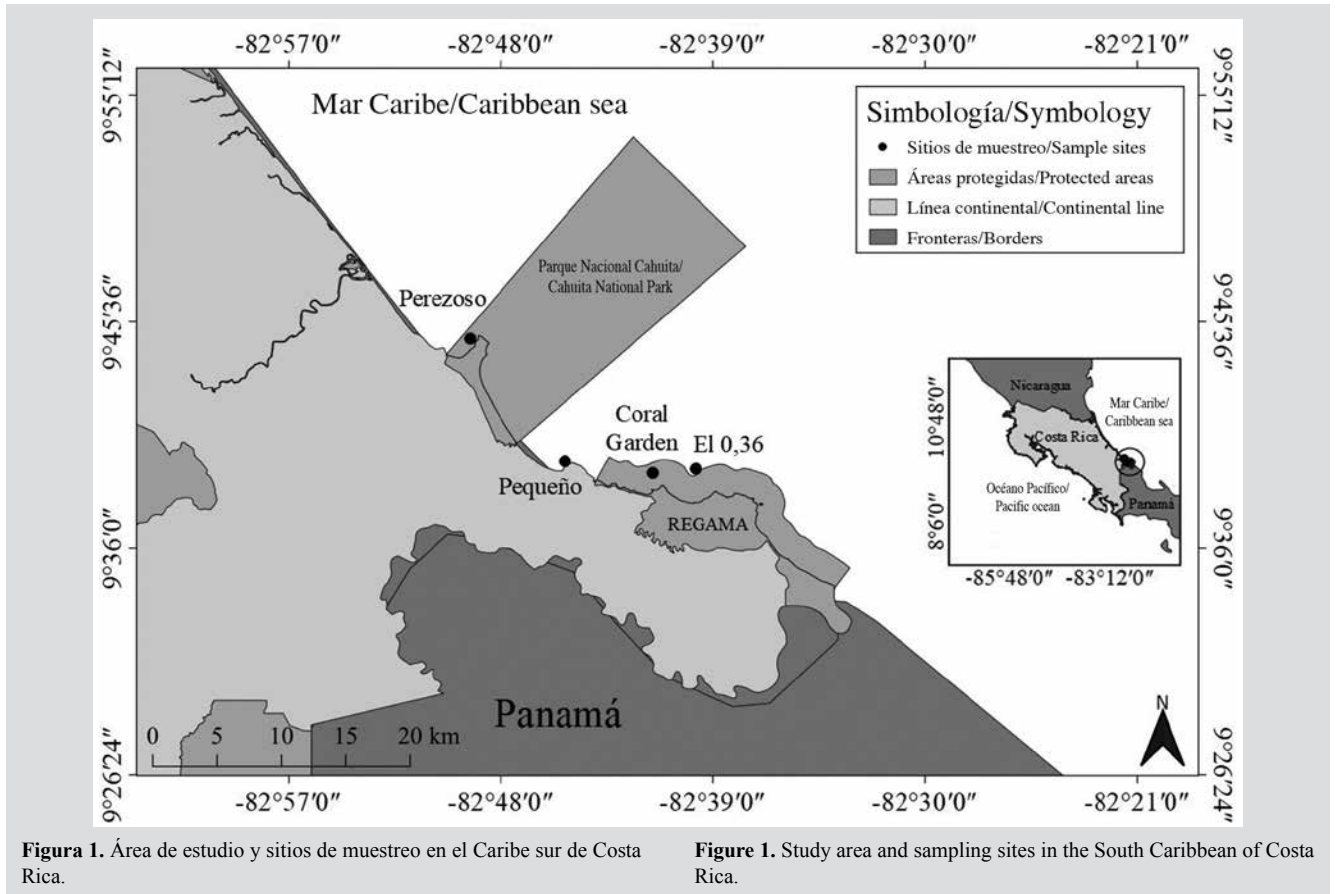
The reefs of this region can be divided into two sections: the reef patches and carbonate banks of the Cahuita National Park, and the fringe reefs, patches, algal crests and carbonate banks between Puerto Viejo and Punta Mona. A total of 41 species of scleractinian corals and 26 octocorals have been registered within these reefs (Cortés and Jiménez, 2003; Cortés and Wehrtmann, 2009).

Within the described area, four reef patches with the presence of sea sponges were identified and georeferenced (Table 1, Figure 1) through presampling (February-April 2015) and consultations with local tour operators, divers, and fishermen with extensive knowledge of the marine area. These sites, also, were characterized by being important for the economy of the area due to fishing and tourist activity. Two of the sites (Pequeño and 0.36) were located outside of protected areas, where there is no control over the activities carried out (Figure 1).

Tabla 1. Caracterización de los sitios de muestreo

Sitio/Site	Poblado/Town	Área protegida/Protected area	Coordenadas/Coordinates	Profundidad promedio/Average depth	Descripción/Description
Barrera de coral Perezoso/Perezoso barrier reef (Perezoso)	Cahuita	Parque Nacional Cahuita/Cahuita National Park (PNC)	9°44'52.476" N y 82°49'18.624" O	6 m	Pared externa de la barrera arrecifal con alta sedimentación y visitación turística/External wall of the reef barrier with high sedimentation and tourist visitation.
Pequeño	Puerto Viejo	Ninguna/None	9°39'41.112" N y 85°45'17.748" O	5 m	Parche de arrecife pequeño, aproximadamente a 100 m de la costa. Gran abundancia de octocorales/Pequeño reef patch, approximately 100 m from the coast. Great abundance of octocorals.
Coral Garden	Punta Uva	Refugio Nacional de Vida Silvestre Gandoca-Manzanillo/Gandoca-Manzanillo National Wildlife Refuge (REGAMA)	9°39'11.124" N y 82°41'33.936" O	18 m	Pared carbonatada con alta riqueza de corales. Utilizada para el buceo recreativo/Carbonate wall with high coral richness. Used for recreational diving.
El 0,36	Manzanillo	Ninguna/None	9°39'21.564" N y 82°39'44.64" O	8 m	Plataforma arrecifal carbonatada cubierta con arena gruesa. Fuertes corrientes. Importante para la pesca local/Carbonated reef platform covered with coarse sand. Strong currents. Important for local fishing.

Table 1. Characterization of the sampling sites



MATERIALES Y MÉTODOS

Metodología de muestreo y análisis de las muestras

El muestreo se desarrolló con buceo autónomo (SCUBA) en los meses de octubre de 2015 y mayo de 2016, cuando las condiciones oceánicas y atmosféricas del Caribe sur fueron óptimas (i.e. baja precipitación, bajo o nulo oleaje y alta visibilidad). Se realizaron cinco foto-transectos de banda de 10 m de longitud por 1 m de ancho en cada uno de los sitios de muestreo, con una cámara subacuática Nikon COOLPIX AW130. Los transectos se establecieron por medio de un diseño aleatorio sistemático basado en la metodología de monitoreo Caricom (2001). Como unidad de muestreo se utilizó un marco de 1 m², elaborado con tubos y codos de PVC y con agujeros cada 10 cm para facilitar su hundimiento en el agua. El marco fue subdividido en un total de 100 cuadrículas de 0,01 m² utilizando una cuerda delgada, la cual se entrecruzaba entre los agujeros en forma de red (modificado de Weinberg, 1981).

Las fotografías de los marcos de 1 m² fueron analizadas posteriormente para cuantificar el número de individuos y estimar el porcentaje de cobertura total

MATERIALS AND METHODS

Sampling methodology and sample analysis

The sampling was carried out with autonomous diving (SCUBA) in October 2015 and May 2016, when the oceanic and atmospheric conditions of the South Caribbean were optimal (i.e. low precipitation, low or no waves, and high visibility). Five 10 m long by 1 m wide band photo-transects were recorded at each of the sampling sites with a Nikon COOLPIX AW130 underwater camera. The transects were established utilizing a systematic random design based on the CARICOMP (2001) monitoring methodology. A 1 m² frame was used as the sampling unit, made with PVC tubes and elbows, and with holes every 10 cm to facilitate its submergence in the water. The frame was subdivided into a total of 100 0.01 m² grids using a thin rope, which intersected between the holes in the form of a network (modified from Weinberg, 1981).

The photographs of the 1 m² frames were subsequently analyzed to quantify the number of individuals and estimate the percentage of total coverage by sponge species or by type of substrate available, using the 0.01 m²

por especie de esponja o por tipo de sustrato disponible, utilizando como referencia las cuadrículas de $0,01 \text{ m}^2$ con una precisión de hasta $0,001 \text{ m}^2$. El porcentaje de cobertura del sustrato disponible fue clasificado en pavimento calcáreo desnudo, pavimento calcáreo con sedimentos, pavimento calcáreo con arena gruesa y fondo con sedimentos.

Las especies de esponjas fueron identificadas visualmente hasta el taxón más bajo posible utilizando la guía propuesta por Collin *et al.* (2005) y el sitio web www.spongeguide.org (Zea *et al.*, 2014). Así mismo, se colectaron en bolsas plásticas previamente rotuladas los especímenes que no pudieron ser identificados *in situ* y se anotaron las siguientes características: forma, color en vivo, consistencia y tipo de superficie; según los criterios de Loaiza (1991). Posteriormente, las muestras de esponjas fueron preservadas en alcohol al 90 % y llevadas al Laboratorio de Recursos Naturales y Vida Silvestre (LARNAVISI), de la Universidad Nacional de Costa Rica, para su identificación con base en la morfología externa de las esponjas y la morfometría de las espículas, según lo propuesto por Boury-Esnault y Rützler (1997), Hooper y Van Soest (2002) y Díaz (2005). Para la preparación de las espículas se tomaron al menos tres fragmentos de aproximadamente 2 cm^2 , correspondientes a distintas partes de la esponja, los cuales se digirieron en hipoclorito de sodio de uso comercial al 3 % por un mínimo de 30 minutos. Seguidamente, las preparaciones fueron observadas al microscopio de luz en portaobjetos para identificar y medir las espículas correspondientes a cada muestra. Las esponjas que no pudieron ser identificadas taxonómicamente se separaron y agruparon según sus características morfológicas externas y sus espículas, y se les asignó un nombre compuesto por la palabra “especie” y un número entero consecutivo.

Determinación de las tasas de sedimentación

Con el fin de determinar si había alguna relación entre la sedimentación y la abundancia de esponjas, se determinaron las tasas de sedimentación por sitio mediante una modificación a la metodología propuesta por Garzón-Ferreira *et al.* (2002). La misma consistió en el uso de dos trampas de sedimento por sitio, colocadas a la profundidad promedio donde se encontraban las esponjas (Tabla 1). Se aseguró que todas las trampas de sedimento se recolectaran transcurrido el mismo número de días, con una duración de al menos un mes, cuando las condiciones oceanográficas así lo permitieran; o en su defecto, en un máximo de cuatro meses.

Los sedimentos se transportaron hacia el LARNAVISI donde se tamizaron con un colador de 1 mm de ojo de malla.

grids as a reference with an accuracy of up to 0.001 m^2 . The percentage of available substrate coverage was classified into the bare calcareous pavement, calcareous pavement with sediments, calcareous pavement with coarse sand, and bottom with sediments.

Sponge species were visually identified to the lowest possible taxon using the guideline proposed by Collin *et al.* (2005) and the website www.spongeguide.org (Zea *et al.*, 2014). Likewise, specimens that could not be identified *in situ* were collected in previously labeled plastic bags and the following characteristics were noted: shape, live color, consistency, and type of surface; according to the criteria of Loaiza (1991). Subsequently, the sponge samples were preserved in 90 % alcohol and taken to the Laboratory of Natural Resources and Wildlife (LARNAVISI), National University of Costa Rica, for identification based on external morphology of the sponges and morphometry of the spicules, as proposed by Boury-Esnault and Rützler (1997), Hooper and Van Soest (2002) and Díaz (2005). For the preparation of the spicules, at least three fragments of approximately 2 cm^2 were taken, corresponding to different parts of the sponge, which were digested in 3 % sodium hypochlorite for commercial use for a minimum of 30 minutes. Next, the preparations were observed under a light microscope on slides to identify and measure the spicules corresponding to each sample. Sponges that could not be taxonomically identified were separated and grouped according to their external morphological characteristics and their spicules, and they were assigned a name consisting of the word “species” and a consecutive integer.

Determination of sedimentation rates

To determine if there was any relationship between sedimentation and sponge abundance, sedimentation rates per site were determined through a modification to the methodology proposed by Garzón-Ferreira *et al.* (2002). It consisted of the use of two sediment traps per site, placed at the average depth where the sponges were found (Table 1). It was ensured that all the sediment traps were collected after the same number of days, with a duration of at least one month, when oceanographic conditions allowed it; or failing that, in a maximum of four months.

The sediments were transported to LARNAVISI where they were sieved with a 1 mm mesh eye strainer. Subsequently, the sediments were subjected to two washing sessions by precipitation in freshwater for two days to

Posteriormente, se sometieron a dos sesiones de lavado por precipitación en agua dulce durante dos días para eliminar su contenido de sal. Seguidamente, se les retiró el agua con ayuda de una manguera de hule, se colocaron en *beakers* de 100 ml previamente pesados y se secaron en un horno a 90 °C durante tres días. Finalmente, usando una balanza analítica Setra BL-410S, se determinó el peso seco en gramos. La tasa de sedimentación se calculó a partir de la siguiente ecuación corregida de Garzón-Ferreira *et al.* (2002):

$$TFS = \frac{W \text{ g (1000 mg)}}{1 \text{ g}} \frac{1}{AB} \frac{1}{ND}$$

Donde,

TFS: tasa de sedimentación por fracción (mg/cm²/día)

W: peso (g)

AB: área de la boca de la trampa

ND: número de días que la trampa estuvo bajo el mar

Las tasas de sedimentación fueron calculadas considerando el número de días durante los cuales estuvo sumergida la trampa. Esto permitió realizar comparaciones entre las diferentes trampas a pesar de que fueron retiradas tras transcurrir diferentes tiempos: entre uno y cuatro meses.

Procesamiento de los datos

Para cada una de las especies de esponjas por sitio se calculó la abundancia relativa porcentual (AR %) y se estimó el porcentaje de cobertura relativa (CR %), así como las densidades (individuos/m²) totales de esponjas por sitio. Además, se calcularon los siguientes índices: riqueza de especies (S), heterogeneidad de Shannon (H') (Shannon, 1948), equitatividad de Pielou (J') (Pielou, 1969) y dominancia de Simpson (D) (Simpson, 1949), para determinar la diversidad de esponjas por sitio. Estos índices fueron seleccionados para cuantificar, interpretar y comparar la diversidad de las comunidades de esponjas de este estudio con la registrada por otros autores en arrecifes caribeños. Asimismo, los valores de estos índices permitirán realizar comparaciones sobre esta misma área en futuras investigaciones, y detectar si ocurrieron cambios en el tiempo. Adicionalmente, se aplicaron los criterios propuestos por Alcolado (1999; 2007) para determinar el grado de severidad y pronosticabilidad ambiental de los sitios. Este método consiste en un diagrama de inferencia obtenido de un gráfico de dispersión de pares de valores H' y J', el cual se subdivide en 11 zonas o clases de inferencia que reflejan qué tan severas y constantes son las condiciones para las esponjas marinas en el sitio (Alcolado, 2007).

De estos análisis, excepto del índice S, se excluyeron las esponjas del género *Siphonodictyon*, pues debido a su

eliminar su contenido de sal. Subsecuentemente, el agua fue removida con la ayuda de una manguera de goma, se colocaron en vasos previamente pesados y se secaron en un horno a 90 °C durante tres días. Finalmente, usando una balanza analítica Setra BL-410S, se determinó el peso seco en gramos. La tasa de sedimentación se calculó a partir de la siguiente ecuación corregida por Garzón-Ferreira *et al.* (2002):

$$TFS = \frac{W \text{ g (1000 mg)}}{1 \text{ g}} \frac{1}{AB} \frac{1}{ND}$$

Where,

TFS: sedimentation rate per fraction (mg/cm²/day)

W: weight (g)

AB: trap mouth area

ND: number of days the trap was under the sea

Sedimentation rates were calculated considering the number of days during which the trap was submerged. This allowed comparisons to be made between the different traps even though they were removed after different times, between one and four months.

Data processing

For each of the sponge species per site, the relative percentage abundance (AR %) was calculated and the relative coverage percentage (CR %) was estimated; as well as the total densities (individuals/m²) of sponges per site. Also, the following indices were calculated: species richness (S), Shannon heterogeneity (H') (Shannon, 1948), Pielou fairness (J') (Pielou, 1969), and Simpson (D) dominance (Simpson, 1949), to determine sponge diversity by the site. These indices were selected to quantify, interpret, and compare the diversity of the sponge communities in this study with that recorded by other authors in Caribbean reefs. Likewise, the values of these indices will allow comparisons to be made on this same area in future investigations, and to detect if changes occur over time. Additionally, the criteria proposed by Alcolado (1999; 2007) were applied to determine the degree of severity and environmental predictability of the sites. This method consists of an inference diagram obtained from a scatter plot of pairs of H' and J' values, which is subdivided into 11 zones or classes of inference that reflect how severe and constant the conditions are for marine sponges on the site (Alcolado, 2007).

From these analyzes, except for the S index, sponges of the *Siphonodictyon* genus were excluded, because due to their perforating habit and the development of a large part of their tissues within the substrate they

hábito perforador y al desarrollo de gran parte de sus tejidos dentro del sustrato que habitan, no fue posible determinar con exactitud el número de individuos, ni estimar su cobertura (Hofman y Kielman, 1992). Por esto, se decidió modificar la metodología y solo registrar su frecuencia de aparición (%) mediante la siguiente ecuación:

$$FA\% = \frac{NCE}{TC} 100$$

Donde,

FA %: Porcentaje de frecuencia de aparición

NCE: Número de marcos de 1m² con presencia de la esponja perforadora

TC: Total de marcos de 1m² por sitio de muestreo

La determinación del grado de similitud entre sitios consideró las abundancias relativas de todas las especies de esponjas en cada sitio. Se usó el índice de similitud Bray-Curtis como medida de la afinidad entre sitios y el ligamiento promedio como método de fusión de los pares de muestras; así como la prueba de Simprof con un nivel de significación del 5 % para determinar si el agrupamiento entre sitios era significativo. Para comparar la similitud de las variables de profundidad, porcentaje de sustrato disponible y tasa de sedimentación *versus* las abundancias relativas de esponjas entre sitios, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCO) (Anderson *et al.*, 2008). Este método revela los tamaños relativos y las direcciones de efectos en diseños experimentales complejos sin trazar las muestras. El análisis se realizó con los programas Primer v7 vs Permanova add-on (Primer-E Ltd, Plymouth, UK).

RESULTADOS

Especies registradas

En un total de 200 unidades de muestreo, se cuantificaron 3048 individuos y se identificaron 43 especies correspondientes a dos clases, a 11 órdenes, a 22 familias y a 28 géneros, según la clasificación propuesta por Morrow y Cárdenas (2015) (Anexo 1). De las 43 especies, 28 ya habían sido reportadas para el Caribe costarricense, 13 fueron nuevos registros (Tabla 2), dos fueron identificadas solo hasta género, y ocho especies no pudieron ser identificadas taxonómicamente.

Cobertura y abundancias relativas

La cobertura total del sustrato por parte de las esponjas no sobrepasó el 6,1 % en ninguno de los sitios, siendo Perezoso y Pequeño (3,0 %) aquellos con mayor y

inhabit, it was not possible to determine exactly the number of individuals, nor estimate their coverage (Hofman and Kielman, 1992). Therefore, it was decided to modify the methodology and only record its occurrence frequency (%) using the following equation:

$$FA\% = \frac{NCE}{TC} 100$$

Where,

FA %: Occurrence frequency percentage

NCE: Number of 1m² frames with the presence of the perforating sponge

TC: Total frames of 1m² per sampling site

The determination of the degree of similarity between sites considered the relative abundances of all sponge species at each site. The Bray-Curtis similarity index was used as a measure of the affinity between sites and the average linkage as the fusion method of the samples pairs; as well as the Simprof test with a significance level of 5 % to determine if the grouping between sites was significant. To compare the similarity of the depth variables, percentage of the available substrate, and sedimentation rate versus the relative abundances of sponges between sites, a principal coordinate analysis (PCO) was performed (Anderson *et al.*, 2008). This method reveals the relative sizes and directions of effects in complex experimental designs without plotting the samples. The analysis was performed with the PRIMER v7 vs PERMANOVA add-on programs (PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK).

RESULTS

Registered species

In a total of 200 sampling units, 3048 individuals were quantified and 43 species corresponding to two classes, 11 orders, 22 families, and 28 genera were identified, according to the classification proposed by Morrow and Cárdenas (2015) (Annex 1). Of the 43 species, 28 had already been reported for the Costa Rican Caribbean, 13 were new records (Table 2), two were identified only up to genus, and eight species could not be taxonomically identified.

Coverage and relative abundances

The total coverage of the substrate by the sponges did not exceed 6.1 % in any of the sites, with Perezoso and Pequeño (3.0 %) being the sites with the highest and lowest coverage, respectively (Table 2). The species with the



menor cobertura, respectivamente (Tabla 2). Las especies con mayor abundancia relativa en Perezoso fueron *Niphates erecta* (59,3 %), *Iotrochota birotulata* (14,0 %) y *Scopalina ruetzleri* (5,2 %). *I. birotulata* (1,1 %) y *N. erecta* (1,8 %) también presentaron las mayores coberturas relativas en este sitio junto con *C. caribbaea* (2,0 %) (Tabla 2).

En el caso de Pequeño, *Ircinia felix* (15,9 %), la Especie 4 (13,3 %) y *S. ruetzleri* (12,3 %), tuvieron mayores abundancias relativas. Sin embargo, de estas esponjas, sólo *I. felix* (1,0 %) y la Especie 4 (0,8 %) mostraron las mayores coberturas relativas, seguidas de *Haliclona caerulea* (0,2 %) (Tabla 2).

En Coral Garden, *N. erecta* (28,4 %), *I. birotulata* (13,7 %) y *S. ruetzleri* (12,2 %) presentaron las mayores abundancias relativas, similar que en Perezoso. La especie *Svenzea zeai* solo fue registrada en este sitio, donde presentó la mayor cobertura relativa (1,3 %) junto con otras esponjas como *I. birotulata* (0,9 %) y *N. erecta* (0,6 %) (Tabla 2).

En el 0,36, las mayores abundancias relativas estuvieron representadas por *N. erecta* (26,9 %), *Mycale laevis* (15,2 %) y *Clathria curacaoensis* (7,8 %). La esponja *I. felix* tuvo la mayor cobertura relativa (0,9 %), seguida de *N. erecta* (0,8 %) e *Ircinia campana* (0,7 %). En este sitio también se observó el mayor número de individuos (982) entre los cuatro sitios muestreados y, por ende, presentó la mayor densidad de esponjas (19,6 individuos/m²) (Tabla 2).

Table 2. Abundancia, cobertura y densidad de especies de esponjas por sitio de muestreo.

Sitio/Site	Perezoso		Pequeño		Coral Garden		El 0,36	
	AR %	CR %	AR %	CR %	AR %	CR %	AR %	CR %
<i>Agelas schmidti</i> *	-	-	-	-	-	-	0.1	> 0.1
<i>Aiolochoxia crassa</i>	-	-	-	-	0.6	> 0.1	0.1	> 0.1
<i>Aplysina cauliformis</i>	-	-	7.2	0.1	2.3	0.1	0.4	> 0.1
<i>Aplysina insularis</i>	-	-	3.4	0.1	0.4	> 0.1	1.0	> 0.1
<i>Aplysina lacunosa</i>	-	-	-	-	0.7	0.1	-	-
<i>Aplysina</i> sp.	-	-	-	-	0.3	> 0.1	-	-
<i>Callyspongia pallida</i>	-	-	-	-	-	-	0.7	> 0.1
<i>Callyspongia vaginalis</i>	-	-	-	-	0.3	> 0.1	4.3	0.7
<i>Cinachyrella alloclada</i>	1.0	0.1	2.8	0.2	2.3	0.2	-	-
<i>Cinachyrella apion</i> *	3.6	0.2	3.2	0.1	1.8	0.1	0.2	> 0.1
<i>Cinachyrella kuekenthali</i> *	-	-	0.6	0.1	-	-	-	-
<i>Clathria curacaoensis</i>	-	-	1.1	> 0.1	0.3	0.1	7.8	0.4
<i>Clathria echinata</i> *	-	-	-	-	0.8	> 0.1	-	-
<i>Clathria venosa</i> *	2.7	0.2	-	-	-	-	-	-

highest relative abundance in Perezoso were *Niphates erecta* (59.3 %), *Iotrochota birotulata* (14.0 %), and *Scopalina ruetzleri* (5.2 %). *I. birotulata* (1.1 %) and *N. erecta* (1.8 %) also presented the highest relative coverage at this site along with *C. caribbaea* (2.0 %) (Table 2).

In the case of Pequeño, *Ircinia felix* (15.9 %), Species 4 (13.3 %) and *S. ruetzleri* (12.3 %), had higher relative abundances. However, of these sponges, only *I. felix* (1.0 %) and Species 4 (0.8 %) showed the highest relative coverage, followed by *Haliclona caerulea* (0.2 %) (Table 2).

In Coral Garden, *N. erecta* (28.4 %), *I. birotulata* (13.7 %) and *S. ruetzleri* (12.2 %) presented the highest relative abundances, similar to that of Perezoso. The *Svenzea zeai* species was only registered at this site, where it presented the highest relative coverage (1.3 %) along with other sponges such as *I. birotulata* (0.9 %) and *N. erecta* (0.6 %) (Table 2).

In 0.36, the highest relative abundances were represented by *N. erecta* (26.9 %), *Mycale laevis* (15.2 %), and *Clathria curacaoensis* (7.8 %). The *I. felix* sponge had the highest relative coverage (0.9 %), followed by *N. erecta* (0.8 %) and *Ircinia campana* (0.7 %). The highest number of individuals was also observed at this site and (982) among the four sampled sites and, therefore, had the highest density of sponges (19.6 individuals/m²) (Table 2).

Table 2. Abundance, coverage, and density of sponge species by sampling site.

Sitio/Site	Perezoso		Pequeño		Coral Garden		EI 0.36	
Especie/Species	AR %	CR %	AR %	CR %	AR %	CR %	AR %	CR %
<i>Cliona caribbaea</i>	1.1	2.0	-	-	1.6	0.1	-	-
<i>Dragmacidon lunaecharta*</i>	-	-	0.6	>0.1	1.3	>0.1	2.0	0.1
<i>Dragmacidon reticulatum</i>	-	-	3.4	>0.1	1.0	>0.1	4.7	0.1
<i>Ectyoplasia ferox</i>	-	-	0.2	>0.1	5.8	0.4	0.8	0.2
Especie/Specie 1	0.1	>0.1	-	-	-	-	-	-
Especie/Specie 2	0.3	>0.1	-	-	0.1	>0.1	-	-
Especie/Specie 3	0.6	>0.1	-	-	0.6	>0.1	0.2	>0.1
Especie/Specie 4	0.8	>0.1	13.3	0.8	-	-	0.1	>0.1
Especie/Specie 5	-	-	1.5	>0.1	-	-	-	-
Especie/Specie 6	-	-	0.2	>0.1	-	-	-	-
Especie/Specie 7	0.3	>0.1	1.1	>0.1	0.1	>0.1	-	-
Especie/Specie 8	-	-	-	-	0.3	>0.1	-	-
<i>Haliclona caerulea*</i>	0.8	>0.1	11.8	0.2	-	-	1.2	0.2
<i>Halisarca caerulea</i>	-	-	-	-	0.1	>0.1	0.1	>0.1
<i>Iotrochota birotulata</i>	14.0	1.1	5.1	0.1	13.6	0.9	2.4	0.1
<i>Ircinia campana</i>	-	-	-	-	-	-	2.2	0.7
<i>Ircinia felix</i>	2.3	0.2	15.9	1.0	-	-	7.2	0.9
<i>Monanchora arbuscula</i>	-	-	-	-	-	-	1.6	0.1
<i>Mycale laevis</i>	3.3	0.2	0.9	>0.1	8.7	0.2	15.2	0.4
<i>Mycale microsigmatosa*</i>	0.1	>0.1	-	-	-	-	-	-
<i>Neopetrosia proxima</i>	0.5	0.1	0.4	>0.1	0.6	0.1	4.2	0.2
<i>Niphates erecta</i>	59.3	1.8	9.1	0.1	28.3	0.6	26.9	0.8
<i>Niphates sp.</i>	1.7	>0.1	-	-	6.9	0.2	3.6	0.2
<i>Petrosia pellarca</i>	-	-	-	-	0.1	0.1	0.2	>0.1
<i>Placospongia intermedia</i>	0.3	0.1	0.2	>0.1	-	-	-	-
<i>Plakinastrella onkodes*</i>	-	-	-	-	0.1	>0.1	-	-
<i>Plakortis angulospiculatus*</i>	0.1	>0.1	-	-	-	-	-	-
<i>Plakortis sp.*</i>	0.3	>0.1	-	-	0.4	>0.1	0.3	>0.1
<i>Prosuberites laughlini</i>	0.1	>0.1	-	-	-	-	-	-
<i>Scopalina ruetzleri</i>	5.2	0.1	12.3	0.1	12.1	0.3	6.8	0.2
<i>Spirastrella coccinea</i>	1.4	>0.1	5.3	0.1	0.7	>0.1	4.8	0.2
<i>Svenzea zeai*</i>	-	-	-	-	7.2	1.3	-	-
<i>Verongula rígida</i>	-	-	-	-	0.3	0.1	-	-
<i>Xestospongia muta</i>	-	-	0.6	>0.1	0.4	0.6	0.5	0.3
Total de unidades de muestreo/ Total sampling units	50		50		50		50	
Total de individuos/ Total individuals	882		473		711		982	
Cobertura total de esponjas/ Total sponge coverage (%)	6.1		3.0		5.6		5.8	
Densidad total de esponjas (individuos/m ³)/ Total density of sponges (individuals/m ³)	17.6		9.3		14.3		19.6	

AR: abundancia relativa; CR: cobertura relativa; *: nuevo registro

AR: relative abundance; CR: relative coverage; *: new registration

El porcentaje de frecuencia de aparición de esponjas perforadoras del género *Siphonodictyon* se mantuvo por debajo del 45 % en todos los sitios. En Coral Garden *S. brevitubulatum* fue la especie perforadora más frecuente (38 %); además, este fue el único sitio donde se registró *S. coralliphagum* (2 %). La especie *S. xamaycaense* resultó ser un nuevo registro para el país y se presentó solamente en Perezoso, donde tuvo un mayor porcentaje de frecuencia de aparición (24 %) que *S. brevitubulatum* (16 %). En el parche arrecifal Pequeño, no se registraron especies de este género durante el muestreo (Figura 2).

The occurrence frequency percentage of boring sponges of the genus *Siphonodictyon* remained below 45 % at all sites. In Coral Garden *S. brevitubulatum* was the most frequent boring species (38 %); furthermore, this was the only site where *S. coralliphagum* was registered (2 %). The *S. xamaycaense* species turned out to be a new registry for the country and it was only presented in Perezoso, where it had a higher occurrence frequency percentage (24 %) than *S. brevitubulatum* (16 %). In Pequeño reef patch, no species of this genus were recorded during the sampling (Figure 2).

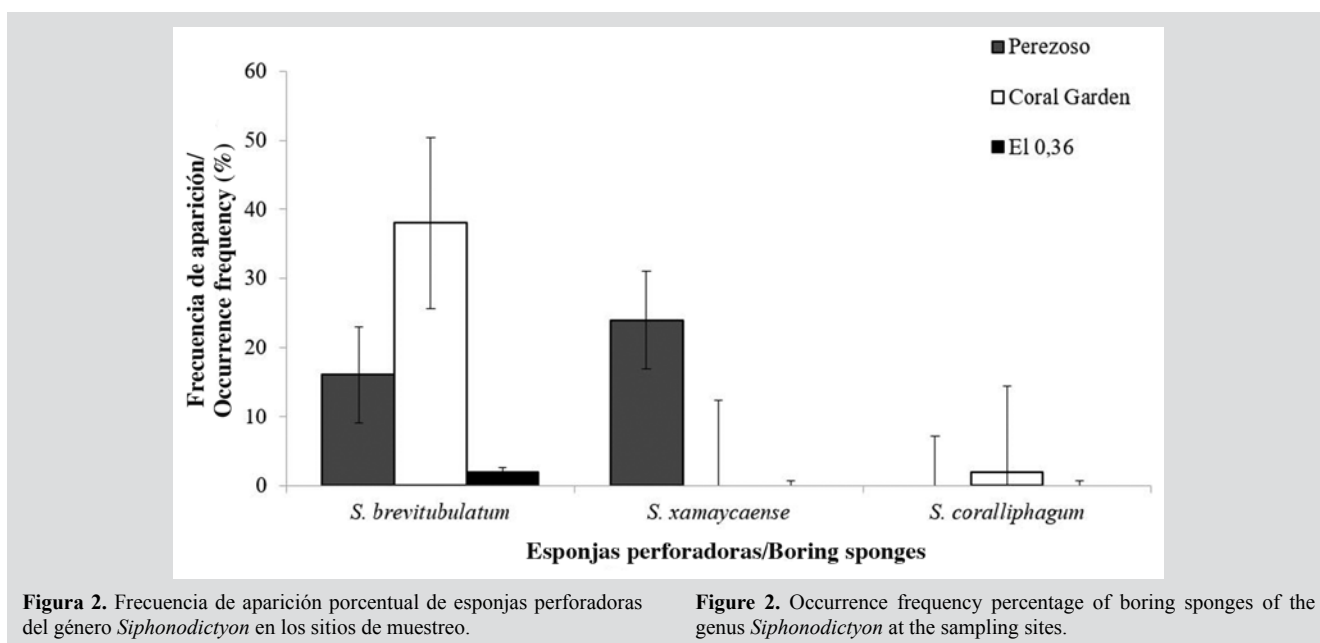


Figura 2. Frecuencia de aparición porcentual de esponjas perforadoras del género *Siphonodictyon* en los sitios de muestreo.

Figure 2. Occurrence frequency percentage of boring sponges of the genus *Siphonodictyon* at the sampling sites.

Índices de diversidad

En Coral Garden se registró el mayor número de especies de esponjas con un total de 34. A pesar de esto, mostró valores de heterogeneidad, equitatividad y dominancia de especies muy similares a los de Pequeño y el 0,36. Por lo tanto, al aplicar el diagrama de grado de severidad y pronosticabilidad ambiental, se obtuvo que las esponjas de estos tres parches arrecifales viven bajo condiciones de algo severas a favorables y de casi constantes a constantes. Esto contrasta con lo encontrado para Perezoso, el cual, debido a sus valores menores de heterogeneidad y equitatividad, se clasificó como un ambiente severo e impredecible. Sumado a lo anterior, Perezoso presentó el único valor de dominancia mayor a 0,1 (Tabla 3).

Diversity indices

Coral Garden registered the largest number of sponge species with a total of 34. Despite this, it showed values of heterogeneity, evenness, and dominance of species very similar to those of Pequeño and 0.36. Therefore, when applying the diagram of the severity degree and environmental predictability, it was found that the sponges of these three reef patches live under somewhat severe to favorable conditions and from almost constant to constant. This contrasts with what was found for Perezoso, which, due to its lower values of heterogeneity and evenness, was classified as a severe and unpredictable environment. In addition to the above, Perezoso presented the only dominance value higher than 0.1 (Table 3).

Tabla 3. Índices de diversidad y grado de severidad y pronosticabilidad ambiental de los sitios de muestreo.

Índice/Index	Sitio/Site			
	Perezoso	Pequeño	Coral Garden	EI 0.36
S	25	23	34	29
H'	1.6	2.6	2.4	2.5
J'	0.5	0.8	0.7	0.8
D	0.4	0.1	0.1	0.1
Grado de severidad y pronosticabilidad ambiental/ Degree of severity and environmental predictability	Severo e impredecible/ Severe and unpredictable	Favorable y constante/ Favorable and constant	Algo severo y casi constante/Slightly severe and almost constant	Favorable y casi constante/Favorable and almost constant

S: número de especies, H': heterogeneidad de Shannon, J': equitatividad de Pielou y D: dominancia de Simpson.

Table 3. Diversity indices and degree of severity and environmental predictability of the sampling sites.

S: number of species, H': heterogeneity of Shannon, J': evenness of Pielou and D: dominance of Simpson.

Factores abióticos y similitud entre sitios

Las tasas de sedimentación se vieron acentuadas durante la transición de la época seca a la lluviosa (octubre-diciembre) y disminuidas con el paso de la época lluviosa a la seca (agosto-septiembre y septiembre-octubre); excepto en el 0,36 donde las tasas se mantuvieron relativamente constantes y no superaron los $32,4 \pm 6,0$ mg/cm²/día (Figura 3). Las mayores tasas y variaciones de sedimentación por períodos se dieron en Perezoso y en Pequeño. Sin embargo, no parece que lo anterior tenga un efecto en la similitud entre los sitios con respecto a la abundancia relativa de las especies de esponjas presentes (Figura 4).

La disponibilidad de sustrato fue igual o mayor a 67,0 % en todos los sitios. Este valor mínimo correspondió a Coral Garden, donde solo se encontró pavimento calcáreo desnudo. La mayor cantidad de sustrato disponible lo presentaron Perezoso (74,0 %) y Pequeño (69,1 %). En ambos sitios se registraron tres de los cuatro tipos de sustrato encontrados en este estudio. No obstante, en Perezoso predominó el pavimento calcáreo desnudo (48,7 %) y en Pequeño, el pavimento calcáreo con sedimentos (35,1 %). Por su lado, en el 0,36 predominó el pavimento calcáreo con arena gruesa (66,2 %) y fue el único sitio donde se encontró este tipo de sustrato (Tabla 4, Figura 5).

El ámbito de profundidad varió entre $5,0 \pm 0,9$ y $18 \pm 3,4$ m, siendo Pequeño el sitio más somero y Coral Garden, el más profundo (Figura 6). Los sitios más parecidos entre sí en base a la abundancia relativa de esponjas fueron Perezoso y Coral Garden (1 y 3), con una importante diferenciación con respecto a Pequeño y el 0,36 (Figura 4, Figura 5 y Figura 6).

Abiotic factors and similarity between sites

Sedimentation rates were accentuated during the transition from the dry to the rainy season (October-December) and decreased with the passage from the rainy to the dry season (August-September, and September-October); except in 0.36 where the rates remained relatively constant and did not exceed 32.4 ± 6.0 mg/cm²/day (Figure 3). The highest sedimentation rates and variations by periods were obtained in Perezoso and Pequeño. However, it does not appear that the above affect the similarity between the sites with respect to the relative abundance of the sponge species present (Figure 4).

Substrate availability was equal to or greater than 67.0 % at all sites. This minimum value corresponded to Coral Garden, where the only bare calcareous pavement was found. The largest amount of available substrate was presented by Perezoso (74.0 %) and Pequeño (69.1 %). In both sites, three of the four types of substrate found in this study were recorded. However, in Perezoso, the bare calcareous pavement predominated (48.7 %) while the calcareous pavement with sediments (35.1 %) predominated in Pequeño. On the other hand, in 0.36 the calcareous pavement with coarse sand (66.2 %) predominated and it was the only place where this type of substrate was found (Table 4, Figure 5).

The depth range varied between 5.0 ± 0.9 and 18 ± 3.4 m, with Pequeño being the shallowest site and Coral Garden the deepest (Figure 6). The most similar sites to each other based on the relative abundance of sponges were Perezoso and Coral Garden (1 and 3), with an important differentiation to Pequeño and 0.36 (Figure 4, Figure 5, and Figure 6).

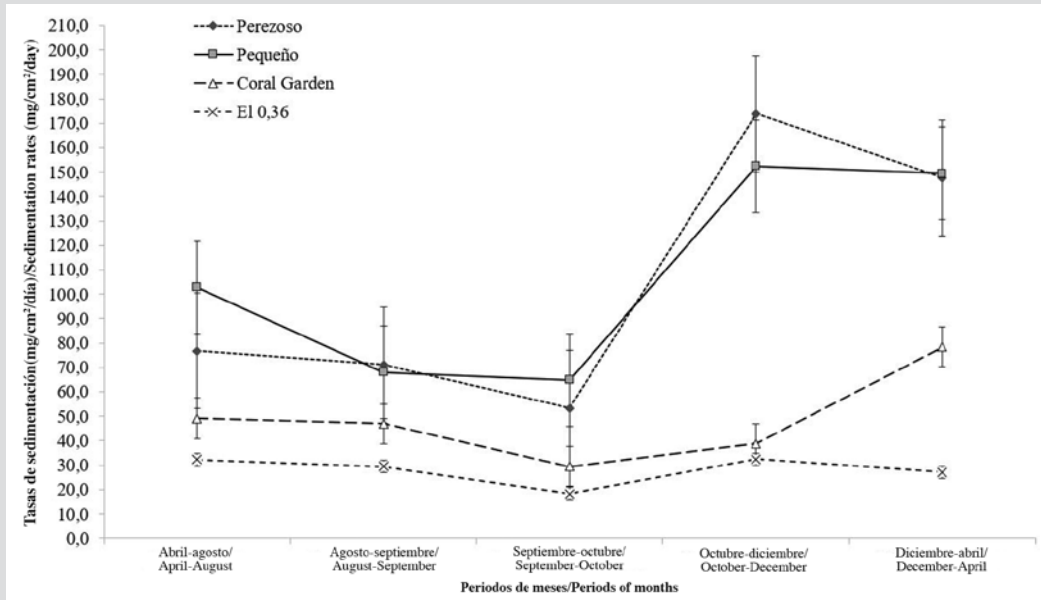


Figura 3. Tasas promedio de sedimentación por periodos y por sitios de muestreo.

Figure 3. Average sedimentation rates by period and by sampling sites.

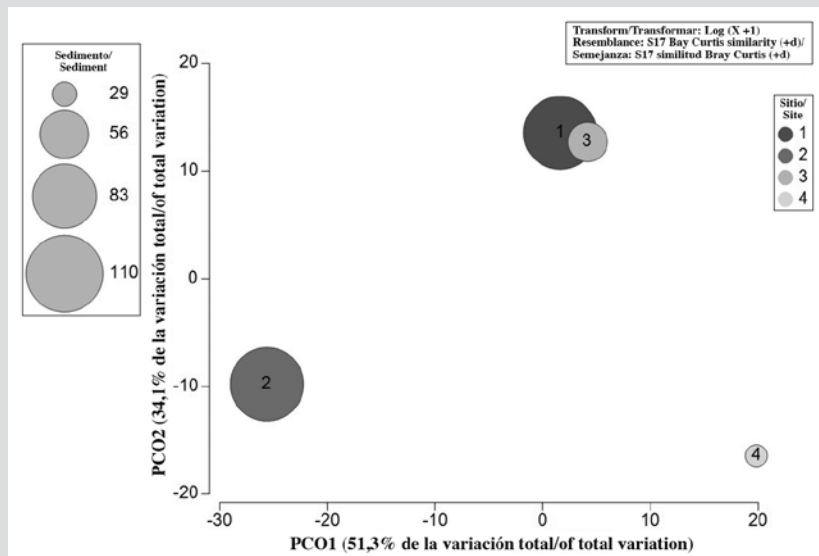


Figura 4. Similitud entre los sitios de muestro respecto a la abundancia relativa de esponjas y a las tasas promedio de sedimentación (mg/cm²/día). 1) Perezoso, 2) Pequeño, 3) Coral Garden, 4) el 0,36.

Figure 4. Similarity between the sampling sites with respect to the relative abundance of sponges and the average sedimentation rates (mg/cm²/day). 1) Perezoso, 2) Pequeño, 3) Coral Garden, 4) 0.36.

Tabla 4. Tipo de sustrato disponible (%) por sitio.

Table 4. Type of available substrate (%) by the site.

Tipo de sustrato/Substrate type	Sitio/Site			
	Perezoso	Pequeño	Coral Garden	El 0.36
Pavimento calcáreo (PC)/Limestone floor (LF)	48.7	27.8	67.0	1.2
PC con sedimentos/LF with sediment	1.8	35.1	-	-
PC con arena gruesa/LF with coarse sand	-	-	-	66.2
Fondo con sedimentos/Background with sediment	23.5	6.2	-	-
Total	74.0	69.1	67.0	67.4

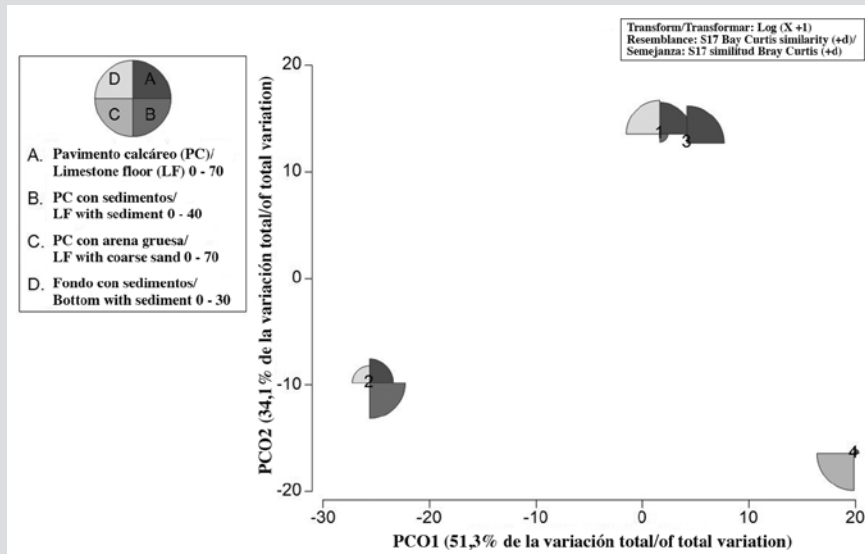


Figura 5. Similitud entre los sitios de muestro respecto a la abundancia relativa de esponjas y al porcentaje de sustrato disponible 1) Perezoso, 2) Pequeño, 3) Coral Garden, 4) El 0,36.

Figure 5. Similarity between sampling sites to the relative abundance of sponges and the percentage of available substrate 1) Perezoso, 2) Pequeño, 3) Coral Garden, 4) 0.36.

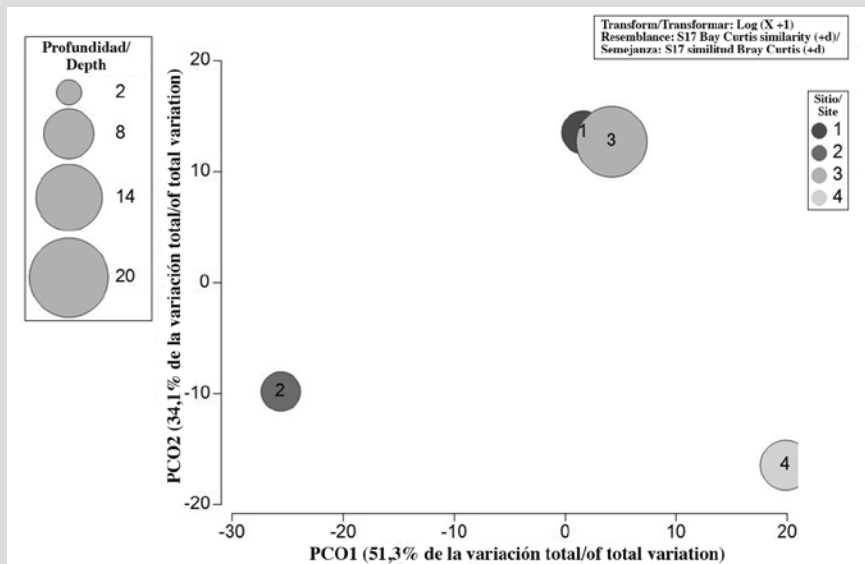


Figura 6. Similitud entre los sitios de muestro respecto a la abundancia relativa de esponjas y a la profundidad promedio (m). 1) Perezoso, 2) Pequeño, 3) Coral Garden, 4) el 0,36.

Figure 6. Similarity between the sampling sites to the relative abundance of sponges and the average depth (m). 1) Perezoso, 2) Pequeño, 3) Coral Garden, 4) 0.36.

DISCUSIÓN

Especies registradas

El registro de 13 especies de esponjas no reportadas anteriormente para el Caribe costarricense demuestra la insuficiente investigación desarrollada en el país sobre este grupo. Esto fue señalado por Cortés *et al.* (2009), quienes con una campaña de recolecta de especímenes en esta región del país incrementaron el número de nuevos registros

DISCUSSION

Registered species

The record of 13 sponge species not previously reported for the Costa Rican Caribbean demonstrates the insufficient research carried out in the country on this group. This was pointed out by Cortés *et al.* (2009), who with a specimen collection campaign in this region of the country increased the number of new records in 28 species. The

en 28 especies. Es probable que el desarrollo de estudios relacionados con este grupo en otros parches arrecifales y ecosistemas (manglares, pastos marinos, entre otros) del área lleven a nuevos registros, así como al descubrimiento de nuevas especies, lo cual podría ayudar a entender mejor los patrones de distribución de las esponjas marinas y las dinámicas y los procesos que ocurren en los ecosistemas donde se encuentran.

Cobertura y abundancia relativas

En cuanto a la cobertura de esponjas, ninguno de los cuatro sitios estudiados mostró ser particularmente favorable para el crecimiento horizontal de los poríferos. Esto es evidente si realizamos una comparación con otros arrecifes del Caribe como los de Santa Marta (Zea, 1994) y el golfo de Urabá (Valderrama y Zea, 2003) en Colombia, donde las esponjas cubren por encima del 5,0 % del sustrato y pueden alcanzar hasta un 33,3 % de la cobertura total. Los porcentajes de cobertura encontrados en este estudio ($CR < 6,1$ %) se ubican en un rango similar a los documentados en la costa oriental de la bahía de Cochinos, Cuba, por Caballero *et al.* (2009). Dichos autores consideraron porcentajes de cobertura de esponjas por debajo del 8 % como bajos y posiblemente asociados a arrecifes en estado natural con predominancia de corales.

Solo dos de las especies registradas presentaron coberturas mayores a 1,5 %, *C. caribbaea* (2,0 %) y *N. erecta* (1,8 %), específicamente en Perezoso. Estas esponjas conformaron más de la mitad de la cobertura de estos organismos en el sitio. La especie *N. erecta* también resultó ser la más abundante (26,9-59,3 %) en tres de los cuatro sitios de muestreo (Perezoso, Coral Garden y el 0,36) y representó más de la mitad de los individuos en Perezoso. Esto se reflejó en el índice de dominancia obtenido ($D = 0,4$) para este sitio.

Se considera que *Niphates erecta* es una especie heterótrofa, no posee endosimbiontes fotosintéticos, y depende estrictamente de la filtración como fuente de alimento (Romero *et al.*, 2013). Por esto, es común encontrar altas abundancias de dicha esponja en sitios con condiciones ambientales similares a las de Perezoso, donde la turbulencia, corrientes, descargas de sedimentos y turbidez son altas. Ejemplos documentados de lo anterior incluyen los fondos rocoso-arenosos de la isla Nelson en Trinidad y Tobago (Hubbard, 1990), las zonas coralinas del golfo de Urabá en Colombia (Valderrama y Zea, 2003), playa Mero y Punta Brava en Venezuela (Romero *et al.*,

development of studies related to this group in other reef patches and ecosystems (mangroves, seagrasses, among others) in the area is likely to lead to new records, as well as the discovery of new species, which could help to better understand the distribution patterns of sea sponges, as well as the dynamics and processes that occur in the ecosystems where they are found.

Relative coverage and abundance

Regarding sponge coverage, none of the four studied sites showed to be particularly favorable for the horizontal growth of the poriferans. This is evident if we make a comparison with other reefs in the Caribbean such as those of Santa Marta (Zea, 1994) and Gulf of Urabá (Valderrama and Zea, 2003) in Colombia where sponges cover over 5.0 % of the substrate and it can reach up to 33.3 % of the total coverage. The coverage percentages found in this study ($CR < 6.1$ %) are in a similar range to those documented in the eastern coast of Cochinos bay, Cuba, by Caballero *et al.* (2009). These authors considered sponge cover percentages below 8 % as low and possibly associated with reefs in the natural state with a predominance of corals.

Only two of the registered species had coverage higher than 1.5 %, *C. caribbaea* (2.0 %), and *N. erecta* (1.8 %), specifically in Perezoso. These sponges made up more than half of the coverage of these organisms at the site. The *N. erecta* species also turned out to be the most abundant (26.9-59.3 %) in three of the four sampling sites (Perezoso, Coral Garden, and 0.36) and represented more than half of the individuals in Perezoso. This was reflected in the dominance index obtained ($D = 0.4$) for this site.

Niphates erecta is considered to be a heterotrophic species, does not have photosynthetic endosymbionts, and is strictly dependent on filtration as a food source (Romero *et al.*, 2013). For this reason, it is common to find high abundances of this sponge in sites with environmental conditions similar to those of Perezoso, where turbulence, currents, sediment discharges, and turbidity are high. Documented examples of the above include the rocky-sandy bottoms of Nelson island in Trinidad and Tobago (Hubbard, 1990), the coral areas of the Gulf of Urabá in Colombia (Valderrama and Zea, 2003), Mero beach and Punta Brava in Venezuela (Romero *et al.*, 2013). Also, *N. erecta* is frequent in mangroves and is among the five most abundant species in the shallow reefs of Bocas del Toro (Caribbean of Panama), where there is low urban and

2013). Además, *N. erecta* es frecuente en los manglares y se encuentra entre las cinco especies más abundantes en los arrecifes someros de Bocas del Toro (Caribe de Panamá), donde existe un bajo desarrollo urbanístico y turístico, pero el tratamiento de sus aguas residuales es casi nulo (Díaz, 2005; Gotchfield *et al.*, 2007).

Diversidad y factores abióticos

La riqueza de especies de esponjas pareció aumentar con la profundidad promedio de los sitios muestreados. Este patrón ha sido documentado en otros arrecifes de la región caribeña por Valderrama y Zea (2003) en el golfo de Urabá en Colombia y por De la Nuez *et al.* (2011) en el bajo de Sancho Pardo en Cuba. Sin embargo, los demás índices de diversidad calculados para este estudio no parecieron estar vinculados a ninguno de los factores abióticos considerados. Solo Perezoso mostró excepciones a esta tendencia con valores contrastantes en sus índices ($H' = 1.6$; $J' = 0.5$; $D = 0.4$), además de haber sido el único sitio clasificado como severo e impredecible al aplicar el diagrama de severidad y pronosticabilidad.

Los índices de diversidad y la clasificación dada por el diagrama para Perezoso posiblemente se vieron influenciados por la alta tasa de sedimentación anual promedio ($104.5 \pm 52.9 \text{ mg/cm}^2/\text{día}$) que se da en el sitio. Perezoso retiene sedimentos principalmente de origen terrígeno, arrastrados desde ríos como La Estrella, Suárez y la quebrada Perezoso. Dicha sedimentación, rica en contenido orgánico, ya ha sido documentada con tasas entre los 30 y 360 $\text{mg/cm}^2/\text{día}$ (Cortés y Risk, 1984); y se considera que genera efectos muy negativos en los arrecifes de Cahuita (Cortés y Jiménez, 2003). Se cree que la principal fuente estos sedimentos son las plantaciones de banano y la deforestación en el Valle de la Estrella (Cortés, 1981, 1994; Cortés y Jiménez, 2003). Este arrastre de material, generado por la erosión del suelo y la infiltración de agroquímicos en los bordes del río la Estrella, se ve favorecido por la corriente costera que viaja de noroeste a sureste en el Caribe de Costa Rica (Cortés y Jiménez, 2013), así como por la forma de mazo del PNC, la cual propicia la retención de dichos sedimentos en la parte norte donde se ubica la barrera de Perezoso.

Se ha demostrado que la biomasa de esponjas en sitios cercanos a descargas de aguas residuales y agroquímicos tiende a incrementarse en términos de abundancia, cobertura o densidad. A su vez, cuando la concentración de dichos contaminantes orgánicos aumenta, es común una disminución en la diversidad de las esponjas presentes y una proliferación de las especialistas, las

tourist development, but the treatment of its wastewater is almost null (Díaz, 2005; Gotchfield *et al.*, 2007).

Diversity and abiotic factors

Sponge species richness seemed to increase with the average depth of the sampled sites. This pattern has been documented in other reefs in the Caribbean region by Valderrama and Zea (2003) in the Gulf of Urabá in Colombia and by De la Nuez *et al.* (2011) in those of Bajo de Sancho Pardo in Cuba. However, the other diversity indices calculated for this study did not appear to be linked to any of the abiotic factors considered. Only Perezoso showed exceptions to this trend with contrasting values in their indices ($H' = 1.6$; $J' = 0.5$; $D = 0.4$), in addition to being the only site classified as severe and unpredictable when applying the severity and predictability diagram.

The diversity indices and the classification given by the diagram for Perezoso were possibly influenced by the high average annual sedimentation rate ($104.5 \pm 52.9 \text{ mg/cm}^2/\text{day}$) that occurs at the site. Perezoso retain sediments mainly of terrigenous origin, carried from rivers such as La Estrella, Suárez, and the Perezoso gorge. This sedimentation, rich in organic content, has already been documented with rates between 30 and 360 $\text{mg/cm}^2/\text{day}$ (Cortés and Risk, 1984); and it is considered that it generates very negative effects on the Cahuita reefs (Cortés and Jiménez, 2003). The main source of these sediments is believed to be banana plantations and deforestation in the Valle de la Estrella (Cortés, 1981, 1994; Cortés and Jiménez, 2003). This drag of material, generated by soil erosion and the infiltration of agrochemicals on the banks of the la Estrella river, is favored by the coastal current that travels from northwest to southeast in the Caribbean of Costa Rica (Cortés and Jiménez, 2013), as well as the PNC deck shape, which favors the retention of sediments in the northern part where the Perezoso barrier is located.

Sponge biomass at sites near sewage and agrochemical discharges has been shown to tend to increase in terms of abundance, coverage, or density. In turn, when the concentration of these organic pollutants increases, a decrease in the diversity of the sponges present and proliferation of specialists are common, which can be used to monitor these conditions in the environment (Rützler, 2004). This could be the case of *C. venosa* (AR = 2.7 %; CR = 0.2 %) since this species was only found in Perezoso with coverage and relative abundance similar to that of other common species such as *I. felix* and

cuales pueden ser utilizadas para el monitoreo de dichas condiciones en el ambiente (Rützler, 2004). Este podría ser el caso de *C. venosa* (AR = 2,7 %; CR = 0,2 %), pues esta especie fue solo encontrada en Perezoso con una cobertura y abundancia relativa similar a la de otras especies comunes como *I. felix* y *M. laevis*. *Clathria venosa* ha sido utilizada como especie bioindicadora de contaminación orgánica en Cuba (Busutil y Alcolado, 2012), por lo tanto, su presencia en Perezoso podría estar relacionada con los contaminantes que son arrastrados en el sedimento por ríos cercanos a plantaciones bananeras como el río La Estrella.

El diagrama de severidad y pronosticabilidad debe ser usado e interpretado con cautela. Para Perezoso, dicho diagrama sí parece ser sensible a los disturbios ambientales por medio de los valores de heterogeneidad y equitatividad obtenidos en el sitio. Sin embargo, para Pequeño mostró discrepancias que no coinciden con los resultados obtenidos. Pequeño presentó una tasa de sedimentación anual promedio similar e incluso mayor que Perezoso ($107,6 \pm 42,3 \text{ mg/cm}^2/\text{día}$) y, aun así, se clasificó como un ambiente favorable y constante debido a los valores obtenidos en heterogeneidad (2,6) y equitatividad (0,8).

La incidencia de una alta sedimentación en Puerto Viejo ha sido ya documentada por Cortés y Jiménez (2003). No obstante, la composición y la dinámica de los sedimentos en el sitio parece ser distinta a la de Perezoso. Mientras que en Perezoso los sedimentos procesados eran muy finos, de color negro, parecían ser en su mayoría de origen terrígeno y contenían gran cantidad de materia orgánica en descomposición, en Pequeño los sedimentos poseían una coloración más clara, partículas más gruesas combinadas con arena y menor cantidad de materia orgánica en descomposición. Además, los sedimentos en Perezoso se acumulaban y colmataban muy fácilmente en las paredes y en el fondo de la barrera, contrario a Pequeño, donde se depositaban en algunas grietas, pendientes y en los fondos con sedimentos arenosos.

Lo anterior podría indicar que la composición de los sedimentos, la topografía del fondo y la dinámica de las corrientes permitieron el desplazamiento y la deposición de los sedimentos fuera y en los alrededores del parche, evitando que la sedimentación tuviera un efecto tan pronunciado en la diversidad de esponjas en Pequeño. Asimismo, existe la posibilidad de que las altas tasas de sedimentación en este sitio no tuvieran tanto efecto sobre la composición, diversidad y abundancia de las especies de esponjas como sí pudieron tenerlo sobre su cobertura. Dicho

M. laevis. *Clathria venosa* has been used as a bioindicator species of organic contamination in Cuba (Busutil and Alcolado, 2012), therefore, its presence in Perezoso could be related to the contaminants that are dragged into the sediment by rivers near banana plantations such as La Estrella river.

The severity and predictability diagram should be used and interpreted with caution. For Perezoso, this diagram does seem to be sensitive to environmental disturbances through the values of heterogeneity and fairness obtained at the site. However, for Pequeño, it showed discrepancies that do not coincide with the results obtained. Pequeño presented an average annual sedimentation rate similar and even higher than Perezoso ($107.6 \pm 42.3 \text{ mg/cm}^2/\text{day}$) and, even so, it was classified as a favorable and constant environment due to the values obtained in heterogeneity (2.6) and fairness (0.8).

The incidence of high sedimentation in Puerto Viejo has already been documented by Cortés and Jiménez (2003). However, the composition and dynamics of the sediments at the site appear to be different from that of Perezoso. While in Perezoso the processed sediments were very fine, black in color, they seemed to be mostly of terrigenous origin and contained a large amount of decomposing organic matter; in Pequeño, the sediments had a lighter coloration, coarser particles combined with sand and less amount of decomposing organic matter. Furthermore, the sediments in Perezoso accumulated and clogged very easily on the walls and bottom of the barrier, contrary to Pequeño where they were deposited in some cracks, slopes, and on the bottoms with sandy sediments.

This could indicate that the composition of the sediments, the topography of the bottom, and the dynamics of the currents allowed the displacement and deposition of the sediments outside and around the patch, preventing sedimentation from having such a pronounced effect on diversity of sponges in Pequeño. Likewise, there is the possibility that the high sedimentation rates at this site did not have as much effect on the composition, diversity, and abundance of the sponge species as they could have on its cover. This phenomenon could be limiting and reducing the growth rates of this group due to the obstruction of their aquifer systems (Bell *et al.*, 2015).

Another possibility is that Pequeño was undergoing a process of repopulation and colonization since the sponges' present were mainly of small sizes (less than 10 cm), possibly young and that have not completed

fenómeno podría estar limitando y reduciendo las tasas de crecimiento de este grupo debido a la obstrucción de sus sistemas acuíferos (Bell *et al.*, 2015).

Otra posibilidad es que Pequeño se encontrara ante un proceso de repoblamiento y colonización, pues las esponjas presentes eran principalmente de tamaños pequeños (menores de 10 cm), posiblemente jóvenes y no habían completado su fase crítica de colonización. Esto podría indicar un proceso de selección ambiental aún incompleto (Zea, 1993; Alcolado, 1999), posiblemente ligado al terremoto ocurrido en 1991, el cual elevó la plataforma continental en el Caribe costarricense entre 50 y 190 cm (Cortés *et al.*, 1992). El fenómeno provocó la exposición del sustrato y generó altas mortalidades de invertebrados.

Factores abióticos y similitud entre sitios

El único factor que pareció explicar mejor la similitud entre sitios con respecto a la composición de especies de esponjas y sus abundancias relativas fue el porcentaje de sustrato disponible. Tanto en Perezoso como en Coral Garden, el pavimento calcáreo desnudo fue el sustrato disponible predominante ($48 < PC \% < 67$) y esto podría estar favoreciendo la colonización, el crecimiento y la permanencia de las especies *N. erecta*, *I. birotulata* y *S. ruetzleri*. Estas tres especies fueron compartidas por ambos sitios como las más abundantes a pesar de sus profundidades promedio y sus tasas de sedimentación contrastantes. Lo anterior podría estar ligado al hábito meramente heterotrófico y generalista de dichas esponjas, pues tienen la capacidad de sobrevivir y proliferar bajo el efecto de distintos estresores como fluctuaciones en la salinidad, turbidez, sedimentación iluminación y nutrientes; siempre que cuenten con un sustrato apropiado para su fijación (Nuñez *et al.*, 2010; Romero *et al.*, 2013).

Por otro lado, Perezoso y Coral Garden también compartieron las mayores frecuencias de aparición de esponjas perforadoras del género *Siphonodictyon* (40 %) y resultaron ser los únicos sitios donde se registró la presencia de la especie bioerosionadora *C. caribbaea*. La presencia de esponjas del género *Cliona* en el PNC ya había sido documentada por Cortés y Guzmán (1985), quienes registraron coberturas de hasta 1 m², similares a lo encontrado en el presente estudio. La esponja *C. caribbaea* fue encontrada en el archipiélago de San Andrés y del Rosario, Colombia, con una distribución que variaba desde los 5 hasta los 20 m de profundidad y con una ligera tendencia por ser más abundante en sitios con mayor

their critical phase of colonization. This could indicate a still incomplete environmental selection process (Zea, 1993; Alcolado, 1999), possibly linked to the earthquake that occurred in 1991, which raised the continental shelf in the Costa Rican Caribbean between 50 and 190 cm (Cortés *et al.*, 1992). The phenomenon caused the exposure of the substrate and generated high mortality of invertebrates.

Abiotic factors and similarity between sites

The only factor that seemed to better explain the similarity between sites with respect to the composition of sponge species and their relative abundances are the percentage of the available substrate. In both Perezoso and Coral Garden, bare limestone pavement was the predominantly available substrate ($48 < LP \% < 67$) and this could be favouring the colonization, growth, and permanence of *N. erecta*, *I. birotulata*, and *S. ruetzleri*. These three species were shared by both sites as the most abundant despite their average depths and contrasting sedimentation rates. This could be linked to the merely heterotrophic and generalist habit of these sponges, since they can survive and proliferate under the effect of different stressors such as fluctuations in salinity, turbidity, sedimentation, illumination, and nutrients; provided they have an appropriate substrate for their fixation (Nuñez *et al.*, 2010; Romero *et al.*, 2013).

On the other hand, Perezoso and Coral Garden also shared the highest occurrence frequencies of boring sponges of the genus *Siphonodictyon* (40 %) and were the only sites where the presence of the bio-eroding species *C. caribbaea* was recorded. The presence of sponges of the genus *Cliona* in the PNC had already been documented by Cortés and Guzmán (1985), who recorded coverage of up to 1 m², similar to what was found in the present study. The *C. caribbaea* sponge was found in the Archipelagos of San Andrés and Rosario, Colombia, with a distribution that varied from 5 to 20 m deep and with a slight tendency to be more abundant in sites with greater availability of calcareous substrates as dead coral and pavement (López-Victoria and Zea, 2005). This coincides with the depth range and the type of substrate with the highest availability presented by Perezoso and Coral Garden.

In the Caribbean, there are reports that the coverage of boring sponges of the genus *Cliona* has increased considerably during the last three decades (López-Victoria and Zea, 2005). This is worrisome, since these species, together with those of the *Siphonodictyon* genus, tend to

disponibilidad de sustratos calcáreos como coral muerto y pavimento (López-Victoria y Zea, 2005). Esto coincide con el ámbito de profundidad y el tipo de sustrato con mayor disponibilidad que presentaron Perezoso y Coral Garden.

En el Caribe existen registros de que la cobertura de esponjas excavadoras del género *Cliona* ha incrementado considerablemente durante las últimas tres décadas (López-Victoria y Zea, 2005). Esto resulta preocupante, pues dichas especies, junto con las del género *Siphonodictyon*, suelen tener crecimientos muy agresivos y afectaciones considerables en los arrecifes cuando su abundancia y cobertura son altas. Por ejemplo, la excavación originada por estas esponjas puede llegar a ocasionar el quiebre de grandes colonias de coral como consecuencia de la erosión, acompañado por la producción de sedimentos lodosos. A su vez, el crecimiento de las esponjas perforadoras y bioerosionadoras puede potenciarse por incrementos en la materia orgánica disponible y por las altas temperaturas (Rützler, 2004), condiciones que también son sumamente estresantes para los corales y que fueron observadas dentro de Perezoso.

CONCLUSIONES

El número de especies de esponjas marinas en el Caribe costarricense sobrepasa las 80, con 13 nuevos registros en este estudio. Las densidades, abundancias y coberturas relativas de las esponjas encontradas son un insumo importante para comprender la dinámica de los parches arrecifales y sus similitudes, así como las posibles presiones naturales y antropogénicas que contribuyen a moldearlos. El uso de índices ecológicos son herramientas que pueden ayudar a inferir el nivel de perturbación al que están expuestas las comunidades de esponjas, siempre que se interpreten con cautela y se contrasten con factores fisicoquímicos del entorno. Se recomienda probar y ajustar el diagrama para la valoración del grado de severidad y de pronosticabilidad ambiental según el área geográfica donde se quiera implementar.

La profundidad del arrecife pareció influir en la riqueza de especies de esponjas presentes, con aumentos en el número de especies conforme aumenta la profundidad. Por su lado, las tasas de sedimentación no mostraron tener un efecto en la similitud entre las comunidades de esponjas, pero el origen y la composición de dichos sedimentos sí podría estar influyendo en la cobertura de los poríferos, la abundancia de especialistas como *C. venosa* y la dominancia de esponjas resistentes al sedimento y a la turbidez como

have very aggressive growths and considerable damage to the reefs when their abundance and coverage are high. For example, the excavation caused by these sponges can cause the breakage of large coral colonies as a consequence of erosion, accompanied by the production of muddy sediments. In turn, the growth of boring and bio-eroding sponges can be enhanced by increases in available organic matter and by high temperatures (Rützler, 2004), conditions that are also extremely stressful for corals and were observed within Perezoso.

CONCLUSIONS

The number of species of sea sponges in the Costa Rican Caribbean exceeds 80, with 13 new records in this study. The densities, abundance, and relative coverage of the sponges found are an important input in understanding the dynamics of the reef patches and their similarities, as well as the possible natural and anthropogenic pressures that contribute to shaping them. The use of ecological indices are tools that can help infer the level of disturbance to which sponge communities are exposed, provided they are interpreted cautiously and contrasted with physical and chemical factors in the environment. It is recommended to test and adjust the diagram to assess the degree of environmental severity and predictability according to the geographic area where you want to implement it.

The depth of the reef seemed to influence the species richness of sponges present, with increases in the number of species as depth increased. On the other hand, sedimentation rates did not show an effect on the similarity between sponge communities, but the origin and composition of these sediments could be influencing the coverage of poriferans, the abundance of specialists such as *C. venosa* and the dominance of sponges' resistant to sediment and turbidity such as *N. erecta*. Only the high percentages of bare calcareous pavement as the predominantly available substrate could explain the similarity between the Perezoso community structure and Coral Garden. This seemed to favour the abundance of heterotrophic and generalist sponges *N. erecta*, *I. birotulata* and *S. ruetzleri*, as well as the occurrence frequency of sponges of the genus *Siphonodictyon* and coverage of those of the genus *Cliona*. Furthermore, the evaluation of the occurrence frequency and the coverage of these two genera indicated that these sponges could be causing negative effects for the stony corals of Perezoso due to

N. erecta. Sólo los altos porcentajes de pavimento calcáreo desnudo como sustrato disponible predominante pudieron explicar la similitud entre la estructura comunitaria de Perezoso y Coral Garden. Esto pareció favorecer la abundancia de las esponjas heterótrofas y generalistas *N. erecta*, *I. birotulata* y *S. ruetzleri*, así como la frecuencia de aparición de las esponjas del género *Siphonodictyon* y de la cobertura de las del género *Cliona*. Además, la evaluación de la frecuencia de aparición y la cobertura de estos dos géneros indicaron que dichas esponjas podrían estar causando efectos negativos para los corales pétreos de Perezoso debido a la bioerosión. El uso de esta información contribuirá a la selección de arrecifes donde sea más urgente tomar medidas de mitigación, e incluso, aquellos con potencialidades para desarrollar proyectos de restauración. Aunque este estudio amplía el entendimiento de la estructura comunitaria de las esponjas marinas en el Caribe de Costa Rica, se recomienda realizar más investigaciones en este campo y determinar si hay otros factores, tanto bióticos (disponibilidad de alimento, depredación, competencia) como abióticos (movimiento del agua, corrientes locales, turbidez, rugosidad del fondo), que pudieran influenciar en mayor medida en la estructura comunitaria de los poríferos.

AGRADECIMIENTOS

A los miembros, asistentes y colaboradores del Proyecto “Indicadores ambientales en ecosistemas marinos y costeros para la definición de estrategias de conservación y manejo en dos áreas protegidas en el Caribe sur de Costa Rica”, al Instituto de Oceanología (actual Instituto de Ciencias del Mar) de Cuba, al Dr. Ricardo Jiménez Montealegre; así como a don Manuel, Rafa, Ettl y a los funcionarios del Área de Conservación La Amistad-Caribe.

bioerosion. The use of this information will contribute to the selection of reefs where it is most urgent to take mitigation measures, and even those with the potential to develop restoration projects. Although this study broadens the understanding of the community structure of sea sponges in the Costa Rica Caribbean, it is recommended to carry out more research in this field and determine if there are other factors, both biotic (food availability, predation, competition) and abiotic (water movement, local currents, turbidity, roughness of the bottom), which could influence to a greater extent the community structure of the poriferans.

ACKNOWLEDGEMENT

To the members, assistants, and collaborators of the Project “Environmental indicators in marine and coastal ecosystems for the definition of conservation and management strategies in two protected areas in the South Caribbean of Costa Rica”, to the Institute of Oceanology (current Institute of Marine Sciences) from Cuba, to Dr. Ricardo Jiménez Montealegre; as well as Don Manuel, Rafa, Ettl and the officials of the La Amistad-Caribe Conservation Area.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Alcolado, P.M. 1999. Comunidades de esponjas de los arrecifes del archipiélago Sabana-Camagüey, Cuba. Bol. Invest. Mar. Cost., 28: 95-124.
- Alcolado, P.M. 2002. Catálogo de las esponjas de Cuba. Avicenia, 15: 53-72.
- Alcolado, P.M. 2007. Reading the code of coral reef sponge community composition and structure for environmental bio-monitoring: some experiences from Cuba: 3-10. En: Custódio, M.R., G. Lôbo-Hajdu, E. Hajdu y G. Muricy (Eds.), Porifera research: biodiversity, innovation and sustainability. Museu Nacional, Rio de Janeiro. 684 p.
- Anderson, M.J., R.N. Gorley and K.R. Clarke. 2008. Permanova for Primer: guide to software and statistical methods. Primer-E Ltd, Plymouth, UK. 214 p.
- Bell, J.J. 2008. The functional roles of marine sponges. Estuar. Coast. Shelf Sci., 79: 341-353.
- Bell, J.J., E. McGrath, A. Biggerstaff, T. Bates, H. Bennett, J. Marlow and M. Shaffer. 2015. Sediment impacts on marine sponges. Mar. Pollut. Bull., 94: 5-13. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.03.030>
- Boury-Esnault, N. and K. Rützler. 1997. Thesaurus of sponge morphology. Smithsonian Institution Press, Washington D.C. 55 p.



- Busutil, L. y P. Alcolado. 2012. Prueba de un índice de contaminación orgánica urbana basado en comunidades de esponjas de arrecifes de Cuba. Serie Oceanológica, 10: 90-103.
- Caballero, H., L. Busutil, Y. García y P.M. Alcolado. 2009. Variación espacial en comunidades de esponjas de la costa oriental de bahía de Cochinos, Cuba. Rev. Mar. Cost., 1: 95-109.
- Carballo, J.L., P. Gómez y J.A. Cruz-Barraza. 2014. Biodiversidad de Porifera en México. Rev. Mex. Biodiv., 85: 143-153. <https://doi.org/10.7550/rmb.32074>
- Caribbean Coastal Marine Productivity (CARICOMP). 2001. Manual of methods for mapping and monitoring of physical and biological parameters in the coastal zone of the Caribbean. CARICOMP Data Management Center, Kingston.
- Cedro, V.R., E. Hajdu, H.H. Sovierzosky and M. Dorigo. 2007. Demospongia (Porifera) of the shallow coral reefs of Maceió, Alagoas State, Brazil: 233-237. En: Custódio, M.R., G. Lôbo-Hajdu, E. Hajdu y G. Muricy (Eds.). Porifera research: biodiversity, innovation and sustainability. Museu Nacional, Rio de Janeiro. 684 p.
- Collin, R., M.C. Díaz, J. Norenburg, R.M. Rocha, J.A. Sánchez, A. Schulze, M. Schwartz and A. Valdés. 2005. Photographic identification guide to some common marine invertebrates of Bocas del Toro, Panama. Caribb. J. Sci., 3: 638-707.
- Cortés, J. 1981. The coral reef at Cahuita, Costa Rica, a reef under stress. Tesis M. Sc. Univ. McMaster, Hamilton, Ontario, Canadá. 176 p.
- Cortés, J. 1994. A reef under siltation stress: a decade of degradation: 240-246. In: Guinsburg, R.N. (compilador), Proc. Coll. Global Aspects Coral Reefs: Health, Hazards History. Univ. Miami. 420 p.
- Cortés, J. 1996. Biodiversidad marina de Costa Rica: Filo Porifera. Rev. Biol. Trop., 44(2): 911-914.
- Cortés, J. and C. Jiménez. 2003. Past, present and future of the coral reefs of the Caribbean coast of Costa Rica: 223-239. En: Cortés, J. (Ed.). Latin American coral reefs. Elsevier, Amsterdam, Amsterdam. 508 p.
- Cortés, J. and I.S. Wehrtmann, 2009. Diversity of marine habitats of the Caribbean and Pacific of Costa Rica: 1-45. In: Wehrtmann, I. S. y J. Cortés (Eds.). Marine biodiversity of Costa Rica, Central America. Springer, Berlín. 538 p.
- Cortés, J. y M. Risk. 1984. El arrecife coralino del Parque Nacional Cahuita. Rev. Biol. Trop., 32: 109-121.
- Cortés, J., A.C. Fonseca, J. Nivia-Ruiz and V. Nielsen-Muñoz. 2010. Monitoring coral reefs, seagrasses and mangrooves in Costa Rica (CARICOMP). Rev. Biol. Trop., 58(3): 1-22.
- Cortés, J., N. Van Der Hal and R.W.M. Van Soest. 2009. Sponges: 137-142. In: Wehrtmann, I. S. y J. Cortés (Eds.). Marine biodiversity of Costa Rica, Central America. Springer, Berlín. 538 p.
- Cortés, J., R. Soto, C. Jiménez and A. Astorga. 1992. Earthquake associated mortality of intertidal and coral reef organisms (Caribbean of Costa Rica). Proc. 7th Int. Coral Reef Symp., Guam, 1: 235-240.
- Cruz-Barraza, J.A., J.L. Carballo, A. Rocha-Olivares, H. Ehrlich and M. Hog. 2012. Integrative taxonomy and molecular phylogeny of genus *Aplysina* (Demospongiae: Verongida) from Mexican Pacific. PLoS ONE, 7(8): e42049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042049>
- Díaz, M.C. 2005. Common sponges from shallow marine habitats from Bocas del Toro Region, Panama. Caribb. J. Sci., 41(3): 365-375.
- Díaz, M.C. 2012. Mangrove and coral reef sponge faunas: untold stories about shallow water Porifera in the Caribbean. Hydrobiologia, 687: 179-190. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0952-5>
- Díaz, M.C. and K. Rützler. 2001. Sponges: an essential component of Caribbean coral reefs. Bull. Mar. Sci., 69(2): 535-546.
- Fonseca, A.C. 2003. A rapid assessment at Cahuita National Park, Costa Rica, 1999 (Part 1: Stony corals and algae). Atoll Res. Bull., 496: 248-257. <https://doi.org/10.5479/si.00775630.13.248>
- Garzón-Ferreira, J., M.C. Reyes-Nivia y A. Rodríguez-Ramírez. 2002. Manual de métodos del Sistema Nacional de Monitoreo de Arrecifes Coralinos en Colombia. INVEMAR, Santa Marta. 57 p.
- Gochfeld, D.J., C. Schlöder and R.W. Thacker. 2007. Sponge community structure and disease prevalence on coral reefs in Bocas del Toro, Panama: 335-343. En: Custódio, M.R., G. Lôbo-Hajdu, E. Hajdu y G. Muricy (Eds.), Porifera research: biodiversity, innovation and sustainability. Museu Nacional, Rio de Janeiro. 684 p.
- Hofman, C.C. and M. Kielman. 1992. The excavating sponges of the Santa Marta area, Colombia, with description of a new species. Bijdragen tot de Dierkunde, 61(4): 205-207.
- Hooper, J.N.A. and R.W.M. Van Soest, 2002. Systema Porifera. A guide to the classification of sponges. Springer, New York. 1707 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0747-5_1
- Hubbard, R.H. 1990. A sessile shallow-water community dominated by sponges and algae at Nelson island, Trinidad and Tobago. Caribb. Mar. Stud., 1(2): 152-158.
- Loaiza, B. 1989. Generalidades del Phylum Porifera y bases para su identificación con sinopsis de algunas de ellas, en Limón, Costa Rica. Tesis Lic. Univ. Nacional, Heredia, Costa Rica. 173 p.
- Loaiza, B. 1991. Estudio taxonómico de las esponjas del Parque Nacional Cahuita, sector Puerto Vargas e isla Uvita, Limón, Costa Rica. Brenesia, 36: 21-62.

- López-Victoria, M. and S. Zea. 2005. Current trends of space occupation by encrusting excavating sponges on Colombian coral reefs. *Mar. Ecol.*, 26: 33-41. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2005.00036.x>
- Morrow, C. and P. Cárdenas. 2015. Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). *Front. Zool.*, 12(7). <https://doi.org/10.1186/s12983-015-0099-8>
- Núñez, M., J. G. Rodríguez-Quintal y M. C. Díaz. 2010. Distribución de esponjas (Porifera) a lo largo de un gradiente de profundidad en un arrecife coralino, Parque Nacional San Esteban, Carabobo, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.*, 58(3): 175-187.
- Pielou, E.C. 1969. An introduction to mathematical ecology. Wiley-Interscience, New York. 292 p.
- Risk, M.J., M. Murillo y J. Cortés, J. 1980. Observaciones biológicas preliminares sobre el arrecife coralino en el Parque Nacional Cahuita, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 28(2): 361-382.
- Romero, M.A., E. Villamizar y N. Malaver. 2013. Estructura de las comunidades de esponjas (Porifera) en tres arrecifes del Parque Nacional Morrocoy, Venezuela y su relación con algunas variables ambientales. *Rev. Biol. Trop.*, 61(3): 1229-1241. <https://doi.org/10.15517/rbt.v61i3.11937>
- Rützler, K. 2004. Sponges on coral reefs: a community shaped by competitive cooperation. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, 68: 85-148.
- Rützler, K., M.C. Díaz, R.W.M. Van Soest, S. Zea, K.P. Smith, B. Álvarez and J. Wulff. 2000. Diversity of sponge fauna in mangrove ponds, Pelican Cays, Belize. *Atoll. Res. Bull.*, 476: 229-248. <https://doi.org/10.5479/si.00775630.467.229>
- Shannon, C.E. 1948. A mathematical theory of communication. *Bell Syst. Tech. J.*, 27: 379-423, 623-656. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- Simpson, E.H. 1949. Measurement of diversity. *Nature*, 163: 688-688. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Valderrama, D. and S. Zea. 2013. Annotated checklist of sponges (Porifera) from the southernmost Caribbean reefs (North-West Gulf of Urabá), with description of new records for the Colombian Caribbean. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, 37(144): 353-378.
- Valderrama, D. y S. Zea. 2003. Esquemas de distribución de esponjas arrecifales (Porifera) del noroccidente del golfo de Urabá, Caribe sur, Colombia. *Bol. Invest. Mar. Cost.*: 32, 37-56.
- Van der Hal, N. 2006. Presence and diversity of sponge species along the Caribbean coast of Costa Rica. Thesis Ámsterdam. 43 p.
- Weinberg, S. 1981. A comparison of coral reef survey methods. *Bijdr. Dierk.*, 51: 199-218.
- Wulff, J.L. 2006. Ecological interactions of marine sponges. *Can. J. Zool.*, 84: 146-166.
- Wulff, J.L. 2012. Ecological interactions and the distribution, abundance, and diversity of sponges: 273-344. In: Becerro, M. A., M.J. Uriz, M. Maldonado y X. Turon (Eds). *Advances in sponge science: phylogeny, systematics, ecology*. Elsevier, UK. 450 p.
- Zea, S. 1993. Cover of sponges and other sessile organisms in rocky and coral reef habitats of Santa Marta, Colombian Caribbean Sea. *Caribb. J. Sci.*, 29(1-2): 75-88.
- Zea, S. 1994. Patterns of coral and sponge abundance in stressed coral reefs at Santa Marta, Colombian Caribbean. 257-264. En: Van Soest, R.W.M., T.M.G. Van Kempen y J.C. Braekman (Eds). *Sponges in time and space: Biology, chemistry, paleontology*. A.A. Balkema, Rotterdam, Países Bajos. 515 p.
- Zea, S., T.P. Henkel and J.R. Pawlik. 2014. The sponge guide: a picture guide to Caribbean sponges (3era ed.). www.spongeguide.org. 03/11/2016

RECIBIDO/RECEIVED: 12/03/2019

ACEPTADO/ACCEPTED: 10/01/2020

ANEXOS/ANNEXES

Anexo 1. Clasificación taxonómica de las esponjas encontradas en el muestreo (*nuevos registros).

Annex 1. Taxonomic classification of the sponges found in the sampling (*new registry).

Phylum Porifera

Clase Demospongiae/Demospongiae class

Orden Agelasida/Agelasida order

Familia Agelasidae/Agelasidae family

Género *Agelas/Agelas* genus (Duchassaing y Michelotti, 1864)

*Agelas schmidtii** (Wilson, 1902)

Familia Hymerhabdiidae/Hymerhabdiidae family

Género *Prosuberites/Prosuberites* genus (Topsent, 1893)

Prosuberites laughlini (Díaz, Alvarez y van Soest, 1987)



Orden Axinellida/Axinellida order

Familia Axinellidae/Axinellidae family

- Género *Dragmacidon*/*Dragmacidon* genus (Hallmann, 1917)
*Dragmacidon lunaecharta** (Ridley y Dendy, 1886)
Dragmacidon reticulatum (Ridley y Dendy, 1886)

Familia Raspaliinae/Raspaliinae family

- Género *Ectyoplasia*/*Ectyoplasia* genus (Topsent, 1931)
Ectyoplasia ferox (Duchassaing y Michelotti, 1864)

Orden Chondrillida/Chondrillida order

Familia Halisarcidae/Halisarcidae family

- Género *Halisarca*/*Halisarca* genus (Johnston, 1842)
Halisarca caerulea (Vacelet y Donadey, 1987)

Orden Clionaida/Clionaida order

Familia Clionidae/Clionidae family

- Género *Cliona*/*Cliona* genus (Grant, 1826)
Cliona caribbaea (Carter, 1882)

Familia Placospongiidae/Placospongiidae family

- Género *Placospongia*/*Placospongia* genus (Gray, 1867)
Placospongia intermedia (Sollas, 1888)

Familia Spirastrellidae/Spirastrellidae family

- Género *Spirastrella*/*Spirastrella* genus (Schmidt, 1868)
Spirastrella coccinea (Duchassaing y Michelotti, 1864)

Orden Dictyoceratida/Dictyoceratida order

Familia Irciniidae/Irciniidae family

- Género *Ircinia*/*Ircinia* genus (Nardo, 1833)
Ircinia campana (Lamarck, 1814)
Ircinia felix (Duchassaing y Michelotti, 1864)

Orden Haplosclerida/Haplosclerida order

Familia Callyspongiidae/Callyspongiidae family

- Género *Callyspongia*/*Callyspongia* genus (Duchassaing y Michelotti, 1864)
*Callyspongia pallida** (Hechtel, 1965)
Callyspongia vaginalis (Lamarck, 1814)

Familia Chalinidae/Chalinidae family

- Género *Haliclona*/*Haliclona* genus (Grant, 1841)
Haliclona caerulea (Hechtel, 1965)

Familia Niphatidae/Niphatidae family

- Género *Niphates*/*Niphates* genus (Duchassaing y Michelotti, 1864)
Niphates erecta (Duchassaing y Michelotti, 1864)
Niphates sp.

Familia Petrosiidae/Petrosiidae family

- Género *Neopetrosia*/*Neopetrosia* genus (Laubenfels, 1949)
*Neopetrosia proxima** (Duchassaing y Michelotti, 1864)

- Género *Petrosia*/*Petrosia* genus Vosmaer, 1885
Petrosia pellasarca (Laubenfels, 1934)

- Género *Xestospongia*/*Xestospongia* genus (Laubenfels, 1932)
Xestospongia muta (Schmidt, 1870)

Familia Phloeodictyidae/Phloeodictyidae family

- Género *Siphonodictyon*/*Siphonodictyon* genus (Bergquist, 1965)
Siphonodictyon brevitubulatum (Pang, 1973)
Siphonodictyon coralliphagum (Rützler, 1971)
*Siphonodictyon xamaycaense** (Pulitzer-Finali, 1986)

Orden Poecillosclerida/Poecillosclerida order

Familia Crambeidae/Crambeidae family

Género *Monanchora*/*Monanchora* genus (Carter, 1883)
Monanchora arbuscula (Duchassaing y Michelotti, 1864)

Familia Iotrochotida/Iotrochotida family

Género *Iotrochota*/*Iotrochota* genus (Ridley, 1884)
Iotrochota birotulata (Higgin, 1877)

Familia Microcionidae/Microcionidae family

Género *Clathria*/*Clathria* genus (Schmidt, 1862)
Clathria curacaoensis (Arndt, 1927)
*Clathria echinata** (Alcolado, 1984)
Clathria venosa (Alcolado, 1984)

Familia Mycalidae/Mycalidae family

Género *Mycale*/*Mycale* genus (Gray, 1867)
Mycale laevis (Carter, 1882)
Mycale microsigmatosa (Arndt, 1927)

Orden Scopalinida/Scopalinida order

Familia Scopalinidae/Scopalinidae family

Género *Scopalina*/*Scopalina* genus (Schmidt, 1862)
Scopalina ruetzleri (Wiedenmayer, 1977)
Género *Svenzea*/*Svenzea* genus (Álvarez, van Soest y Rützler, 2002)
*Svenzea zeai** (Álvarez, van Soest y Rützler, 1998)

Orden Tetractinellida/Tetractinellida order

Familia Tetillidae/Tetillidae family

Género *Cinachyrella*/*Cinachyrella* genus (Wilson, 1925)
Cinachyrella alloclada (Uliczka, 1929)
*Cinachyrella apion** (Uliczka, 1929)
*Cinachyrella kuekenthali** (Uliczka, 1929)

Orden Verongiida/Verongiida order

Familia Aplysinidae/Aplysinidae family

Género *Aiolochoiria*/*Aiolochoiria* genus (Wiedenmayer, 1977)
Aiolochoiria crassa (Hyatt, 1875)

Orden Verongiida/Verongiida order

Familia Aplysinidae/Aplysinidae family

Género *Aplysina*/*Aplysina* genus (Nardo, 1834)
Aplysina cauliformis (Carter, 1882)
Aplysina insularis (Duchassaing y Michelotti, 1864)
*Aplysina lacunosa** (Lamarck, 1814)
Aplysina sp.
Género *Verongula*/*Verongula* genus (Verrill, 1907)
Verongula rigida (Esper, 1794)

Clase Homoscleromorpha/Homoscleromorpha class

Orden Homosclerophorida/Homosclerophorida order

Familia Plakinidae/Plakinidae family

Género *Plakinastrella*/*Plakinastrella* genus (Schulze, 1880)
*Plakinastrella onkodes** (Uliczka, 1929)
Género *Plakortis*/*Plakortis* genus (Schulze, 1880)
*Plakortis angulospiculatus** (Carter, 1879)
Plakortis sp.



Evaluación del efecto de *Bacillus firmus* C101 en el crecimiento de poslarvas de *Litopenaeus vannamei* Boone (camarón blanco) y *Brachionus plicatilis* s.s. Müller (rotífero)

Effect of *Bacillus firmus* C101 on the growth of *Litopenaeus vannamei* Boone (White Shrimp) post-larvae, and *Brachionus plicatilis* s.s. Müller (Rotifer)

Jordan Steven Ruiz-Toquica¹, Laura Milena Becerra-Real¹ y Luisa Marcela Villamil Díaz^{2*}

0000-0002-5456-2434

0000-0003-3565-2343

0000-0003-2188-5453

1. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Ciencias Naturales e Ingenierías. Programa de Biología Marina. Bogotá, Colombia. jordansteven6@gmail.com; laura_milena1990@hotmail.com
2. Doctorado en Biociencias, Facultad de Ingeniería. Universidad de La Sabana. Chía, Colombia. luisa.villamil@unisabana.edu.co *Autora para correspondencia

RESUMEN

La creciente demanda de proteína acuícola sugiere buscar alternativas biotecnológicas que mejoren el cultivo de especies de interés comercial. En este estudio se evaluó *Bacillus firmus* C101 como promotor del crecimiento y potencial probiótico, el cual fue caracterizado y posteriormente administrado (10^6 UFC mL⁻¹ * día) en poslarvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) y en rotíferos (*Brachionus plicatilis* sensu stricto). Se observó que *B. firmus* C101 tiene tolerancia a sales biliares, fuerte actividad fosfatasa y actividad antimicrobiana frente a patógenos como *Vibrio alginolyticus* y *Aeromonas hydrophila*, entre otros. Por otro lado, tras su administración por tres semanas a poslarvas de camarón causó un aumento significativo ($p < 0,05$) en la tasa específica de crecimiento (TEC = $3,8 \pm 0,7$ % día⁻¹), el incremento de peso diario (ADG = $1,5 \pm 0,1$ mg día⁻¹) y en la tasa de conversión alimenticia (TCA = $1,5 \pm 0,1$ %) en comparación con los controles sin adición de esta bacteria (PBS estéril). Así mismo, la administración de *B. firmus* C101 (10^6 UFC mL⁻¹ * día) a rotíferos causó un aumento en la tasa de crecimiento poblacional (TC = $20,2 \pm 1,5$ % día⁻¹), fecundidad (F = $0,4 \pm 0,03$ huevos individuos⁻¹) y productividad (R = $16,0 \pm 0,7$ individuos mL⁻¹ * día), después de 48 h de cultivo. Con base en lo anterior y en comparación con otros estudios, se sugiere a *B. firmus* C101 como potencial probiótico y promotor del crecimiento en poslarvas de camarón, y como primer reporte del efecto de su administración en rotíferos. No obstante, se precisan estudios sobre los posibles mecanismos de acción, y pruebas a escala piloto y comercial para validar estos resultados y su posible transferencia al sector productivo.

PALABRAS CLAVE: probiótico, promotor del crecimiento, *Bacillus firmus*, camarón blanco, rotíferos.

ABSTRACT

The growing demand for aquaculture protein suggests seeking biotechnological alternatives that improve the cultivation of species of commercial interest. In this study, *Bacillus firmus* C101 was evaluated as a growth promoter and probiotic potential, which was characterized and subsequently administered (10^6 CFU mL⁻¹ * day) in post-larvae of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and rotifers (*Brachionus plicatilis* sensu stricto). *B. firmus* C101 was observed to have the tolerance to bile salts, strong phosphatase activity, and antimicrobial activity against pathogens such as *Vibrio alginolyticus* and *Aeromonas hydrophila*, among others. On the other hand, after its administration for three weeks to postlarvae of shrimp, it caused a significant increase ($p < 0.05$) in the specific growth rate (TEC = 3.8 ± 0.7 % day⁻¹), the increase in daily weight (ADG = 1.5 ± 0.1 mg day⁻¹) and in the feed conversion rate (TCA = 1.5 ± 0.1 %) compared to controls without the addition of this bacterium (sterile PBS). Likewise, the administration of *B. firmus* C101 (10^6 CFU mL⁻¹ * day) to rotifers caused an increase in the population growth rate (TC = 20.2 ± 1.5 % day⁻¹), fertility (F = 0.4 ± 0.03 eggs individuals⁻¹) and productivity (R = 16.0 ± 0.7 individuals mL⁻¹ * day) after 48 h of culture. Based on the above and in comparison with other studies, *B. firmus* C101 is suggested as a potential probiotic and growth promoter in shrimp postlarvae, and as the first report of the effect of its administration in rotifers. However, studies on the possible mechanisms of action are required, as well as tests on a pilot and commercial scale to validate these results and their possible transfer to the productive sector.

KEYWORDS: probiotic, growth promoter, *Bacillus firmus*, white shrimp, rotifers.

DOI: 1025268/bimc.invemar.2020.49.1.774.

Publicado por INVEMAR

Este es un manuscrito de acceso abierto bajo la licencia CC Reconocimiento-No Comercial-Compartir Igual

Published by INVEMAR

This is an open Access article under the CC BY-NC-SA

INTRODUCCIÓN

En acuicultura, los probióticos se definen como “microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades apropiadas, proveen beneficios en la salud de los hospederos” (FAO, 2001; Bajagai *et al.*, 2016). Estos microorganismos son capaces de secretar sustancias antagonicas, factores de crecimiento, nutrientes esenciales y enzimas digestivas, que promueven y mejoran la digestión, el crecimiento, la respuesta inmune y la respuesta al estrés (Nimrat *et al.*, 2013; Hoseinifar *et al.*, 2017). Para su aplicación en organismos acuáticos de cultivo, deben cumplir con ciertas características tales como una alta tolerancia a sales biliares, crecimiento a amplios rangos de temperatura, salinidad y pH, así como habilidad para adherirse a la mucosidad del tracto intestinal y no mostrar factores de virulencia (Kazuñ y Kazuñ, 2014; Dawood *et al.*, 2018).

En la actualidad, numerosas cepas bacterianas del género *Bacillus* se utilizan como probióticos para promover el crecimiento en organismos acuáticos cultivados (Kumar *et al.*, 2016; Ringø y Song, 2016), especialmente en estadios larvarios (Newaj-Fyzul *et al.*, 2014; Vieira *et al.*, 2016; Zorriehzahra *et al.*, 2016). De esta manera, se ha descrito previamente el efecto de cepas de *B. firmus* como promotores del crecimiento y supervivencia en el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) (Yuniarti *et al.*, 2013; Barman *et al.*, 2017), una especie de interés comercial que actualmente se ve afectada por enfermedades bacterianas, especialmente durante las etapas larvarias (Flores-Miranda *et al.*, 2012; López León *et al.*, 2016).

Así mismo, se ha demostrado que las bacterias probióticas tienen un efecto positivo en la productividad, crecimiento poblacional y fecundidad de organismos como los rotíferos del género *Brachionus* sp. (Najmi *et al.*, 2018), los cuales son utilizados como alimento vivo en el cultivo de organismos acuáticos en estadios larvarios (Gatesoupe, 1991; Hirata *et al.*, 1998; Zink *et al.*, 2013). En consecuencia, la creciente demanda en la bioseguridad en la cadena de producción, ha exigido el uso de estrategias biotecnológicas que eviten el uso inadecuado de antibióticos, y que permitan mejorar la respuesta fisiológica en los estadios larvarios y postlarvarios de especies como el camarón blanco, así como la calidad y los parámetros de los cultivos de rotíferos (Vieira *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2017). Por consiguiente, el presente estudio presenta las características de *B. firmus* C101 como promotor del crecimiento y posible candidato probiótico para poslarvas de camarón blanco (*L. vannamei*), y en el cultivo de rotíferos (*B. plicatilis* s.s.).

INTRODUCTION

In aquaculture, probiotics are defined as “live microorganisms that, when administered in appropriate amounts, provide benefits to the health of the hosts” (FAO, 2001; Bajagai *et al.*, 2016). These microorganisms are capable of secreting antagonistic substances, growth factors, essential nutrients, and digestive enzymes, which promote and improve digestion, growth, immune response, and the stress response (Nimrat *et al.*, 2013; Hoseinifar *et al.*, 2017). For their application in cultured aquatic organisms, they must meet certain characteristics such as a high tolerance to bile salts, growth at wide ranges of temperature, salinity, and pH, as well as the ability to adhere to mucus in the intestinal tract and not show factors of virulence (Kazuñ and Kazuñ, 2014; Dawood *et al.*, 2018).

Currently, numerous bacterial strains of the *Bacillus* genus are used as probiotics to promote growth in cultured aquatic organisms (Kumar *et al.*, 2016; Ringø and Song, 2016), especially in larval stages (Newaj-Fyzul *et al.*, 2014; Vieira *et al.*, 2016; Zorriehzahra *et al.*, 2016). In this way, the effect of *B. firmus* strains as growth and survival promoters has been previously described in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) (Yuniarti *et al.*, 2013; Barman *et al.*, 2017), a species of commercial interest that is currently affected by bacterial diseases, especially during the larval stages (Flores-Miranda *et al.*, 2012; López León *et al.*, 2016).

Likewise, probiotic bacteria have been shown to have a positive effect on the productivity, population growth and fertility of organisms such as rotifers of the genus *Brachionus* sp. (Najmi *et al.*, 2018), which are used as live food in the cultivation of aquatic organisms in larval stages (Gatesoupe, 1991; Hirata *et al.*, 1998; Zink *et al.*, 2013). Consequently, the growing demand for biosecurity in the production chain has required the use of biotechnological strategies that avoid the inappropriate use of antibiotics, and that allow improving the physiological response in the larval and post-larval stages of species such as white shrimp, as well as the quality and parameters of rotifer cultures (Vieira *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2017). Therefore, the present study presents the characteristics of *B. firmus* C101 as a growth promoter and possible probiotic candidate for postlarvae of white shrimp (*L. vannamei*), and in the culture of rotifers (*B. plicatilis* s.s.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de cepas bacterianas y mantenimiento en medios de cultivo

C101 fue aislado de branquias de larvas sanas de Cobia (*Rachycentron canadum*). Para los ensayos, C101 fue cultivado en agar y caldo Trypticase Soya (TSA y TSB, Becton Dickinson™) con NaCl 1 % y en agar Marino (Zobell™). *Vibrio alginolyticus*, se obtuvo de un episodio de mortalidad de Jurel (*Caranx hippos*) de un acuario local y *V. harveyi* BB120 (Bassler *et al.*, 1997), ambos se cultivaron en agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (Becton Dickinson™), agar Sangre-Cordero (Becton Dickinson™) y agar Nutritivo (Sigma-Aldrich). *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* y *Streptococcus agalactiae* se aislaron de mortalidades de Tilapia (*Oreochromis* spp.) y fueron obtenidos de la colección de microorganismos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia y cultivados en medios TSA, TSB y Sangre-Cordero. Para la preservación a largo plazo, las bacterias se cultivaron en caldo TSB y fueron almacenadas a -80 °C con 20 % de glicerol (Murillo y Villamil, 2011).

Caracterización de C101

La morfología se describió a través de microscopía óptica (Olympus CX22) y el carácter Gram a través de tinción (Claus, 1992). Se realizaron las pruebas catalasa y oxidasa (tetrametil-para-fenilendiamina) y se obtuvo el perfil enzimático con el kit API-ZYM® (Biomérieux). El crecimiento de C101 se evaluó a diferentes temperaturas (4, 28, 36 y 40°C), salinidades (0, 1, y 6,5 % de NaCl), pH (2, 4, 6, 7 y 8), y sales biliares (0,5, 1, 3 y 5 %). La identidad se determinó a partir de la secuenciación parcial del gen 16S ARNr con los primers 63f (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') y 1387r (5'-GGGCGGWGTGTACAAGGC-3'). Las lecturas se analizaron con el algoritmo BLASTn, y para la asignación de especie se tuvo en cuenta un mínimo de 98,65 % de similitud (Valenzuela-González *et al.*, 2015).

El crecimiento se evaluó según Villamil y Esguerra (2017). En placas de 96 pocillos se mezclaron por triplicado 50 µl del cultivo fresco (10⁶ UFC mL⁻¹) y 50 µl del medio líquido, y se incubaron a 28 °C. El crecimiento fue monitoreado por 72 h y la densidad óptica (DO) (Absorbancia o Abs a 600 nm) fue leída en el espectrofotómetro Modulus Microplate Reader. También, se estimó la viabilidad y supervivencia en agua de mar re-suspendiendo 10⁶ UFC mL⁻¹, incubando por 24 h a 28 °C, y realizando un recuento en placa (UFC mL⁻¹).

MATERIALS AND METHODS

Obtaining bacterial strains and maintenance in culture media

C101 was isolated from the gills of healthy Cobia larvae (*Rachycentron canadum*). For the assays, C101 was grown on trypticase soy broth and agar (TSA and TSB, Becton Dickinson™) with 1 % NaCl and on a marine agar (Zobell™). *Vibrio alginolyticus* was obtained from a mortality episode of Horse mackerel (*Caranx hippos*) from a local aquarium and *V. harveyi* BB120 (Bassler *et al.*, 1997), both were grown on thiosulfate-citrate-bile-sucrose agar (Becton Dickinson™), blood-lamb agar (Becton Dickinson™) and nutrient agar (Sigma-Aldrich). *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, and *Streptococcus agalactiae* were isolated from mortalities of Tilapia (*Oreochromis* spp.) and were obtained from the collection of microorganisms of the Veterinary Faculty of the National University of Colombia and cultured in TSA, TSB, and sheep-blood media. For long-term preservation, the bacteria were cultivated in TSB broth and stored at -80 °C with 20 % glycerol (Murillo and Villamil, 2011).

C101 Characterization

Morphology was described through light microscopy (Olympus CX22) and the Gram character through staining (Claus, 1992). Catalase and oxidase (tetramethyl-para-phenylenediamine) tests were performed and the enzyme profile was obtained with the API-ZYM® kit (Biomérieux). C101 growth was evaluated at different temperatures (4, 28, 36, and 40 °C), salinities (0, 1, and 6.5 % NaCl), pH (2, 4, 6, 7, and 8), and bile salts (0.5, 1, 3 and 5 %). Identity was determined from partial sequencing of the 16S rRNA gene with primers 63f (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC^{-3'}) and 1387r (5'-GGGCGGWGTGTACAAGGC^{-3'}). The readings were analyzed with the BLASTn algorithm, and a minimum of 98.65 % similarity was taken into account for the species assignment (Valenzuela-González *et al.*, 2015).

Growth was evaluated according to Villamil and Esguerra (2017). In 50-well plates. 50 µl of the fresh culture (10⁶ CFU mL⁻¹) and 50 µl of the liquid medium were mixed in triplicate and incubated at 28 °C. Growth was monitored for 72 h and the optical density (OD) (absorbance or Abs at 600 nm) was read on the Modulus Microplate Reader spectrophotometer. Also, the viability and survival in seawater were estimated by re-suspending 10⁶ CFU mL⁻¹, incubating for 24 h at 28 °C, and performing a plate count (CFU mL⁻¹).

Ensayo de actividad antimicrobiana

Los productos extracelulares (ECPs) de C101 fueron extraídos siguiendo la metodología descrita por Cabo *et al.* (1999) y Villamil *et al.* (2010) con ligeras modificaciones. Para ello, C101 se cultivó en caldo por 24 h, el cultivo se centrifugó en tres ciclos de 3000 rpm x 15 minutos, y el sobrenadante (que contenía los ECPs) fue recuperado y luego filtrado a 0,2 μm . Posteriormente, en una placa de 96 pocillos se adicionaron por triplicado 50 μl del filtrado y 50 μl del cultivo fresco del patógeno (10^6 UFC mL^{-1}). La placa se incubó a 28 °C por 24 h y se realizó la lectura de la DO. Se incluyó como control 50 μl del medio de cultivo con los ECPs. El cambio en la DO de los cultivos de las cepas patógenas se expresó como porcentaje de inhibición del crecimiento.

Obtención y mantenimiento de camarones y rotíferos

Las poslarvas (PLs) de camarón blanco (*L. vannamei*) en estadio PL-21, y los rotíferos (*B. plicatilis* s.s.) fueron provistos por Ceniagua (Cartagena, Colombia), transportados hasta las instalaciones de la Universidad Jorge Tadeo Lozano (Santa Marta, Colombia), y aclimatados en estanques con aeración continua. Las poslarvas se dispusieron en un acuario de vidrio con 32 L de agua de mar filtrada (35 de salinidad y 28 °C), a una densidad de 16 PLs L^{-1} , y se alimentaron con concentrado Nicovita molido (tamaño 500 μm y donado por Ceniagua) en tres raciones diarias (10 % del peso corporal) (Membreño *et al.*, 2014). Las condiciones se mantuvieron estables, con aeración continua, recambios de agua del 80 % día^{-1} y foto-período de 12 h luz y 12 h oscuridad. El cultivo masivo de rotíferos (*B. plicatilis* s.s.) se mantuvo en agua de mar filtrada y estéril (35 de salinidad y 28 °C), con condiciones estables de aeración, iluminación continua, y recambios de agua del 100 % día^{-1} , tamizándolos por 100 y 60 μm , y alimentándolos dos veces al día con *Nanochloropsis* sp. (10^6 microalgas mL^{-1}).

Evaluación de *B. firmus* C101 como probiótico para camarones y rotíferos

C101 se cultivó en caldo TSB por 24 h a 28 °C. El cultivo se centrifugó a 6000 rpm por 15 min a 4 °C, el pellet fue lavado tres veces con solución salina estéril (0,9 % NaCl), y se resuspendió en 15 ml de Buffer Fosfatos (PBS 1 X) estéril. Se estimó la concentración inicial de la suspensión líquida por espectrofotometría (Abs a 600 nm), y se verificó por recuento directo en placa y se reportó como número de unidades formadoras de colonia por unidad de volumen (UFC mL^{-1}).

Antimicrobial activity assay

The C101 extracellular products (ECPs) were extracted following the methodology described by Cabo *et al.* (1999) and Villamil *et al.* (2010) with slight modifications. For this, C101 was cultivated in broth for 24 h, the culture was centrifuged in three cycles of 3000 rpm x 15 minutes, and the supernatant (containing the ECPs) was recovered and then filtered at 0.2 μm . Subsequently, in a 96-well plate, 50 μl of the filtrate and 50 μl of the fresh pathogen culture (10^6 CFU mL^{-1}) were added in triplicate. The plate was incubated at 28 °C for 24 h and the OD reading was performed. 50 μl of the culture medium was included as control with the ECPs. The change in the OD of the cultures of the pathogenic strains was expressed as a percentage of growth inhibition.

Obtaining and maintaining shrimp and rotifers

The postlarvae (PLs) of white shrimp (*L. vannamei*) in stage PL-21, and the rotifers (*B. plicatilis* s.s.) were provided by CENIACUA (Cartagena, Colombia), transported to the facilities of the Jorge Tadeo Lozano University (Santa Marta, Colombia), and acclimatized in ponds with continuous aeration. The postlarvae were placed in a glass aquarium with 32 L of filtered seawater (35 salinity and 28 °C), at a density of 16 PLs L^{-1} , and were fed with ground Nicovita concentrate (size 500 μm and donated by CENIACUA) in three daily rations (10 % of body weight) (Membreño *et al.*, 2014). The conditions were stable, with continuous aeration, 80 % water changes day^{-1} , and photo-period of 12 h light and 12 h darkness. The massive culture of rotifers (*B. plicatilis* s.s.) was kept in filtered and sterile seawater (35 salinity and 28 °C), with stable conditions of aeration, continuous lighting, and 100 % water changes day^{-1} , sieving them per 100 and 60 μm , and feeding them twice a day with *Nanochloropsis* sp. (10^6 microalgae mL^{-1}).

Evaluation of *B. firmus* C101 as a probiotic for shrimp and rotifers

C101 was grown in TSB broth for 24 hr at 28 °C. The culture was centrifuged at 6000 rpm for 15 min at 4 °C, the pellet was washed three times with sterile saline solution (0.9 % NaCl), and resuspended in 15 ml of sterile Phosphate Buffer (1X PBS). The initial concentration of the liquid suspension was estimated by spectrophotometry (Abs at 600 nm), and verified by direct plate count and reported as the number of colony-forming units per unit volume (CFU mL^{-1}).

Evaluación para poslarvas de camarón

Se dispusieron tres contenedores plásticos para el tratamiento con C101 y tres para el control (PBS estéril). En cada contenedor con 2 L de agua de mar ultra-filtrada se sembraron 30 PLs de camarón (para un total de 180 PLs). Todas las condiciones de cultivo y de alimentación se mantuvieron estables realizando recambios de agua del 100 % día⁻¹. La suspensión líquida de C101 fue adicionada diariamente en el agua de los contenedores (Luis-Villaseñor *et al.*, 2011) a una dosis final de 10⁶ UFC mL⁻¹ * día (Zhou *et al.*, 2009). Como control se adicionó PBS, sin presencia de C101. El experimento tuvo una duración de tres semanas.

Al inicio del experimento se tomaron datos del peso seco (muestras incubadas a 65 °C por 48 h) y la longitud en fresco de las PLs de camarón (n = 10). Al terminar el experimento se tomaron estos mismos datos tanto de los controles (n = 30, es decir, 10 de cada réplica) como de las poslarvas tratadas con C101 (n = 30). La longitud en fresco se determinó por estereoscopia, mientras que el peso seco se midió en una balanza digital (Sartorius, Cubis®). Adicionalmente, al final del experimento también se determinó el número de PLs vivas antes de tomar las muestras para los análisis. Con los datos obtenidos se calcularon los siguientes índices: Ganancia en peso (GP) (%) = (Wf-Wi)/Wi * 100, Ganancia en talla (GT) (%) = (Lf-Li)/Li * 100, Tasa Específica de Crecimiento (TEC) (% día⁻¹) = (LnWf-LnWi)/t * 100, Promedio de Incremento de Peso por Día (ADG) (mg día⁻¹) = (Wf-Wi)/t, y la Tasa de Conversión Alimenticia (TCA) = R/(Wf-Wi); en donde *W* es peso promedio, *L* es la longitud promedio, *t* es el tiempo de duración (en días) del experimento, y *R* es la ración diaria del alimento concentrado (Abd El-Rhman *et al.*, 2009; Nimrat *et al.*, 2013). La tasa de supervivencia de los organismos se calculó así: Supervivencia (%) = (nf/ni) * 100, en donde *ni* es el número total de individuos en cada contenedor al inicio del experimento y *nf* al final (Nimrat *et al.*, 2012).

Evaluación para rotíferos

Los rotíferos fueron dispuestos en erlenmeyers con 80 ml de agua de mar ultra-filtrada y estéril, a una densidad inicial de 65 ± 4,2 rotíferos mL⁻¹. La adición de *B. firmus* C101 se llevó a cabo por dos días (una adición diaria, es decir, cada 24 h), a una concentración final de 10⁶ UFC mL⁻¹ * día. Tanto el tratamiento con C101, como el control (medio de cultivo estéril) se realizaron por triplicado. También, todas las condiciones de cultivo y de alimentación fueron constantes con recambios de agua del 100 % día⁻¹.

Evaluation for shrimp postlarvae

Three plastic containers were placed for the treatment with C101 and three for the control (sterile PBS). In each container with 2 L of ultra-filtered seawater, 30 PLs of shrimp were sown (for a total of 180 PLs). All the culture and feeding conditions were kept stable, making 100 % water changes day⁻¹. The C101 liquid suspension was added daily in the container water (Luis-Villaseñor *et al.*, 2011) at a final dose of 10⁶ CFU mL⁻¹ * day (Zhou *et al.*, 2009). PBS was added as a control, without the presence of C101. The experiment lasted three weeks.

At the beginning of the experiment, data on dry weight (samples incubated at 65 °C for 48 h) and fresh length of shrimp PLs (n = 10) were taken. At the end of the experiment, these same data were taken from both the controls (n = 30, that is, 10 from each replica) and the postlarvae treated with C101 (n = 30). The fresh length was determined by stereoscopy, while dry weight was measured on a digital scale (Sartorius, Cubis®). Additionally, at the end of the experiment, the number of live PLs was also determined before taking samples for analysis. The following indices were calculated with the obtained data: Weight gain (GP) (%) = (Wf - Wi)/Wi * 100, Height gain (GT) (%) = (Lf - Li)/Li * 100, Specific Growth Rate (TEC) (% day⁻¹) = (LnWf - LnWi)/t * 100, Average Weight Increase per Day (ADG) (mg day⁻¹) = (Wf - Wi)/t, and the Food Conversion Rate (TCA) = R/(Wf - Wi); where *W* is average weight, *L* is the average length, *t* is the duration time (in days) of the experiment, and *R* is the daily ration of the concentrated food (Abd El-Rhman *et al.*, 2009; Nimrat *et al.*, 2013). The survival rate of the organisms was calculated as follows: Survival (%) = (nf/ni) * 100, where *ni* is the total number of individuals in each container at the beginning of the experiment and *nf* at the end (Nimrat *et al.*, 2012).

Evaluation for rotifers

The rotifers were placed in Erlenmeyer with 80 ml of ultra-filtered and sterile seawater, at an initial density of 65 ± 4.2 mL⁻¹ rotifers. The addition of *B. firmus* C101 was carried out for two days (one added daily, that is, every 24 h), to a final concentration of 10⁶ CFU mL⁻¹ * day. Both the C101 treatment and the control (sterile culture medium) were performed in triplicate. Also, all the culture and feeding conditions were constant with 100 % day⁻¹ water replacements.

El efecto de la administración de C101 en los rotíferos se determinó mediante el crecimiento poblacional, medido por el cambio en la densidad de individuos, hembras, machos y huevos. Para ello, se tomó como unidad de muestreo 1,0 ml de cada cultivo y se realizó un conteo por microscopía óptica mediante el método de Edmonson (conteo/volumen) en placa de Sedgewick Rafterm (Biologik®), y se tomaron tres alícuotas por tratamiento para tener en cuenta la variabilidad de las alícuotas. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado, y con ello se calcularon los siguientes índices: Tasa de crecimiento poblacional (TC) (% día⁻¹) = $(\ln N_t - \ln N_0 / t * 100)$, Fecundidad (F) (huevos indiv.⁻¹) = (# Huevos/# Hembras) y Productividad (R) (indiv. mL⁻¹ * día) = $(N_t - N_0 / t * 100)$; en donde N_t es la densidad de rotíferos en el tiempo t , N_0 es la densidad inicial y t es el tiempo de suministro en el cultivo (Cisneros, 2011, 2012).

Evaluación del número de bacterias totales cultivables asociadas a camarones y rotíferos

Tras la adición de C101, se realizó un recuento de bacterias totales heterótrofas (BT) a partir de los tejidos de las poslarvas de camarón y de los rotíferos. Para ello, se tomó un individuo (1,0 ml en el caso de los rotíferos) de cada réplica tanto del tratamiento como del control. Las muestras fueron lavadas con abundante agua de mar estéril, y fueron maceradas bajo condiciones de esterilidad. Este macerado fue resuspendido en 0,5 ml de PBS 1X y luego diluido en serie hasta 10⁶ según Villamil *et al.* (2010) y Murillo y Villamil (2011). Después, 0,1 ml de las diluciones 10⁻³ a 10⁻⁶ fueron sembrados por triplicado en agar Marino (Zobell™). Las placas se incubaron a 28 °C por 24 h, y al final se determinó el número de unidades formadoras de colonias por miligramo de tejido (UFC mg⁻¹) y por rotífero (UFC rotífero⁻¹). Todos los recuentos se llevaron a cabo por triplicado.

Análisis estadístico

Los datos se expresaron como promedios ± error estándar (ES). Se probaron los supuestos de normalidad con el test de Shapiro-Wilk, y la homogeneidad de varianzas (homocedasticidad) con una prueba de Levene's. Se realizaron análisis de varianza a una vía (ANOVA) para probar las diferencias estadísticas ($p < 0,05$). Además, se usó un test de múltiples rangos de Duncan para comparar las medias cuando las diferencias eran detectadas con el ANOVA. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo en SPSS 15,0 y Statgraphics Centurión XV para Windows (California, USA).

The effect of C101 administration on rotifers was determined by population growth, as measured by the change in the density of individuals, females, males, and eggs. For this, 1.0 ml of each culture was taken as a sampling unit and a count was made by light microscopy using the Edmonson method (count/volume) on a Sedgewick Rafter plate (Biologik®). Also three aliquots were taken per treatment to take into account the variability of the aliquots. All measurements were made in triplicate, and the following indices were calculated: Population growth rate (TC) (% day⁻¹) = $(\ln N_t - \ln N_0 / t * 100)$, Fertility (F) (individual eggs.⁻¹) = (# Eggs/# Females) and Productivity (R) (indiv. mL⁻¹ * day) = $(N_t - N_0 / t * 100)$; where N_t is the density of rotifers at time t , N_0 is the initial density and t is the supply time in the crop (Cisneros, 2011, 2012).

Evaluation of the number of total cultivable bacteria associated with shrimp and rotifers

After the addition of C101, a count of total heterotrophic bacteria (BT) was performed from the tissues of the post-larvae of shrimp and rotifers. For this, an individual (1.0 ml in the case of rotifers) was taken from each replicate of both the treatment and the control. The samples were washed with abundant sterile seawater and were macerated under sterile conditions. This macerate was resuspended in 0.5 ml of 1X PBS and then serially diluted to 10⁻⁶ according to Villamil *et al.* (2010) and Murillo and Villamil (2011). Then 0.1 ml of dilutions 10⁻³ to 10⁻⁶ were plated in triplicate on marine agar (Zobell™). The plates were incubated at 28 °C for 24 h, and at the end, the number of colonies forming units per milligram of tissue (CFU mg⁻¹) and rotifer (CFU rotifer⁻¹) was determined. All counts were carried out in triplicate.

Statistic analysis

Data were expressed as average ± standard error (ES). Assumptions of normality were tested with the Shapiro-Wilk test and homogeneity of variances (homoscedasticity) with Levene's test. One-way analysis of variance (ANOVA) was performed to test statistical differences ($p < 0.05$). Also, a Duncan multi-range test was used to compare the means when the differences were detected with the ANOVA. All statistical analyzes were carried out in SPSS 15.0 and Statgraphics Centurion XV for Windows (California, USA).

RESULTADOS

Caracterización de C101

La caracterización morfológica y fisiológica de C101 se describe en la Tabla 1. Este aislado fue identificado como *Bacillus firmus* (98,8 % de identidad), mostró crecimiento a diferentes temperaturas (entre 4 y 40°C), concentraciones de sal (entre 0 y 6,5 % de NaCl), y concentraciones de sales biliares (entre 0,5 y 5 %), pero no se evidenció crecimiento a pH extremos (< 6 y > 8), ni por debajo de 4°C. El crecimiento ideal de C101 se observó a 28°C, 1 % de NaCl y pH 7,4, condiciones que fueron utilizadas en todos los ensayos posteriores para su cultivo. En cuanto al crecimiento, se observó que continúa creciendo después de las 24 h y hasta las 72 h de incubación a una tasa de $0,0191 \pm 0,003$ abs h⁻¹, y además, es capaz sobrevivir en agua de mar (28°C y 35 de salinidad) con recuentos de $4,2 \pm 1,4 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ de agua tras 24 h de incubación.

Tabla 1. Características morfológicas y fisiológicas (crecimiento) de *Bacillus firmus* C101.

Característica/Characteristic	Observación*/Observation*	Característica/Characteristic	Observación*/Observation*
Morfología/Gram Morphology/Gram	Bacilos largos/positivo Long/positive bacilli	Temperatura/temperature 4-40 °C	+
Salinidad/salinity < 6.5 % NaCl	+	pH < 6	-
Salinidad/salinity ≥ 6.5 % NaCl	+	6 ≤ pH ≤ 8	+
Temperatura/temperature ≤ 4°C	-	Sales biliares/Bile Salts 0.5 – 5 %	+

* Hubo crecimiento: +. No hubo crecimiento: -

RESULTS

C101 characterization

The morphological and physiological characterization of C101 is described in Table 1. This isolate was identified as *Bacillus firmus* (98.8 % identity), and showed growth at different temperatures (between 4 and 40 °C), salt concentrations (between 0 and 6.5 % NaCl), and concentrations of bile salts (between 0.5 and 5 %), but no growth was observed at extreme pH (< 6 and > 8), or below 4 °C. The ideal growth of C101 was observed at 28 °C, 1 % NaCl and pH 7.4, conditions that were used in all subsequent tests for its cultivation. Regarding growth, it was observed that it continues to grow after 24 h and up to 72 h of incubation at a rate of 0.0191 ± 0.003 abs h⁻¹, and also, it can survive in seawater (28 °C and 35 of salinity) with counts of $4.2 \pm 1.4 \times 10^6$ CFU mL⁻¹ of water after 24 h incubation.

Table 1. Morphological and physiological characteristics (growth) of *Bacillus firmus* C101.

Actividad enzimática y antimicrobiana de C101

La actividad enzimática de *B. firmus* C101 se muestra en la Tabla 2. En resumen, *B. firmus* C101 es catalasa positiva, oxidasa negativa, presentó intensa actividad fosfatasa ácida y alcalina, moderada actividad lipasa/esterasa (C4 – C8) y tripsina/ α -quimotripsina y no muestra actividad en la hidrólisis de disacáridos. Adicionalmente, los ECPs de *B. firmus* C101 mostraron actividad inhibitoria del crecimiento de diferentes patógenos, resultando ser más activos contra *V. alginolyticus* (49,7 %), *A. hydrophila* (47,9 %) y *S. agalactiae* (46,8 %) y en menor medida frente a *E. tarda* (39,6 %) y *V. harveyi* BB120 (12,3 % de inhibición).

Enzymatic and antimicrobial activity of C101

The enzymatic activity of *B. firmus* C101 is shown in Table 2. In summary, *B. firmus* C101 is catalase positive, oxidase negative, showed intense acid and alkaline phosphatase activity, moderate lipase/esterase (C4 – C8) and trypsin/ α -chymotrypsin, and shows no activity in the hydrolysis of disaccharides. Additionally, the ECPs of *B. firmus* C101 showed growth inhibitory activity of different pathogens, turning out to be more active against *V. alginolyticus* (49.7 %), *A. hydrophila* (47.9 %) and *S. agalactiae* (46.8 %) and to a lesser extent vs. *E. tarda* (39.6 %) and *V. harveyi* BB120 (12.3 % inhibition).

Tabla 2. Actividad enzimática de *Bacillus firmus* C101.

Enzima/Enzyme	Actividad*/Activity*
Catalasa/Catalase	+
Oxidasa (Citb)/Oxidase (Citb)	-
2-fosfatasa alcalina/2-alkaline phosphatase	+++
Esterasa (C4)/Esterase (C4)	+
Esterasa/Lipasa (C8)/Esterase/Lipase (C8)	+
Lipasa (C14)/Lipase (C14)	W
L-leucina 2-arilamidasa/L-leucine 2-arylamidase	+
L-cistina 2-arilamidasa/L-cystine 2-arylamidase	W

* No hubo actividad: -. Actividad débil: W. Actividad moderada: +. Actividad intensa: ++. Actividad muy intensa: +++.

Table 2. *Bacillus firmus* C101 enzymatic activity.

Enzima/Enzyme	Actividad*/Activity*
L-valina 2-arilamidasa/L-valine 2-arylamidase	-
Tripsina/Trypsin	W
α -quimotripsina/ α -chymotrypsin	+
2-fosfatasa ácida/2-acid phosphatase	+++
α -galactosidasa (Melibiasa)/ α -galactosidase (Melibiase)	-
β -galactosidasa (Lactasa)/ β -galactosidase (Lactase)	-
α -glucosidasa (Maltasa)/ α -glucosidase (Maltase)	-
N-acetil- β -glucosaminidasa/N-acetyl- β -glucosaminidase	W

* There was no activity: -. Weak activity: W. Moderate activity: +. Intense activity: ++. Very intense activity: +++.

Evaluación de *B. Firmus* C101 como probiótico para camarones y rotíferos

Evaluación para poslarvas de camarón

La longitud y peso promedio iniciales de las poslarvas (PL-21) de camarón blanco (*L. vannamei*) fueron de $70,2 \pm 2,1$ mm y $12,3 \pm 0,02$ mg respectivamente. Luego de la administración de *B. firmus* C101 (Figura 1), se evidenció un aumento significativo ($p < 0,05$) para todos los indicadores de crecimiento en relación con el tratamiento control (Tabla 3).

Evaluation of *B. firmus* C101 as a probiotic for shrimp and rotifers

Evaluation for shrimp postlarvae

The initial length and average weight of the postlarvae (PL-21) of white shrimp (*L. vannamei*) were 70.2 ± 2.1 mm and 12.3 ± 0.02 mg respectively. After the administration of *B. firmus* C101 (Figure 1), a significant increase ($p < 0.05$) was evident for all growth indicators concerning the control treatment (Table 3).

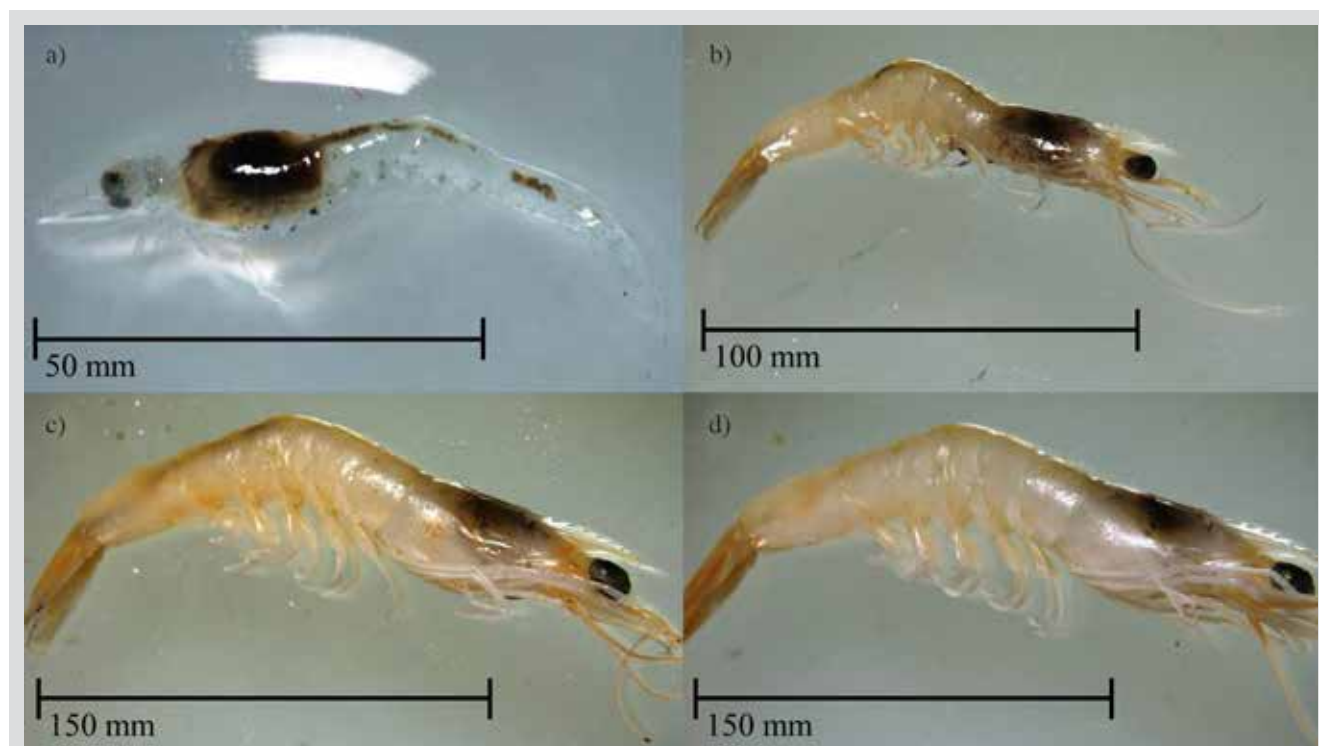


Figura 1. Poslarvas (PLs) de camarón *Litopenaeus vannamei* administradas con *Bacillus firmus* C101. a) PLs antes de la adición, b) PLs del control (sin adición), c) y d). PLs administradas con *B. firmus* C101 (Réplica 1 y 2).

Figure 1. Postlarvae (PLs) of shrimp *Litopenaeus vannamei* administered with *Bacillus firmus* C101. a) PLs before addition, b) PLs from control (no addition), c) y d). PLs administered with *B. firmus* C101 (Replica 1 and 2).

**Tabla 3.** Indicadores de crecimiento y supervivencia de las postlarvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) administrados con *Bacillus firmus* C101.

Tratamiento/ Treatment	Long. final (mm)	GT (%)	TEC (% día ⁻¹)	Peso final/Final weight (mg)	GP (%)	ADG (mg día ⁻¹)	TCA (%)	S (%)
Control	103.4 ± 5.7	48.3 ± 8.8	1.9 ± 0.3	18.9 ± 1.0	53.6 ± 7.9	0.3 ± 0.1	7.2 ± 1.0	91.1 ± 2.9
<i>B. firmus</i> C101	160.4 ± 12.3 ^a	130.7 ± 33.5 ^a	3.8 ± 0.7 ^a	42.1 ± 2.6 ^a	242.2 ± 21.2 ^a	1.5 ± 0.1 ^a	1.5 ± 0.1 ^a	92.2 ± 2.9 ^b

Los datos se expresaron como promedio ± ES. a) Hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en los promedios del tratamiento con C101 con respecto al control. b) No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto al control. Long.: longitud, GT: ganancia en talla, TEC: tasa específica de crecimiento, GP: ganancia en peso, ADG: promedio de incremento en peso diario, TCA: tasa de conversión alimenticia, S: supervivencia.

Table 3. Growth and survival indicators of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae administered with *Bacillus firmus* C101.

Data were expressed as average ± ES. a) There were significant differences ($p < 0.05$) in the averages of the treatment with C101 for the control. b) There were no significant differences ($p > 0.05$) for the control. Length: length, GT: height gain, TEC: specific growth rate, GP: weight gain, ADG: average daily weight increase, TCA: feed conversion rate, S: survival.

En general, se observó un incremento en la longitud y peso de las postlarvas con el tratamiento de *B. firmus* C101, respecto a las del control. Hubo un efecto marcado sobre la tasa específica del crecimiento ($TEC = 3,8 \pm 0,7 \text{ \% día}^{-1}$), el incremento en peso diario ($ADG = 1,5 \pm 0,1 \text{ mg día}^{-1}$) y la tasa de conversión alimenticia ($TCA = 1,5 \pm 0,1 \text{ \%}$), que fue significativamente menor ($p = 0,0011$) en relación con el control. Además, no se observaron efectos negativos en la tasa de supervivencia ($S > 90 \text{ \%}$) de las postlarvas tras la adición de *B. firmus* C101, ni diferencias significativas con respecto al control ($p > 0,05$; $p = 0,3793$).

Evaluación para rotíferos

Las densidades iniciales en los cultivos fueron de $65,0 \pm 4,2 \text{ indiv. mL}^{-1}$, $44,7 \pm 3,8 \text{ hembras mL}^{-1}$, $20,3 \pm 2,3 \text{ machos mL}^{-1}$ y $25,0 \pm 3,2 \text{ huevos mL}^{-1}$, y los indicadores del crecimiento poblacional se describen en la Tabla 4. Se observó que para el número de individuos totales y de hembras no hubo diferencias ($p > 0,05$) entre el tiempo inicial y el tiempo final en el control. No obstante, en el tratamiento con *B. firmus* C101 sí se encontraron diferencias ($p < 0,05$). También se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) del número de huevos en el control en el tiempo final. El número de machos se redujo significativamente al final del experimento en el control y tratamiento. Por otro lado, se observó un incremento significativo en el número de individuos ($p = 0,0101$), hembras ($p = 0,0009$) y huevos ($p = 0,00001$) tras la administración de *B. firmus* C101 con relación al control. Así, se observó que el efecto de *B. firmus* C101 fue más evidente para el número total de rotíferos ($97,0 \pm 3,4 \text{ indiv. mL}^{-1}$) y para el de hembras ($87,7 \pm 1,9 \text{ hembras mL}^{-1}$) y en relación con el control. Los índices de crecimiento poblacional (TC), fecundidad (F) y productividad (R) también fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) tras la administración de *B. firmus* C101, y en comparación con lo obtenido para el control.

In general, an increase was observed in the length and weight of the postlarvae with the *B. firmus* C101 treatment, compared to those of the control. There was a marked effect on the specific growth rate ($TEC = 3.8 \pm 0.7 \text{ \% day}^{-1}$), the increase in daily weight ($ADG = 1.5 \pm 0.1 \text{ mg day}^{-1}$) and the feed conversion rate ($TCA = 1.5 \pm 0.1 \text{ \%}$), which was significantly lower ($p = 0.0011$) in relation to the control. Furthermore, no negative effects were observed in the survival rate ($S > 90 \text{ \%}$) of the postlarvae after the addition of *B. firmus* C101, nor significant differences concerning the control ($p > 0.05$; $p = 0.3793$).

Evaluation for rotifers

The initial densities in the cultures were $65.0 \pm 4.2 \text{ indiv. mL}^{-1}$, $44.7 \pm 3.8 \text{ females mL}^{-1}$, $20.3 \pm 2.3 \text{ males mL}^{-1}$, and $25.0 \pm 3.2 \text{ eggs mL}^{-1}$, and the indicators of population growth are described in Table 4. It was observed that for the number of total individuals and of females there were no differences ($p > 0.05$) between the initial time and the final time in the control. However, in the treatment with *B. firmus* C101, differences were found ($p < 0.05$). A significant decrease ($p < 0.05$) in the number of eggs in the control was also observed in the final time. The number of males was significantly reduced at the end of the experiment in control and treatment. On the other hand, a significant increase was observed in the number of individuals ($p = 0.0101$), females ($p = 0.0009$), and eggs ($p = 0.00001$) after the administration of *B. firmus* C101 concerning the control. Thus, it was observed that the effect of *B. firmus* C101 was more evident for the total number of rotifers ($97.0 \pm 3.4 \text{ indiv. mL}^{-1}$) and for that of females ($87.7 \pm 1.9 \text{ females mL}^{-1}$) and concerning the control. Population growth rates (TC), fertility (F), and productivity (R) were also significantly higher ($p < 0.05$) after the administration of *B. firmus* C101, and compared to that obtained for the control.

Tabla 4. Parámetros de crecimiento poblacional de los cultivos de rotíferos (*Brachionus plicatilis* s.s.), administrados sin probiótico (control) y con *Bacillus firmus* C101, cultivados por 48 h.

Tratamiento/ Treatment	Indiv. mL ⁻¹ final	♀ mL ⁻¹ final	♂ mL ⁻¹ final	Huevos/Eggs mL ⁻¹ final	TC (% día ⁻¹ /day ⁻¹)	F (huevos/eggs indiv. ⁻¹)	R (indiv. mL ⁻¹ * día/day)
Control	50.8 ± 3.1 ^b	48.8 ± 2.9 ^b	2.0 ± 0.2 ^a	4.3 ± 0.6 ^a	0.0 ± 0.0	0.09 ± 0.01	0.0 ± 0.0
<i>B. firmus</i> C101	97.0 ± 3.4 ^{a,c}	87.7 ± 1.9 ^{a,c}	9.3 ± 1.6 ^{a,d}	31.2 ± 1.9 ^{b,c}	20.2 ± 1.5 ^c	0.4 ± 0.03 ^c	16.0 ± 0.7 ^c

Los datos se expresaron como promedio ± ES. a) Hubo diferencias significativas entre el tiempo inicial y el final (p < 0.05). b) No hubo diferencias significativas entre el tiempo inicial y el final (p > 0.05). c) Hubo diferencias significativas en los promedios de los parámetros/índices con relación al control (p < 0.05). d) No hubo diferencias significativas en el promedio del parámetros con relación al control ♀: hembras, ♂: machos, TC: tasa de crecimiento poblacional, F: fecundidad (egg-ratio) y R: productividad.

Table 4. Population growth parameters of cultures of rotifers (*Brachionus plicatilis* s.s.), administered without probiotic (control) and with *Bacillus firmus* C101, cultivated for 48 h.

Data were expressed as average ± ES. a) There were significant differences between the initial and final time (p < 0.05). b) There were no significant differences between the initial and final time (p > 0.05). c) There were significant differences in the means of the parameters/indices concerning the control (p < 0.05). d) There were no significant differences in the mean of the parameters concerning the control ♀: females, ♂: males, TC: population growth rate, F: fertility (egg-ratio), and R: productivity.

Evaluación del número de bacterias totales cultivables asociadas a camarones y rotíferos

Los valores de los recuentos de bacterias totales (BT) cultivables a partir de los tejidos de las poslarvas de camarón blanco y rotíferos se muestran en la Figura 2. En ambos casos, se observó un aumento significativo (p < 0,05) en el recuento en placa de BT tras la administración de *B. firmus* C101, en relación a los obtenidos para el tratamiento control. En cuanto a las poslarvas de camarón, se obtuvieron recuentos en promedio de 4,9 ± 0,4 x 10⁷ UFC mg⁻¹ de tejido con la adición de *B. firmus* C101. Para los rotíferos, el recuento promedio fue de 2,9 ± 0,3 x 10⁵ UCF rotífero⁻¹ tras el tratamiento con *B. firmus* C101.

Evaluation of the number of total cultivable bacteria associated with shrimp and rotifers

The values of total cultivable bacteria (BT) counts from the tissues of post-larvae of white shrimp and rotifers are shown in Figure 2. In both cases, a significant increase (p < 0.05) was observed in the count in BT plate after administration of *B. firmus* C101, concerning those obtained for the control treatment. Regarding shrimp postlarvae, average counts of 4.9 ± 0.4 x 10⁷ CFU mg⁻¹ tissue were obtained with the addition of *B. firmus* C101. For rotifers, the average count was 2.9 ± 0.3 x 10⁵ UCF rotifer⁻¹ after treatment with *B. firmus* C101.

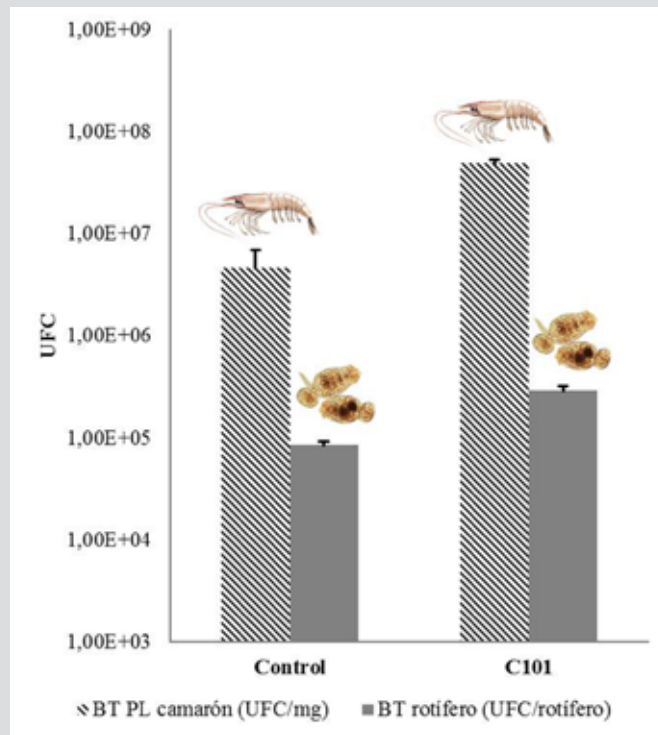


Figura 2. Recuento de bacterias totales (BT) en los tejidos de las PLs de camarón y de los rotíferos. Se muestra el promedio + ES.

Figure 2. Total bacterial count (BT) in the tissues of shrimp and rotifers PLs. Average + ES is displayed.

DISCUSIÓN

Evaluación de *B. firmus* C101 como probiótico para poslarvas de camarón

Las bacterias del género *Bacillus* han tenido éxito como aditivos en la dieta de organismos acuáticos de cultivo (Kumar *et al.*, 2016; Ringø y Song, 2016), mejorando la calidad del agua (Zokaeifar *et al.*, 2014; Tang *et al.*, 2016) y evidenciando un potencial efecto sobre el crecimiento y supervivencia en estadios larvarios de diferentes especies marinas de interés comercial (Vieira *et al.*, 2016; Zorriehzaha *et al.*, 2016). En el cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) se ha demostrado el efecto positivo de distintas especies de este género (*i.e.* *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. coagulans* y *B. licheniformis*) cuando se han administrado a diferentes dosis, y en alimentos liofilizados (10^8 UFC g⁻¹) (Wang, 2007), micro-encapsulados (10^9 UFC g⁻¹) (Nimrat *et al.*, 2012), pellets (10^{10} UFC g⁻¹) (Zokaeifar *et al.*, 2012; Sadat Hoseini Madani *et al.*, 2018), suspensiones líquidas (10^6 UFC mL⁻¹ directamente en el agua) (Wang *et al.*, 2016), bio-flóculos (10^9 UFC mL⁻¹) (Ferreira *et al.*, 2015; Pacheco-Vega *et al.*, 2018) y en mezcla con otras bacterias (10^7 y 10^9 UFC g⁻¹) (Bernal *et al.*, 2017; Bachruddin *et al.*, 2018).

Además, previamente se ha demostrado el efecto de cepas de *B. firmus* sobre el crecimiento y resistencia en camarón tigre (*Penaeus monodon*) (Raghu *et al.*, 2016; Kolanchina *et al.*, 2017) y en *L. vannamei* (Yuniarti *et al.*, 2013; Barman *et al.*, 2017). En este estudio se reporta que a una dosis de 10^6 UFC mL⁻¹ de *B. firmus* C101, administrado directamente en el agua y sin mezclar con otras cepas, se obtiene un incremento significativo en el crecimiento y rendimiento de las PLs de camarón blanco (*L. vannamei*).

En comparación con otros estudios llevados a cabo en diferentes estadios de *L. vannamei* (de nauplio a juveniles), la adición de cepas de *Bacillus* sp. tiene un efecto marcado en la tasa de conversión alimenticia (TCA %), evidenciando valores por debajo de 1,8 % e incluso algunos iguales o menores a 1,5 % (Tabla 4). Estos bajos valores indican un crecimiento rápido y buen aprovechamiento del alimento (Membreño *et al.*, 2014), lo cual a su vez corresponde a la ganancia de talla y peso obtenidos en este estudio. No obstante, para las comparaciones directas sobre el efecto de los probióticos, se debe tener en cuenta la forma de adición (individual o en mezcla), la dosis, la vía y la duración de la administración. Así, con la adición de *B. firmus* C101 directamente en el agua de cultivo de las poslarvas de camarón, y con una

DISCUSSION

Evaluation of *B. firmus* C101 as a probiotic for shrimp postlarvae

Bacillus genus bacteria have been successful as additives in the diet of cultured aquatic organisms (Kumar *et al.*, 2016; Ringø and Song, 2016), improving water quality (Zokaeifar *et al.*, 2014; Tang *et al.*, 2016) and evidencing a potential effect on the growth and survival in larval stages of different marine species of commercial interest (Vieira *et al.*, 2016; Zorriehzaha *et al.*, 2016). In white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture, the positive effect of different species of this genus (*ie* *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. coagulans* and *B. licheniformis*) has been demonstrated when administered at different doses, and in freeze-dried food (10^8 CFU g⁻¹) (Wang, 2007), micro-encapsulated (10^9 CFU g⁻¹) (Nimrat *et al.*, 2012), pellets (10^{10} CFU g⁻¹) (Zokaeifar *et al.*, 2012; Sadat Hoseini Madani *et al.*, 2018), liquid suspensions (10^6 CFU mL⁻¹ directly in water) (Wang *et al.*, 2016), bio-flocs (10^9 CFU mL⁻¹) (Ferreira *et al.*, 2015; Pacheco-Vega *et al.*, 2018) and in mixture with other bacteria (10^7 and 10^9 CFU g⁻¹) (Bernal *et al.*, 2017; Bachruddin *et al.*, 2018).

Furthermore, the effect of *B. firmus* strains on growth and resistance in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) (Raghu *et al.*, 2016; Kolanchina *et al.*, 2017) and in *L. vannamei* (Yuniarti *et al.*, 2013; Barman *et al.*, 2017) has been previously demonstrated. In this study, it is reported that at a dose of 10^6 CFU mL⁻¹ of *B. firmus* C101, administered directly in the water and without mixing with other strains, a significant increase in the growth and yield of the PLs of white shrimp is obtained (*L. vannamei*).

Compared to other studies carried out in different stages of *L. vannamei* (from nauplius to juveniles), the addition of *Bacillus* sp. strains has a marked effect on the feed conversion rate (TCA %), showing values below 1.8 % and even some equal to or less than 1.5 % (Table 4). These low values indicate rapid growth and good use of food (Membreño *et al.*, 2014), which in turn corresponds to the height and weight gain obtained in this study. However, for direct comparisons of the effect of probiotics, the form of addition (individual or in a mixture), dose, route, and duration of administration should be considered. Thus, with the addition of *B. firmus* C101 directly in the culture water of the shrimp postlarvae, and with a duration of three weeks, the effect on specific growth rates, daily weight increase, and feed conversion is highly promising if it is

duración de tres semanas, el efecto sobre las tasas específicas de crecimiento, incremento de peso diario y conversión alimenticia, es altamente promisorio si se compara con lo obtenido en otros estudios según el tipo de probiótico (simple o en mezcla), la dosis, la vía de administración y la duración de la misma (Tabla 5).

compared with that obtained in other studies according to the type of probiotic (simple or mixed), the dose, the route of administration, and its duration (Table 5).

Tabla 5. Algunos estudios del efecto de la administración de bacterias del género *Bacillus* sp. en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) de diferentes estadios

Table 5. Some studies of the effect of the administration of bacteria of the genus *Bacillus* sp. in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) of different stages

Referencia/ Reference	Probiótico dosis/Probiotic dose	Vía de administración/duración Administration route/duration	Estadio/Stage	TEC (% día ⁻¹ / % day ⁻¹)	ADG (mg día ⁻¹ / mg day ⁻¹)	TCA (%)
Wang (2007)	Mix <i>Bacillus coagulans</i> + <i>Rhodobacter sphaeroides</i> (10 ⁸ y 10 ⁹ UFC g ⁻¹)	Liofilizado/cuatro semanas Lyophilized/four weeks	No especifica/ Does not specify	1.6 ± 0.1	0.04 ± 0.0	–
Zokaifar <i>et al.</i> (2012)	<i>B. subtilis</i> (10 ⁵ y 10 ⁸ UFC g ⁻¹)	Liofilizado/ocho semanas Lyophilized/eight weeks	Juvenil/ Juvenile	2.3 ± 0.1	–	1.7 ± 0.0
Nimrat <i>et al.</i> (2012)	Mix <i>B. megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>B. polymyxa</i> (10 ⁹ UFC mL ⁻¹)	Microencapsulados/tres semanas Microencapsulated/three weeks	Nauplio/ Nafplio	19.4 ± 0.0	1.0 ± 0.0	–
Zokaifar <i>et al.</i> (2014)	<i>B. subtilis</i> (10 ⁸ UFC g ⁻¹)	Líquida directamente en el agua/ocho semanas Liquid directly in water/eight weeks	Juvenil/ Juvenile	3.2 ± 0.0	–	1.7 ± 0.0
Barman <i>et al.</i> (2017)	Mix <i>B. subtilis</i> y <i>B. firmus</i> + <i>Rhodospseudomonas</i> <i>palustris</i> (10 ⁹ UFC mL ⁻¹)	Líquida directamente en el agua/cinco semanas Liquid directly in water/five weeks	PL-12	–	–	1.5 ± 0.5
Bachruddin <i>et al.</i> (2018)	Mix <i>B. subtilis</i> , <i>B. megaterium</i> y <i>B. licheniformis</i> + <i>Lactobacillus</i> sps. y <i>Nitrobacter</i> sp. (10 ⁸ UFC mL ⁻¹)	Líquida directamente en el agua/ocho semanas Liquid directly in water/eight weeks	PL-12	–	–	1.5 ± 0.0
Presente estudio/ This study (2019)	<i>B. firmus</i> C101 (10 ⁶ UFC mL ⁻¹)	Líquida directamente en el agua/tres semanas Liquid directly in water/three weeks	PL-21	3.8 ± 0.7	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1

Los datos se expresan como promedio ± DE (desviación estándar). TEC = tasa específica de crecimiento, ADG = promedio de incremento de peso diario y TCA = tasa de conversión alimenticia.

Data are expressed as mean ± SD (standard deviation). TEC = specific growth rate, ADG = average daily weight gain, and TCA = feed conversion rate.

El crecimiento, la resistencia a cambios de temperatura, salinidad, y las condiciones fisiológicas del tracto gastrointestinal (TGI) de los organismos, el cual es ligeramente alcalino (pH ~ 8,0) y con una alta concentración de sales biliares (Heisterkamp *et al.*, 2016), son características que debe cumplir un buen candidato a probiótico (Balcázar *et al.*, 2006; Reddy *et al.*, 2018). De acuerdo con lo anterior, el perfil fisiológico de *B. firmus* C101 y el hecho de que algunas cepas de *B. firmus* pueden adherirse y formar biopelículas en el tracto intestinal de organismos acuáticos (Kesarcodi-Watson *et al.*, 2008) sugieren que existe una alta probabilidad de colonización del TGI de las poslarvas de camarón blanco y una alta probabilidad de supervivencia bajo estas condiciones, por lo que en futuras investigaciones sería pertinente efectuar un análisis de la diversidad microbiana intestinal con técnicas independientes de cultivo.

Growth, resistance to changes in temperature, salinity, and the physiological conditions of the gastrointestinal tract (TGI) of organisms, which is slightly alkaline (pH ~ 8.0) and with a high concentration of bile salts (Heisterkamp *et al.*, 2016), are characteristics that a good probiotic candidate must meet (Balcázar *et al.*, 2006; Reddy *et al.*, 2018). Following the above, the physiological profile of *B. firmus* C101 and the fact that some strains of *B. firmus* can adhere and form biofilms in the intestinal tract of aquatic organisms (Kesarcodi-Watson *et al.*, 2008) suggest that there is a high probability of TGI colonization of white shrimp postlarvae and a high probability of survival under these conditions, therefore it would be pertinent in future researches to carry out analyzes of intestinal microbial diversity with independent culture techniques.

Adicionalmente, el perfil bioquímico de *B. firmus* C101 sugiere una alta actividad enzimática de hidrolasas como las lipasas/esterasas, quimotripsinas y fosfatasa, las

Additionally, the biochemical profile of *B. firmus* C101 suggests a high enzymatic activity of hydrolases such as lipases/esterases, chymotrypsins and phosphatases, which may be beneficial for the host, since several studies

cuales pueden ser benéficas para el hospedero, dado que varios estudios sugieren que una vez estas bacterias se establecen en el TGI pueden secretar estas enzimas, y de esta manera contribuir a la degradación y absorción de los nutrientes esenciales que mejoran la digestión y el aprovechamiento del alimento (Castex *et al.*, 2008; Angelakis, 2017; Gobi *et al.*, 2018). Otras investigaciones indican que la producción de fosfatasa por parte de probióticos como *B. subtilis* aumenta la absorción de elementos como calcio, hierro y fósforo inorgánico en especies de peces como *Epinephelus coioides* y *Silurus soldatovi* (Liu *et al.*, 2010) y facilita la eliminación de ésteres de fosfatos y la detoxificación intestinal, lo que evita problemas de inflamación e infecciones en el TGI que pueden conllevar al estrés y muerte del hospedero (Lallès and Suescún, 2014).

Por otro lado, se sabe que algunas cepas de *Bacillus* sp. muestran una importante actividad antagónica frente a potenciales patógenos como *A. hydrophila* (Yi *et al.*, 2018), *Edwardsiella tarda* (Ran *et al.*, 2012), *V. harveyi* (Zokaefar *et al.*, 2012), *V. parahaemolyticus* (Bernal *et al.*, 2017) y *Streptococcus* sp. (Liu *et al.*, 2012), que afecta la larvicultura de animales acuáticos (López León *et al.*, 2016). Este estudio resalta la actividad inhibitoria de los ECPs de *B. firmus* C101 frente a algunos de estos potenciales patógenos. No obstante, posteriores estudios sobre este modo de acción son requeridos, pues algunos autores sugieren que dicha actividad puede deberse a la secreción de compuestos como antibióticos, sideróforos, bacteriocinas, proteasas, formas reactivas del oxígeno (*i.e.* H₂O₂) y lisozimas (Khochamit *et al.*, 2015; Newaj-Fyzul and Austin, 2015; Wang *et al.*, 2015), que podrían estar presentes en los ECPs de este candidato.

Con base en todo lo anterior, se propone a *B. firmus* C101 como un potencial candidato probiótico y promotor del crecimiento en la larvicultura del camarón blanco (*L. vannamei*), especialmente en estadios post-larvarios y en sistemas de cultivo cerrado. No obstante, se requieren estudios sobre los posibles mecanismos de acción de este candidato, la habilidad para adherirse al TGI y el efecto en la calidad del agua de los cultivos.

Evaluación de *B. firmus* C101 como probiótico para rotíferos

En las últimas décadas, varios estudios han señalado que las bacterias ácido-lácticas (*i.e.*: *Lactobacillus plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*) y del género *Bacillus* (*i.e.*: *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*) tienen un efecto positivo sobre los rendimientos

suggest that once these bacteria establish themselves in the TGI can secrete these enzymes, and in this way contribute to the degradation and absorption of essential nutrients that improve digestion and the use of food (Castex *et al.*, 2008; Angelakis, 2017; Gobi *et al.*, 2018). Other research indicates that the production of phosphatases by probiotics such as *B. subtilis* increases the absorption of elements such as calcium, iron, and inorganic phosphorus in fish species such as *Epinephelus coioides* and *Silurus soldatovi* (Liu *et al.*, 2010), and facilitates the elimination of phosphate esters and intestinal detoxification, which avoids inflammation problems and infections in the TGI that can lead to stress and death of the host (Lallès and Suescún, 2014).

On the other hand, it is known that some strains of *Bacillus* sp. show significant antagonistic activity against potential pathogens such as *A. hydrophila* (Yi *et al.*, 2018), *Edwardsiella tarda* (Ran *et al.*, 2012), *V. harveyi* (Zokaefar *et al.*, 2012), *V. parahaemolyticus* (Bernal *et al.*, 2017) and *Streptococcus* sp. (Liu *et al.*, 2012), which affect the larviculture of aquatic animals (López León *et al.*, 2016). This study highlights the inhibitory activity of the *B. firmus* C101 ECPs against some of these potential pathogens. However, subsequent studies on this mode of action are required as some authors suggest that this activity may be due to the secretion of compounds such as antibiotics, siderophores, bacteriocins, proteases, reactive forms of oxygen (*i.e.* H₂O₂) and lysozymes (Khochamit *et al.*, 2015; Newaj-Fyzul and Austin, 2015; Wang *et al.*, 2015), which could be present in the ECPs of this candidate.

Based on all of the above, *B. firmus* C101 is proposed as a potential probiotic candidate and growth promoter in the larviculture of white shrimp (*L. vannamei*), especially in post-larval stages and in closed culture systems. However, studies are required on the possible mechanisms of action of this candidate, the ability to adhere to TGI, and the effect on crop water quality.

Evaluation of *B. firmus* C101 as a probiotic for rotifers

In recent decades, several studies have indicated that lactic acid bacteria (*i.e.*: *LactoBacillus plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*) and of the genus *Bacillus* (*i.e.*: *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*) have a positive effect on the yields of rotifer crops. Therefore, it has been observed that mixed cultures of these bacteria increase their density (rotifers mL⁻¹), beneficial bacterial load (CFU rotifer⁻¹), and nutritional composition (Hirata *et al.*, 1998; Douillet, 2000; Najmi *et*

de los cultivos de rotíferos. Por tanto, se ha observado que cultivos mixtos de estas bacterias aumentan su densidad (rotíferos mL⁻¹), carga bacteriana benéfica (UFC rotífero⁻¹) y composición nutricional (Hirata *et al.*, 1998; Douillet, 2000; Najmi *et al.*, 2018). En una publicación previa (Murillo y Villamil, 2011), se registró un efecto notable sobre el crecimiento y regulación de la microbiota de *B. plicatilis* tratado con *B. subtilis* CCBM-64 (10⁷ UFC mL⁻¹). Otro estudio mostró que mezclas de *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium* y *B. laterosporus* (10⁸ UFC L⁻¹ c/u) tienen un efecto directo sobre la fecundidad de los rotíferos (egg-ratios de 0,30 a las 48 h de tratamiento) (Zink *et al.*, 2013). En concordancia, los datos del presente estudio sugieren un notable efecto de *Bacillus firmus* C101 sobre el crecimiento poblacional, fecundidad y productividad de *B. plicatilis* s.s., cuando se administra a una dosis de 10⁶ UCF mL⁻¹, después de 48 h. No obstante, comparaciones directas de la dinámica poblacional entre estudios de rotíferos puede ser complicado debido a la utilización de diferentes cepas, mezclas, mecanismos de suministro y/o condiciones previas o durante el cultivo como el tipo, y cantidad de microalgas suministradas como alimento primario (Snell *et al.*, 1983; Abd Rahman *et al.*, 2018).

Entre los beneficios del enriquecimiento de los cultivos de rotíferos con este tipo de probióticos, se encuentra la modulación de la microbiota endógena del tracto digestivo, que incluye el aumento de la carga de bacterias benéficas, la disminución de la carga de bacterias patógenas (Makridis *et al.*, 2000; Planas *et al.*, 2004) y la secreción de metabolitos y nutrientes esenciales como vitaminas (biotina y VitB12), aminoácidos y factores de crecimiento (Yoshimatsu y Hossain, 2014). Esto contribuye al mejoramiento de la composición nutricional (Rollo *et al.*, 2006), tasa de reproducción (Qi *et al.*, 2009), y tasa de crecimiento (Rombaut *et al.*, 1999) de los rotíferos. En el presente estudio se observó que la administración de *B. firmus* C101 en los cultivos resultó en un aumento de las densidades poblacionales, lo cual evidencia a su vez un efecto positivo de este candidato probiótico. No obstante, se requieren investigaciones futuras sobre su perfil nutricional y un análisis de la comunidad bacteriana que a su vez permita determinar si el aumento en el número de bacterias totales se debe a la incorporación de este candidato en la microbiota nativa, y no a un aumento de la carga bacteriana de posibles patógenos (*i.e.* especies del género *Vibrio*) en los tejidos de los rotíferos.

La importancia del presente aporte en este estudio radica en que el mejoramiento de los cultivos de rotíferos a

al., 2018). In a previous publication (Murillo and Villamil, 2011), a remarkable effect on the growth and regulation of the *B. plicatilis* microbiota treated with *B. subtilis* CCBM-64 (10⁷ CFU mL⁻¹) was reported. Another study showed that mixtures of *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium* and *B. laterosporus* (10⁸ CFU L⁻¹ each) have a direct effect on the fecundity of rotifers (egg-ratios from 0.30 to 48 h of treatment) (Zink *et al.*, 2013). In agreement, the data of the present study suggest a remarkable effect of *Bacillus firmus* C101 on population growth, fertility, and productivity of *B. plicatilis* s.s., when administered at a dose of 10⁶ UCF mL⁻¹, after 48 h. However, direct comparisons of population dynamics between studies of rotifers can be complicated due to the use of different strains, mixtures, delivery mechanisms, and/or preconditions or during cultivation as the type, and quantity of microalgae supplied as a primary food (Snell *et al.*, 1983; Abd Rahman *et al.*, 2018).

Among the benefits of enriching rotifer cultures with this type of probiotics is modulation of the endogenous microbiota of the digestive tract, which includes increasing the load of beneficial bacteria, decreasing the load of pathogenic bacteria (Makridis *et al.*, 2000; Planas *et al.*, 2004); and the secretion of metabolites and essential nutrients such as vitamins (biotin and VitB12), amino acids, and growth factors (Yoshimatsu and Hossain, 2014). This contributes to the improvement of the nutritional composition (Rollo *et al.*, 2006), reproduction rate (Qi *et al.*, 2009), and growth rate (Rombaut *et al.*, 1999) of rotifers. In the present study, it was observed that the administration of *B. firmus* C101 in crops resulted in an increase in population densities, which in turn evidences a positive effect of this probiotic candidate. However, future research on its nutritional profile is required, and an analysis of the bacterial community that in turn allows determining whether the increase in the number of total bacteria is due to the incorporation of this candidate in the native microbiota, and not to an increase in the bacterial load of possible pathogens (*i.e.* species of the genus *Vibrio*) in the tissues of the rotifers.

The importance of the present contribution in this study is that the improvement of rotifer cultures through these strategies has turned out to be an important tool for the transfer of probiotic candidates to culture organisms in larval stages (Jamali *et al.*, 2015). Thus, these organisms can take advantage of the multiple benefits provided by probiotic bacteria, such as the decrease in diseases that affect larvae (Jeeja *et al.*, 2011; Loka *et al.*, 2016). For

través de estas estrategias ha resultado ser una herramienta importante para la transferencia de los candidatos probióticos a los organismos de cultivo en etapas larvarias (Jamali *et al.*, 2015). Así, estos organismos pueden aprovechar los múltiples beneficios que brindan las bacterias probióticas, como por ejemplo, la disminución de las enfermedades que afectan a las larvas (Jeeja *et al.*, 2011; Loka *et al.*, 2016). Por tal razón, estudios futuros son necesarios para probar que los rotíferos enriquecidos pueden servir de vehículo en la transferencia de este candidato probiótico hacia las larvas de organismos de cultivo como el camarón, pues algunos estudios sugieren que una vez estos candidatos probióticos se establecen en los tejidos y el tracto digestivo de los rotíferos (o de cualquier otro tipo de alimento vivo) (Kostopoulou y Centre, 2012), dichos candidatos y sus productos pueden llegar efectivamente hasta el TGI de las larvas, que se alimentan de estas presas vivas enriquecidas (Ringø *et al.*, 2003, 2007).

CONCLUSIONES

Es posible confirmar el importante papel de *Bacillus firmus* C101 como promotor del crecimiento en estadios post-larvarios de camarón blanco (*L. vannamei*) y en el mejoramiento de los parámetros poblacionales de rotíferos (*B. plicatilis* s.s.), pues los resultados aquí presentados indican un efecto positivo de la adición directa de esta cepa en cultivos experimentales. A pesar de que en la actualidad existen numerosos reportes sobre el efecto probiótico de diferentes especies de *Bacillus* sp., el presente estudio puede considerarse como el primer reporte del efecto de la administración individual de *B. firmus* en rotíferos. No obstante, se requieren estudios adicionales sobre los posibles mecanismos de acción de este candidato probiótico, y pruebas a escala piloto y comercial para validar estos resultados y su posible transferencia a las empresas acuícolas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Fundación Universidad Jorge Tadeo Lozano (sede: Santa Marta, Colombia) por prestar las instalaciones para la ejecución de los experimentos, a Ceniagua (Cartagena, Colombia) por la donación de los organismos experimentales, a Colciencias por la financiación del macroproyecto (código 6507-502-27286), a María Angélica Martínez Silva y Lina María Mejía Quiñones por su aporte en algunos experimentos, y a la Universidad de La Sabana por el apoyo en el material bibliográfico.

this reason, future studies are necessary to prove that the enriched rotifers can serve as a vehicle in the transfer of this probiotic candidate to the larvae of culture organisms such as shrimp, as some studies suggest that once these probiotic candidates establish themselves in the tissues and the digestive tract of rotifers (or any other type of live food) (Kostopoulou and Center, 2012), these candidates and their products can effectively reach the TGI of the larvae, which feed on these enriched live prey (Ringø *et al.*, 2003, 2007).

CONCLUSIONS

It is possible to confirm the important role of *Bacillus firmus* C101 as a growth promoter in post-larval stages of white shrimp (*L. vannamei*) and in the improvement of rotifers population parameters (*B. plicatilis* s.s.), as the results presented here indicate a positive effect of the direct addition of this strain in experimental cultures. Although there are currently numerous reports on the probiotic effect of different *Bacillus* sp., the present study can be considered as the first report of the effect of individual administration of *B. firmus* in rotifers. However, additional studies are required on the possible mechanisms of action of this probiotic candidate, and pilot and commercial-scale tests to validate these results and their possible transfer to aquaculture companies.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Jorge Tadeo Lozano University Foundation (headquarters: Santa Marta, Colombia) for providing the facilities for the execution of the experiments, Ceniagua (Cartagena, Colombia) for the donation of the experimental organisms, and Colciencias for financing the macroproject (code 6507-502-27286), to María Angélica Martínez Silva and Lina María Mejía Quiñones for their contribution in some experiments, and the University of La Sabana for their support in bibliographic material.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Abd El-Rhman, A.M., Y.A.E. Khattab and A.M.E. Shalaby. 2009. *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Shellfish Immunol., 27: 175-180. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2009.03.020>.
- Abd Rahman, A.R., Z.C. Cob, Z. Jamari, A.M. Mohamed, T. Toda and O.H. Ross. 2018. The effects of microalgae as live food for *Brachionus plicatilis* (Rotifer) in intensive culture system. Trop. Life Sci. Res., 29: 127-138.
- Angelakis, E. 2017. Weight gain by gut microbiota manipulation in productive animals. Microb. Pathog., 106: 162-170. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2016.11.002>.
- Bachruddin, M, M. Sholichah, S. Istiqomah and A. Supriyanto. 2018. Effect of probiotic culture water on growth, mortality, and feed conversion ratio of Vanamei shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci., 137.
- Bajagai, Y.S., A.V. Klieve, P.J. Dart and W.L. Bryden. 2016. Probiotics in animal nutrition: production, impact and regulation. FAO.
- Balcázar, J.L., I. de Blas, I. Ruiz-Zarzuola, D. Cunningham, D. Vendrell and J.L. Múzquiz. 2006. The role of probiotics in aquaculture. Vet. Microbiol., 114: 173-186.
- Barman, P., S. Raut, S.K. Sen, U. Shaikh and P. Bandyopadhyay. 2017. Effect of a three-component bacterial consortium in white shrimp farming for growth, survival and water quality management. Acta Biologica Szegediensis, 61(1): 35-44.
- Bassler, B.L., E.P. Greenberg and A.M. Stevens. 1997. Cross-species induction of luminescence in the quorum-sensing bacterium *Vibrio harveyi*. J. Bacteriol., 179: 4043-4045.
- Bernal, M.G., R.M. Marrero, Á.I. Campa-Córdova and J.M. Mazón-Suástegui. 2017. Probiotic effect of *Streptomyces* strains alone or in combination with *Bacillus* and *Lactobacillus* in juveniles of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquac. Int., 25: 927-939.
- Bomba, A., R. Nemcová, D. Mudroňová and P. Guba. 2002. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. Trends Food Sci. Technol., 13: 121-126.
- Cabo, M.L., M.A. Murado, M.P. González and L. Pastoriza. 1999. A method for bacteriocin quantification. J. Appl. Microbiol., 87: 907-914.
- Castex, M., L. Chim, D. Pham, P. Lemaire, N. Wabete, J.L. Nicolas, P. Schmidely and C. Mariojouis. 2008. Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia. Aquaculture, 275: 182-193.
- Cisneros, R. 2011. Rendimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. “Cayman”, utilizando diferentes enriquecedores. Ecol. Apl., 10: 99-105.
- Cisneros, R. 2012. Crecimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. “Cayman”, al evaluar diferentes microalgas como alimento. Revista cubana de investigaciones pesqueras, 29(1): 18-23.
- Claus, D. 1992. A standardized Gram staining procedure. World J. Microbiol. Biotechnol., 8: 451-452.
- Dawood, M.A.O., S. Koshio, M.M. Abdel-Daim and H. Van Doan. 2018. Probiotic application for sustainable aquaculture. Rev. Aquac., 11(3): 907-924.
- Douillet, P.A. 2000. Bacterial additives that consistently enhance rotifer growth under synxenic culture conditions 2. Use of single and multiple bacterial probiotics. Aquaculture, 182: 241-248.
- Fao, W.H.O. 2001. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food, including powder milk with live lactic acid bacteria. Food Agric. Organ. UN World Heal. Organ. Expert Consult. Rep.
- Ferreira, G.S., N.C. Bolívar, S.A. Pereira, C. Guertler, F. do N. Vieira, J.L.P. Mourinho and W.Q. Seiffert. 2015. Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 448: 273-279.
- Flores-Miranda, M.C., A. Luna-González, Á.I. Campa Córdova, J.A. Fierro-Coronado, B.O. Partida-Arangure, J. Pintado and H.A. González-Ocampo. 2012. Isolation and characterization of infectious *Vibrio sinaloensis* strains from the Pacific shrimp *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae). Rev. Biol. Trop., 60: 567-576.
- Gatesoupe, F.J. 1991. The effect of three strains of lactic bacteria on the production rate of rotifers, *Brachionus plicatilis*, and their dietary value for larval turbot, *Scophthalmus maximus*. Aquaculture, 96: 335-342.
- Gobi, N., B. Vaseeharan, J.C. Chen, R. Rekha, S. Vijayakumar, M. Anjugam and A. Iswarya. 2018. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dabhl improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. Fish Shellfish Immunol., 74: 501-508. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.066>.
- Heisterkamp, I.M., A. Schramm, D. de Beer and P. Stief. 2016. Direct nitrous oxide emission from the aquacultured pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). In: Drake H.L. (Ed.). Appl. Environ. Microbiol., 82: 4028 LP-4034.
- Hirata, H., O. Murata, S. Yamada, H. Ishitani and M. Wachi. 1998. Probiotic culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 387: 495-498.
- Hoseinifar, S.H., M. Dadar and E. Ringø. 2017. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: The functional feed additives scenario. Aquac. Res., 48: 3987-4000.
- Jamali, H., A. Imani, D. Abdollahi, R. Roozbehfar and A. Isari. 2015. Use of probiotic *Bacillus* spp. in Rotifer (*Brachionus plicatilis*) and Artemia (*Artemia urmiana*) enrichment: effects on growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Larvae. Probiotics Antimicrob. Proteins., 7: 118-125.



- Jeeja, P.K., Imelda-Joseph and R. Paul Raj. 2011. Nutritional composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Muller) cultured using selected natural diets. Indian J. Fish., 58: 59-65. <http://he.scribd.com/doc/93625862/Jeeja-et-al-2011>.
- Kazuń, B. and K. Kazuń. 2014. Probiotics in aquaculture. Med. Veter., 70: 25-28.
- Kesarcodi-Watson, A., H. Kaspar, M.J. Lategan and L. Gibson. 2008. Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. Aquaculture, 274: 1-14.
- Khochamit, N., S. Siripornadulsil, P. Sukon and W. Siripornadulsil. 2015. Antibacterial activity and genotypic-phenotypic characteristics of bacteriocin-producing *Bacillus subtilis* KKU213: potential as a probiotic strain. Microbiol. Res., 170: 36-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2014.09.004>.
- Kolanchina, P., P.R. Kumari, T.S. Gnanam, G. John and A. Balasundar. 2017. Performance evaluation of two probiotic species, on the growth, body composition and immune expression in *Penaeus monodon*. J. Fish. Aquat. Sci., 12: 157-167. <http://www.scialert.net/abstract/?doi=jfas.2017.157.167>.
- Kostopoulou, V. and H. Centre. 2012. The rotifer *Brachionus plicatilis*: an emerging bio-tool for numerous applications. J. Biol. Res., 17: 97-112.
- Kumar, V, S. Roy, D.K. Meena and U.K. Sarkar. 2016. Application of probiotics in shrimp aquaculture: importance, mechanisms of action, and methods of administration. Rev. Fish. Sci. Aquac., 24: 342-368.
- Lallès, J.P. and J.P. Suescún. 2014. Intestinal alkaline phosphatase: an enzyme with anti-inflammatory properties. CES Med. Vet. Zootec., 9: 94-103.
- Li, E., X. Wang, K. Chen, C. Xu, J.G. Qin and L. Chen. 2017. Physiological change and nutritional requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. Rev. Aquac., 9: 57-75.
- Liu, C.H., C.H. Chiu, S.W. Wang and W. Cheng. 2012. Dietary administration of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. Fish Shellfish Immunol., 33: 699-706. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2012.06.012>.
- Liu, W., X.M. Zhang and L.B. Wang. 2010. Digestive enzyme and alkaline phosphatase activities during the early stages of *Silurus soldatovi* development. Zool. Res., 31: 627-632.
- Loka, J., S.M. Sonali, P. Saha, K. Devaraj and K.K. Philipose. 2016. Use of commercial probiotics for the improvement of water quality and rotifer density in outdoor mass culture tanks. Indian J. Fish., 63: 145-149.
- López León, P., A. Luna González, R. Escamilla Montes, M.C. Flores-Miranda and J.A. Fierro Coronado. 2016. Isolation and characterization of infectious *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of AHPND, from the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Lat. Am. J. Aquat. Res., 44: 470-479.
- Luis-Villaseñor, I.E., M.E. Macías-Rodríguez, B. Gómez-Gil, F. Ascencio-Valle and Á.I. Campa-Córdova. 2011. Beneficial effects of four *Bacillus* strains on the larval cultivation of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 321: 136-144.
- Makridis, P., A.J. Fjellheim, J. Skjermo and O. Vadstein. 2000. Control of the bacterial flora of *Brachionus plicatilis* and *Artemia franciscana* by incubation in bacterial suspensions. Aquaculture, 185: 207-218.
- Membreño, L., S. Morales and E. Martínez. 2014. Crecimiento de camarones blancos. Rev. Cient. UNAN-León., 5: 103-115.
- Murillo, I. and L.M. Villamil-Díaz. 2011. *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* used as probiotics in rotifer (*Brachionus plicatilis*) cultures. J. Aquac. Res. Dev., 1: 1-5. <https://www.omicsonline.org/bacillus-cereus-and-bacillus-subtilis-used-as-probiotics-in-rotifer-brachionus-plicatilis-cultures-2155-9546.S1007.php?aid=2309>.
- Najmi, N., M. Yahyavi and A. Haghshenas. 2018. Effect of enriched rotifer (*Brachionus plicatilis*) with probiotic lactobacilli on growth, survival and resistance indicators of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. Iran. J. Fish. Sci., 17: 11-20.
- Newaj-Fyzul, A., A.H. Al-Harbi and B. Austin. 2014. Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. Aquaculture, 431: 1-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.026>.
- Newaj-Fyzul, A. and B. Austin. 2015. Probiotics, immunostimulants, plant products and oral vaccines, and their role as feed supplements in the control of bacterial fish diseases. J. Fish Dis., 38: 937-955.
- Nimrat, S., P. Tanutpongpalin, K. Sritunyalucksana, T. Boonthai and V. Vuthiphandchai. 2013. Enhancement of growth performance, digestive enzyme activities and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) postlarvae by potential probiotics. Aquac. Int., 21: 655-666.
- Nimrat, S., S. Suksawat, T. Boonthai and V. Vuthiphandchai. 2012. Potential *Bacillus* probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Vet. Microbiol., 159: 443-450. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.04.029>.
- Pacheco-Vega, J.M., M.A. Cadena-Roa, J.A. Leyva-Flores, O.I. Zavala-Leal, E. Pérez-Bravo and J.M.J. Ruiz-Velazco. 2018. Effect of isolated bacteria and microalgae on the biofloc characteristics in the Pacific white shrimp culture. Aquac. Reports., 11: 24-30.
- Planas, M., J.A. Vázquez, J. Marqués, R. Pérez-Lomba, M.P. González and M. Murado. 2004. Enhancement of rotifer (*Brachionus plicatilis*) growth by using terrestrial lactic acid bacteria. Aquaculture, 240: 313-329.
- Qi, Z., K. Dierckens, T. Defoirdt, P. Sorgeloos, N. Boon, Z. Bao and P. Bossier. 2009. Effects of feeding regime and probiotics on the diverting microbial communities in rotifer *Brachionus* culture. Aquac. Int., 17: 303-315.
- Raghu, P., M. Rajikkannu, R. Baburajan, A. Deva and R. Nandakumar. 2016. Effect of *Bacillus coagulans* and *B. firmus* incorporated probiotic diet on superoxide dismutase activity and catalase activity in *Penaeus monodon*. World Sci. News., 44: 224-235.

- Ran, C., A. Carrias, M.A. Williams, N. Capps, B.C.T. Dan, J.C. Newton, J.W. Kloepper, E.L. Ooi, C.L. Browdy, J.S. Terhune and M.R. Liles. 2012. Identification of *Bacillus* strains for biological control of catfish pathogens. *PLoS One* 7.
- Reddy, S.J., D. Vineela and B.K. Kumar. 2018. Influence of probiotics on growth and development of aquaculture—a review. *World J. Pharm. Res.*, 7: 291-315.
- Ringø, E. and S.K. Song. 2016. Application of dietary supplements (synbiotics and probiotics in combination with plant products and β -glucans) in aquaculture. *Aquac. Nutr.*, 22: 4-24.
- Ringø, E., R.E. Olsen, T.M. Mayhew and R. Myklebust. 2003. Electron microscopy of the intestinal microflora of fish. *Aquaculture*, 227: 395-415.
- Ringø, E., R. Myklebust, T.M. Mayhew and R.E. Olsen. 2007. Bacterial translocation and pathogenesis in the digestive tract of larvae and fry. *Aquaculture*, 268: 251-264.
- Rollo, A., R. Sulpizio, M. Nardi, S. Silvi, C. Orpianesi, M. Caggiano, A. Cresci and O. Carnevali. 2006. Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiol. Biochem.*, 32: 167-177.
- Rombaut, G., P. Dhert, J. Vandenberghe, L. Verschuere, P. Sorgeloos and W. Verstraete. 1999. Selection of bacteria enhancing the growth rate of axenically hatched rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 176: 195-207.
- Sadat Hoseini Madani, N., T.J. Adorian, H. Ghafari Farsani and S.H. Hoseinifar. 2018. The effects of dietary probiotic Bacilli (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*) on growth performance, feed efficiency, body composition and immune parameters of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae. *Aquac. Res.*, 49: 1926-1933.
- Snell, T.W., C.J. Bieberich and R. Fuerst. 1983. The effects of green and blue-green algal diets on the reproductive rate of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 31: 21-30.
- Tang, J., Y. Dai, Y. Li, J. Qin and Y. Wang. 2016. Can application of commercial microbial products improve fish growth and water quality in freshwater polyculture? *N. Am. J. Aquac.*, 78: 154-160.
- Valenzuela-González, F., R. Casillas-Hernández and E. Villalpando. 2015. The 16S rRNA gene in the study of marine microbial communities. *Ciencias Marinas*, 41(4): 297-313.
- Vieira, F. do N., A. Jatobá, J.L.P. Mouriño, C.C.B. Neto, J.S. Da Silva, W.Q. Seiffert, M. Soares and L.A. Vinatea. 2016. Use of probiotic-supplemented diet on a Pacific white shrimp farm. *Rev. Bras. Zootec.*, 45: 203-207.
- Villamil Díaz, L.M., A. Figueras, M. Planas and B. Novoa. 2010. *Pediococcus acidilactici* in the culture of turbot (*Psetta maxima*) larvae: Administration pathways. *Aquaculture*, 307: 83-88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.07.004>.
- Villamil Díaz, L.M. y D. Esguerra Rodríguez. 2017. Enterococcus, Myroides y Exiguobacterium: géneros bacterianos con potencial probiótico para el cultivo de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Acta Biol. Col.*, 22: 331-339.
- Wang, C., X. Song, X. Zhang, S. Zhang, X. Sun, B. Liu, W. Gao and J. Huang. 2016. Effects of adding *Bacillus cereus* PC465 to rearing water on disease resistance of *Litopenaeus vannamei*. *J. Fish. Sci. China*, 23: 146-155.
- Wang, Y. 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 269: 259-264.
- Wang, Y., Y. Sun, X. Zhang, Z. Zhang, J. Song, M. Gui and P. Li. 2015. Bacteriocin-producing probiotics enhance the safety and functionality of sturgeon sausage. *Food Control.*, 50: 729-735. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.045>.
- Yi, Y., Z. Zhang, F. Zhao, H. Liu, L. Yu, J. Zha and G. Wang. 2018. Probiotic potential of *Bacillus velezensis* JW: Antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria and immune enhancement effects on *Carassius auratus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 78: 322-330. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.055>.
- Yoshimatsu, T. and M.A. Hossain. 2014. Recent advances in the high-density rotifer culture in Japan. *Aquac. Int.*, 22:1587-1603.
- Yuniarti, A., D.A. Guntoro and A.M. Hariati. 2013. Response of indigenous *Bacillus megaterium* supplementation on the growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone), a new target species for shrimp culture in East Java of Indonesia. *J. Basic. Appl. Sci. Res.*, 3: 747-754.
- Zhou, X.X., Y.B. Wang and W.F. Li. 2009. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 287: 349-353.
- Zink, I.C., P.A. Douillet and D.D. Benetti. 2013. Improvement of rotifer *Brachionus plicatilis* population growth dynamics with inclusion of *Bacillus* spp. probiotics. *Aquac. Res.*, 44: 200-211.
- Zokaeifar, H., J.L. Balcázar, C.R. Saad, M.S. Kamarudin, K. Sijam, A. Arshad and N. Nejat. 2012. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.*, 33: 683-689.
- Zokaeifar, H., N. Babaei, C.R. Saad, M.S. Kamarudin, K. Sijam and J.L. Balcázar. 2014. Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio harveyi* infection in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.*, 36: 68-74.
- Zorriehzahra, M.J., S.T. Delshad, M. Adel, R. Tiwari, K. Karthik, K. Dhama and C.C. Lazado. 2016. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: A review. *Vet. Q.*, 36: 228-241.



Estimación del riesgo ecológico y a la salud humana del mercurio en una zona de manglar del estuario La Puntilla, provincia de El Oro, sur del Ecuador

Estimation of the ecological and human health risk of mercury in a mangrove area of the La Puntilla estuary, El Oro province, southern Ecuador

Patricio Colón Velásquez-López^{1,2}, Ivonne Yadira López Sánchez³ y María Fernanda Rivera Velásquez^{3,4*}

0000-0002-3044-920X

0000-0002-8892-7913

0000-0001-6453-2493

1. Universidad Técnica de Machala, Unidad de Ciencias Agropecuarias, Ecuador.
2. Canadian International Resource and Development Institute, The University of British Columbia, Vancouver, Canadá.
3. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Grupo de investigación Ciencias de Datos, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. mariaf.rivera@epoch.edu.ec *Autora para correspondencia.
4. Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería, Riobamba, Ecuador.

RESUMEN

El presente estudio se centra en la evaluación de los niveles de concentración de mercurio total y la estimación del riesgo ecológico (Er), el índice de riesgo ecológico (RI) y el coeficiente de riesgo tóxico o peligro (HQ) para la salud humana en un área de manglar junto a las desembocaduras de los ríos Chaguana y Siete, en el estuario de La Puntilla en el sur de Ecuador. Para la determinación de Er, RI y HQ, identificamos tres indicadores de contaminación por mercurio: sedimentos, raíz de mangle y tejido blando del bivalvo *Anadara tuberculosa*. En el área de manglar que bordea la desembocadura del río Chaguana, las concentraciones de mercurio fluctuaron entre 0,11±0,06 mg/kg en sedimentos, 0,06±0,01 mg/kg en raíz de mangle, con una consistente presencia de *A. tuberculosa*, pero solo una muestra del bivalvo registró un nivel de 0,034 mg/kg de mercurio. En contraste, en el área de manglar adyacente a la desembocadura del río Siete, las concentraciones de mercurio oscilaron entre 0,77±0,42 mg/kg en sedimentos y 0,15±0,12 mg/kg en la raíz de manglar, siendo imperceptible la presencia de *A. tuberculosa*. Los resultados del análisis de riesgo indicaron que en la desembocadura del río Chaguana, el Er y el índice de RI se colocaron en la categoría "baja". En contraste, en la desembocadura del río Siete, el Er resultó "alto" y RI resultó "moderado". El riesgo potencial para la salud humana fue bajo, en consistencia con el valor de HQ < 1 que considera el consumo de *A. tuberculosa* y el contacto dérmico a través de sedimentos; sin embargo, la escasa presencia del bivalvo en la desembocadura del río Siete es de preocupación.

PALABRAS CLAVE: índice de riesgo ecológico, mercurio, *Anadara tuberculosa*, ecosistema de manglar.

ABSTRACT

Present study focused on the evaluation of total mercury concentration and the estimation of ecological risk (Er), the ecological risk index (IR); and the toxic risk or hazard quotient (HQ) for human health in a mangrove area that borders the mouths of the Chaguana and Siete rivers, in La Puntilla estuary in the south of Ecuador. For the determination of the Er, RI, and HQ, we identified three indicators of mercury contamination: sediments, mangrove root, and soft tissue of the bivalve mollusk *Anadara tuberculosa*. In the mangrove area that borders the mouth of the Chaguana river, the mercury concentration fluctuated between 0,11-0,06 mg/kg in sediments, 0,06-0,01 mg/kg in mangrove root, with a more consistence presence of *A. tuberculosa*, but one bivalve sample reported a level of 0,034 mg/kg of mercury. In contrast to the mangrove area adjacent to the mouth of the Siete river, whose concentrations ranged from 0,77-0,42 in sediments, and 0,15-0,12 in mangrove root, we found the highest mercury contamination, being imperceptible to the presence of *A. tuberculosa*. Results of the risk analysis indicated that, at the mouth of the Chaguana river, the Er and the RI index were placed in the "low" category. In contrast, at the mouth of the Siete river, the Er was "high," and RI was "moderate." Potential risk to human health was low, consistent with the value of HQ < 1 that considers the consumption of *A. tuberculosa* and dermal contact through sediments; however, the low presence of the bivalve at the mouth of the Siete river is of concern.

KEYWORDS: ecological risk index, mercury, *Anadara tuberculosa*, mangrove ecosystem.

DOI: 1025268/bimc.invemar.2020.49.1.775

Publicado por INVEMAR

Este es un manuscrito de acceso abierto bajo la licencia CC Reconocimiento-No Comercial-Compartir Igual

Published by INVEMAR

This is an open Access article under the CC BY-NC-SA

INTRODUCCIÓN

Los procesos de contaminación generados por las actividades naturales y antrópicas en las cercanías de los cuerpos de agua son un problema cada vez más común que enfrentan los ecosistemas acuáticos. En regiones tropicales, la contaminación por metales pesados puede llegar a zonas de manglar, hábitat de especies marinas importantes para el sustento de comunidades costeras (Silva *et al.*, 2003). Aproximadamente desde hace unos 25 años, mineros de la región sur del Ecuador utilizan mercurio para la recuperación del oro, considerándose una de las principales causas de contaminación en ríos y quebradas y superando en algunos casos los niveles permisibles establecidos según las normativas internacionales para agua de río y sedimentos (Velásquez-López *et al.*, 2011). Se estima que en el 2010 la actividad minera de oro a nivel artesanal y en pequeña escala fue responsable del 29 % de mercurio liberado a la atmósfera en América Latina y el Caribe (Santana *et al.*, 2014). El desecho resultante de las actividades extractivas y de procesamiento mineral finalmente alcanza el cauce de ríos causando la acumulación de sedimentos enriquecidos con mercurio (Appleton *et al.*, 2001; Carling *et al.*, 2013). Por ejemplo, el mercurio desechado en las actividades mineras ha sido encontrado 250 km aguas abajo en el río Puyango al sur del Ecuador (Schudel *et al.*, 2019). Una vez que el mercurio alcanza los ecosistemas acuáticos, puede precipitarse en el fondo (Marchand *et al.*, 2006; Bazzi, 2014), permaneciendo allí durante largos períodos o bien, puede ser bioacumulado y biomagnificado en la cadena alimenticia (Morel *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2009; Le *et al.*, 2017). Dentro de la cadena trófica, los moluscos bivalvos por su capacidad de filtración son reconocidos como organismos centinelas para biomonitoreo de mercurio en sistemas acuáticos (Maanan, 2008). En términos de riesgo a la salud humana, el consumo de moluscos bivalvos puede ser la principal vía de exposición al mercurio (World Health Organization, 1996); sin embargo, otra forma de exposición es el contacto dérmico a través de sedimentos contaminados (U.S. Environmental Protection Agency, 2001). Aceptando el peligro que representa la contaminación por mercurio, muchos de los países de la región han tomado medidas emergentes. Consecuentemente, en octubre del 2013, Ecuador suscribió su adhesión al Convenio de Minamata. Desde ese entonces, se ejecutan acciones para identificar puntos críticos de contaminación e incrementar las capacidades técnicas de monitoreo de mercurio en diferentes matrices ambientales para una aplicación eficaz de los compromisos adquiridos dentro del acuerdo internacional.

INTRODUCTION

Pollution processes generated by natural and anthropic activities in the vicinity of water bodies are an increasingly common problem facing aquatic ecosystems. In tropical regions, heavy metal contamination can reach mangrove areas, the habitat of important marine species for the sustenance of coastal communities (Silva *et al.*, 2003). For approximately 25 years, miners in the southern region of Ecuador have used mercury for gold recovery, considering it one of the main causes of contamination in rivers and streams, in some cases exceeding the permissible levels established according to international regulations for river and sediments (Velásquez-López *et al.*, 2011). It is estimated that in 2010 artisanal and small-scale gold mining activity was responsible for 29 % of mercury released into the atmosphere in Latin America and the Caribbean (Santana *et al.*, 2014). The waste resulting from extractive and mineral processing activities eventually reaches the riverbed causing the accumulation of mercury-enriched sediments (Appleton *et al.*, 2001; Carling *et al.*, 2013). For example, mercury released from mining activities was found 250 km downstream in the Puyango river in southern Ecuador (Schudel *et al.*, 2019). Once mercury reaches aquatic ecosystems can precipitate to the bottom (Marchand *et al.*, 2006; Bazzi, 2014), remaining for long periods, or can be bioaccumulated and biomagnified in the food chain (Morel *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2009; Le *et al.*, 2017). Within the trophic chain, bivalve molluscs for their filtering capacity are recognized as sentinel organisms for biomonitoring of mercury in aquatic systems (Maanan, 2008). In terms of risk to human health, the consumption of bivalve molluscs may be the main route of exposure to mercury (World Health Organization, 1996); however, another form of exposure is dermal contact through contaminated sediments (US Environmental Protection Agency, 2001). Admitting the danger posed by mercury contamination, many of the countries in the region have taken emerging measures. Consequently, in October 2013, Ecuador signed its adhesion to the Minamata Agreement. Since then, actions are executed to identify critical points of contamination, thereby, increasing the technical capacities for mercury monitoring in different environmental matrices, for a useful application of the commitments acquired within the international agreement.

In southern Ecuador, 25 km away from the coastal zone for around 25 years, artisanal and small-scale miners use mercury for gold extraction. Previous

En el sur del Ecuador, a 25 km de distancia de la zona costera, por alrededor de 25 años, mineros artesanales y pequeños mineros utilizan mercurio para la extracción de oro. Estudios previos sugieren que el mercurio puede alcanzar zonas de manglar, pero la información acerca de los niveles de concentración y posibles riesgos en estas áreas marítimas es limitada. Los manglares representan nichos ecológicos que albergan diversas especies de aves, peces y reptiles (Medina *et al.*, 2007; Cardoso *et al.*, 2009). A pesar de la importancia ecológica social y económica del ecosistema de manglar en el sur del Ecuador y la evidente contaminación por metales pesados en su proximidad, los riesgos asociados a la presencia de metales en estos ambientes frágiles han sido escasamente estudiados. En países en vías de desarrollo como Ecuador, los manglares benefician la práctica de la pesca artesanal y actividades de recreación, y debido a la potencial contaminación, existe interés en entender el estado ambiental de estas regiones para la formulación de medidas de protección y manejo. El objetivo del presente estudio fue determinar la concentración de mercurio en sedimentos, raíz de mangle y en el molusco bivalvo *Anadara tuberculosa* en dos sitios del estuario La Puntilla y estimar el Índice de Riesgo Ecológico (RI) y el Riesgo Tóxico o Hazard Quotient (HQ) para la salud humana. El escenario de investigación consideró el muestreo *in situ* en zonas de manglar del estuario colindantes a las desembocaduras de los ríos Chaguana y Siete para un análisis comparativo del 1) Índice de Riesgo Ecológico (RI), y 2) Riesgo Tóxico o Hazard Quotient (HQ) para la salud humana.

El análisis de riesgo sanitario ambiental se define como la cuantificación del daño toxicológico producido por efectos de un contaminante, que llega a un potencial receptor a través de diversas vías de migración y exposición (US. Environmental Protection Agency, 1989). Por otro lado, la estimación de riesgo ecológico es una herramienta utilizada para realizar diagnóstico cuantitativo de sensibilidad ambiental basado en el análisis de concentraciones de contaminantes (mercurio) en el sitio de estudio y su afectación al medio en que está presente (Hakanson, 1980). Aunque el presente estudio solo ofrece información esencial acerca de la contaminación y riesgos asociados al mercurio en una zona de manglar, es un significativo aporte al conocimiento sobre lo que, con seguridad, es un área de enorme interés académico respecto a la contaminación por metales pesados en zonas de manglar. El estudio beneficia a organismos internacionales

studies have reported that mercury can reach mangrove areas, but the information about the concentration levels and possible risks in these maritime areas is limited. Mangroves represent ecological niches that embrace various species of birds, fish, and reptiles (Medina *et al.*, 2007; Cardoso *et al.*, 2009). Despite the ecological, social, and economic importance of the mangrove ecosystem in southern Ecuador and the evident contamination by heavy metals in its proximity, the risks associated with the presence of metals in these fragile environments have been scarcely studied. In developing countries such as Ecuador, mangroves benefit the practice of artisanal fishing and recreation activities, and due to potential polluting sources, there is interest in understanding the environmental state of these regions for the formulation of management and protection measures. The objective of the present study was to determine the concentration of mercury in sediments, mangrove root and in the bivalve mollusc *Anadara tuberculosa* at two sites in the La Puntilla estuary and to estimate the Ecological Risk Index (RI); and the Toxic Hazard or Hazard Quotient (HQ) for human health. The research scenario considered *in situ* samplings in mangrove areas of the estuary adjacent to the mouths of the Chaguana and Siete rivers for a comparative analysis of 1) Ecological Risk Index (RI), and 2) Toxic Risk or Hazard Quotient (HQ) for human health.

The environmental health risk analysis is known as the evaluation of toxicological damage caused by an effect of a contaminant that reach to a potential receptor through various migration and exposure pathways (US Environmental Protection Agency, 1989). On the other hand, an ecological risk estimation is a tool used to perform a quantitative diagnosis of environmental sensitivity based on the analysis of concentrations of pollutants (mercury) at the study site and its impact on the environment in which it is present (Hakanson, 1980). Although the current study only offers essential information about mercury contamination and risks in a mangrove area, it is a significant contribution to knowledge about what is undoubtedly an area of significant academic interest regarding heavy metal contamination in mangrove areas. The study benefits international organizations and organizations that work in ecological preservation and offers information to those in charge of formulating measures for the protection and management of coastal resources.

y organizaciones que trabajan en la preservación ecológica, y ofrece información a aquellos que están encargados de formular medidas de protección y manejo de los recursos costeros.

METODOLOGÍA

El presente estudio se realizó en el bioma de manglar situado en las desembocaduras de los ríos Chaguana y Siete, en el estuario La Puntilla, provincia de El Oro, Ecuador. El área de estudio colinda con la provincia de Guayas hacia el norte y con la provincia de Azuay hacia el noroeste. El estuario de La Puntilla nace en la falda occidental de la Cordillera de Los Andes en los cantones Ponce-Enríquez (provincia del Azuay) y El Guabo, (provincia de El Oro), teniendo como principales afluentes a los ríos Chaguana y Siete. El flujo de agua en ambos ríos varía considerablemente. El río Siete tiene un promedio de 0,2-0,3 m³/s mientras que, en épocas de alta intensidad lluviosa, el caudal se incrementa a 2,5-7 m³/s (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2009). El río Chaguana está conectado con los ríos Pagua y Bonito, que corrientemente le aportan un caudal de alrededor de 4 m³/s, constituyendo un cuerpo de agua significativamente más grande que el río Siete.

En los meses de febrero y agosto del año 2018 se realizaron cuatro campañas de muestreo en el ecosistema de manglar del Estuario la Puntilla junto a las desembocaduras de los ríos Chaguana y Siete (Figura 1). Se localizaron dos sitios de muestreo, uno junto a la desembocadura del río Chaguana, y otro junto a la desembocadura del río Siete. El estuario presenta dos pleamares y dos bajamares cada día. Los muestreos se realizaron en bajamar, cuando es posible acceder al terreno de manglar, ya que no está inundado por agua. Las muestras fueron tomadas en el fango del bioma de manglar donde habitan bivalvos y crustáceos. Para el muestreo se consideró indispensable el conocimiento de los pescadores artesanales, con quienes se planificó el acceso según el estado intermareal y acorde al desplazamiento de un conchero por jornada diaria (entre 4-6 horas). Con el acompañamiento de los pescadores artesanales se tomaron muestras de sedimentos, *Anadara tuberculosa* y raíz de mangle de la especie *Rhizophora mangle* sp. en cada sitio. Las muestras fueron tomadas de manera separada para evitar riesgos de contaminación cruzada. En cada estación se tomaron muestras simples de sedimentos y de raíz de mangle, acumuladas en recipientes separados e íntegramente limpios. Para el caso de *A. tuberculosa*, los

METHODS

The present study was conducted in the mangrove biome located at the mouths of the Chaguana and Siete rivers, in the La Puntilla estuary, El Oro province, Ecuador. The study area adjoins the Guayas province to the north and the Azuay province to the northwest. The La Puntilla estuary originates in the western foothills of the Andes Mountains in the Ponce-Enriquez (Azuay Province) and El Guabo (El Oro Province), having the Chaguana and Siete rivers as the main tributaries. The flow of water in both rivers varies considerably. The Siete river has an average of 0.2-0.3 m³/s, while in times of high rain intensity, water flow increases to 2.5-7 m³/s (National Secretariat of Planning and Development, 2009). The Chaguana river is connected to the Pagua and Bonito rivers, which currently provide a flow of around 4 m³/s, constituting a more significant body of water than the Siete river.

In February and August of 2018, four sampling campaigns were carried out in the mangrove ecosystem of the La Puntilla estuary next to the mouths of the Chaguana and Siete rivers (Figure 1). Two sampling sites were located, one next to the mouth of the Chaguana river, and another next to the mouth of the Siete river. The estuary daily features two high tides and two low tides. The samplings were carried out at low tide when it is possible to access the mangrove land since it is not flooded by water. The samples were taken in the mangrove biome mudflat, habitat of bivalves, and crustaceans. For the sampling, it was essential to consider local artisanal fishers' knowledge with whom access was planned according to the intertidal state and in the function of the movement of one fisherman per day (between 4-6 hours) during his daily journey. With the accompaniment of artisanal fishers, we sampled the *Anadara tuberculosa* and obtained the mangrove root of the *Rhizophora mangle* sp species at each site. The samples were taken separately to avoid risks of cross-contamination. Sediment and mangrove root samples were collected at each station, accumulated in separate and clean containers. In the case of *A. tuberculosa*, the organisms were placed in baskets after superficial cleaning, ruling out the presence of sediment and mud in the external valves. On each sampling day, the materials and utensils were washed and rinsed with 5 % nitric acid.

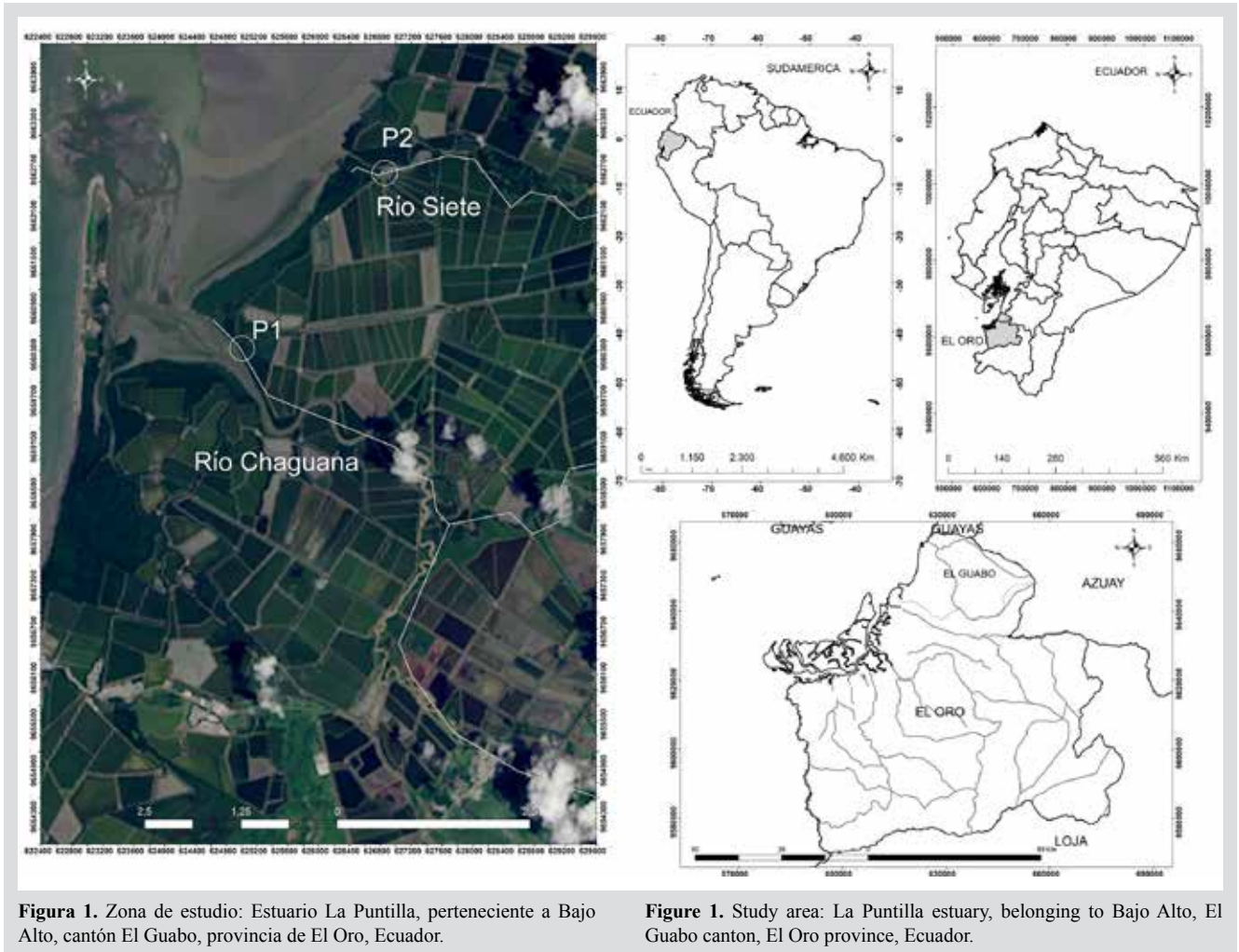


Figura 1. Zona de estudio: Estuario La Puntilla, perteneciente a Bajo Alto, cantón El Guabo, provincia de El Oro, Ecuador.

Figure 1. Study area: La Puntilla estuary, belonging to Bajo Alto, El Guabo canton, El Oro province, Ecuador.

organismos fueron colocados en canastillas luego de una limpieza superficial para desechar la presencia de sedimento y lodo en las valvas externas. En cada jornada de muestreo, los materiales y utensilios se lavaron y enjuagaron con ácido nítrico al 5 %.

Muestreo de sedimentos

En cada punto, siguiendo la secuencia del pescador artesanal y usando un tubo PVC de 6 pulgadas de diámetro, se tomaron al azar aproximadamente 3000 g de sedimento en varios puntos a una profundidad de alrededor 20 cm. De las muestras simples de sedimentos se constituyó una muestra compuesta de alrededor de 500 g, la cual fue empaquetada en fundas plásticas con cierre hermético y almacenada en un recipiente especialmente preparado para los sedimentos. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a secado, molienda y tamizado (75 μm , 150 μm , 300 μm y 850 μm) y empaquetadas herméticamente para su posterior transporte al laboratorio analítico.

Sediment sampling

At each point following the artisanal fisherman's sequence and using a 6-inch diameter PVC tube, approximately 3000 g of sediment were randomly taken at various locations at a depth of about 20 centimeters. A composite sample of around 500 g was formed from the discrete sediment samples, which was packed in plastic covers with hermetic closure and placed in a container specially prepared for the sediments. Subsequently, the samples were subjected to drying, grinding, and sieving (75 μm , 150 μm , 300 μm , and 850 μm) and hermetically packed for subsequent transport to the analytical laboratory.

Root sampling of *Rhizophora* sp.

At the two sampling sites previously described, and following the trajectory of the artisanal fisherman, samples of the mangrove root were obtained. Mangrove root samples were taken by cutting off the soft tissue at

Muestreo de raíz de *Rhizophora* sp.

En los dos sitios de muestreo previamente descritos y siguiendo la trayectoria del pescador artesanal, se obtuvieron muestras de la raíz de manglar, las cuales fueron tomadas cortando la parte final y blanda de la raíz suspendida. Por lo general, la raíz de mangle contiene partículas en suspensión y microorganismos. Las muestras con todo su contenido fueron almacenadas. Una muestra consistió en varios fragmentos de raíz de mangle para completar aproximadamente 250 g. La muestra fue colocada en fundas plásticas con cierre hermético y dispuesta en un recipiente en frío.

Muestreo de *Anadara tuberculosa*

La captura de bivalvos se realizó con especial atención a la obtención de la concha negra *A. tuberculosa*, la cual se realizó con ayuda del pescador quien fue el único que extrajo el bivalvo del fango del hábitat de manglar a una profundidad alrededor de 20 cm. Las conchas fueron recibidas por otra persona con manos limpias que se dedicó al manejo de estas, esto es, al enjuague en agua de mar para eliminar el exceso de sedimentos, empaquetado y almacenamiento en el recipiente colector. En laboratorio y bajo íntegras condiciones de asepsia, se realizó la disección del organismo bivalvo para extraer el tejido blando asegurando un peso de alrededor de 100 g acorde a lo requerido por el laboratorio analítico. Del número de individuos capturados en las cuatro campañas de muestreo, se obtuvieron 22 muestras que fueron analizadas. Cada muestra consistió en alrededor de 20 a 30 ejemplares de *A. tuberculosa*. Se registró tamaño y peso de los individuos capturados medidos por medio de un escalímetro y una balanza digital con sensibilidad a 0,1 g, respectivamente. El almacenamiento de muestras de sedimentos, raíz de mangle y *A. tuberculosa* fue realizado por separado con recipientes térmicos para preservación a bajas temperaturas y teniendo presente criterios de conservación y transporte de muestras (Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, 2013).

Análisis de mercurio

Las concentraciones de mercurio total en las muestras de sedimento, raíz de manglar y del bivalvo *A. tuberculosa* fueron analizadas en el laboratorio de la Subsecretaría de Calidad e Inocuidad del Ministerio de Acuicultura y Pesca del Ecuador, con acreditación para la determinación de mercurio. El método analítico consistió en la técnica de vapor frío con el uso de un espectrofotómetro de absorción atómica (método de referencia P1-MP1 VARIAN AA 60), de acuerdo con procedimientos intrínsecos para el

the suspended plant root. In general, the mangrove root contains suspended particles and microorganisms. The root samples were stored with all their content. A sample consisted of several mangrove root fragments to complete approximately 250 g, which was placed in plastic bags with a hermetic seal and placed in a cold container.

Sampling of *Anadara tuberculosa*

The capture of bivalves was carried out with particular attention to obtaining the black shellfish *A. tuberculosa*, which was carried out with the help of the fisherman, who was the only one who extracted the bivalve from the mud of the mangrove habitat at a depth of around 20 cm. Another person received the shellfishes with clean hands for handling rinsing them in seawater to remove excess sediment, packaging, and storage in the collecting container. In the laboratory and under thorough aseptic conditions, the bivalves were dissected, extracting the soft tissue. A sample weight of around 100 g was required for analytical purposes at the laboratory. From the total number of individuals captured in the four sampling campaigns, 22 samples were obtained and analyzed. Each sample consisted of between 20 to 30 specimens of *A. tuberculosa*. The size and weight of the captured individuals were recorded, measured utilizing a scale and a digital scale with sensitivity to 0.1 g, respectively. The storage of samples of sediments, mangrove root and *A. tuberculosa* was carried out separately, using thermal containers for preservation at low temperatures and keeping sample conservation and transport criteria in mind (Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, 2013).

Mercury analysis

The concentrations of total mercury in the samples of sediment, mangrove root and the bivalve *A. tuberculosa* were analyzed in the laboratory of the Undersecretary of Quality and Safety, of the Ministry of Aquaculture and Fisheries of Ecuador with accreditation for the determination of mercury in biological samples. The analysis was performed by using the cold vapor technique using the Atomic Absorption Spectrophotometer (reference method P1-MP1 VARIAN AA 60), and according to intrinsic analytical procedures of the laboratory. The detection limit reported by the laboratory was 0.09 mg/kg Hg, and the reported values correspond to the dry weight of the samples. The mercury concentration results were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) to determine if there is a significant difference

análisis en el laboratorio. El límite de detección reportado por el laboratorio fue de 0,09 mg/kg de Hg y los valores reportados corresponden al peso seco de las muestras. Los resultados de la concentración de mercurio fueron analizados mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar si existe diferencia significativa entre los promedios determinados para cada componente en los dos puntos del estero La Puntilla.

Cálculo del riesgo ecológico

Para el cálculo del riesgo ecológico, se utilizó el método descrito por Hakanson (1980), que tiene como propósito identificar la concentración de metales pesados en la muestra para evaluar el factor de contaminación (C_r^i), el potencial de riesgo ecológico (Er^i) y el índice de potencial riesgo ecológico (RI). El factor de contaminación identifica qué tan contaminante puede llegar a ser el mercurio y se calculó de la siguiente manera:

$$C_r^i = C_{0.1}^i / C_n^i \quad \text{Ec. 1}$$

Donde,

$C_{0.1}^i$ es la concentración de mercurio en la muestra

C_n^i corresponde a los valores de referencia de mercurio cuyo valor propuesto por Hakanson es de 0,25

El factor potencial de riesgo ecológico ayuda a conocer el riesgo ambiental (Er^i) que puede tener el mercurio con base en la relación del factor de contaminación y los valores de respuesta tóxica, y se interpretan de la siguiente manera:

$$Er^i = Tr^i * C_r^i \quad \text{Ec. 2}$$

Donde,

Tr^i corresponde al factor de respuesta tóxica de la sustancia, con un valor de 40 para el mercurio

C_r^i representa al factor de contaminación

El índice de riesgo ecológico (RI) integra los factores de potencial de riesgo ecológico del mercurio y permite establecer si las concentraciones en la muestra de estudio tienen riesgo ambiental. La categoría del RI varía desde bajo a alto y se calculó con la siguiente ecuación:

$$RI = \sum Er^i \quad \text{Ec. 3}$$

La interpretación del factor de contaminación potencial de riesgo ecológico e índice de riesgo ecológico se resume en la Tabla 1, donde se presentan los valores y sus respectivas categorías.

between the averages determined for each component in the two points of the La Puntilla estuary.

Ecological risk calculation

To calculate the ecological risk, we used the method described by Hakanson (1980), which aims to identify the concentration of heavy metals on the sample to assess the pollution factor (C_r^i), ecological risk potential (Er^i), ecological risk potential index (RI). The pollution factor identifies how polluting, mercury can be in the study site, and was calculated as follows:

$$C_r^i = C_{0.1}^i / C_n^i \quad \text{Eq. 1}$$

Where,

$C_{0.1}^i$ is the concentration of mercury in the sample

C_n^i corresponds to the reference mercury values whose value proposed by Hakanson is 0.25

The potential ecological risk factor helps to know the ecological risk (Er^i) that mercury can have based on the relationship between the pollution factor and the toxic response values. They are interpreted as follows:

$$Er^i = Tr^i * C_r^i \quad \text{Eq. 2}$$

Where,

Tr^i corresponds to the toxic response factor of the substance, with a value of 40 for mercury

C_r^i represents the pollution factor

The ecological risk index (RI) integrates the ecological risk potential factors of mercury and allows establishing whether the concentrations in the study sample have ecological risk. The RI category was calculated with the following equation.

$$RI = \sum Er^i \quad \text{Eq. 3}$$

The interpretation of the potential ecological risk pollution factor and ecological risk index is summarized in Table 1, where the values and their respective categories are presented.

Tabla 1. Categorías de interpretación del factor de contaminación potencial de riesgo ecológico e índice de riesgo ecológico.

Table 1. Interpretation categories of the potential ecological risk pollution factor and ecological risk index.

Factor de contaminación/Pollution factor		Potencial de riesgo ecológico/ Ecological risk potential		Índice de riesgo/Risk index	
Valor/Value	Categoría/Category	Valor/Value	Categoría/Category	Valor/Value	Categoría/Category
$C_r^i < 1$	Bajo/Low	$Er^j < 40$	Bajo/Low	$RI \leq 150$	Bajo/Low
$1 \leq C_r^i < 3$	Moderado/Moderate	$40 \leq Er^j < 80$	Moderado/Moderate	$150 \leq RI < 300$	Moderado/Moderate
$3 \leq C_r^i < 6$	Considerable	$80 \leq Er^j < 160$	Considerable	$300 \leq RI < 600$	Considerable
$6 \leq C_r^i$	Muy alto/Very high	$160 \leq Er^j < 320$	Muy alto/Very high	$RI \geq 600$	Muy alto/Very high
		$Er^j \geq 320$	Muy alto riesgo ecológico/Very high ecological risk		

Análisis de riesgo sanitario ambiental

El cálculo del riesgo sanitario ambiental se realizó tomando en cuenta vías activas de exposición: ingestión (Ec. 4) y contacto dérmico (Ec. 5). Se considera que el sitio de estudio representa un hábitat donde se asientan pequeños grupos familiares que aprovechan el manglar para la pesca artesanal y, por tanto, subsisten de este recurso. Por otro lado, se calculó el riesgo producido por la ingesta de mercurio a través del consumo de conchas del género *A. tuberculosa* (Ec. 6), considerando que este bivalvo es distribuido y consumido en diversas partes de la región. La Tabla 2 muestra la descripción de las variables, los valores y las unidades utilizadas.

$$\frac{C_{sn} * CF_1 * EF * FI * ED * IR}{CF_2 * BW * AT * RfDs} \quad \text{Ec. 4}$$

$$\frac{C_{sn} * CF_3 * SA * AF * ABS * EF * ED}{CF_2 * BW * AT * RfDs} \quad \text{Ec. 5}$$

$$\frac{Ct * EF * ED * FIR * CF_4}{RfDt * BW * AT} \quad \text{Ec. 6}$$

Environmental health risk analysis

The environmental health risk calculation was carried out, taking into consideration active exposure routes such as ingestion (Eq. 4) and Dermal Contact (Eq. 5). We consider that the study site is a habitat where small family groups settle that take advantage of the mangrove for artisanal fishing by both subsist on this resource. On the other hand, the risk produced by the ingestion of mercury through the consumption of shells of the genus *A. tuberculosa* (Eq. 6) was calculated considering that this bivalve is distributed and consumed in various parts of the region. Table 2 shows a description of the variables, values, and units used.

$$\frac{C_{sn} * CF_1 * EF * FI * ED * IR}{CF_2 * BW * AT * RfDs} \quad \text{Eq. 4}$$

$$\frac{C_{sn} * CF_3 * SA * AF * ABS * EF * ED}{CF_2 * BW * AT * RfDs} \quad \text{Eq. 5}$$

$$\frac{Ct * EF * ED * FIR * CF_4}{RfDt * BW * AT} \quad \text{Eq. 6}$$



Tabla 2. Valores empleados para el cálculo del riesgo.

Table 2. Values used to calculate risk.

Ingestión incidental por sedimentos/Incidental sediment ingestion			Receptores/Receivers	
Factores/Factors		Unidades/Units	Adultos/Adults	Niños/Children
Concentración del elemento/Element concentration	Csn	mg/kg	Concentración – metal/ Concentration – metal	Concentración – metal/ Concentration – metal
Factor de conversión 1/Conversion factor 1	CF1	kg/mg	1×10^{-5}	1×10^{-5}
Frecuencia de exposición/Exposure frequency	EF	Día/año Day/year	350	350
Fracción de ingestión/Ingestion fraction	FI	Adimensional/ Dimensionless	1	1
Duración de exposición/Exposure duration	ED	Año/Year	24	6
Tasa de ingestión del suelo/Soil ingestion rate	IR	mg/día	100	200
Factor de conversión 2/Conversion factor 2	CF ₂	día/año Day/year	365	365
Peso corporal/Body weight	BW	kg	70	15
Tiempo promedio/Average time	AT	Año/Year	LT (cancerígeno/ carcinogenic) ED (no cancerígeno/ non-carcinogenic)	LT (cancerígeno/ carcinogenic) ED (no cancerígeno/ non-carcinogenic)
Dosis de referencia Sedimentos/Sediment reference dose	RfDs	mg/kg*día mg/kg*day	8.57×10^{-04}	8.57×10^{-04}
Contacto dérmico incidental por sedimentos/Incidental dermal contact by sediment			Receptores/Receivers	
Factores/Factors		Unidades/Units	Adultos/Adults	Niños/Children
Factor de conversión 3/Conversion factor 3	CF3	kg*cm ² /mg*m ²	0.01	0.01
Área de superficie/Surface area	SA	m ² /día m ² /day	0.53	0.53
Factor de adherencia/Adhesion factor	AF	mg/cm ²	1	1
Factor de absorción/Absorption factor	ABS	Adimensional/ Dimensionless	0.01(orgánico/organic) 0.001(inorgánico/ inorganic)	0.01(orgánico/organic) 0.001(inorgánico/ inorganic)
Duración de exposición/Duration of exposition	ED	Año/Year	30	30
Factor de conversión 2/Conversion factor 2	CF ₂	Día/año Day/year	365	365
Dosis de referencia Sedimentos/Sediment reference dose	RfDs	mg/kg*día mg/kg*day	3×10^{-05}	3×10^{-05}
Ingestión de <i>Anadara tuberculosa</i> /Ingestion of <i>Anadara tuberculosa</i>			Receptores/Receivers	
Factores/Factors		Unidades/Units	Adultos/Adults	Niños/Children
Duración de exposición/Exposure duration	ED	Año/Year	70	6
Tasa de ingestión de alimento/Food ingestion rate	FIR	gr/persona/día gr/person/day	9.8	9.8
Factor de conversión 4/Conversion factor 4	CF ₄	kg/g	0.001	0.001
Dosis de referencia tejido blando/Soft tissue reference dose	RfDt	mg/kg-día mg/kg-day	0.003	0.003
Peso corporal/Body weight	BW	kg	70	15
Tiempo promedio/Average time	AT	Año/Year	EF*ED	EF*ED

El HQ es un índice de peligro que identifica cuantitativamente si la exposición al mercurio supera la dosis tolerable o de referencia RfD (Reference dose) [mg/kg/d] La RfD estima la exposición media diaria que no produce efectos adversos apreciables en el organismo humano

The HQ is a hazard index that quantitatively identifies whether exposure to mercury exceeds the tolerable or reference dose RfD (reference dose) [mg/kg d]. The RfD estimates the average daily exposure that does not produce measurable adverse effects on the human organism during

durante el transcurso de su vida. El coeficiente de peligro total se considera como la suma de los coeficientes individuales. Para la determinación del HQ total se realizó la siguiente sumatoria donde se considera a vía de exposición *i-ésima*.

$$HQ_{tot} = \sum_1^n HQ_i \quad \text{Ec. 7}$$

Los estándares para la protección humana definidos por diversos organismos internacionales previenen los siguientes criterios de aceptabilidad: para el riesgo no cancerígeno (exposición a una o más sustancias) HQ, HQ < 1.0 (Environmental Protection Agency, 1997).

RESULTADOS

Concentración de mercurio en sedimentos, raíz de mangle y bivalvo *Anadara tuberculosa*

En la Figura 2 se muestran los resultados de los niveles de concentración de mercurio (Hg) en sedimentos, tejido blando de *Anadara tuberculosa* y raíz de mangle detectados en el estuario La Puntilla a lo largo del lecho de manglar que colinda con las desembocaduras de los ríos Siete y Chaguana.

its life. The total hazard coefficient is considered as the sum of the individual factors. For the determination of the total HQ, the following summation was performed, taking into account the route of exposure.

$$HQ_{tot} = \sum_1^n HQ_i \quad \text{Eq. 7}$$

The standards for personal protection defined by various international organizations provide the following acceptability criteria: for non-carcinogenic risk (exposure to one or more substances) HQ, HQ < 1.0 (Environmental Protection Agency, 1997).

RESULTS

Mercury concentration in sediments, mangrove root, and bivalve *Anadara tuberculosa*

Figure 2 shows the results of mercury (Hg) concentration levels in sediments, the soft tissue of *Anadara tuberculosa* and mangrove root detected in the La Puntilla estuary along the mangrove bed that adjoins the mouths of the Siete and Chaguana rivers.

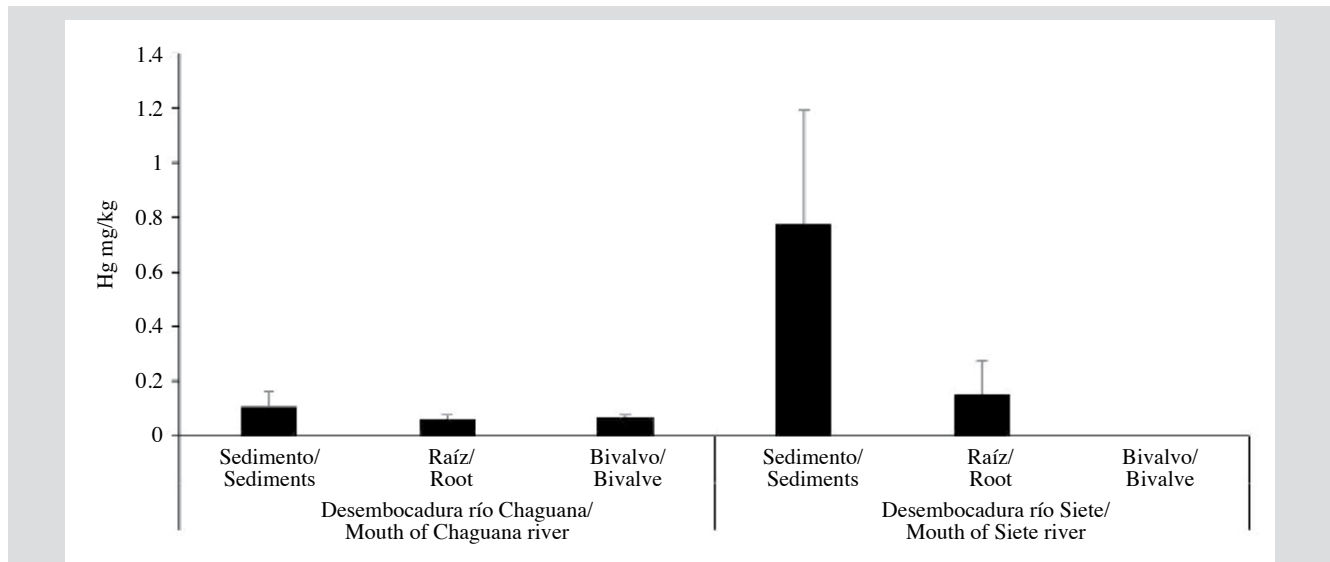


Figura 2. Concentración de mercurio en sedimentos, *Anadara tuberculosa*, y raíz de mangle. El eje vertical muestra los niveles de mercurio respecto a sedimento, raíz de mangle y el bivalvo *A. tuberculosa*, y el eje horizontal expone los componentes analizados en la zona de manglar colindante con las desembocaduras de los ríos Chaguana y Siete, en el estuario La Puntilla, provincia de El Oro, sur del Ecuador.

Figure 2. Mercury concentration in sediments, *Anadara tuberculosa*, and mangrove root. The vertical axis shows the levels of mercury concerning sediment, mangrove root, and the bivalve *A. tuberculosa*, and the horizontal axis shows the components analyzed in the mangrove area adjacent to the mouths of the Chaguana and Siete rivers, in the La Puntilla estuary, El Oro province, southern Ecuador.

En el sector de manglar colindante con la desembocadura del río Chaguana se tomaron 29 muestras de sedimentos con niveles de concentración de mercurio de $0,12 \pm 0,06$ mg/kg. El valor determinado representa cinco muestras (18,5 %) del total de las muestras obtenidas, de tal forma que 24 muestras (81,5 %) registraron concentraciones bajo el límite de detección. Esto supone que la presencia de mercurio es inconstante en el área de manglar próxima a la desembocadura del río Chaguana. Por otra parte, al dirigirse hacia el sector de manglar que colinda con el río Siete, el ingreso al sitio fue difícil en bajamar por la excesiva sedimentación que existe en el lecho del estuario, formando una barrera que impide el acceso hacia el río. En el fango del lecho de manglar contiguo a la desembocadura del río Siete se tomaron cinco muestras de sedimento, con lo cual se identificó en todas las muestras presencia de mercurio cuyas concentraciones fluctuaron alrededor de $0,77 \pm 0,42$ mg/kg. El análisis de varianza muestra que la concentración de mercurio en sedimentos de la zona de manglar colindante al río Siete fue significativamente diferente a la concentración registrada para la zona de manglar colindante al río Chaguana ($p > 0,05$). Adicionalmente, a diferencia de lo observado en la desembocadura del río Chaguana, en los sedimentos del área de manglar contigua al río Siete se determinó una distribución homogénea al registrarse la concentración más alta con 1,09 mg/kg de mercurio.

En lo que respecta a la concentración de mercurio en raíz de mangle en el río Chaguana, de un total de 23 muestras, cinco muestras (21 %) registraron una concentración de mercurio de $0,06 \pm 0,01$ mg/kg. En comparación, 18 muestras (79 %) registraron concentraciones bajo límite de detección. En contraste, en el río Siete, cinco muestras de raíz de mangle obtenidas reportaron una concentración de $0,151 \pm 0,121$ mg/kg. El análisis de varianza muestra que la concentración de mercurio en raíz de mangle en el área colindante a la desembocadura del río Chaguana no fue significativamente diferente a la concentración registrada cerca al río Siete ($p > 0,05$).

En relación con *A. tuberculosa*, 60 % de los individuos capturados tuvo un tamaño entre 3-4 cm, 31 % entre 4-5 cm y 9 % entre 5-5,5 cm. Análogamente, los pesos con valvas de los individuos registrados fueron de 15,5 g, 44,2 g y 78,7 g respectivamente según su tamaño. El peso del tejido muscular representó aproximadamente un 30 % de su peso total, es decir, que varió entre 4,46-23,60 gramos de peso húmedo por individuo. La composición de una muestra se consiguió juntando entre 20 y 30 ejemplares

In the mangrove sector adjacent to the Chaguana river's mouth, 29 sediment samples were taken with mercury concentration levels of 0.12-0.06 mg/kg. The determined value represents five samples (18.5 %) of the total samples obtained, in such a way that 24 samples (81.5 %) reported concentrations below the detection limit. This means that the presence of mercury is inconsistent in the mangrove area near the mouth of the Chaguana river. On the other hand, when heading towards the mangrove sector that adjoins the Siete river, entry to the site was difficult at sea due to the excessive sedimentation that exists in the estuary bed, forming a barrier that blocks access to the river. In the mud of the mangrove bed next to the Siete river's mouth, five sediment samples were taken, identifying in all the samples the presence of mercury whose concentrations fluctuated around 0.77-0.42 mg/kg. The analysis of variance shows that the mercury concentration in sediments of the mangrove zone adjacent to the Siete river was significantly different from the level registered for the mangrove zone adjacent to the Chaguana river ($p > 0.05$). Additionally, unlike what was determined for the mouth of the Chaguana river, a homogeneous distribution was established in the sediments of the mangrove area adjacent to the Siete river, registering the highest concentration with 1.09 mg/kg of mercury.

Regarding the concentration of mercury in mangrove root in the Chaguana river, out of a total of 23 samples, five samples (21 %) reported a mercury concentration of 0.06-0.01 mg/kg. In comparison, 18 (79 %) samples reported levels below the detection limit. In contrast, in the Siete river of five mangrove root samples obtained, reported a concentration of 0.151-0.121 mg/kg. The analysis of variance shows that the level of mercury in mangrove root in the area adjacent to the mouth of the Chaguana river was not significantly different from the concentration registered near the Siete river ($p > 0.05$).

Concerning *A. tuberculosa*, 60 % of the captured individuals had a size between 3-4 cm, 31% between 4-5 cm, and 9 % fluctuated between 5-5.5 cm. Similarly, the registered individuals' valve weights were 15.5 g, 44.2 g, and 78.7 g, respectively, according to their size. The mass of the muscle tissue represented approximately 30 % of its total weight; that is, it varied between 4.46 to 23.60 g of wet weight per individual. The composition of a sample was achieved by gathering between 20 to 30 specimens according to the individual's size. In the mangrove bed

según el tamaño de los individuos. En el lecho de manglar hacia la desembocadura del río Chaguana se recolectaron 450 individuos con lo cual se completó un total de 15 muestras. De ellas, 14 registraron concentraciones por debajo del límite de detección y solo una reportó presencia de mercurio con una concentración de 0,034 mg/kg. En contraste, en el lecho de manglar hacia la desembocadura del río Siete la escasa presencia del bivalvo *A. tuberculosa* imposibilitó completar una muestra del peso requerido para el análisis, coincidiendo con la presencia de algunos ejemplares muertos en el hábitat.

Análisis de riesgo ecológico y riesgo sanitario ambiental

La Tabla 3 muestra los valores de los índices de riesgo ecológico para los escenarios A y B. En el sector hacia el río Siete, se estimó que el Cf está en la categoría “considerable”, el Er es considerado “alto” mientras que el RI está en un nivel “moderado”. En contraste, hacia la zona del estuario que conecta la desembocadura del río Chaguana, los factores Cf, Er y el índice RI se situaron en la categoría “bajo”.

Tabla 3. Cálculo de los índices de riesgo ecológico.

Variables [adimensionales/dimensionless]	Abreviatura/ Abbreviation	Escenario A/Stage A	Escenario B/Stage B
		Línea de costa sector río Siete/Coastline sector Seven river	Línea de costa sector río Chaguana/Coastline sector Chaguana river
Factor de contaminación/Pollution factor	Cf	4.34	0.9
Factor de potencial riesgo ecológico/Potential ecological risk factor	Er	173.76	36
Índice de riesgo ecológico/Ecological risk index	RI	173.76	36

El presente estudio define un modelo que considera los sedimentos como vía de exposición por contacto dérmico, y el tejido blando de *A. tuberculosa* como vía de exposición por ingestión. El contacto dérmico está asociado a la manipulación de sedimento y del bivalvo contaminado por mercurio. Esto sucede por absorción percutánea del elemento que puede ingresar al cuerpo humano al estar en contacto con elementos posiblemente contaminados. Los receptores considerados corresponden a adultos y niños que habitan en el sector o realizan faneas de pesca en los bosques del manglar (Figura 3).

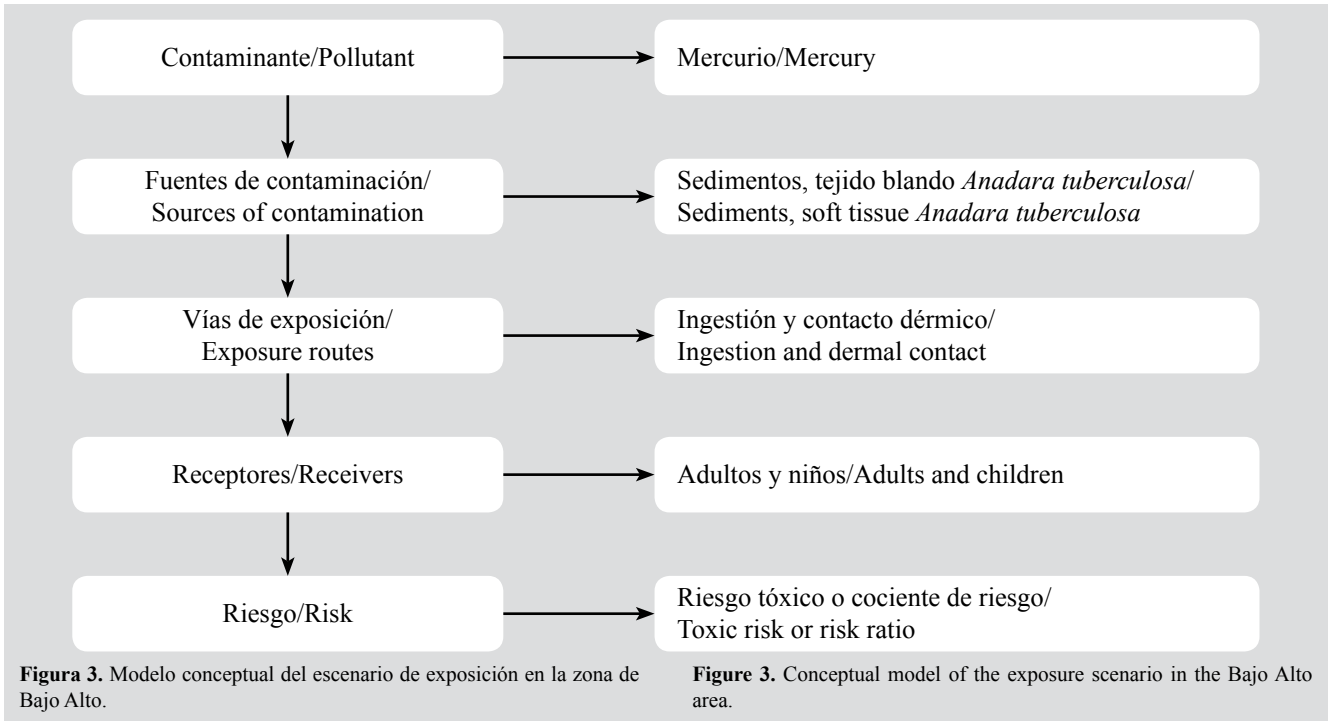
towards the mouth of the Chaguana river, 450 individuals were collected, completing a total of 15 samples. Of these, 14 samples reported concentrations below the detection limit and only one with a level of 0.034 mg/kg of mercury. In contrast, in the mangrove bed towards the mouth of the Siete river, the scarce presence of *A. tuberculosa* made it impossible to complete a sample at the required weight for the analysis, coinciding with the presence of some dead specimens in the habitat.

Ecological risk and environmental health risk analysis

Table 3 shows the values of the ecological risk indices for scenarios A and B. The results demonstrated that in the Siete river the Cf is in the “considerable” category, the Er is “high” while the RI it is at a “moderate” level. In contrast, the Factors Cf, Er, and the RI index were located in the “low” category at the mouth of the Chaguana river.

Table 3. Calculation of ecological risk indices.

This study defines a model that considers sediments as the route of exposure by dermal contact, and the soft tissue of *A. tuberculosa* as the route of exposure by ingestion. Dermal contact is associated with the manipulation of sediment and mercury-contaminated bivalve. That is percutaneous absorption of the element that can enter the human body when a person is in touch with the contaminant. The receivers considered correspond to adults and children who live in the sector or make fishing lines in the mangrove forest (Figure 3).



El análisis de riesgo sanitario ambiental fue realizado designando valores a los parámetros mostrados en las ecuaciones 4-7 considerando los factores y valores mostrados en la Tabla 4. Los datos de concentración de mercurio en sedimentos para el río Chaguana y el río Siete correspondieron a 0,225 mg/kg y 1,086 mg/kg, respectivamente, estimados a través del criterio UCL de la EPA (U.S. Environmental Protection Agency, 2002). Los valores de cálculo del riesgo en el escenario A, correspondiente al hábitat de manglar colindante a la desembocadura del río Siete para adultos y niños, fueron $2,00 \times 10^{-02}$ y $1,74 \times 10^{-01}$, respectivamente; en cambio, para el escenario B, correspondiente al hábitat de manglar colindante al río Chaguana, los valores para adultos y niños son $1,83 \times 10^{-02}$ y $1,02 \times 10^{-01}$, respectivamente.

The environmental health risk analysis was carried out designating values to the parameters shown in Equations 4-7, considering the factors and levels shown in Table 4. The data of mercury concentration in sediments for the Chaguana river and the Siete river corresponds to 0.225 mg/kg and 1.086 mg/kg, respectively, estimated using the UCL criteria of the EPA (US Environmental Protection Agency, 2002). The risk calculation values for scenario A corresponds to the mangrove habitat adjacent to the mouth of the Siete river for adults, and children were 2.00×10^{-02} and 1.74×10^{-01} , respectively. On the other hand, for scenario B corresponding to the mangrove habitat adjacent to the Chaguana river, the values for adults and children are 1.83×10^{-02} and 1.02×10^{-01} , respectively.

Tabla 4. Valores obtenidos del cálculo del Hazard Quotient para adultos y niños para los escenarios 1 y 2.

Table 4. Values obtained from the calculation of the Hazard Quotient for adults and children for scenarios 1 and 2.

Vías de exposición/ Routes of exposure	Línea de costa sector río Siete/ Coastline sector Seven river		Línea de costa sector río Chaguana/ Coastline sector Chaguana river	
	HQ adultos (adimensional)/ HQ adults (dimensionless)	HQ niños (adimensional)/ HQ children (dimensionless)	HQ adultos (adimensional)/ HQ adults (dimensionless)	HQ niños (adimensional)/ HQ children (dimensionless)
Ingestión de sedimentos/ Sediment ingestion	1.74×10^{-02}	1.62×10^{-01}	3.60×10^{-03}	3.36×10^{-02}
Contacto dérmico por sedimentos/ Dermal contact by sediment	2.63×10^{-03}	1.23×10^{-02}	5.45×10^{-04}	2.54×10^{-03}
Ingestión tejido blando <i>Anadara tuberculosa</i>	-	-	1.42×10^{-02}	6.61×10^{-02}
Hazard Quotient Total	2.00×10^{-02}	1.74×10^{-01}	1.83×10^{-02}	1.02×10^{-01}

A partir de los resultados obtenidos sobre la estimación del riesgo total para adultos y niños, se observa que los límites de tolerancia del $HQ = 1$ no son superados en ninguno de los dos sitios. Sin embargo, los valores registrados en el río Chaguana son significativamente menores a los determinados en los sitios cercanos al río Siete.

DISCUSIÓN

El presente trabajo analizó las concentraciones de mercurio en tres componentes del hábitat de manglar en el estuario de La Puntilla, al sur del Ecuador. Se estimó el riesgo ecológico y sanitario-ambiental del mercurio en dos sitios. Es importante resaltar que las muestras fueron tomadas en el hábitat del manglar y no precisamente en el lecho del estuario. Por tanto, las muestras de sedimentos representan al fango que caracteriza el bioma de manglar colindante a las desembocaduras de los ríos Chaguana y Siete.

De acuerdo con los resultados obtenidos se observa que los mecanismos de transporte y difusión de mercurio hacia el estuario La Puntilla se realizan por drenaje fluvial desde la parte alta donde se descargan desechos y relaves de minería que alcanzan la zona costera. Estudios previos sobre la concentración de mercurio en sedimentos del lecho del río Siete reportaron concentraciones de mercurio de 2,0 mg/kg (Tarras-Wahlberg *et al.*, 2000), 13 mg/kg (Appleton *et al.*, 2001) y 1,4 mg/kg (Carling *et al.*, 2013). En el estuario del río Tumbes, Schudel *et al.* (2018) determinaron niveles de 0,13 mg/kg de mercurio en sedimentos y mediante análisis isotópico confirmaron que el elemento está asociado a descargas de material de desecho de actividades mineras agua arriba del río Puyango-Tumbes. Alta variabilidad en las concentraciones de mercurio se observó en los tres componentes del río Chaguana con el 80 % de muestras bajo límite detección. Esto puede deberse a múltiples factores tales como la mezcla y dilución de agua en el estuario, así como también a la dinámica intermareal que caracteriza la zona costera (Tam y Wong, 1995). Aproximadamente a 20 km del área de estudio, se han reportado concentraciones de $3,97 \pm 0,73$ mg/kg de mercurio en sedimentos (Marin *et al.*, 2016). Lacerda *et al.* (1993), al investigar manglares en una zona litoral de Brasil, evidenció mayor concentración de metales en sedimentos del lecho del estuario que en el manglar. Similarmente, Silva *et al.* (2003) determinó concentraciones de mercurio entre 0,022-0,060 mg/kg y corroboró que este elemento se acumula mayormente en los sedimentos del lecho del estuario en comparación con los depósitos del bosque de manglar. Cuando el mercurio entra

From the results obtained, estimating the total risk for adults and children, it is observed that the tolerance limits of $HQ = 1$, were not exceeded in the two sites. However, the values recorded in the Chaguana river are significantly lower than those determined in the Siete river.

DISCUSSION

The present work analyzed mercury concentrations in three components of the mangrove habitat in the La Puntilla estuary in southern Ecuador. We estimated the ecological and environmental health risk of mercury at two sites. It is essential to highlight that the samples were taken in the mangrove habitat and not precisely in the riverbed. Hence, the sediment samples represent the mud that characterizes the mangrove biome adjacent to the Chaguana river's mouths.

According to the results obtained, it is observed that the transport and diffusion mechanisms of mercury towards the La Puntilla estuary are carried out by river drainage from the upper part where waste and mining tailings are discharged reaching the coastal zone. Previous studies on the concentration of mercury in sediments of the riverbed Siete reported mercury concentrations of 2.0 mg/kg (Tarras-Wahlberg *et al.*, 2000), 13 mg/kg (Appleton *et al.*, 2001) and 1.4 mg/kg (Carling *et al.*, 2013). In the estuary of the Tumbes river, Schudel *et al.*, (2018) determined levels of 0.13 mg/kg of mercury in sediments and through isotopic analysis confirm that the element is associated with discharges of waste material from mining activities upstream of the river Puyango-Tumbes. High variability in mercury concentrations was observed in the three components of the Chaguana river, with 80 % of samples under the detection limit. This may be due to multiple factors such as water mixing and dilution in the estuary zone, as well as the dynamics that characterize the coastal area (Tam and Wong, 1995). Approximately 20 km from our study area, concentrations of 3.97 ± 0.73 mg/kg of mercury have been reported in sediments (Marin *et al.*, 2016). Lacerda *et al.* (1993), when investigating mangroves in a coastal zone of Brazil, found higher concentration of metals in sediments from the estuary bed than in mangroves mudflats. Similarly, Silva *et al.* (2003) determined mercury concentrations between 0.022-0.060 mg/kg of mercury and corroborates that mercury accumulates mostly in sediments from the estuary bed compared to deposits from the mangrove forest. When mercury enters aquatic environments, it precipitates due to



en ambientes acuáticos, se precipita debido a su alta densidad y se incorpora en el fondo, que actúa como sumidero donde se adhiere a las partículas más finas (Andren y Harriss, 1975; Vane *et al.*, 2009). En virtud de lo examinado, se requieren estudios más puntuales para comprender los mecanismos que gobiernan la movilidad del mercurio en el bioma de manglar del río Siete y sus alrededores.

Las concentraciones de mercurio encontradas en el fango del manglar muestran superioridad con relación a los límites estándares de Canadá para la protección de la vida acuática que está en 0,49 mg/kg. Adicionalmente, las concentraciones de mercurio detectadas en el presente estudio superan los niveles de remediación (Soil Cleanup Target Levels) establecidos por el Departamento de Ambiente y Toxicología de la Universidad de Florida (Center for Environmental & Human Toxicology, 2005). Estos criterios están basados en la lixiviación de contaminantes sobre agua superficial marina (Leachability Based on Marine Surface Water Criteria) que establece un límite de 0,03 mg/kg. La legislación ecuatoriana no establece criterios de remediación de sedimentos para ambientes de manglar. El hábitat de manglar caracteriza aproximadamente el 75 % de la línea costera del Ecuador, y representa una importante ecorregión para el crecimiento y la reproducción de algunas especies marinas de peces, moluscos y crustáceos. En el presente estudio, la muestra de raíz de mangle contenía material particulado, microalgas e invertebrados, lo cual supone una posible contaminación de peces marinos que en marea alta o pleamar se acercan al manglar para alimentarse. En el río Chaguana, la concentración de mercurio en sedimentos fue aproximadamente dos veces superior a la concentración de mercurio en raíz de mangle. En el río Siete, la diferencia fue ocho veces superior. Esto sugiere mayor absorción de mercurio en sedimentos y una distribución menor de mercurio en el sistema radicular de los manglares en relación con los sedimentos (Silva *et al.*, 2003; Alongi, 2005). Aunque, la investigación sobre mercurio en la raíz de mangle es limitada, Huang *et al.* (2020) discute procesos de absorción de mercurio en raíz de mangle e indica que los mecanismos de transporte pueden estar sujetos a las variaciones intermareales. El mercurio adherido a las raíces aéreas del manglar puede sufrir un proceso de volatilización por efecto de la radiación solar en el momento de exposición a la atmósfera en marea baja (Huang *et al.*, 2020).

En relación con la contaminación por mercurio en bivalvos, se conoce que en un mismo lugar la concentración difiere entre diferentes especies e individuos (Elder y Collins,

its high density and is incorporated into the bottom, which acts as a sink that adheres to the finest particles (Andren and Harriss, 1975; Vane *et al.*, 2009). Based on what was examined in this study, more specific studies are required to understand the mechanisms that govern mercury's mobility in the mangrove biome of the Siete river and its surroundings.

The mercury concentrations found in the mangrove mud show superiority to the Canadian standard limits for the protection of aquatic life, which is 0.49 mg/kg. Additionally, the mercury concentrations detected in the present study exceed the remediation levels (Soil Cleanup Target Levels) established by the Department of Environment and Toxicology of the University of Florida (Center for Environmental & Human Toxicology, 2005). This criterion is based on Leachability Based on Marine Surface Water Criteria, which establishes a limit of 0.03 mg/kg. Ecuadorian legislation does not establish sediment remediation criteria for mangrove environments. The mangrove forest habitat characterizes approximately 75 % of Ecuador's coastline, representing a critical ecoregion for the growth and reproduction of some marine species of fish, mollusks, and crustaceans. In the present study, the mangrove root sample contained particulate material, microalgae, and invertebrates, which supposes possible contamination of marine fish that at low tide or high tide graze the mangrove to feed. In the Chaguana river, the concentration of mercury in sediments was approximately two times higher than the mercury level in mangrove roots. In the Siete river, the difference was eight times higher. This suggests higher absorption of mercury in sediments, while lower mercury distribution in the mangrove root system (Silva *et al.*, 2003; Alongi, 2005). Although research on mercury in mangrove root is limited, Huang *et al.* (2020) discusses mercury absorption processes in mangrove root and indicates that the transport mechanisms may be subject to intertidal variations. The mercury attached to the mangrove aerial roots may undergo a volatilization process due to the effect of solar radiation on the moment of exposure to the atmosphere at low tide (Huang *et al.*, 2020).

Concerning mercury contamination in bivalves, it is known that the concentration in the same place differs between different species and individuals (Elder and Collins, 1991), and the age of the organisms can influence the accumulation of mercury (Otchere *et al.*, 2003). Studies in mangroves in India determined a low

1991), pudiendo la edad de los organismos influir en la acumulación de mercurio (Otchere *et al.*, 2003). Estudios en manglares de la India determinaron baja correlación entre la concentración de mercurio en sedimentos y el determinado en el gasterópodo *Pirinella cingulata*. La investigación sobre el mercurio en bivalvos en los últimos 50 años ha sido revisada por Otchere (2019), quien reporta una extensa lista de moluscos bivalvos de varias localidades y diversos ambientes cuyas concentraciones promedio fluctúan alrededor de $0,92 \pm 1,67$ mg/kg, con un valor mínimo de 0,03 mg/kg y máximo de 7,5 mg/kg. Los valores registrados en el presente estudio en las muestras de la concha negra *A. tuberculosa* obtenidas en el manglar contiguo al río Chaguana están cerca de valores mínimos reportados en otros estudios. Estos niveles no se consideran altos en referencia a los límites permisibles de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), que presentan un valor de referencia de 0,5 mg/kg (World Health Organization, 2008). Es importante considerar que una muestra estuvo compuesta por 20 a 30 individuos, lo que supone variabilidad en la concentración de mercurio entre los especímenes que forman una muestra correspondiente a una misma especie en una misma localidad. Consecuentemente, un solo ejemplar podría reportar concentraciones entre 0,68 a 1,02 mg/kg, conforme al rango manifestado por Otchere (2019).

Se ha reportado que el mercurio puede ocasionar alteración en células sanguíneas de moluscos bivalvos pudiendo a ciertas concentraciones tener efecto letal en organismos acuáticos (Jakimska *et al.*, 2011; Denil *et al.*, 2017). Otros investigadores deducen la presencia de mecanismos de defensa frente a los metales a través de vesículas que facilitan la excreción celular (Dallinger, 1993; Claisse *et al.*, 2001), o mediante una protección a través de sus valvas como biopelículas de protección (Scardino *et al.*, 2013). En ese mismo orden, otros estudios afirman que la concha externa tiene mayor capacidad de absorber el metal del agua o sedimento alcanzando concentraciones incluso más altas que las de los tejidos internos (Zuykov *et al.*, 2011, 2012). Adicionalmente, factores biológicos tales como especie, edad, tamaño, sexo, genotipo, fenotipo, actividad de alimentación y estado reproductivo influyen en la acumulación de metales y su toxicidad (Riget *et al.*, 1996; Kehrig *et al.*, 2006; Sevillano-Morales *et al.*, 2015), aspectos que requieren más atención en la zona de estudio.

El estuario La Puntilla es una zona dinámica influenciada por mareas que provienen del océano y por

correlación between the concentration of mercury in sediments and that established in the gastropod *Pirinella cingulata*. Research on mercury in bivalves in the past 50 years has been reviewed by Otchere (2019), who reports an extensive list of bivalve molluscs from various locations and diverse environments whose average concentrations fluctuate around 0.92 ± 1.67 mg/kg, with a minimum value of 0.03 mg/kg and a maximum of 7.5 mg/kg. The values recorded in the present study in the samples of the black shellfish *A. tuberculosa* obtained in the mangrove mudflats next to the Chaguana river are close to the minimum values reported in other studies. These levels are not considered high about the permissible limits of the Food and Agriculture Organization (FAO) and the World Health Organization (WHO), which presents a reference value of 0.5 mg/kg (World Health Organization, 2008). It is essential to consider that a sample consisted of 20 to 30 individuals, which implies variability in the concentration of mercury between the specimens that form one sample size corresponding to the same species in the same locality. Consequently, a single specimen could report mercury levels between 0.68 to 1.02 mg/kg, which are similar to the range stated by Otchere (2019).

It has been reported that mercury can cause a cellular alteration in blood cells of bivalve molluscs, and an absolute concentration can have a lethal effect in aquatic organisms (Jakimska *et al.*, 2011; Denil *et al.*, 2017). Other researchers deduce the presence of protection mechanisms against metals through vesicles that facilitate cell excretion (Dallinger, 1993; Claisse *et al.*, 2001), or defense throughout their shells as protective biofilms (Scardino *et al.*, 2013). In the same order, other studies affirm that the outer shell can absorb metal from water or sediment, reaching concentrations higher than those of the internal tissues (Zuykov *et al.*, 2011, 2012). Additionally, biological factors such as species, age, size, sex, genotype, phenotype, feeding activity, and reproductive status influence the accumulation of metals and their toxicity (Riget *et al.*, 1996; Kehrig *et al.*, 2006; Sevillano-Morales *et al.*, 2015), aspects that require more attention in the study area.

La Puntilla estuary is a dynamic area influenced by tides that come from the ocean and by the drainage of freshwater from rivers. In southern Ecuador the estuary dynamics is associated to an intensive coastal aquaculture. In the Siete river, a fluvial body of low flow was observed; therefore, a more severe effect is presumed in the

el drenaje de agua dulce de los ríos. En el sur del Ecuador, la dinámica del estuario está asociada con una intensa acuicultura costera. En el río Siete se observó un cuerpo fluvial de escaso caudal; por tanto, se presume un efecto más severo en la configuración del cauce (Figura 3a). En contraste, en el río Chaguana (Figura 3b) se observó un cuerpo de agua más saludable, donde se observa la vida acuática y silvestre de algunas especies incluyendo aves, bivalvos y crustáceos. La percepción de los pescadores artesanales ante la situación observada en el estuario es negativa y crítica. Ellos demuestran preocupación por el escaso caudal del río y los desechos de la actividad minera aguas arriba. Así mismo, de manera general, asocian los problemas del hábitat a las descargas de aguas de desecho de las granjas camaroneras. Con especial cuidado al río Siete, los pescadores no se acercan al lugar indicando que *A. tuberculosa* y otras especies bioacuáticas tales como el cangrejo rojo son imperceptibles en esa zona.

configuration of the channel (Figure 3a). In contrast, in the Chaguana river (Figure 3b), a healthier body of water was observed, where the aquatic and wildlife of some species are found, including the presence of birds, bivalves and crustaceans. The perception of artisanal fishers regarding the situation observed in the estuary is negative and critical. It indicates their concern about the river's low flow and the waste from the upstream mining activity. Likewise, they generally associate habitat problems with wastewater discharges from shrimp farms. With special precaution to the Siete river, the fishermen do not approach the place, indicating that *A. tuberculosa* and other bio-aquatic species such as the red crab are invisible in that area.

From the results obtained, mercury contamination in the mangrove swamp of the La Puntilla estuary defines two risk scenarios, referred to as scenario A at the mouth of



Figura 3. Imágenes de la zona de estudio donde se realizaron los muestreos a) río Siete b) río Chaguana.



Figure 3. Images of the study area where the samples were taken a) Siete river b) Chaguana river.

De los resultados obtenidos, la contaminación por mercurio en el manglar del estuario La Puntilla define dos escenarios de riesgo, referidos como escenario A (desembocadura del río Siete) y escenario B (desembocadura del río Chaguana). Para ninguno de los casos se superó el HQ, que presentó valores inferiores a 1. Sin embargo, es importante considerar que el HQ no es más que una estimación conservadora de los efectos potenciales para la salud humana. Los factores de riesgo e índices de riesgo ecológico, asociados al río Siete, son aproximadamente cuatro veces mayores que en el río Chaguana. La escasa presencia de *A. tuberculosa* en la desembocadura del río Siete demuestra un efecto ecológico severo en este cuerpo

the Siete river and Scenario B at the mouth of the Chaguana river. For none of the cases was the HQ exceeded, presenting values less than one. However, it is crucial to consider that the HQ is nothing more than a conservative estimate of the potential effects on human health. The risk factors and ecological risk indices associated with the Siete river are approximately four times higher than in the Chaguana river. The scarce presence of *A. tuberculosa* at the mouth of the Siete river evidences a severe ecological effect on this stream. It causes local uncertainty, which is why it is necessary to deepen the research at this site. Other metals reported in the Siete river watershed that could add toxic effects to aquatic organisms were not

fluvial y es motivo de incertidumbre local, por lo cual se requiere profundizar en la investigación en este sitio. La presencia de otros metales que se han reportado en la cuenca hídrica del río Siete y que podrían sumar efectos tóxicos para los organismos acuáticos no fue motivo de análisis en el presente trabajo. Es substancial ejecutar un programa de investigación integral en áreas de manglar considerando el análisis de otros metales y parámetros abióticos en el ecosistema.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se desarrolló a través del acuerdo de cooperación entre la Universidad Técnica de Machala-Ecuador y el Canadian International Resource and Development Institute (CIRDI) para la ejecución de los proyectos “TransMAPE” y “Contaminación por metales pesados”. Se deja especial reconocimiento a los pescadores artesanales de la parroquia Tendales, en especial a la familia Guerrero-García, por su apoyo y acompañamiento en las faenas de campo y por el interés mostrado en la situación ecológica del lugar en el que habitan y trabajan.

a reason for analysis in this study. It is substantial to execute a comprehensive research program in mangrove areas considering the analysis of other metals and abiotic parameters in the ecosystem.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was developed through the cooperation agreement between the Technical University of Machala-Ecuador and the Canadian International Resource and Development Institute (CIRDI) for the execution of the “TransMAPE” and “Heavy metal pollution” projects. Special recognition is left to the artisanal fishermen of the Tendales parish, especially to the Guerrero-García family for their support and accompaniment in-field tasks, and interest demonstrated in the ecological situation of their place of living and work.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Alongi, D.M. 2013. Mangrove-microbe-soil relations. Interactions between macro- and microorganisms in marine sediments: 85-103. <https://doi.org/10.1029/CE060p0085>
- Andren, A.W. and R.C. Harriss. 1975. Observations on the association between mercury and organic matter dissolved in natural waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 39: 1253-1258. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(75\)90132-5](https://doi.org/10.1016/0016-7037(75)90132-5).
- Appleton, J.D., T.M. Williams, H. Orbea and M. Carrasco. 2001. Fluvial contamination associated with artisanal gold mining in the Ponce Enriquez, Portovelo-Zaruma and Nambija areas, Ecuador. *Water Air Soil Poll.*, 131(1-4): 19-39.
- Bazzi, A. 2014. Heavy metals in seawater, sediments and marine organisms in the Gulf of Chabahar, Oman Sea. *J. Oceanogr. Mar. Sci.*, 5(3): 20-29. <https://doi.org/10.5897/JOMS2014.0110>.
- Cardoso, P.G., A.I. Lillebø, E. Pereira, A.C. Duarte and M.A. Pardal. 2009. Different mercury bioaccumulation kinetics by two macrobenthic species: the bivalve *Scrobicularia plana* and the polychaete *Hediste diversicolor*. *Mar. Environ. Res.*, 68(1): 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2009.03.006>.
- Carling, G.T., X. Diaz, M. Ponce, L. Perez, L. Nasimba, E. Pazmino and W.P. Johnson. 2013. Particulate and dissolved trace element concentrations in three southern Ecuador rivers impacted by artisanal gold mining. *Water Air Soil Poll.*, 224(2): 1415.
- Center for Environmental & Human Toxicology. 2005. Final technical report: Development of Cleanup Target Levels (CTLs). Division of Waste Management FDEP.
- Chen, C.Y., M. Dionne, B.M. Mayes, D.M. Ward, S. Sturup and B.P. Jackson. 2009. Mercury bioavailability and bioaccumulation in estuarine food webs in the Gulf of Maine. *Environ. Sci. Technol.*, 43(6): 1804-10. <https://doi.org/10.1021/es8017122>.
- Claisse, D., D. Cossa, J. Breteau-Sanjuan, G. Touchard and B. Bombléd. 2001. Methylmercury in molluscs along the French coast. *Mar. Pollut. Bull.*, 42(4): 329-332. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00036-4](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00036-4).
- Dallinger, R. 1993. Strategies of metal detoxification in terrestrial invertebrates: 245-289. In *Ecotoxicology of metals in invertebrates*. Lewis Publishers, London.
- Denil, D.J., F.F. Ching and J. Ransangan. 2017. Health risk assessment due to heavy metals exposure via consumption of bivalves harvested from Marudu Bay, Malaysia. *Open J. Mar. Sci.*, 7: 494-510. <https://doi.org/10.4236/ojms.2017.74035>.



- Elder, J.F. and J.J. Collins. 1991. Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface-water systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 122: 37-79. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3198-1_2.
- Environmental Protection Agency. 1997. Analysis of risk for environmental pollutants application of deterministic and probabilistic methods for a school scenario.
- Hakanson, L. 1980. An ecological risk index for aquatic pollution control. A sedimentological approach. *Water Res.*, 14(8): 975-1001. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(80\)90143-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(80)90143-8).
- Huang, S., R. Jiang, Q. Song, Y. Zhang, Q. Huang, B. Su, ... and H. Lin. 2020. Study of mercury transport and transformation in mangrove forests using stable mercury isotopes. *Sci. Total Environ.*, 704, 135928.
- Institute of Marine and Coastal Research. 2013. Manual of analytical techniques for the determination of isicochemical parameters and marine pollutants (water, sediments and organisms). *Inst. Coast. Mar. Res.*, Santa Marta. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- Jakimska, A., P. Konieczka, K. Skóra and J. Namieśnik. 2011. Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, Part I: the role and impact of heavy metals on organisms. *Pol. J. Environ. Stud.*, 20(5): 1117-1125.
- Kehrig, H. A., M. Costa, I. Moreira and O. Malm. 2006. Total and methyl mercury in different species of molluscs from two estuaries in Río de Janeiro state. *J. Braz. Chem. Soc.*, 17(7): 1409-1418.
- Lacerda, L.D., C.E. Carvalho, K. Tanizaki, A. Ovalle and C. Rezende. 1993. The biogeochemistry and trace metals distribution of mangrove rhizospheres. *Biotropica*, 252-257.
- Le, D.Q., K. Tanaka, L.V. Dung, Y.F. Siau, L. Lachs, S.T. Kadir, ... and K. Shirai. 2017. Biomagnification of total mercury in the mangrove lagoon foodweb in east coast of Peninsula, Malaysia. *Reg. Stud. Mar. Sci.*, 16, 49-55. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2017.08.006>
- Maanan, M. 2008. Heavy metal concentrations in marine molluscs from the Moroccan coastal region. *Environ. Poll.*, 153(1): 176-183. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.07.024>.
- Marchand, C., E. Lallier-Vergès, F. Baltzer, P. Albéric, D. Cossa and P. Baillif. 2006. Heavy metals distribution in mangrove sediments along the mobile coastline of French Guiana. *Mar. Chem.*, 98(1): 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2005.06.001>.
- Marín, A., V.H. González, B. Lapo, E. Molina y M. Lemus. 2016. Niveles de mercurio en sedimentos de la zona costera de El Oro, Ecuador. *Gayana*, 80(2): 147-153. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382016000200147>
- Medina, M.H., J. Correa and C. Barata. 2007. Micro-evolution due to pollution: possible consequences for ecosystem responses to toxic stress. *Chemosphere*, 67(11): 2105-2114. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.024>.
- Morel, F.M., A. Kraepiel and M. Amyot. 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 29(1): 543-66. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.543>.
- Otchere, F.A. 2019. A 50-year review on heavy metal pollution in the environment: Bivalves as bio-monitors. *Afr. J. Environ. Sci. Tech.*, 13(6): 220-227.
- Otchere, F.A., C.R. Joiris and L. Holsbeek. 2003. Mercury in the bivalves *Anadara (Senilia) senilis*, *Perna perna* and *Crassostrea tulipa* from Ghana. *Sci. Total Environ.*, 304: 369-375. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00582-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00582-X)
- Riget, F., P. Johansen and G. Asmund. 1996. Influence of length on element concentrations in blue mussels (*Mytilus edulis*). *Mar. Pollut. Bull.*, 32(10): 745-51. doi:10.1016/0025-326X(96)00067-7
- Santana, V., G. Medina y A. Torre. 2014. El convenio de Minamata sobre el mercurio y su implementación en la región de América Latina y el Caribe. http://www.mercuryconvention.org/Portals/11/documents/publications/informe_Minamata_LAC_ES_FINAL.pdf.
- Scardino, A., R. De Nys, O. Ison, W. O'Connor and P. Steinberg. 2003. Microtopography and antifouling properties of the shell surface of the bivalve molluscs *Mytilus galloprovincialis* and *Pinctada imbricata*. *Biofouling*, 19: 221-230. doi: 10.1080/0892701021000057882.
- Schudel, G., R.A. Miserendino, M.M. Veiga, P.C. Velásquez-López, P.S.J. Lees, S. Winland-Gaetz, J.R. Guimarães and B.A. Bergquist. 2018. An investigation of mercury sources in the Puyango-Tumbes River: using stable Hg isotopes to characterize transboundary Hg pollution. *Chemosphere*, 202: 777-787. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.081>.
- Schudel, G., R. Kaplan, R.A. Miserendino, M.M. Veiga, P.C. Velásquez-López, J.R. Davée Guimarães and B.A. Bergquist. 2019. Mercury isotopic signatures of tailings from artisanal and small-scale gold mining (ASGM) in southwestern Ecuador. *Sci. Total Environ.*, 686: 301-10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.004>.
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. 2009. Evaluación social y técnica de los recursos hídricos de las subcuencas de los ríos Jagua, Balao, Gala, Tenguel y Siete, en la provincia de Azuay. <https://es.scribd.com/doc/29929927/INVENTARIO-R-HIDRICOS-JAGUA-TENGUEL-GALA-SIETE>.

- Sevillano, J.S., M. Cejudo-Gómez, A.M. Ramírez-Ojeda, F. Cámara-Martos and R. Moreno-Rojas. 2015. Risk profile of methylmercury in seafood. *Curr. Opin. Food. Sci.*, 6: 53-60. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.01.003>.
- Silva, F.S., W. Machado, F. Lisboa and D. Lacerda. 2003. Mercury accumulation in sediments of a mangrove ecosystem in SE Brazil. *Water Air Soil Poll.*, 145: 67-77. <https://doi.org/10.1023/A>.
- Tam, N. e Y. Wong. 1995. Spatial and temporal variations of heavy metal contamination in sediments of a mangrove swamp in Hong Kong. *Mar. Pollut. Bull.*, 31(4-12): 254-261. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(95\)00141-9](https://doi.org/10.1016/0025-326X(95)00141-9).
- Tarras-Wahlberg, N.H., A. Flachier, G. Fredriksson and S. Lane. 2000. Environmental impact of small-scale and artisanal gold mining in southern Ecuador. *AMBIO*, 29(8): 484-491. doi: 10.1579/0044-7447-29.8.484
- U.S. Environmental Protection Agency. 1989. Risk assessment guidance for superfund. Vol. I Human Health Evaluation Manual (Part A). <https://doi.org/EPA/540/1-89/002>.
- U.S. Environmental Protection Agency. 2001. Water quality criterion for the protection of human health: methylmercury. Methylmercury water quality criterion. EPA-823-R-. <https://doi.org/EPA-823-F-01-001>.
- U.S. Environmental Protection Agency. 2002. Calculating upper confidence limits for exposure point concentrations at hazardous waste sites. Washington.
- Vane, C.H., I. Harrison, A.W. Kim, V. Moss-Hayes, B.P. Vickers and K. Hong. 2009. Organic and Metal contamination in surface mangrove sediments of south China. *Mar. Pollut. Bull.*, 58: 134-144. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.09.024>.
- Velásquez López, P.C., M.M. Veiga, B. Klein, J.A. Shandro and K. Hall. 2011. Cyanidation of mercury-rich tailings in artisanal and small-scale gold mining: identifying strategies to manage environmental risks in southern Ecuador. *J. Clean. Prod.*, 19(9-10): 1125-1133. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2010.09.008>.
- World Health Organization. 1996. Guidelines for drinking water quality. Vol. 2. Geneva: WHO library.
- World Health Organization. 2008. Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure. Geneva. <https://doi.org/10.1289/ehp.7856>.
- Zuykov, M., E. Pelletier, C. Belzile and S. Demers. 2011. Alteration of shell nacre micromorphology in blue mussel *Mytilus edulis* after exposure to free-ionic silver and silver nanoparticles. *Chemosphere*, 84: 701-706. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.03.021
- Zuykov, M., E. Pelletier, R. St-Louis, A. Checa and S. Demers. 2012. Biosorption of thorium on the external shell surface of bivalve mollusks: The role of shell surface microtopography. *Chemosphere*, 86: 680-683. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.11.023>

RECIBIDO/RECEIVED: 24/08/2019

APROBADO/APPROVED: 20/04/2020



Long-term coral colonization by an excavating Caribbean sponge

Colonización a largo plazo de corales por una esponja excavadora del Caribe

Ángela Marulanda-Gómez¹, Mateo López-Victoria^{1*} y Sven Zea²

0000-0002-9760-0779

0000-0002-7307-8680

0000-0002-5657-4877

1. Departamento de Ciencias Naturales y Matemáticas, Pontificia Universidad Javeriana Cali, Cali, Colombia. angelusca@hotmail.com, malov@puj.edu.co * Autor para correspondencia.

2. Instituto de Estudios en Ciencias del Mar (Cecimar), Universidad Nacional de Colombia, sede Caribe, c/o INVEMAR, Santa Marta, Colombia. sezeas@unal.edu.co

RESUMEN

Las ramas muertas de *Acropora palmata* colonizadas por la esponja excavadora *Cliona tenuis* son propensas al desplazamiento, la rotura y la translocación durante fuerte oleaje o mar de fondo de tormentas o huracanes, lo que favorece la dispersión de esta esponja. En las islas del Rosario (Colombia, Caribe), los adultos de *C. tenuis* transportados por fragmentos de *A. palmata* que cayeron sobre corales masivos vivos colonizaron el nuevo coral y mataron posteriormente el tejido vivo del coral recién invadido. Los corales que reclutaron sobre las ramas caídas de *A. palmata* cubiertas de *C. tenuis* también fueron invadidos una vez que la esponja llegó a su base. Para determinar si la incidencia de este fenómeno aumentó desde 2002, cuando se documentó por primera vez, la prevalencia y el modo de colonización de corales por *C. tenuis* se cuantificó nuevamente en 2014, en el mismo arrecife. Aunque es difícil inferir una tendencia a partir de dos muestreos puntuales, el número de colonias de coral colonizadas por *C. tenuis* se duplicó en 2014 y se encontraron nuevos casos de colonización desde ramas de *A. palmata* portadoras de esponjas. Sin embargo, la frecuencia de colonización por esponjas adultas desde las ramas de *A. palmata* en 2014 fue entre la mitad y un quinto menor que en 2002, lo que sugiere que otras formas de colonización en corales masivos pueden estar aumentando o que las tormentas borran la evidencia de adultos colonizadores por la translocación de las ramas de coral que han servido de vectores, como se observó en un caso monitoreado. A medida que pasa el tiempo y aumenta la fragmentación y la erosión del arrecife, la evidencia de colonización de corales pétreos por *C. tenuis* a través de las ramas de *A. palmata* se desvanece.

PALABRAS CLAVE: *Cliona tenuis*, *Acropora palmata*, colonización de corales, bioerosión, tormentas.

ABSTRACT

Dead *Acropora palmata* branches colonized by the excavating sponge *Cliona tenuis* are prone to dislodgement, breakage, and translocation during heavy surge and swell from storms or hurricanes, favoring the dispersion of this sponge. At Islas del Rosario (Colombia, Caribbean), adult *C. tenuis* carried by *A. palmata* fragments that fell onto live massive corals were able to colonize the new coral, subsequently killing live tissue of the newly invaded coral. Corals that recruited onto fallen *A. palmata* branches overgrown with adult *C. tenuis* were also invaded once the sponge reached their base. To determine if the incidence of this phenomenon has increased since 2002 when it was first documented, the mode and prevalence of colonization of corals by *C. tenuis* was again quantified in 2014 on the same reef. Although a trend is difficult to infer from two surveys, the number of coral colonies colonized by *C. tenuis* doubled by 2014, and new cases of colonization from sponge-carrying *A. palmata* branches were found. However, the frequency of colonization by adult sponges from *A. palmata* branches in 2014 was one-half to one-fifth lower than in 2002, demonstrating that other forms of colonization onto massive corals may be increasing, or that storms erase the evidence of adult colonization by translocating vector coral branches, as was observed in one monitored case of transmission. As time passes and the fragmentation and erosion of the reef increases, the evidence of colonization of stony corals by *C. tenuis* through *A. palmata* branches vanishes.

KEY WORDS: *Cliona tenuis*, *Acropora palmata*, coral colonization, bioerosion, storms.

DOI: 1025268/bimc.invemar.2020.49.1.776

Publicado por INVEMAR

Este es un manuscrito de acceso abierto bajo la licencia CC Reconocimiento-No Comercial-Compartir Igual

Published by INVEMAR

This is an open Access article under the CC BY-NC-SA

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la mortalidad coralina en los arrecifes del Caribe ha estado acompañada de un incremento en la abundancia de esponjas excavadoras incrustantes. Estas esponjas pueden matar el tejido coralino y, al mismo tiempo, debilitar el esqueleto de los corales (Rützler, 2002; López-Victoria y Zea, 2005; Ward-Paige *et al.*, 2005; Schönberg y Ortiz, 2008; Chaves-Fonnegra y Zea, 2011). *Cliona tenuis* (Zea y Weil, 2003) (Porifera, Demospongiae, Clionaida, Clionaidae) es una esponja excavadora incrustante zooxantelada de color café a café-negro, que presentó un crecimiento significativo de su población después de la mortalidad masiva del coral cuerno de alce, *Acropora palmata* (Lamarck, 1816), a principios de la década de 1980, en zonas coralinas de barlovento en el Caribe. La liberación de espacio resultante de la mortalidad de *A. palmata* produjo la ocupación oportunista de esta esponja, la cual continuó aumentando en abundancia desde ese entonces (Cortés *et al.*, 1984; Williams *et al.*, 1999; Aronson *et al.*, 2002; Rützler, 2002; López-Victoria y Zea, 2005). Las larvas de *C. tenuis* parecen asentarse preferiblemente en porciones muertas de corales, crecer lateralmente a través de filamentos de excavación pioneros que penetran el esqueleto debajo de los pólipos y después matar el tejido coralino afectado y bioerodar parcialmente el esqueleto del coral (López-Victoria y Zea, 2005). De esta manera, *C. tenuis* puede desplazar y reemplazar efectivamente la cobertura coralina viva (López-Victoria *et al.*, 2003, 2006; López-Victoria y Zea, 2005). Adicionalmente, los adultos de *C. tenuis* que colonizan ramas de *A. palmata* pueden invadir nuevo tejido vivo de corales masivos cuando las ramas sueltas caen sobre ellos durante fuerte oleaje, dispersando la esponja a lo largo del arrecife y provocando una mayor mortalidad coralina.

Cliona tenuis también puede invadir desde abajo y recubrir nuevas colonias de coral que se han establecido en las ramas de *A. palmata* colonizadas por la esponja (López-Victoria y Zea, 2004). Sin embargo, el auge de la población de *C. tenuis* parece haber alcanzado un punto de equilibrio en el 2000 y durante todo el 2010, ya que su habilidad de ocupar nuevo espacio a expensas de los corales está siendo compensada por el encogimiento del tejido de la esponja a causa del escape del coral por crecimiento ascendente (Marulanda-Gómez *et al.*, 2017) y por la competencia con macroalgas (González-Rivero *et al.*, 2016).

Cliona tenuis es capaz de sobrevivir a la fragmentación y los trasplantes pueden establecerse nuevamente y crecer en nuevo sustrato (López-Victoria *et al.*, 2003; López-Victoria

INTRODUCTION

Coral mortality over the last decades on Caribbean reefs was accompanied by an increase in the abundance of encrusting excavating sponges, which can directly kill coral tissue while simultaneously weakening coral skeletons (Rützler, 2002; López-Victoria and Zea, 2005; Ward-Paige *et al.*, 2005; Schönberg and Ortiz, 2008; Chaves-Fonnegra and Zea, 2011). *Cliona tenuis* (Zea and Weil, 2003) (Porifera, Demospongiae, Clionaida, Clionaidae) is a dark brown encrusting and excavating, zooxanthellae-bearing sponge, which experienced a significant population increase following the massive die-off of the elkhorn coral, *Acropora palmata* (Lamarck, 1816), that occurred in the early 1980s across the Caribbean on exposed windward reef zones. The release of space from *A. palmata* mortality led to the opportunistic occupation by this sponge, which increased in abundance thereafter (Cortés *et al.*, 1984; Williams *et al.*, 1999; Aronson *et al.*, 2002; Rützler, 2002; López-Victoria and Zea, 2005). Larvae of *C. tenuis* seem to preferentially settle on recently dead coral portions, grow laterally through pioneer excavating filaments that penetrate the skeleton underneath the polyps, and subsequently kill affected coral tissues and partly bioerode the coral skeleton (López-Victoria and Zea, 2005). Thus, *C. tenuis* can effectively displace and replace live coral cover (López-Victoria *et al.*, 2003, 2006; López-Victoria and Zea, 2005). In addition, adult *C. tenuis* colonizing *A. palmata* branches can invade new live massive corals when loose branches are smashed against them during heavy swell, dispersing the sponge throughout the reef and eliciting further coral mortality.

Cliona tenuis can also invade from below and overgrow new coral colonies that have established on the sponge-colonized *A. palmata* branches (López-Victoria and Zea, 2004). However, the population boom of *C. tenuis* seems to have reached a standstill by the 2000 and throughout the 2010, as its ability to occupy new space at the expense of corals is being compensated by sponge tissue shrinkage, coral escape by upward growth (Marulanda-Gómez *et al.*, 2017), and by macroalgal competition (González-Rivero *et al.*, 2016).

Cliona tenuis is able to survive fragmentation and transplants can reattach and grow in new substratum (López-Victoria *et al.*, 2003; López-Victoria and Zea, 2005). Strong surge from storms and hurricanes are progressively breaking dead fragments of *A. palmata* previously colonized by *C. tenuis* and thus likely increasing *C. tenuis* translocation throughout the reef (Marulanda-Gómez *et al.*, 2017). As the

y Zea, 2005). El fuerte oleaje producido por tormentas y huracanes rompe progresivamente fragmentos muertos de *A. palmata* previamente colonizados por *C. tenuis* y, por lo tanto, es probable que aumente la translocación de *C. tenuis* en todo el arrecife (Marulanda-Gómez *et al.*, 2017). Debido a que la frecuencia e intensidad de tormentas tropicales y huracanes se espera que aumenten con el cambio climático (Knutson y Tuleya, 2004), la hipótesis que surge es que el fenómeno de dispersión y colonización de nuevos corales masivos por la esponja, a través de fragmentos de coral, incrementará con el tiempo (López-Victoria y Zea, 2004). Con el fin de probar esta predicción, en el presente estudio comparamos la frecuencia de colonización de corales masivos por *C. tenuis* mediante la dispersión de ramas muertas de *A. palmata* y por otros medios (*i.e.*, desde abajo), entre 2002 y 2014, en el mismo sector del arrecife en las islas del Rosario, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

En un estudio realizado en 2002, López-Victoria y Zea (2004) determinaron la proporción de diferentes medios de colonización de *Cliona tenuis* en la parte norte de las islas del Rosario, en un sector al norte de la isla Majayura (ubicada en el complejo de islas de Pajarales). Con el fin de identificar cambios en el área de estudio durante los siguientes 12 años, en julio de 2014 repetimos el muestreo en el mismo sitio, utilizando la misma metodología. Un área de 560 m² del arrecife fue muestreada por medio de transectos de banda (20 x 4 m c/u) desplegados sucesivamente utilizando una cinta métrica extendida como guía. Se contaron los individuos de *C. tenuis* observados a menos de dos metros a cada lado de la cinta, utilizando una varilla de 1 m como referencia, y se registraron sus modos aparentes de colonización. Los mismos cuatro modos de colonización de la esponja definidos por López-Victoria y Zea (2004) fueron empleados: (D) contacto directo, cuando un fragmento de *A. palmata* portador de una esponja adulta estaba aún apoyada contra el coral y la esponja parecía haber colonizado y crecido desde el punto de contacto; (P) posible contacto previo, cuando un fragmento de *A. palmata* portador de esponja estaba cerca (generalmente en o cerca de la base), pero en el momento de la observación no tocaba el coral donde la esponja crecía; (U) desconocido, cuando no se observaba ningún fragmento de *A. palmata* portador de esponja cerca de la colonia de coral colonizada por la esponja; y (S) desde el sustrato, cuando una colonia de coral asentada sobre una rama muerta de *A. palmata* había sido colonizada por la extensión de una esponja adulta ya presente en la rama. Probablemente los casos de colonización (U)

frequency and intensity of tropical storms and hurricanes is expected to increase with climate change (Knutson and Tuleya, 2004), we hypothesized that this phenomenon of sponge dispersion and colonization of new massive corals via coral fragments will increase with time (López-Victoria and Zea, 2004). To test this prediction, we compared the frequency of massive coral colonization by *C. tenuis* through dispersion of dead branches of *A. palmata* and through other modes (*i.e.*, from below), between 2002 and 2014, in the same reef sector at Islas del Rosario, Colombia.

MATERIALS AND METHODS

In a previous study carried out in 2002, López-Victoria and Zea (2004) determined the proportion of different modes of colonization of *Cliona tenuis* in the northern sector of the coral reef of the Pajarales complex at Majayura Island, Islas del Rosario, Colombia. In order to detect changes at the study site over the ensuing 12-year period, in July 2014 we repeated the measurements at the same site following the same methodology. A 560 m² area of the reef was surveyed through successively deployed belt transects (20 x 4 m each) using an extended measure tape as a guide. Individuals of *C. tenuis* observed within two meters of each side of the tape were counted, using a 1 m rod as a reference, and their apparent modes of colonization were recorded. The same four modes of sponge colonization that were defined by López-Victoria and Zea (2004) were used: (D) direct contact, when an adult sponge-carrying *A. palmata* fragment was found still leaning against the coral, and the sponge had apparently colonized and spread from the contact point; (P) previous possible contact, when there was a sponge-carrying *A. palmata* fragment lying close (usually at or near the base), but not currently touching the coral on which the sponge was living; (U) unknown, when the sponge-colonized coral colony did not have any sponge-carrying *A. palmata* fragment lying close by; and (S) from the substratum, when a coral colony that had settled on an *A. palmata* dead branch had been reached and colonized by the spread of an adult sponge already present on the branch. Case (U) colonization was probably occurring from direct larval settlement, but there was no way to confirm it. Changes in the proportion of these four modes of colonization of *C. tenuis* from 2002 to 2014 were compared by a Pearson's Chi-squared test of independence, with the null hypothesis that the proportions of colonization modes were not different between years, using the R `chisq.test(frec)` routine (R Core Team, 2016). Cover of corals and other

ocurrieron debido a contacto directo durante el asentamiento de larvas, pero esto no fue posible de confirmar. Los cambios en la proporción de estos cuatro modos de colonización de *C. tenuis* de 2002 a 2014 se compararon mediante una prueba de independencia Chi-cuadrado de Pearson, con la hipótesis nula de que las proporciones de los modos de colonización no eran diferentes entre años, utilizando la rutina R `chisq.test (frec)` (R Core Team, 2016). La cobertura de corales y de los principales componentes bentónicos, los cuales habían sido estimados en 2001 (López-Victoria y Zea, 2005), se estimaron nuevamente en 2014. El porcentaje de cobertura de área se estimó a partir de las guías de la cinta métrica desplegadas para los transectos de banda (n=3 para 2001, y n=7 para 2014), utilizando la distancia lineal de la cinta que interceptó cada componente, y se calculó como porcentaje de longitud con relación a la longitud total de la cinta. La cobertura de cada componente bentónico fue comparada entre años por medio de la prueba Mann-Whitney U, utilizando la rutina `wilcox.test` (R Core Team, 2016).

Adicionalmente, el progreso de colonización de cuatro colonias de coral masivas colonizadas por *C. tenuis* marcadas entre 2001 y 2002 (López-Victoria *et al.*, 2003) y en 2004 (Márquez *et al.*, 2006; Márquez y Zea, 2012), fueron monitoreadas a partir de series fotográficas y observaciones en campo. Cuando estas colonias de coral fueron marcadas por primera vez, una rama de *A. palmata* portador de esponja estaba inclinada sobre estas. A partir de esta rama, *C. tenuis* inició la colonización del coral hospedero. Estas colonias de coral fueron utilizadas por López-Victoria y Zea (2004) para calcular una fecha aproximada de contacto, y para relacionar esto con la incidencia de tormentas y huracanes. En 2014, localizamos de nuevo estas colonias de coral para evaluar la capacidad de la esponja para sobrevivir en fragmentos de *A. palmata*, y de dispersarse en el coral masivo.

RESULTADOS

El número de colonias de coral vivas colonizadas por *Cliona tenuis* fue más del doble: de 202 en 2002 a 423 en 2014. En 2014, 5,7 % de las interacciones esponja-coral correspondieron a colonización del coral por medio de contacto directo (D) y 4,0 %, a posible contacto previo (P) (Figura 1). Las ramas de *A. palmata* muertas eran relativamente grandes (> 1 m en longitud) y estaban parcial o completamente cubiertas por *C. tenuis*. En 4,7 % de los casos, la esponja colonizó los corales a partir del sustrato (S) mientras que en 85,6 % de los casos, el modo de colonización de la esponja fue desconocido (U). En 2014

major benthic components, which had been estimated in 2001 (López-Victoria and Zea, 2005), were estimated again in 2014. Percent areal cover was estimated from the measure tape guides deployed for the band transects (n=3 for 2001 and n=7 for 2014), by using the linear distance of the tape that intercepted each component, and calculated as percent length relative to the total tape length. Cover of each benthic component was compared between years by Mann-Whitney U tests using the R `wilcox.test` routine (R Core Team, 2016).

The colonization progress of four *C. tenuis*-colonized massive coral colonies that were marked between 2001 and 2002 (López-Victoria *et al.*, 2003) and in 2004 (Márquez *et al.*, 2006; Márquez and Zea, 2012), was also monitored from photographic series and field observations. These coral colonies had, when first marked, a leaning branch of sponge-carrying *A. palmata* from which *C. tenuis* had begun the colonization of the coral host. These coral colonies had been used by López-Victoria and Zea (2004) to calculate an approximate date of contact, and to relate it with major hurricanes or storms. In 2014, we again localized these coral colonies to evaluate the ability of the sponge to survive in the *A. palmata* fragment, and to spread into the massive host coral.

RESULTS

The number of live coral colonies colonized by *Cliona tenuis* more than doubled from 202 in 2002 to 423 in 2014. In 2014, 5.7 % of the sponge-coral interactions accounted for colonization of the coral through direct contact (D), and 4.0 % consisted of previous possible contact (P) (Figure 1). The *A. palmata* dead branches were large (> 1 m in length), and partially or completely covered by *C. tenuis*. In 4.7 % of the cases, the sponges had colonized the corals from the substratum (S), while in 85.6 % of the cases the origin of the colonization by the sponges was unknown (U). In 2014 we observed 24 new sponge-coral interactions in which *C. tenuis* had colonized the massive corals from a sponge-colonized *A. palmata* branch. We assumed these were new interactions because: i) between 2001 and 2004 we meticulously searched for (and marked) all coral colonies affected by *C. tenuis* in the core of the study site where we found the new cases; and ii) the distance advanced by the sponge into the coral was short enough not to have occurred before 2001-2002. Overall, the proportion of the different modes of colonization changed significantly from 2002 to 2014 (Pearson's Chi-squared test of independence $\chi^2 = 87.016$, $df = 3$, $p < 2.2 \times 10^{-16}$). All modes of colonization

se observaron 24 nuevas interacciones de esponja-coral en las cuales *C. tenuis* colonizó corales masivos a partir de una rama de *A. palmata* portadora de la esponja. Se asume que estas fueron nuevas interacciones porque: i) entre 2001

from adult sponges showed a reduction from a half to almost a fifth in 2014 compared to 2002, while the unknown (U) cases almost doubled in 2014, although still being the more widespread case (Figure 1).

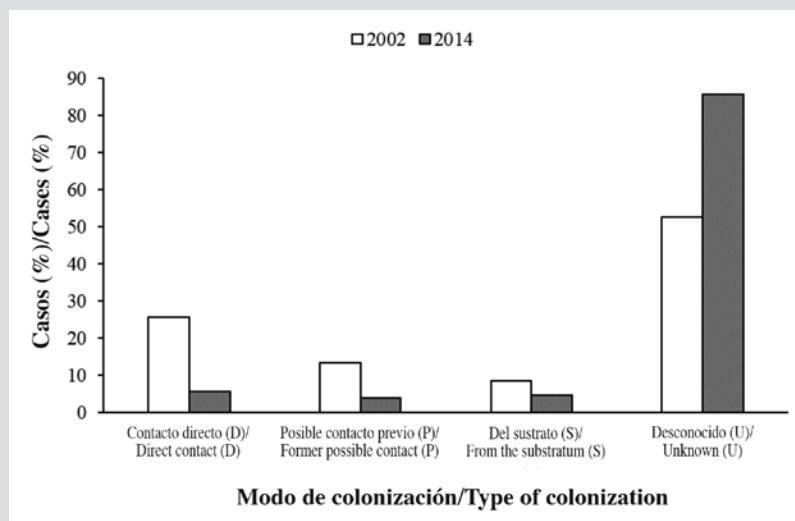


Figura 1. Porcentaje de individuos de *Cliona tenuis* que colonizaron colonias de coral a partir de los cuatro modos de colonización, definidos en el presente estudio, para 2002 y 2014. En ambos años, 560 m² fueron muestreados. Los transectos de banda fueron desplegados en el mismo sector del arrecife.

Figure 1. Percentage of *Cliona tenuis* individuals found colonizing coral colonies from the four modes of colonization defined in this work for 2002 and 2014. In both years, 560 m² were surveyed; band transects were deployed in the same sector of the reef.

y 2004 buscamos y marcamos meticulosamente todas las colonias de coral afectadas por *C. tenuis* en el área de estudio donde encontramos los nuevos casos; y ii) la distancia que la esponja avanzó en el coral fue lo suficientemente corta como para haber ocurrido antes de 2001-2002. En general, la proporción de los diferentes modos de colonización cambió significativamente de 2002 a 2014 (prueba de independencia Chi-cuadrado de Pearson, $X^2 = 87,016$, $df = 3$, $p < 2,2 \times 10^{-16}$). Todos los modos de colonización de esponjas adultas disminuyeron a la mitad o hasta una quinta parte en 2014 si se compara con 2002. Mientras tanto, los casos desconocidos (U) casi que se duplicaron en 2014. Este siguió siendo el modo de colonización más común (Figura 1).

En 2014, se encontraron diez especies de coral colonizadas por *C. tenuis* a través de contacto directo (D) o desde el sustrato (S). La mayoría de casos de colonización por contacto directo (D) ocurrió en especies masivas grandes como *Pseudodiploria strigosa* (Dana), *Orbicella annularis* (Ellis y Solander) y *Siderastrea siderea* (Ellis y Solander) (Tabla 1). Las especies de coral laminares, incrustantes, de montículo bajo, ramificadas o foliosas, como *Undaria agaricites* (Linnaeus), *Millepora alcicornis* (Linnaeus) y *Porites astreoides* (Lamarck) fueron colonizadas

In 2014, we found *C. tenuis* colonizing ten coral species through direct contact (D) or from the substratum (S). Most colonization through direct contact (D) occurred on large, massive-growing species like *Pseudodiploria strigosa* (Dana), *Orbicella annularis* (Ellis and Solander) and *Siderastrea siderea* (Ellis and Solander) (Table 1). Laminar, encrusting, low mound, branching or foliose coral species like *Undaria agaricites* (Linnaeus), *Millepora alcicornis* (Linnaeus), and *Porites astreoides* (Lamarck) were colonized mainly from the substratum (S). Colonization through direct contact (D) showed a reduction from 2002 to 2014 for most coral species. *P. astreoides* was not found to be colonized through direct contact (D) in 2014, but it continues to be the coral species more affected by the attack of *C. tenuis* from the substratum (S). Other differences between years include the colonization of *Colpophyllia natans* (Houttuyn) and the colonization from the substratum (S) in *Pseudodiploria* spp. and *Diploria labyrinthiformis* (Linnaeus), events that were not observed in 2002. The decrease of sponge colonization through direct contact is unlikely related to a reduction on coral cover between the studied years since no significant differences in mean percent cover of the major benthic components was observed (Mann–Whitney U-test, $P > 0.05$, Figure 2).

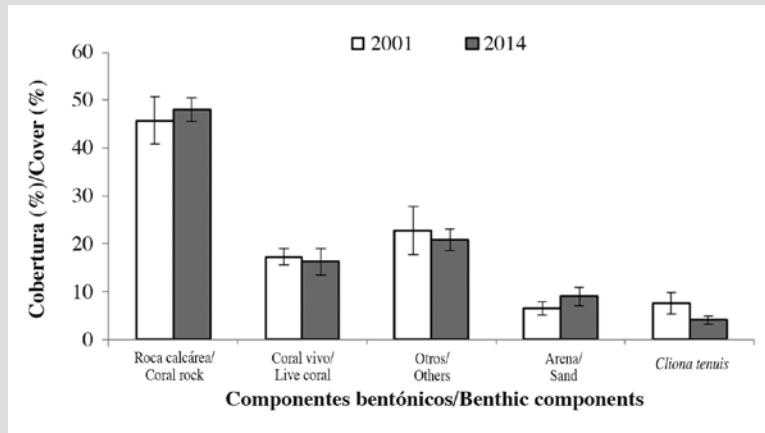


Figura 2. Porcentaje promedio de los principales componentes bentónicos y de *Cliona tenuis* en el área de estudio en 2001 y 2014. Roca coralina: coral muerto y pavimento; arena (que incluye escombros coralinos); otros: macroalgas y otros invertebrados. Datos de 2001 de López-Victoria y Zea (2005). Datos obtenidos de transectos lineales (20 m) desplegados en el mismo sector del arrecife, utilizando las guías de cintas métricas de los transectos de banda; 2001 n=3, 2014 n=7.

Figure 2. Mean percent cover of major benthic components and *Cliona tenuis* in the studied area in 2001 and 2014. Values are means (± 1 SE). cro: coral rock (dead coral and pavement); lco: live coral; snd: sand and rubble; other: macroalgae and other invertebrates; cten: *C. tenuis*. Data for 2001 from López-Victoria and Zea (2005). Data obtained from 20 m linear transects deployed in the same sector of the reef, using the guide measure tapes of the band transects; n=3 for 2001, n=7 for 2014.

Tabla 1. Número y porcentaje de colonias de coral colonizadas por *Cliona tenuis* por contacto directo (D) o desde el sustrato (S) para 2002 y 2014. Datos de 2002 de López-Victoria y Zea (2004).

Table 1. Number and percentage of coral colonies overgrowth by *Cliona tenuis* by direct contact (D) or from the substratum (S) for 2002 and 2014. Data of 2002 from López-Victoria and Zea (2004).

Especies de coral/ Coral species	2002				2014			
	Contacto directo (D)/ Direct contact (D)		Del sustrato (S)/From substratum (S)		Contacto Directo (D)/ Direct contact (D)		Del sustrato (S)/From substratum (S)	
	Conteo total/ Total count	% del total/ % of total	Conteo total/ Total count	% del total/ % of total	Conteo total/ Total count	% del total/ % of total	Conteo total/ Total count	% del total/ % of total
<i>Undaria agaricites</i>			2	11.8			2	10.0
<i>Acropora palmata</i> (viva/live)			1	5.9				
<i>Colpophyllia natans</i>	2	3.8						
<i>Pseudodiploria clivosa</i>	2	3.8			1	4.3	2	10.0
<i>Pseudodiploria strigosa</i>	12	23.1			6	26.1	2	10.0
<i>Diploria labyrinthiformis</i>	1	1.9			1	4.3	1	5.0
<i>Millepora alcicornis</i>			2	11.8			1	5.0
<i>Montastraea cavernosa</i>	1	1.9			1	4.3		
<i>Orbicella annularis</i>	7	13.5			6	26.1		
<i>Orbicella faveolata</i>	13	25.0			3	13.0		
<i>Porites astreoides</i>	1	1.9	10	58.8			11	55.0
<i>Siderastrea siderea</i>	13	25.0	2	11.8	5	21.7	1	5.0
Total	52	100	17	100	23	100	20	100

principalmente desde el sustrato (S). La colonización a partir de contacto directo (D) presentó una reducción de 2002 a 2014 para la mayoría de especies de coral. No se observó la colonización por contacto directo (D) en *P. astreoides* en 2014, pero siguió siendo la especie más afectada por el ataque de *C. tenuis* desde el sustrato (S). Otras diferencias a resaltar entre años son la colonización de *Colpophyllia natans* (Houttuyn) y la colonización desde el sustrato (S) de

The marked colonies in which *C. tenuis* colonization originated through direct contact (D) revealed both advance and retreat of the sponge over time. The photographs series showed that the sponge increased its surface area during the first four years, but in the forthcoming years, some of the sponges started to show tissue loss (Figure 3) while others continued growing and undermining the coral host until the colony died almost completely. There was a particular colony

Pseudodiploria spp. y *Diploria labyrinthiformis* (Linnaeus), eventos que no fueron observados en 2002. Es poco probable que la disminución en la colonización de la esponja por medio del contacto directo (D) esté relacionada con una reducción en la cobertura coralina entre los años muestreados, ya que no hubo diferencias significativas en el porcentaje promedio de la cobertura de los principales componentes bentónicos (Mann-Whitney U, $p > 0,05$, Figura 2).

Las colonias marcadas donde la colonización de *C. tenuis* ocurrió por contacto directo (D) revelaron que la esponja avanza y se contrae a lo largo del tiempo. Las series

de *P. strigosa* (colony ID 1913, Figure 3) that in 2002 had a large (> 1 m in length) branch of *A. palmata* leaning against it, from which the sponge had colonized the coral, but the coral had partly escaped by upward dome-like growth. In 2014, the *A. palmata* branch was found detached from the massive coral and *C. tenuis* had completely overtaken the space previously shadowed by the *A. palmata* fragment. This case confirmed the sequence of the process of translocation of a sponge-carrying *A. palmata* branch, colonization and spread of *C. tenuis* over a massive coral colony, coral partial escape, and detachment of the sponge-carrying branch (Figure 3).

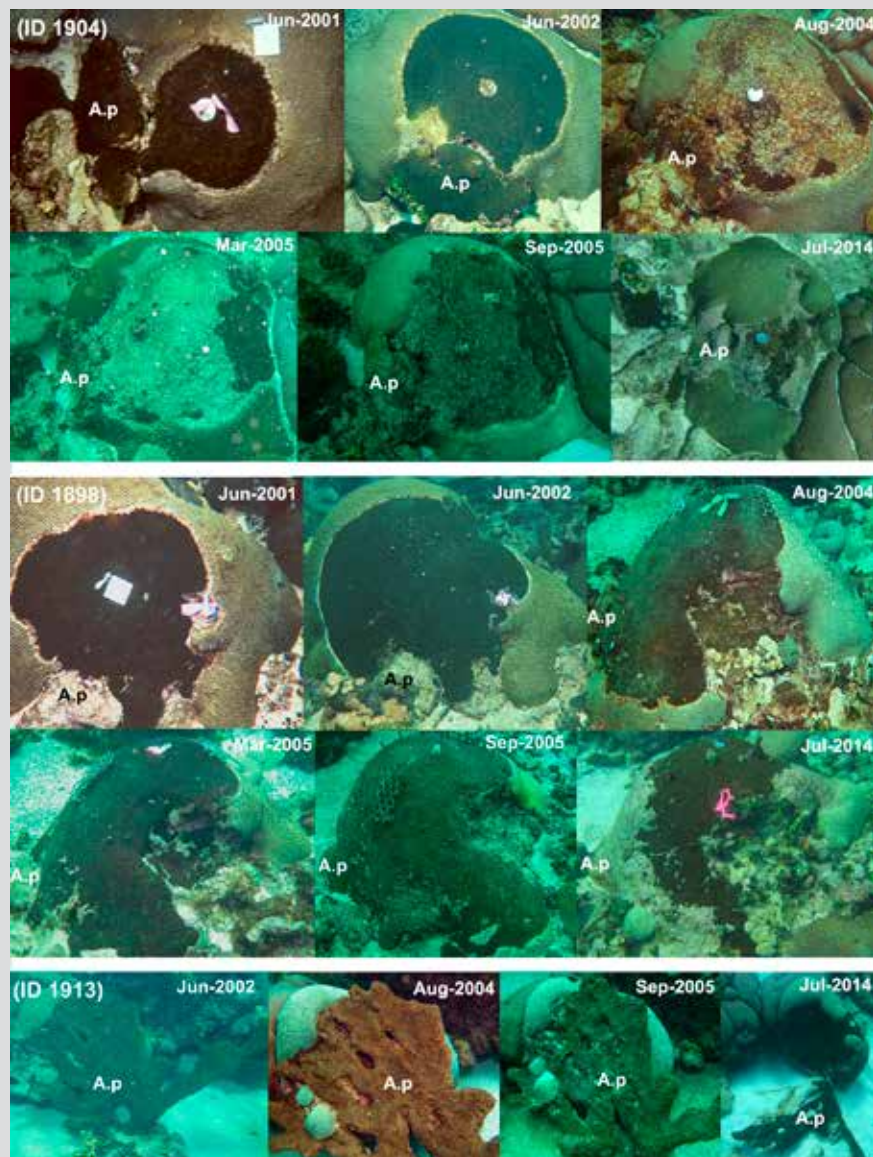


Figura 3. *Cliona tenuis* incrustando y socavando a *Pseudodiploria strigosa*. Fotografía de los individuos de esponja ID 1898, 1904 y 1913 al momento de su marcaje (junio de 2001 o julio de 2002) y en varios intervalos de tiempo, hasta julio de 2014. A.p: fragmento original de *Acropora palmata* acarreado a *C. tenuis*.

Figure 3. *Cliona tenuis* encrusting and undermining *Pseudodiploria strigosa*. Underwater photographs of sponge individuals ID 1898, 1904 and 1913 at marking (June 2001 or July 2002), and at various times until July 2014. A.p: original *C. tenuis*-carrying *Acropora palmata* fragment.

fotográficas mostraron que las esponjas incrementaron su área de superficie durante los primeros cuatro años, pero en los siguientes la pérdida de tejido fue evidente en algunos individuos (Figura 3). Por su parte, otras esponjas siguieron creciendo y socavando el coral huésped hasta ocasionar la muerte completa de la colonia. Un caso particular fue el de una colonia de *P. strigosa* (colonia ID 1913, Figura 3) que en 2002 presentaba una rama grande (> 1 m en longitud) de *A. palmata* encima, desde la cual la esponja colonizó el coral. Aun así, el coral logró escapar parcialmente a la colonización de la esponja por el crecimiento ascendente en forma de domo. En 2014, la rama de *A. palmata* se desprendió del coral masivo y *C. tenuis* colonizó por completo el espacio previamente sombreado por el fragmento de *A. palmata*. Este caso confirma el proceso de translocación a partir de una rama de *A. palmata* portadora de la esponja, la colonización y dispersión de *C. tenuis* en una colonia de coral masiva, el escape parcial del coral y el desprendimiento de la rama portadora de esponja (Figura 3).

DISCUSIÓN

La predicción en el incremento de la dispersión de adultos de *C. tenuis* por medio de fragmentos de *A. palmata* portadores de esponja no fue respaldada por nuestros datos. Por el contrario, los casos de colonización por este método durante los doce años de duración de nuestro estudio (*i.e.*, 2002 a 2014) disminuyeron de la mitad a un tercio. Sin embargo, el método de dispersión y colonización a través de estos fragmentos aún está ocurriendo en el arrecife coralino muestreado. Las observaciones de nuevos corales colonizados por la translocación de ramas de *A. palmata* proporciona evidencia de este fenómeno. El monitoreo de casos de contacto directo (D) previamente marcados confirma cómo opera el proceso de colonización por medio de la translocación de ramas de coral, desde la translocación de la rama hasta la colonización y avance de la esponja, el eventual escape (o muerte) del coral y el posible desprendimiento de la rama.

El oleaje normal del sitio de estudio expuesto al viento no es lo suficientemente fuerte por sí solo como para mover las ramas de *A. palmata*. Por tanto, es más probable que la translocación de fragmentos de *A. palmata* portadores de esponja esté mediada por fuerte oleaje. De hecho, el tiempo inicial de colonización de *C. tenuis* en corales masivos, rastreado en 2002 a partir de las tasas de crecimiento de la esponja, coincide aproximadamente con oleaje de huracanes registrados cerca del arrecife coralino muestreado (López-

DISCUSSION

Our predicted increase of adult *C. tenuis* dispersion via sponge-carrying *A. palmata* fragments was not supported by the data. Instead, the cases of colonization by this method during the intervening 12 years of our study (*i.e.*, 2002 to 2014) decreased by one-half to one-third. However, the method of dispersion and colonization through these fragments is still occurring in the surveyed coral reef. Observations of newly colonized corals through translocation of *A. palmata* branches provides evidence for this phenomenon. Monitoring of previously marked cases of direct contact (D) confirmed how the process of colonization through translocated coral branches operates, from branch translocation, to sponge colonization and advance, to eventual coral escape (or death), and possible branch detachment.

The normal surge of the wind-exposed study site is by itself not strong enough to move the *A. palmata* branches. Thus, the translocation of sponge-carrying *A. palmata* fragments is likely mediated by heavy surge. In fact, initial time of *C. tenuis* colonization on massive corals, traced back in 2002 from sponge growth rates, showed to coincide approximately with hurricane swell reaching the surveyed coral reef (López-Victoria and Zea, 2004). With our finding of new cases in 2014, we confirm the idea that this mode of coral colonization by *C. tenuis* in Caribbean reefs through heavy surge is still occurring. The observed decrease for this mode of colonization from 2002 to 2014 is, however, contradictory, unless the same persistent process of branch translocation is taken into account.

Indeed, we showed that heavy surge can also remove a branch leaning on an invaded coral head, erasing the evidence of previous direct contact and invasion. In fact, four hurricanes and three tropical storms passed close to the studied area from 2002 to 2014 (Table 2) providing a scenario for both further colonization and erasure of evidence to take place. The concomitant absolute and relative increase from 2002 to 2014 of cases with unknown mode of colonization (*i.e.*, part of which may have had the evidence of direct contact erased) further supports this hypothesis.

Tabla 2. Huracanes y tormentas tropicales en el área de estudio entre 2002 y 2014. Huracán: viento sostenido máximo 64 kt (33 ms^{-1}) o más. Huracán mayor: viento sostenido máximo 96 kt (50 ms^{-1}) o más. Tormenta tropical: viento sostenido máximo 34-63 kt ($17\text{-}32 \text{ ms}^{-1}$). Fechas basadas en el horario UTC. Incluyen la etapa de depresión tropical. Fuente: División de Investigación de Huracanes de AOML/NOAA (<https://www.aoml.noaa.gov/hrd/>).

Table 2. Hurricanes and tropical storms that affected the study area between 2002 and 2014. Tropical storm: maximum sustained winds 34–63 kt ($17\text{--}32 \text{ ms}^{-1}$). Hurricane: maximum sustained winds 64 kt (33 ms^{-1}) or higher. Major hurricane: maximum sustained winds 96 kt (50 ms^{-1}) or higher. Dates based on UTC time and include tropical depression stage. Source: Hurricane Research Division of AOML/NOAA (<https://www.aoml.noaa.gov/hrd/>).

Year/Año	Closest hurricane/Huracán más cercano	Dates/Fechas	Class/Clase
2002	-		
2003	Odette	4-7 dic.	Tropical storm/Tormenta tropical
2004	Earl	13-15 ago.	Tropical storm/Tormenta tropical
2005	Emily	11-21 jul.	Hurricane/Huracán
2006	-		
2007	Felix	31 ago.-5 sep.	Major hurricane/Huracán mayor
2010	Matthew	23-28 sep.	Tropical storm/Tormenta tropical
2010	Thomas	29 oct.-14 nov.	Hurricane/Huracán
2011	-		
2012	Sandy	22 oct.-2 nov.	Hurricane/Huracán

Victoria y Zea, 2004). Con las observaciones de nuevos casos en 2014, confirmamos la idea de que este modo de colonización de corales por *C. tenuis*, mediado por fuerte oleaje, sigue ocurriendo en los arrecifes del Caribe. La disminución de este modo de colonización de 2002 a 2014 es, sin embargo, contradictoria, a menos que se tenga en cuenta el mismo proceso persistente de translocación de ramas.

En efecto, en el presente estudio mostramos que el fuerte oleaje también es capaz de desprender ramas apoyadas en colonias de coral colonizadas por la esponja, lo cual borra la evidencia de contacto directo e invasión previa. Cuatro huracanes y tres tormentas tropicales pasaron cerca del área de estudio entre 2002 y 2014 (Tabla 2), lo cual indica que la colonización por parte de la esponja está ocurriendo a la vez que la evidencia se desvanece. El aumento absoluto y relativo de 2002 a 2014 de casos con un modo desconocido (U) de colonización (*i.e.*, de los cuales se pueden haber borrado la evidencia de contacto directo) respalda aún más esta hipótesis.

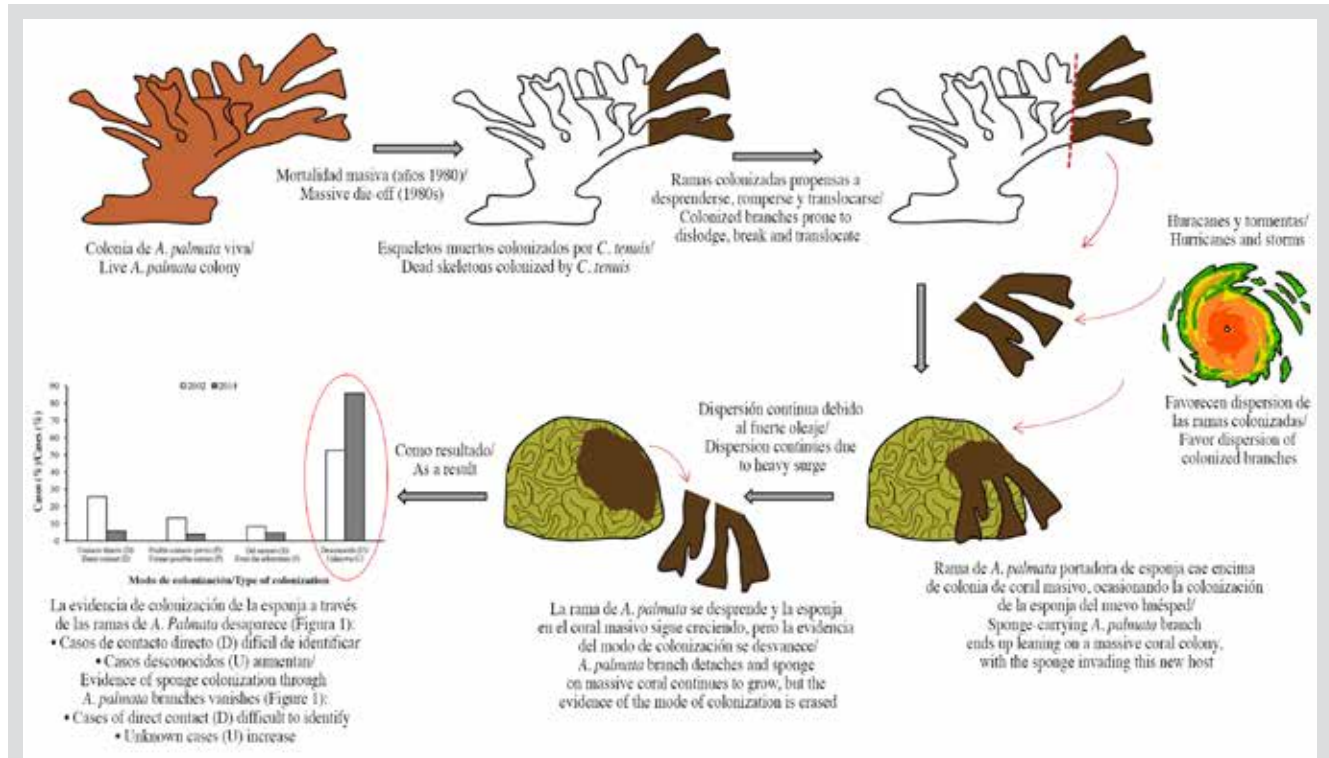
A pesar de que la cobertura y la densidad de *C. tenuis* en el área de estudio no cambió significativamente durante los doce años, cambios en la dinámica de la esponja son evidentes a partir de un aumento en el número de esponjas más pequeñas (Marulanda-Gómez *et al.*, 2017) y de nuevos casos de colonización. Aunque la abundancia de la población de *C. tenuis* parece estar en estasis, el incremento en la colonización y la mortalidad coralina por parte de la esponja representa un problema a largo plazo para la recuperación de los arrecifes.

Even though cover and density of *C. tenuis* in the studied site has not significantly changed during these 12 years (Figure 2), changes in the dynamics of *C. tenuis* are evident from an increase in the number of smaller sponges (Marulanda-Gómez *et al.*, 2017), and of new colonization cases. Despite the apparent stasis in *C. tenuis* population abundance, its increased coral colonization and mortality represents a long-term problem for reef recovery.

Our results showed that colonization from the substratum (S) increased for massive corals (*P. strigosa*, *P. clivosa* [Ellis and Solander, 1786], and *D. labyrinthiformis*). This likely occurs because these more slowly recruiting and growing species have had time to colonize dead branches of *A. palmata* during the 12 years lapse; the faster recruiting species like *U. agaricites*, *M. alcornis*, and *P. astreoides* were the more frequent colonizers in 2002. All these colonies settling onto dead *A. palmata* are thus more vulnerable to be physically detached. Excavating sponges attack the exposed coral skeleton around its base, which cause the colony to dislodge, frequently dying buried by sediments (Goreau and Hartann, 1963). Carballo *et al.* (2008) found that around 41 % of live coral heads affected by boring sponges were completely detached. Overall, bioeroders, like clionoids, can reduce recruitment success and erode coral reef substrata, causing the breakdown of the reef framework and preventing reef recovery (Glynn and Colgan, 1992; Rützler, 2002), a process which is currently happening at Islas del Rosario.

Los resultados del presente trabajo muestran que la colonización desde el sustrato (S) aumentó para corales masivos (*P. strigosa*, *P. clavosa* [Ellis y Solander, 1786] y *D. labyrinthiformis*). Esto probablemente ocurre porque estas especies de reclutamiento y crecimiento más lento han tenido tiempo de colonizar ramas muertas de *A. palmata* durante el lapso de doce años. Las especies de reclutamiento

In conclusion, *C. tenuis*-carrying *A. palmata* branches persist as vectors that disperse and translocate this sponge during heavy surge, causing further coral death. As time passes and the fragmentation and erosion of the reef increases, the evidence of the colonization of stony corals by *C. tenuis* through *A. palmata* branches vanishes, making it hard to detect previous cases by direct contact (Figure 4).



más rápido como *U. agaricites*, *M. alcicornis* y *P. astreoides* fueron más frecuentemente colonizadas en 2002. Todas estas colonias establecidas en ramas de *A. palmata* muertas son, por lo tanto, más vulnerables al desprendimiento físico. Las esponjas excavadoras atacan el esqueleto expuesto en la base del coral y esto provoca el desprendimiento de la colonia, la cual muere frecuentemente al ser enterrada en los sedimentos (Goreau y Hartmann, 1963). Carballo *et al.* (2008) observaron que alrededor de 41 % de colonias de coral vivas afectadas por esponjas excavadoras fueron desprendidas del sustrato donde crecían. En general, organismos bioerosionadores, como las clionas, pueden reducir el éxito de reclutamiento y erosionar los sustratos de los arrecifes de coral, lo que provoca la ruptura del marco arrecifal y evita la recuperación de los arrecifes

ACKNOWLEDGEMENTS

The field work was funded by Pontificia Universidad Javeriana de Cali and conducted under research permit Resolution 054 of 03/03/2014 from the Colombian Ministry of the Environment and Sustainable Development, and with permission from the Colombian Authority of National Natural Parks. We thank A. Chaves-Fonnegra and L. Castro for their help with the field work. J. Rojas and R. Vieira (CEINER Oceanarium) offered us hospitality and logistical support at Islas del Rosario. The authorities of the Corales del Rosario and San Bernardo National Natural Park provided logistic support. S. Zea's work is contribution N° 494 of Instituto de Estudios en Ciencias del Mar (CECIMAR), Universidad Nacional de Colombia, sede Caribe.



(Glynn y Colgan, 1992; Rützler, 2002), un proceso que está ocurriendo actualmente en las islas del Rosario.

En conclusión, las ramas de *A. palmata* portadoras de *C. tenuis* persisten como vectores que dispersan y translocan esta esponja durante fuerte oleaje y causan aún más muerte coralina. A medida que el tiempo pasa y la fragmentación y la erosión del arrecife aumenta, la evidencia de colonización de corales pétreos por *C. tenuis* a partir de ramas de *A. palmata* se desvanece. Ello hace difícil detectar casos previos de contacto directo (Figura 4).

AGRADECIMIENTOS

El trabajo de campo fue financiado por la Pontificia Universidad Javeriana de Cali y llevado a cabo bajo la Resolución 054 del 3 de marzo de 2014 del Ministerio de Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible y con permiso de la Autoridad Colombiana de Parques Naturales Nacionales. Agradecemos a A. Chaves-Fonnegra y L. Castro por su ayuda en campo. J. Rojas and R. Vieira (Ceiner, Oceanario) nos ofrecieron hospitalidad y apoyo logístico en las islas del Rosario. Las autoridades del Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo proporcionaron apoyo logístico. El trabajo de S. Zea corresponde a la contribución n.º 494 del Instituto de Estudios en Ciencias del Mar (Cecimar), de la Universidad Nacional de Colombia, sede Caribe.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Aronson, R.B., W. Precht, M. Toscano and K.H. Koltes. 2002. The 1998 bleaching event and its aftermath on a coral reef in Belize. *Mar. Biol.*, 141(3): 435-447.
- Blake, E.S., T.B. Kimberlain, R.J. Berg, J.P. Cangialosi and J.L. Beven II. 2013. Tropical cyclone report: Hurricane Sandy. NHC, 12: 1-10.
- Carballo, J.L., E. Bautista-Guerrero and G.E. Leyte-Morales. 2008. Boring sponges and the modeling of coral reefs in the east Pacific Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 356: 113-122.
- Chaves-Fonnegra, A. and S. Zea. 2011. Coral colonization by the encrusting excavating Caribbean sponge *Cliona delitrix*. *Mar. Ecol.*, 32(2): 62-173.
- Cortés, J., M.M. Murillo, H.M. Guzmán y J. Acuña. 1984. Pérdida de zooxantelas y muerte de corales y otros organismos arrecifales en el Caribe y Pacífico de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 32(2): 227-231.
- Glynn, P.W. and M.W. Colgan. 1992. Sporadic disturbances in fluctuating coral reef environments: El Niño and coral reef development in the eastern Pacific. *Am. Zool.*, 32: 707-718.
- González-Rivero, M., Y.M. Bozec, I. Chollett, R. Ferrari, C.H.L. Schönberg and P.J. Mumby. 2016. Asymmetric competition prevents the outbreak of an opportunistic species after coral reef degradation. *Oecologia*, 181(1): 161-173.
- Goreau, T.F. and W.D. Hartmann. 1963. Boring sponges as controlling factors in the formation and maintenance of coral reefs: In: Soggnæes, R.F. (Ed.), *Mechanisms of hard tissue destruction*. Publ. Am. Assoc. Adv. Sci., 75: 25-54.
- Knutson, T.R. and R.E. Tuleya. 2004. Impact of CO₂-induced warming on simulated hurricane intensity and precipitation: Sensitivity to the choice of climate model and convective parameterization. *J. Clim.*, 17(18): 3477-3495.
- Lirman, D. 2000. Fragmentation in the branching coral *Acropora palmata* (Lamarck): Growth, survivorship, and reproduction of colonies and fragments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 251: 41-57.

- López-Victoria, M. and S. Zea. 2004. Storm-mediated coral colonization by an excavating Caribbean sponge. *Clim. Res.*, 26(3): 251-256.
- López-Victoria, M. and S. Zea. 2005. Current trends of space occupation by encrusting excavating sponges on Colombian coral reefs. *Mar. Ecol.*, 26(1): 33-41.
- López-Victoria, M., S. Zea and E. Weil. 2003. New aspects on the biology of the encrusting excavating sponges *Cliona aprica*, *Cliona caribbaea* and *Cliona* sp. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, 68: 425-432.
- López-Victoria, M., S. Zea and E. Weil. 2006. Competition for space between encrusting excavating Caribbean sponges and other coral reef organisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 312: 113-121.
- Márquez, J.C. and S. Zea. 2012. Parrotfish mediation in coral mortality and bioerosion by the encrusting, excavating sponge *Cliona tenuis*. *Mar. Ecol.*, 33(4): 417-426.
- Márquez, J.C., S. Zea and M. López-Victoria. 2006. Is competition for space between the encrusting excavating sponge *Cliona tenuis* and corals influenced by higher-than-normal temperatures? *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 35(1): 259-265.
- Marulanda-Gómez, A., M. López-Victoria and S. Zea. 2017. Coral take over by the encrusting excavating Caribbean sponge *Cliona tenuis* has reached a standstill at Islas del Rosario Archipelago (Colombia). *Mar. Ecol.*, 38(1): e12379.
- R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: www.r-project.org.
- Rogers, C.S., T.H. Suchanek and F.A. Pecora. 1982. Effects of Hurricanes David and Frederic (1979) on shallow *Acropora palmata* reef communities: St. Croix, US Virgin Islands. *Bull. Mar. Sci.*, 32: 532-548.
- Royero, J.C.O. 2012. Exposure of the Colombian Caribbean coast, including San Andrés Island, to tropical storms and hurricanes, 1900-2010. *Nat. Hazards.*, 61(2): 815-827.
- Rützler, K. 2002. Impact of crustose clionid sponges on Caribbean reef corals. *Acta Geol. Hisp.*, 37(1): 61-72.
- Schönberg, C.H.L. and J.C. Ortiz. 2008. Is sponge bioerosion increasing? In: *Proc. 11th Int. Coral Reef Symp.*, 7-11.
- Tunncliffe, V. 1979. The role of boring sponges in coral fracture. In: Lévi, C. and N. Boury-Esnault (Eds.). *Biologie des spongiaires*. Coll. Int. CNRS, 291: 309-315.
- Ward-Paige, C.A., M.J. Risk, O.A. Sherwood and W.C. Jaap. 2005. Clionid sponge surveys on the Florida Reef Tract suggest land-based nutrient inputs. *Mar. Poll. Bull.*, 51(5): 570-579.
- Williams, E.H., P. Bartels and L. Bunkley-Williams. 1999. Predicted disappearance of coral-reef ramparts: a direct result of major ecological disturbances. *Glob. Change Biol.*, 5(8): 839-845.
- Zea, S. and E. Weil. 2003. Taxonomy of the Caribbean excavating sponge species complex *Cliona caribbaea* - *C. aprica* - *C. langae* (Porifera, Hadromerida, Clionaidae). *Caribb. J. Sci.*, 39(3): 348-370.

RECIBIDO/RECEIVED: 11/04/2019

ACEPTADO/ACCEPTED: 27/04/2020



Variación estacional de la comunidad de copépodos en el sector oriental del golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela

Seasonal variation of the community of copepods in the eastern sector of the Gulf of Cariaco, Sucre state, Venezuela

Brightdoom Márquez-Rojas^{1*}, Luis Tróccoli^{2,3} y Evelyn Zoppi de Roa⁴

0000-0002-2703-8696

0000-0001-8684-6741

1. Lab. Zooplancton. Dpto. Biología Marina. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Sucre, Venezuela. bmarquez2001@gmail.com *Autora para correspondencia.
2. Instituto de Investigaciones Científicas, Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Oriente, Núcleo Nueva Esparta, Cumaná, Sucre, Venezuela. luis.troccoli@gmail.com
3. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador.
4. Lab. Plankton. Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas. evelyn.zoppi@gmail.com

RESUMEN

Los copépodos son el grupo más numeroso del zooplancton en los sistemas costeros tropicales; ellos se ven afectados principalmente por los gradientes de salinidad, como ocurre en el sector oriental del golfo de Cariaco. El propósito de este estudio fue estudiar las variaciones temporales y espaciales de la estructura de la comunidad de copépodos durante junio, julio, agosto y septiembre de 2009 (época de lluvia) y octubre, noviembre y diciembre de 2009 y enero de 2010 (época de sequía). Las muestras se recolectaron con una red estándar de zooplancton de 60 cm de diámetro con una malla de 330 μm a nivel superficial. La temperatura, salinidad y oxígeno disuelto se tomaron *in situ* con una sonda multiparamétrica (YSI). La salinidad presentó una marcada variabilidad mensual, con valores entre $32,5 \pm 1,56$ y $38,5 \pm 0,25$ UPS en las épocas de lluvia y sequía, respectivamente. Se identificó un total de 45 taxones de copépodos y *Acartia tonsa* fue la especie más representativa durante todo el estudio, seguido por *Temora turbinata*, *Paracalanus quasimodo*, *Subeucalanus subcrassus* y *S. subtenuis*. El presente estudio no mostró un claro patrón estacional en la abundancia, diversidad y la uniformidad de la comunidad de copépodos y los valores de salinidad; por lo tanto, puede considerarse espacialmente uniforme y estacionalmente homogéneo en relación a estos parámetros.

PALABRAS CLAVE: cambios estacionales, copépodos, golfo de Cariaco, sureste Caribe.

ABSTRACT

Copepods are the most numerous group of zooplankton in tropical coastal systems; they are mainly affected by salinity gradients, as occurs in the eastern sector of the Gulf of Cariaco. This study purposed to study the temporal and spatial variations in the structure of the copepod community during June, July, August, and September 2009 (rainy season) and October, November, and December 2009 and January 2010 (dry season). Samples were collected with a standard 60 cm diameter zooplankton net with a 330 μm mesh at the surface level. Temperature, salinity, and dissolved oxygen were taken *in situ* with a multi-parameter probe (YSI). Salinity presented a marked monthly variability, with values between 32.5 ± 1.56 and 38.5 ± 0.25 UPS in the rainy and dry seasons, respectively. A total of 45 copepod taxa were identified and *Acartia tonsa* was the most representative species throughout the study, followed by *Temora turbinata*, *Paracalanus quasimodo*, *Subeucalanus subcrassus* and *S. subtenuis*. The present study did not show a clear seasonal pattern in the abundance, diversity, and uniformity of the copepod community and the salinity values; therefore, it can be considered spatially uniform and seasonally homogeneous concerning these parameters.

KEYWORDS: seasonal changes, copepods, gulf of Cariaco, south-eastern Caribbean.

DOI: 1025268/bimc.invemar.2020.49.1.777

Publicado por INVEMAR

Este es un manuscrito de acceso abierto bajo la licencia CC Reconocimiento-No Comercial-Compartir Igual

Published by INVEMAR

This is an open Access article under the CC BY-NC-SA

INTRODUCCIÓN

Dentro del zooplancton, los copépodos pertenecientes a los crustáceos constituyen el grupo predominante. Entre ellos, los pelágicos son los más abundantes en los océanos, debido a tres razones: i) cuerpo en forma de torpedo, antenas sensoriales y el fuerte engranaje del motor muscular para la detección y escape de depredadores, ii) la capacidad de detectar presas de forma remota y capturarlas cuando llegan en una corriente de exploración, o cuando nadan a través de la esfera perceptiva del copépodo y iii) a la búsqueda eficiente de pareja en un ambiente diluido, permitiendo la reproducción sexual con apareamiento real en cada generación, poco común en el plancton; esto brinda ventajas en términos de eliminación de mutaciones malas y promoción de “genes buenos” a través de la selección sexual (Kiørboe, 2011). Debido a esto, los copépodos representan entre 60 y 90 % de la biomasa en ambientes costeros (Bradford-Grieve *et al.*, 1999; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016; Neumann-Leitão *et al.*, 2018).

El zooplancton presenta variaciones detectables, producto de cambios cíclicos en los factores ambientales (Mclusky y Elliot, 2004; López-Peralta y Mojica-López, 2015; Rose *et al.*, 2019); por consiguiente, los patrones de variabilidad en composición, abundancia y distribución de los copépodos planctónicos, se establecen en función de su acoplamiento con los procesos físicos (*i.e.*: gradientes de salinidad, temperatura, concentración de nutrientes y patrones internos de circulación) a distintas escalas (Marques *et al.*, 2006; Escamilla *et al.*, 2011; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016).

Por otra parte, Magalhães *et al.* (2009, 2015) y Neumann-Leitão *et al.* (2018) mencionan que la variabilidad estacional y espacial observada en la ocurrencia y distribución de los copépodos planctónicos en sistemas estuarino-costeros tropicales está directamente relacionada con factores abióticos (*i.e.*: salinidad, turbidez y temperatura) y factores bióticos (*i.e.*: competencia, depredación, hábitos, disponibilidad y calidad del alimento) o una combinación de ambos. En consecuencia, no se pueden considerar como un conjunto homogéneo de organismos, ya que su distribución no solo cambiará en el espacio y el tiempo, debido a la influencia de factores fisico-químicos, sino también por procesos biológicos (Seda y Devetter, 2000; Beisner, 2001; Vukanic *et al.*, 2018).

En las zonas costeras o estuarinas, los valores de biomasa y diversidad (9 a 50 mg m⁻³ y 8-10 especies, respectivamente) de los copépodos, son relativamente bajos cuando se comparan con las zonas oceánicas. Estas diferencias se atribuyen a las peculiares condiciones fisiográficas

INTRODUCTION

Within zooplankton, copepods belonging to crustaceans constitute the predominant group. Among them, pelagics are the most abundant in the oceans, due to three reasons: i) torpedo-shaped body, sensory antennas and the strong gear of the muscular motor for the detection and escape of predators, ii) the ability to detect prey remotely and capture them when they arrive in a current of exploration, or when they swim through the copepod's perceptual sphere and iii) to the efficient search for a partner in a diluted environment, allowing sexual reproduction with real mating in each generation, little common in plankton; This provides advantages in terms of eliminating bad mutations and promoting “good genes” through sexual selection (Kiørboe, 2011). Due to this, copepods represent between 60 and 90 % of the biomass in coastal environments (Bradford-Grieve *et al.*, 1999; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016; Neumann-Leitão *et al.*, 2018).

Zooplankton presents detectable variations, a product of cyclical changes in environmental factors (Mclusky and Elliot, 2004; López-Peralta and Mojica-López, 2015; Rose *et al.*, 2019); therefore, the patterns of variability in composition, abundance, and distribution of planktonic copepods are established based on their coupling with physical processes (*i.e.*: gradients of salinity, temperature, concentration of nutrients, and internal circulation patterns) at different scales (Marques *et al.*, 2006; Escamilla *et al.*, 2011; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016).

On the other hand, Magalhães *et al.* (2009, 2015) and Neumann-Leitão *et al.* (2018) mention that the seasonal and spatial variability observed in the occurrence and distribution of planktonic copepods in tropical coastal-estuarine systems is directly related to abiotic factors (*i.e.*: salinity, turbidity, and temperature) and biotic factors (*i.e.*: competition, predation, habits, availability, and quality of food) or a combination of both. Consequently, they cannot be considered as a homogeneous set of organisms, since their distribution will change not only in space and time, due to the influence of physical-chemical factors, but also due to biological processes (Seda and Devetter, 2000; Beisner, 2001; Vukanic *et al.*, 2018).

In the coastal or estuarine zones, the biomass and diversity values (9 to 50 mg m⁻³ and 8-10 species, respectively) of the copepods, are relatively low when compared to the oceanic zones. These differences are attributed to the peculiar physiographic conditions of these areas, which favor a small

de dichas zonas, que favorecen a un reducido grupo de especies de copépodos (Vásquez-Yeomans *et al.*, 2012; Rice *et al.*, 2015; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016). En ese sentido, los gradientes de salinidad resultantes de las interacciones entre la influencia marina y la escorrentía de agua dulce, a menudo representan el parámetro principal para definir los patrones de distribución local y de sucesión de especies (Escamilla *et al.*, 2011; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016). El sector oriental del golfo de Cariaco tiene una marcada influencia de agua dulce, debido a los ríos Carinicuao y Cariaco, los cuales mantienen una comunicación con el golfo durante algunos meses del año, originando una zona estuarina (Caraballo, 1982). Por otra parte, los procesos de convección y afloramiento en el golfo de Cariaco tienden a desarrollar fenómenos de renovación de aguas superficiales cálidas por aguas profundas más frías y ricas en nutrientes que estimulan el desarrollo del fitoplancton y del zooplancton (Bonilla *et al.*, 1985). Por lo tanto, el estudio de los patrones de variabilidad de los copépodos en el zooplancton estuarino podría revelar información importante de la dinámica de la comunidad local, con implicaciones a otros sistemas estuarino-costeros tropicales. En ese sentido, el monitoreo de la comunidad de copépodos permite detectar y dar seguimiento a niveles de perturbación y deterioro ecológico (Branco *et al.*, 2007; Escamilla *et al.*, 2011).

Es importante mencionar, que debido a todo lo antes expuesto en el golfo de Cariaco los copépodos han sido ampliamente estudiados habiéndose identificado un número importante de especies. De las 723 especies señaladas para la zona de Venezuela, en dicho golfo se han registrado 136 (Legaré, 1961; Zoppi, 1961; Infante y Urosa, 1986; Márquez-Rojas *et al.*, 2006, 2011, 2014a, 2014b; Razouls *et al.*, 2005-2019). Sin embargo, en el sector oriental o saco del golfo de Cariaco, el conocimiento sobre las comunidades de copépodos es relativamente escaso, a pesar de que varios estudios confirman un marcado gradiente de salinidad en esta zona (Márquez *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2011).

Actualmente no existe información publicada sobre la estructura de la comunidad de copépodos en el sector oriental del golfo de Cariaco y cómo éstos se ven afectados por las variaciones estacionales en la salinidad, las precipitaciones y la escorrentía de agua dulce. Por consiguiente, el objetivo principal del presente estudio es evaluar la composición taxonómica del ensamble de los copépodos en el sector oriental del golfo de Cariaco y caracterizar los patrones de abundancia y dominancia estacionales en relación con las variaciones anuales de salinidad.

group of copepod species (Vásquez-Yeomans *et al.*, 2012; Rice *et al.*, 2015; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016). In this sense, the salinity gradients resulting from the interactions between marine influence and freshwater runoff, often represent the main parameter to define the patterns of local distribution and species succession (Escamilla *et al.*, 2011; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016). The eastern sector of the Gulf of Cariaco has a marked influence of freshwater, due to the Carinicuao and Cariaco rivers, which maintain communication with the gulf during some months of the year, originating an estuarine area (Caraballo, 1982). On the other hand, convection and outcrop processes in the Gulf of Cariaco tend to develop phenomena of renewal of warm surface waters by colder, nutrient-rich deep waters that stimulate the development of phytoplankton and zooplankton (Bonilla *et al.*, 1985). Therefore, studying the variability patterns of copepods in estuarine zooplankton could reveal important information on the dynamics of the local community, with implications for other tropical estuarine-coastal systems. In this sense, the monitoring of the copepod community allows detecting and following up on levels of ecological disturbance and deterioration (Branco *et al.*, 2007; Escamilla *et al.*, 2011).

It is important to mention that due to all the aforementioned in the Gulf of Cariaco, copepods have been extensively studied, identifying a significant number of species. Of the 723 species indicated for the zone of Venezuela, 136 have been registered in that gulf (Legaré, 1961; Zoppi, 1961; Infante and Urosa, 1986; Márquez-Rojas *et al.*, 2006, 2011, 2014a, 2014b; Razouls *et al.*, 2005-2019). However, in the eastern sector or sac of the Gulf of Cariaco, knowledge about the copepod communities is relatively scarce, although several studies confirm a marked gradient of salinity in this area (Márquez *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2011).

There is currently no published information on the structure of the copepod community in the eastern sector of the Gulf of Cariaco and how these are affected by seasonal variations in salinity, rainfall, and freshwater runoff. Therefore, the main objective of the present study is to evaluate the taxonomic composition of the copepod assembly in the eastern sector of the Gulf of Cariaco and to characterize patterns of seasonal abundance and dominance to annual variations in salinity.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El sector oriental o saco del golfo de Cariaco (Figura 1), tiene aproximadamente 9 km de ancho y 17 km de largo. En este sector se localizan las menores profundidades del golfo, las cuales se aproximan a los 40 metros. En su extremo oriental, desembocan los ríos Carinicuao y Cariaco y en el sur las quebradas Oricoto y López, conformando los mayores afluentes continentales y probablemente la fuente proveedora de gran parte de los materiales sedimentarios que se depositan en el área de estudio (Caraballo, 1982). La vegetación en este sector está caracterizada por la presencia de manglares y zonas xerófilas.

El área de estudio presenta estacionalidad pronunciada que se puede observar en los parámetros físicos de la columna de agua en el comienzo del año causado por el desplazamiento estacional de la zona de convergencia intertropical (ITCZ) que genera una variabilidad significativa en el régimen del viento, las corrientes y descarga de ríos (Lorenzoni *et al.*, 2013; López-Monroy y Tróccoli-Ghinaglia, 2015).

MATERIALS AND METHODS

Study area

The eastern sector or sac of the Gulf of Cariaco (Figure 1), is approximately 9 km wide and 17 km long. The shallowest depths of the gulf are located in this sector, which is close to 40 meters. At its eastern end, the Carinicuao and Cariaco rivers flow out and in the south, the Oricoto and López ravines, making up the largest continental tributaries and probably the source of supply of much of the sedimentary materials deposited in the study area (Caraballo, 1982). The vegetation in this sector is characterized by the presence of mangroves and xerophytic zones.

The study area presents pronounced seasonality that can be observed in the physical parameters of the water column at the beginning of the year caused by the seasonal displacement of the intertropical convergence zone (ITCZ) that generates significant variability in the wind regime, river currents and discharge (Lorenzoni *et al.*, 2013; López-Monroy and Tróccoli-Ghinaglia, 2015).

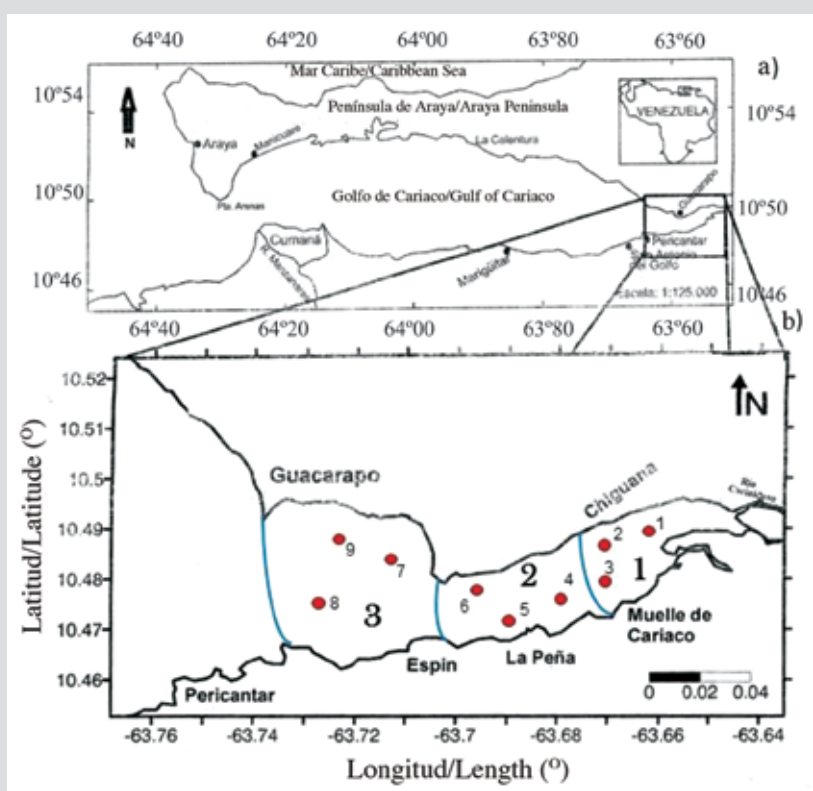


Figura 1. a) Localización geográfica del golfo de Cariaco y b) detalles del extremo oriental o saco del golfo, mostrando las zonas y las estaciones de muestreo.

Figure 1. a) Geographical location of the Gulf of Cariaco and b) details of the eastern end or sac of the gulf, showing the sampling areas and stations.

Muestreo de campo

El diseño para tomar las muestras se realizó por medio de un muestreo por conglomerado bietápico con submuestra (Cochran, 1977), el cual consistió en dividir el sector oriental o saco del golfo en tres zonas; dentro de cada zona se escogieron tres estaciones al azar, para un total de 9 muestras por salida (Figura 1b). Las muestras se recolectaron mensualmente entre junio de 2009 y enero de 2010, garantizando la representatividad en el período de lluvias (junio-septiembre) y sequía (octubre-diciembre y enero), en las nueve estaciones en el sector oriental del golfo de Cariaco (Figura 1b).

Las muestras zooplanctónicas fueron recolectadas a nivel superficial, con una red de Bongo (333 y 555 μm de abertura de malla y 60 cm de diámetro), a una velocidad de 3,7 km/h durante 15 min. Para el presente trabajo se utilizaron solamente las muestras de mesozooplankton (333 μm), dicha red estaba equipada con un flujómetro para estimar el volumen de agua filtrado. Todas las muestras fueron inmediatamente colocadas en botellas de poliuretano de 500 mL de capacidad y conservadas en formalina tamponada con tetraborato sódico, manteniendo la concentración final al 5 %.

En cada estación se midieron la temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto superficial por medio de una sonda multiparamétrica (YSI). Simultáneamente, se recolectaron muestras en botellas de polietileno oscuras (2 L) para las determinaciones de clorofila *a* (Clor. *a*) empleando el método espectrofotométrico descrito por Lorenzen modificado por Strickland y Parsons (1972), los resultados se expresaron en $\text{mg Clor.}a.m^{-3}$.

Trabajo en el laboratorio

Para el zooplankton, cada muestra de la malla de 333 μm se homogenizó y dividió en dos porciones iguales por medio de un separador Folsom; una porción fue destinada al estudio de la estructura de la comunidad y la otra para el análisis de la biomasa para otros estudios. Para la determinación taxonómica, de las muestras concentradas (400 mL) se obtuvieron 3 submuestras de 5 mL con una pipeta Stempel, y se procedió bajo un microscopio estereoscópico, al conteo e identificación de los copépodos adultos y juveniles al más bajo nivel taxonómico posible, empleando las claves de identificación especializadas de Campos-Hernández y Suárez-Morales (1994), Suárez-Morales (1995), Bradford-Grieve *et al.* (1999), así como la base de datos de Razouls *et al.* (2005-2019). El número de

Field sampling

The design to take the samples was carried out utilizing a two-stage conglomerate sampling with a subsample (Cochran, 1977), which consisted of dividing the eastern sector or the Gulf sac into three zones; within each zone, three stations were chosen at random, for a total of 9 samples per outlet (Figure 1b). The samples were collected monthly between June 2009 and January 2010, guaranteeing representativeness in the rainy season (June-September) and drought (October-December and January), in the nine seasons in the eastern sector of the Gulf of Cariaco (Figure 1b).

The zooplankton samples were collected at the surface level, with a Bongo net (333 and 555 μm mesh opening and 60 cm in diameter), at a speed of 3.7 km/h for 15 min. For the present work, only the mesozooplankton samples (333 μm) were used, this network was equipped with a flowmeter to estimate the volume of filtered water. All samples were immediately placed in 500 mL polyurethane bottles and stored in formalin buffered with sodium tetraborate, maintaining the final concentration at 5 %.

At each station, temperature, salinity, and surface dissolved oxygen were measured using a multi-parameter probe (YSI). Simultaneously, samples were collected in dark polyethylene bottles (2 L) for determinations of chlorophyll-*a* (Chlor.-*a*) using the spectrophotometric method described by Lorenzen modified by Strickland and Parsons (1972), the results were expressed in $\text{mg Clor.-}a.m^{-3}$.

Laboratory work

For zooplankton, each sample of the 333 μm mesh was homogenized and divided into two equal portions utilizing a Folsom separator; one portion was used for the study of community structure and the other for biomass analysis for other studies. For taxonomic determination, from the concentrated samples (400 mL), 3 sub-samples of 5 mL were obtained with a Stempel pipette, and a count and identification of adult and juvenile copepods was carried out under the lowest possible taxonomic level, using the specialized identification keys of Campos-Hernández and Suárez-Morales (1994), Suárez-Morales (1995), Bradford-Grieve *et al.* (1999), as well as the Razouls *et al.* (2005-2019). The number of organisms counted was divided by the volume of filtered water, so the results were standardized to $\text{ind.}m^{-3}$. The rainfall data analyzed was provided by the Meteorological Service of the National Armed Forces of the Antonio José de Sucre Airport in the city of Cumaná.

organismos contados se dividió entre el volumen de agua filtrada, por lo que los resultados se estandarizaron a ind.m^{-3} . Los datos de pluviosidad analizados fueron suministrados por el Servicio Meteorológico de la Fuerza Armada Nacional del Aeropuerto Antonio José de Sucre de la ciudad de Cumaná.

Análisis de la información

Los datos cuantitativos obtenidos de la muestra se usaron para calcular la abundancia absoluta y relativa de las especies de copépodos, mientras los índices ecológicos (diversidad y equidad) se calcularon por mes. La diversidad de los copépodos se calculó usando el índice de Shannon-Wiener (H') y la equidad a través del índice de Pielou (J) de acuerdo a lo señalado por Krebs (1999).

La comparación de las variables abióticas (temperatura, salinidad y oxígeno disuelto), bióticas (Clor. *a*), la abundancia total y diversidad de los copépodos entre las estaciones y zonas se realizó con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, luego de comprobar que no se cumplieron los supuestos del análisis paramétrico mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y homocedasticidad de Levene (Sheskin, 2004). Las comparaciones de los períodos estudiados, se realizaron con la prueba de Mann-Whitney o test Wilcoxon (Zar, 1999). Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman para caracterizar las relaciones entre la salinidad, la abundancia de los copépodos y los índices ecológicos. Para estas pruebas se utilizó el software estadístico Statgraphics plus 5,1.

Para visualizar el comportamiento de la diversidad de los copépodos entre los diferentes períodos estacionales y los meses de muestreo, se realizaron curvas de K-dominancia (Lamshead *et al.*, 1983). En su construcción se utilizan el rango de las especies (en el eje de las abscisas) y el porcentaje de abundancia acumulado (en las ordenadas).

Con los datos de los copépodos se construyeron matrices de disimilitud Bray-Curtis previamente transformados a $\text{Log}(x + 1)$, mientras que los datos ambientales (temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y clorofila *a*) se normalizaron y se emplearon distancias Euclidianas para su construcción (Legendre y Legendre, 1998). Las matrices generadas de los copépodos se utilizaron para analizar la similitud entre las abundancias mensuales por medio de un análisis de clasificación (Cluster) y el escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) para visualizar la ordenación de la abundancia de los copépodos en dos dimensiones con respecto a las dos

Analysis of the information

The quantitative data obtained from the sample were used to calculate the absolute and relative abundance of the copepod species, while the ecological indices (diversity and equity) were calculated per month. Copepod diversity was calculated using the Shannon-Wiener index (H') and equity through the Pielou index (J) according to what Krebs (1999) pointed out.

The comparison of abiotic (temperature, salinity and dissolved oxygen), biotic (Chlor. *a*), total abundance and diversity of copepods between stations and areas were compared with the Kruskal-Wallis non-parametric test, after verifying that the assumptions of the parametric analysis were not met using the Kolmogorov-Smirnov normality test and Levene's homoscedasticity (Sheskin, 2004). The comparisons of the periods studied were made with the Mann-Whitney test or the Wilcoxon test (Zar, 1999). Spearman's correlation coefficient was calculated to characterize the relationships between salinity, copepod abundance, and ecological indices. Statgraphics plus 5.1 statistical software was used for these tests.

To visualize the behavior of the diversity of the copepods between the different seasonal periods and the sampling months, K-dominance curves were performed (Lamshead *et al.*, 1983). In its construction, the range of the species (on the abscissa axis) and the percentage of accumulated abundance (on the ordinate) are used.

Bray-Curtis dissimilarity matrices previously transformed to $\text{Log}(x + 1)$ were constructed with the copepod data, while the environmental data (temperature, dissolved oxygen, salinity, and chlorophyll-*a*) were normalized and Euclidean distances were used for their construction. (Legendre and Legendre, 1998). The matrices generated from the copepods were used to analyze the similarity between the monthly abundances utilizing a classification analysis (Cluster) and the non-metric multidimensional scaling (nMDS) to visualize the order of the abundance of the copepods in two dimensions to the two epochs studied; The Primer 6 program was used for these analyzes (Clarke and Gorley, 2006).

To know the possible relationships between the most abundant copepod species and the environmental variables recorded during the two periods studied, a canonical correspondence analysis (ACC) was carried out. This procedure allowed to position the most abundant

épocas estudiadas; para estos análisis se utilizó el programa Primer 6 (Clarke y Gorley, 2006).

Con el fin de conocer las posibles relaciones entre las especies de copépodos más abundantes y las variables ambientales registradas durante los dos períodos estudiados, se efectuó un análisis de correspondencia canónica (ACC). Este procedimiento permitió posicionar las especies de copépodos más abundantes (> 10 %) con las variables temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y clorofila *a*, en un sistema sintetizado de coordenadas (componentes 1 y 2) (Ter Braak y Verdonschot, 1995).

RESULTADOS

Variables abióticas

En el presente estudio, la temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, clorofila *a*, así como la abundancia y los índices ecológicos no mostraron diferencias significativas espaciales ($p > 0,05$) entre las nueve estaciones muestreadas, ni en las tres zonas de estudio ($p > 0,05$). Por lo tanto, los valores reportados para cada mes de muestreo fueron agrupados y evaluados en escalas estacionales (período de lluvia/período de sequía).

La temperatura superficial del agua no mostró una marcada variación entre los períodos estudiados (Mann-Whitney U-test = 556; $p > 0,05$), registrando valores entre 24-28,6 °C en el período de lluvia y 23,4-27,6 °C para el período de sequía. El oxígeno disuelto mostró marcadas fluctuaciones mensuales, registrando diferencias significativas entre los dos períodos (Mann-Whitney U-test = 156; $p < 0,05$); en la época de lluvia se registraron los valores más altos (4,9-9,9 mL_{O₂}.L⁻¹), mientras en la época de sequía fluctuaron entre 1,4-7,8 mL_{O₂}.L⁻¹.

La salinidad presentó una marcada variabilidad mensual, con diferencias de hasta 6 unidades. Se detectaron diferencias significativas estacionales (Mann-Whitney U-test = 1103,5; $p < 0,05$). El valor más bajo (32,5 ± 1,6; media ± desviación estándar) fue registrado en junio de 2009 (época de lluvia), mientras el valor más alto (38,5 ± 0,2) fue medido en enero de 2010 (época de sequía) (Figura 2). Cuando se relaciona la salinidad con las precipitaciones, se observa una tendencia contraria, presentándose los valores más altos de precipitación (17,7 a 73,4 mm) en la época de lluvia (Figura 2).

copepod species (> 10 %) with the variables temperature, salinity, dissolved oxygen, and chlorophyll-*a*, in a synthesized coordinate system (components 1 and 2) (Ter Braak and Verdonschot, 1995).

RESULTS

Abiotic variables

In the present study, temperature, dissolved oxygen, salinity, chlorophyll-*a*, as well as abundance and ecological indices did not show significant spatial differences ($p > 0.05$) between the nine stations sampled, nor in the three study areas ($p > 0.05$). Therefore, the values reported for each month of sampling were grouped and evaluated on seasonal scales (rainy period/dry period).

The surface temperature of the water did not show a marked variation between the periods studied (Mann-Whitney U-test = 556; $p > 0.05$), registering values between 24-28.6 °C in the rainy period and 23.4-27.6 °C for the dry period. Dissolved oxygen showed marked monthly fluctuations, registering significant differences between the two periods (Mann-Whitney U-test = 156; $p < 0.05$); the highest values were recorded in the rainy season (4.9-9.9 mL_{O₂}.L⁻¹), while in the dry season they fluctuated between 1.4-7.8 mL_{O₂}.L⁻¹.

Salinity presented marked monthly variability, with differences of up to 6 units. Seasonal significant differences were detected (Mann-Whitney U-test = 1103.5; $p < 0.05$). The lowest value (32.5 ± 1.6; mean ± standard deviation) was recorded in June 2009 (rainy season), while the highest value (38.5 ± 0.2) was measured in January 2010 (dry season) (Figure 2). When salinity is related to precipitation, a contrary trend is observed, presenting the highest precipitation values (17.7 to 73.4 mm) in the rainy season (Figure 2).

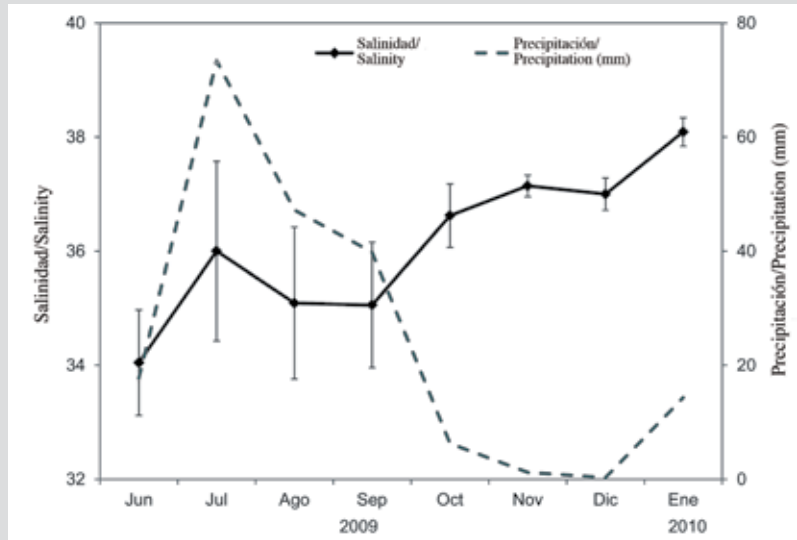


Figura 2. Variación estacional de la salinidad (media \pm desviación estándar) en relación con la precipitación mensual en la ciudad de Cumaná, en el saco del golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela.

Figure 2. Seasonal variation in salinity (mean \pm standard deviation) about monthly precipitation in the city of Cumaná, in the Gulf of Cariaco sack, Sucre state, Venezuela.

Variables bióticas

La concentración de *Clor. a* presentó una gran fluctuación durante el estudio, con valores comprendidos entre no detectable (ND) y 26,5 mg *Clor.a.m*⁻³. Las concentraciones más altas se midieron al comienzo del estudio (época de lluvia), registrando en julio de 2009 magnitudes de 17,6 \pm 6,4 mg *Clor.a.m*⁻³. Durante los meses restantes, los valores medios de *Clor. a* fueron más bajos, oscilando entre 0,9 y 8,9 mg *Clor.a.m*⁻³. Se detectó diferencias significativas (Mann-Whitney U-test = 1008; $p < 0,05$) entre los períodos estudiados.

Composición y abundancia de copéodos

Se identificaron un total de 45 especies de copéodos (Tabla 1). La abundancia media mensual de los copéodos varió entre 513 \pm 79 ind.*m*⁻³ en diciembre de 2010 (época de sequía) y 7156 \pm 627 ind.*m*⁻³ en julio de 2009 (época de lluvia) (Figura 3a). *Acartia tonsa* (Dana) fue la más abundante y representativa de todo el estudio, aportando un 83,2 \pm 2,6 % en lluvia y 60,8 \pm 4,7 % en época de sequía del total de la abundancia de los copéodos (Tabla 1). A escala mensual, la abundancia de esta especie superó el 90 % en julio, noviembre y diciembre de 2009 (Figura 5c). A esta especie le siguió *Temora turbinata* (Dana), con una abundancia relativa de 5,3 y 30,3 % para los períodos de lluvia y sequía, respectivamente. Durante el período de sequía (octubre de 2009 y enero de 2010), se obtuvieron las abundancias más altas de esta especie. *Paracalanus quasimodo* (Bowman) fue la tercera especie en

Biotic variables

Chlorine concentration showed great fluctuation during the study, with values ranging from not detectable (ND) to 26.5 mg *Chlor.a.m*⁻³. The highest concentrations were measured at the beginning of the study (rainy season), registering magnitudes of 17.6 \pm 6.4 mg *Chlor.a.m*⁻³ in July 2009. During the remaining months, the average Chlorine values were lower, ranging from 0.9 to 8.9 mg *Chlor.a.m*⁻³. Significant differences (Mann-Whitney U-test = 1008; $p < 0.05$) were detected between the periods studied.

Composition and abundance of copepods

A total of 45 species of copepods were identified (Table 1). The average monthly abundance of copepods varied between 513 \pm 79 ind.*m*⁻³ in December 2010 (dry season) and 7156 \pm 627 ind.*m*⁻³ in July 2009 (rainy season) (Figure 3a). *Acartia tonsa* (Dana) was the most abundant and representative of the entire study, contributing 83.2 \pm 2.6 % in rain and 60.8 \pm 4.7 % in the dry season of the total abundance of copepods (Table 1). On a monthly scale, the abundance of this species exceeded 90 % in July, November, and December 2009 (Figure 5c). This species was followed by *Temora turbinata* (Dana), with a relative abundance of 5.3 and 30.3 % for the periods of rain and drought, respectively. During the drought period (October 2009 and January 2010), the highest abundances of this species were obtained. *Paracalanus quasimodo* (Bowman) was the third species in order of abundance,



orden de abundancia, sobresaliendo en el período de lluvia (2,15 %), principalmente en junio y septiembre de 2009.

excelling in the rainy season (2.15 %), mainly in June and September 2009.

Tabla 1. Composición taxonómica, abundancia absoluta (media ± DS) y relativa de los copépodos colectados durante la época de lluvia y sequía en el saco del golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela.

Table 1. Taxonomic composition, absolute (mean ± SD), and relative abundance of the copepods collected during the rainy and dry season in the Gulf of Cariaco sack, Sucre state, Venezuela.

Taxones/Taxons	Lluvia/Rain	%	Sequía/Drought	%
ORDEN CALANOIDA/CALANOID ORDER				
<i>Acartia (Acanthacartia) tonsa</i> (Dana, 1849)	437.9 ± 417.6	83.20	237.1 ± 406.2	60.83
<i>A. (Acartia) danae</i> (Giesbrecht, 1889)			3.7	0.03
<i>A. (Odontacartia) lilljeborgi</i> (Giesbrecht, 1889)	3.6	0.02	1.9	0.08
<i>A. (Acartia) negligens</i> (Dana, 1849)			11.3	0.01
<i>Euchirella rostrata</i> (Claus, 1866)			3.3 ± 3.2	0.05
<i>Nannocalanus minor</i> (Claus, 1863)	22.18 ± 21.7			
<i>Centropages velificatus</i> (Oliveira, 1947)	29.0 ± 36.6	0.61	4.08 ± 4.95	0.20
<i>Clausocalanus furcatus</i> (Brady, 1883)			7.78 ± 5.70	0.11
<i>C. arcuicornis</i> (Dana, 1849)			16.87 ± 4.11	0.48
<i>Subeucalanus crassus</i> (Giesbrecht, 1888)			3.22 ± 3.03	0.04
<i>S. subcrassus</i> (Giesbrecht, 1888)	10.9 ± 15.1	0.97	11.97 ± 10.18	0.60
<i>S. subtenius</i> (Giesbrecht, 1888)	12.4 ± 11.3	0.99	10.5 ± 8.62	0.67
<i>Paracalanus aculeatus</i> (Giesbrecht, 1888)	16.9 ± 25.1	0.53	12.3 ± 13.58	0.44
<i>P. quasimodo</i> (Bowman, 1971)	24.9 ± 34.7	2.15	17.4 ± 19.57	1.49
<i>Labidocera scotti</i> (Giesbrecht, 1897)	4.35 ± 0.3	0.05		
<i>L. detruncata</i> (Dana, 1849)	1.5	0.01		
<i>Pseudodiaptomus marshi</i> (Wright, 1936)	1.87	0.01		
<i>P. pelagicus</i> (Herrick, 1884)	2.7	0.01	2.14	0.02
<i>P. cokeri</i> (Gonzalez&Bowman, 1965)	0.7			
<i>Temora stylifera</i> (Dana, 1849)	34.9 ± 38.9	2.21	1.07	0.01
<i>T. turbinata</i> (Dana, 1849)	209.6 ± 292.9	5.35	132.71 ± 329.2	30.26
ORDEN CYCLOPOIDA/CYCLOPOID ORDER				
<i>Oithona atlantica</i> (Farran, 1908)	7.5	0.04	2.15	0.01
<i>O. nana</i> (Giesbrecht, 1892)	4.3 ± 3.9	0.32	1.61 ± 0.75	0.02
<i>O. plumifera</i> (Baird, 1843)	1.7 ± 1.0	0.04	17.21 ± 19.95	1.10
<i>O. setigera</i> (Dana, 1849)	3.6 ± 4.8	0.27	6.48 ± 7.50	0.55
<i>O. similis</i> (Claus, 1866)	3.9 ± 4.0	0.22	2.10 ± 1.08	0.04
SUBORDEN POECILOSTOMATOIDA/POECILOSTOMATOIDA SUBORDER				
<i>Saphirella tropica</i> (Wolfenden, 1906)	1.9	0.01		
<i>Agetus flaccus</i> (Giesbrecht, 1891)	8.32 ± 6.3	0.13	4.45	0.03
<i>A. typicus</i> (Krøyer, 1849)	4.3 ± 7.2	0.09	6.8 ± 4.84	0.14
<i>A. limbatus</i> (Brady, 1883)	2.1	0.01	2.15	0.01
<i>Corycaeus clausi</i> (F. Dahl, 1894)	6.2 ± 8.7	0.23	3.07 ± 2.72	0.13
<i>C. speciosus</i> (Dana, 1849)	12.7 ± 24.7	1.00	5.08 ± 4.69	0.40
<i>Ditrichocorycaeus amazonicus</i> (F. Dahl, 1894)	17.9 ± 21.1	0.47	37.23 ± 28.01	0.80
<i>Onychocorycaeus catus</i> (F. Dahl, 1894)	6.4 ± 4.6	0.44	10.87 ± 15.7	0.62
<i>O. latus</i> (Dana, 1849)	7.1 ± 5.3	0.26	1.07	0.01

Taxones/Taxons	Lluvia/Rain	%	Sequia/Drought	%
<i>Urocorycaeus furcifer</i> (Claus, 1863)	7.1 ± 3.1	0.07	4.29 ± 4.55	0.06
<i>U. lautus</i> (Dana, 1849)	8.2 ± 11.7	0.17	2.27 ± 0.23	0.05
<i>U. longistylis</i> (Dana, 1849)	6.2	0.03		
<i>Farranula carinata</i> (Giesbrecht, 1891)			1.48 ± 0.57	0.02
<i>F. gracilis</i> (Dana, 1849)	2.33 ± 2.67	0.01		
<i>Oncaea media</i> (Giesbrecht, 1891)	2.4 ± 1.7	0.10	3.13 ± 1.97	0.18
<i>O. mediterranea</i> (Claus, 1863)	2.0 ± 0.1	0.02	4.60 ± 2.75	0.23
<i>O. notopus</i> (Giesbrecht, 1891)	0.8	0.01		
<i>O. venusta</i> (Philippi, 1843)	10.5	0.06	5.73 ± 4.34	0.12
ORDEN HARPACTICOIDA/HARPACTICOIDA ORDER				
<i>Euterpina acutifrons</i> (Dana, 1848)	1.8 ± 1.5	0.07	1.07	0.01

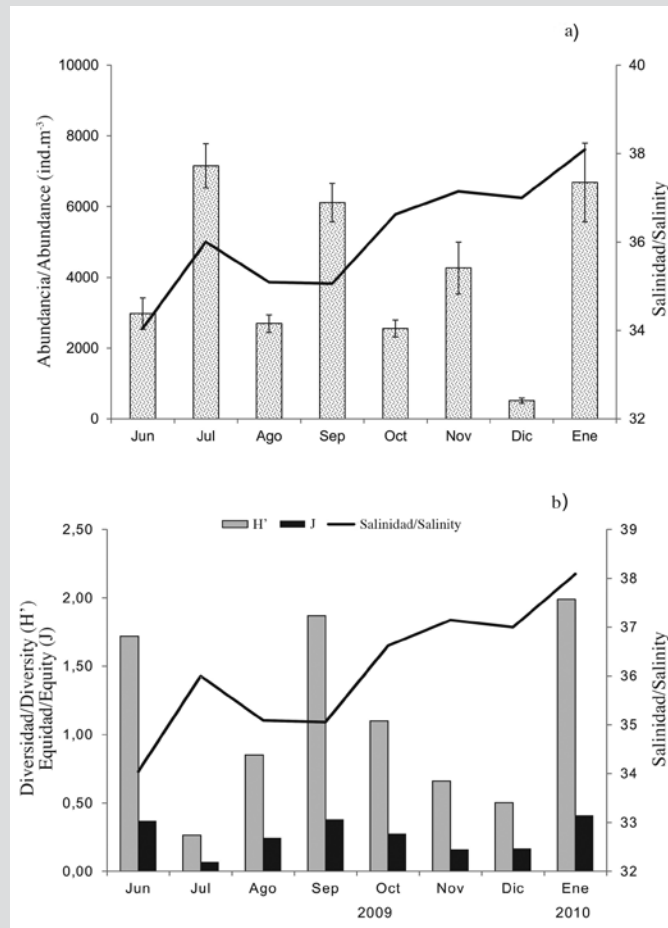


Figura 3. a) Media mensual (± desviación estándar) de la abundancia de los copépodos y b) índices ecológicos de los copépodos recolectados en el saco del golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela. Estos datos siempre fueron dibujados con la salinidad (línea).

Figure 3. a) Monthly mean (± SD standard deviation) of the abundance of copepods and b) ecological indices of copepods collected in the Gulf of Cariaco sack, Sucre state, Venezuela. These data were always drawn with salinity (line).

Subeucalanus subcrassus y *S. subtenuis*, siguieron en orden de abundancia, con representaciones relativamente bajas (0,97 y 0,99 %, respectivamente) y destacándose en el período de lluvia (Tabla 1, Figura 5c).

Subeucalanus subcrassus and *S. subtenuis* followed in order of abundance, with relatively low representations (0.97 and 0.99 %, respectively) and standing out in the rainy season (Table 1, Figure 5c).

Dentro de las principales especies, *A. tonsa* (K-W = 28,3, $p < 0,001$) y *T. turbinata* (K-W = 23,5, $p < 0,001$) mostraron diferencias significativas estacionales en la abundancia. Variaciones estacionales también fueron observadas en la abundancia total de los copépodos (K-W = 31,4, $p < 0,001$). El coeficiente de Spearman mostró relaciones significativas entre la salinidad y la abundancia de *T. turbinata* ($r_s = 0,37$, $p < 0,05$), entre la abundancia de los copépodos y *A. tonsa* ($r_s = 0,72$; $p < 0,001$) y *T. turbinata* ($r_s = 0,57$; $p < 0,01$). Por otro lado, se hallaron correlaciones significativas negativas entre la diversidad y equidad con *A. tonsa* ($r_s = -0,57$ y $r_s = -0,66$; $p < 0,001$, respectivamente) y entre la abundancia y la equidad ($r_s = -0,49$; $p < 0,01$).

Estructura comunitaria

Las fluctuaciones mensuales de la abundancia, diversidad y equidad de los copépodos fueron diagramadas con respecto a la salinidad (Figura 3b). No se detectaron diferencias significativas en la diversidad de los copépodos con respecto a los períodos estudiados (Mann-Whitney U-test = 641; $p > 0,05$). Los valores fueron similares durante los dos períodos, registrando en la época de lluvia valores medios de $1,2 \pm 0,8$ bits.ind⁻¹, con un mínimo de 0,3 bits.ind⁻¹ en julio de 2009 y un máximo de 1,9 bits.ind⁻¹ en septiembre de 2009. En la época de sequía se obtuvo un valor medio de $1,1 \pm 0,9$ bits.ind⁻¹, con un mínimo de 0,5 bits.ind⁻¹ en diciembre de 2009 y un máximo de 2,0 bits.ind⁻¹ en enero de 2010. La leve disminución de los valores de diversidad durante los meses de sequía, coincidió con la menor abundancia de copépodos (Figura 3b). Resultados contrarios fueron hallados para la equidad, encontrándose diferencias significativas entre los períodos (Mann-Whitney U-test = 808,5; $p < 0,05$), pero al igual que en la diversidad, los valores mayores se registraron en lluvia ($0,3 \pm 0,1$), mientras que en sequía la media fue de $0,2 \pm 0,1$.

La curva de K-dominancia durante la época de lluvia mostró alta dominancia con menor diversidad durante julio y agosto, mientras que junio y septiembre reveló menor dominancia con una mayor diversidad de especies (Figura 4a). Durante los tres primeros meses del período de sequía, tuvieron un comportamiento similar, alta dominancia con menor cantidad de especies, mientras que enero de 2010 registró la menor dominancia del estudio con mayor diversidad de especies (Figura 4b). La curva de K-dominancia también exhibió diferencia en la diversidad y en la abundancia relativa de las especies entre los períodos estudiados (Figura 4c), mostrando en la época de sequía menor dominancia de las especies más abundantes, esto se puede corroborar en la Tabla 1.

Among the main species, *A. tonsa* (K-W = 28.3, $p < 0.001$) and *T. turbinata* (K-W = 23.5, $p < 0.001$) showed significant seasonal differences in abundance. Seasonal variations were also observed in the total abundance of copepods (K-W = 31.4, $p < 0.001$). Spearman's coefficient showed significant relationships between salinity and abundance of *T. turbinata* ($r_s = 0.37$, $p < 0.05$), between abundance of copepods and *A. tonsa* ($r_s = 0.72$; $p < 0.001$) and *T. turbinata* ($r_s = 0.57$; $p < 0.01$). On the other hand, significant negative correlations were found between diversity and equity with *A. tonsa* ($r_s = -0.57$ and $r_s = -0.66$; $p < 0.001$, respectively) and between abundance and equity ($r_s = -0.49$; $p < 0.01$).

Community structure

The monthly fluctuations in the abundance, diversity, and equity of the copepods were plotted with respect to salinity (Figure 3b). No significant differences were detected in the diversity of the copepods to the periods studied (Mann-Whitney U-test = 641; $p > 0.05$). The values were similar during the two periods, registering average values of 1.2 ± 0.8 bits.ind⁻¹ in the rainy season, with a minimum of 0.3 bits.ind⁻¹ in July 2009 and a maximum of 1.9 bits.ind⁻¹ in September 2009. In the dry season, an average value of 1.1 ± 0.9 bits.ind⁻¹ was obtained, with a minimum of 0.5 bits.ind⁻¹ in December 2009 and a maximum of 2.0 bits.ind⁻¹ in January 2010. The slight decrease of the diversity values during the drought months coincided with the lower abundance of copepods (Figure 3b). Contrary results were found for equity, finding significant differences between the periods (Mann-Whitney U-test = 808.5; $p < 0.05$), but as in diversity, the highest values were recorded in rain (0.3 ± 0.1), while in drought the mean was 0.2 ± 0.1 .

The K-dominance curve during the rainy season showed high dominance with less diversity during July and August, while June and September revealed less dominance with greater species diversity (Figure 4a). During the first three months of the drought period, they had similar behavior, high dominance with fewer species, while January 2010 registered the lowest dominance of the study with greater species diversity (Figure 4b). The K-dominance curve also exhibited a difference in the diversity and relative abundance of the species between the periods studied (Figure 4c), showing less dominance of the most abundant species in the dry season, this can be corroborated in Table 1.

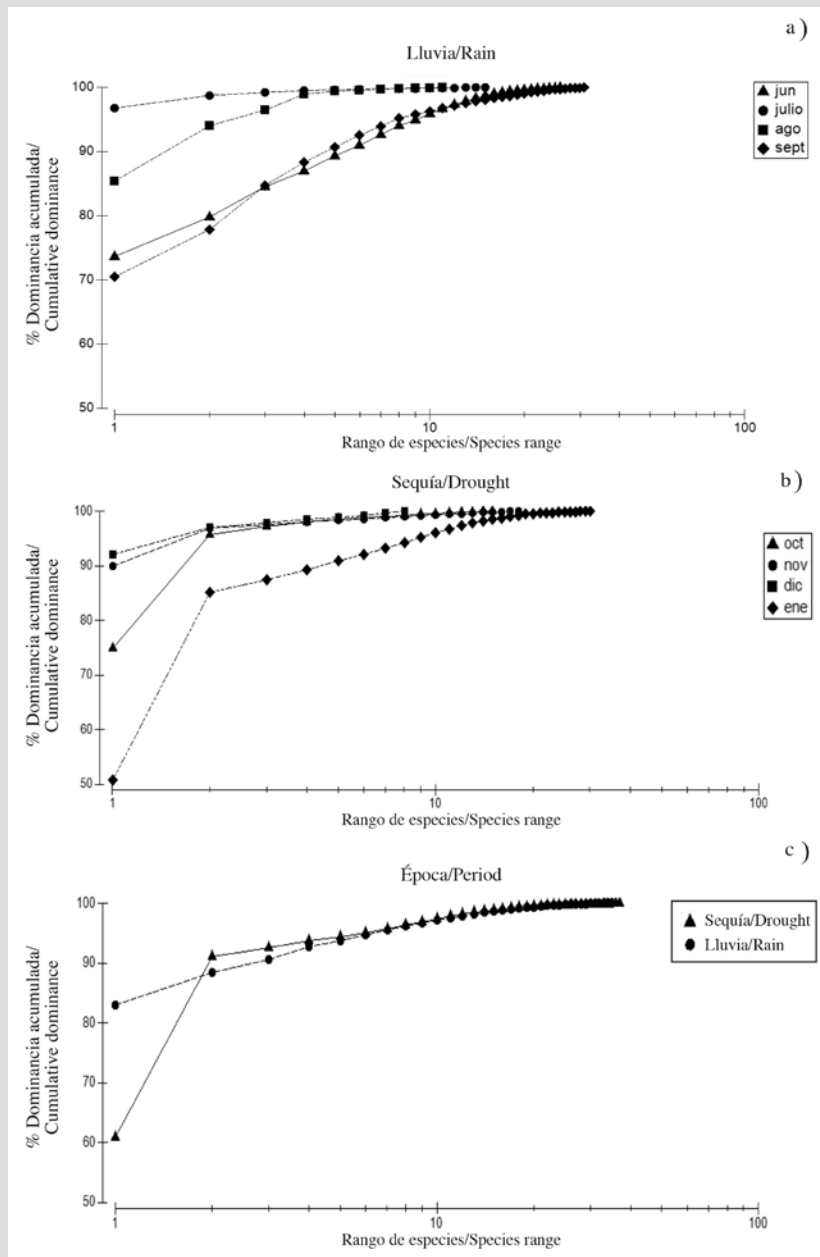


Figura 4. Curva de dominancia acumulada de los copépodos en lluvia a) y sequía b) y durante los dos periodos estudiados c) en el saco del golfo de Cariaco.

Figure 4. Cumulative dominance curve of the copepods in the rain a) and drought b) and during the two periods studied c) in the Gulf of Cariaco sack.

De acuerdo a los análisis de Cluster y nMDS agrupamos a la comunidad de copépodos del saco del golfo de Cariaco en dos conjuntos de acuerdo a la variabilidad estacional (Figura 5a, Figura 5b). En el Cluster, a un corte al 75 % de similitud, se observan estos dos grupos. El primero entre noviembre y diciembre de 2009 (época de sequía). Durante estos meses se observó un elevado porcentaje de abundancia (> 80 %) de *Acartia tonsa* asociada con una salinidad relativamente alta (Figura 5c). El segundo grupo se puede dividir en dos subgrupos, un primer subgrupo en julio,

According to the Cluster and nMDS analyzes, we grouped the copepod community of the Gulf of Cariaco sack into two groups according to seasonal variability (Figure 5a, Figure 5b). In the Cluster, at a cutoff of 75 % similarity, these two groups are observed. The first between November and December 2009 (dry season). During these months a high percentage of abundance (> 80 %) of *Acartia tonsa* was observed, associated with relatively high salinity (Figure 5c). The second group can be divided into two subgroups, the first subgroup in July, August and

agosto y octubre de 2009 con porcentajes de abundancia altos (75-95 %) de *Acartia tonsa* relacionada con alta salinidad y el segundo subgrupo en junio y septiembre de 2009 y enero de 2010 con una mejor distribución de los porcentajes de abundancias entre las otras especies de copépodos *Temora turbinata* y *Paracalanus quasimodo* (Figura 5c). En el nMDS, el grupo I, lo constituyeron principalmente los meses de lluvia, donde *T. turbinata* y *P. quasimodo* registraron sus mayores porcentajes de abundancia; no obstante, el grupo II se asoció con la época de sequía, donde el porcentaje de abundancia de *A. tonsa* fue casi absoluto (Figura 5b).

October 2009 with high abundance percentages (75-95 %) of *Acartia tonsa* relating to high salinity and the second subgroup in June and September 2009 and January 2010 with a better distribution of the percentages of abundances among the other copepod species *Temora turbinata* and *Paracalanus quasimodo* (Figure 5c). In nMDS, group I mainly consisted of the rainy months, where *T. turbinata* and *P. quasimodo* registered their highest percentages of abundance; however, group II was associated with the dry season, when the percentage of the abundance of *A. tonsa* was almost absolute (Figure 5b).

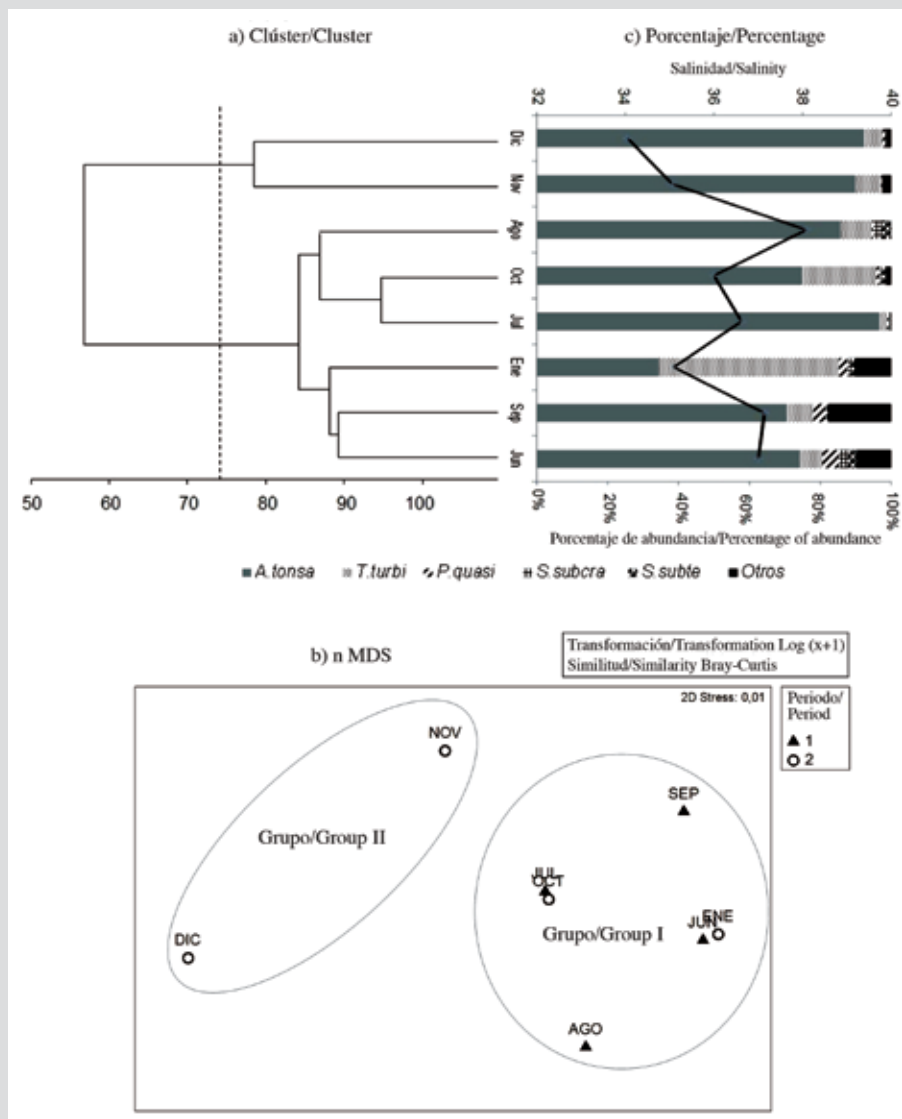


Figura 5. a) Análisis de Cluster y b) nMDS basado en la abundancia de los taxa de copépodos. c) Porcentaje de abundancia de los taxa de copépodos con la salinidad (línea continua negra) muestreados en el saco del golfo de Cariaco. *A.tonsa*: *Acartia tonsa*, *T.turbi*: *Temora turbinata*, *P.quasi*: *Paracalanus quasimodo*, *S.subcra*: *Subeucalanus subcrassus*, *S.subte*: *Subeucalanus subtenius*. Período lluvia (triángulo negro) y sequía (círculo blanco).

Figure 5. a) Cluster analysis and b) nMDS based on the abundance of the copepod taxa. c) Percentage of the abundance of copepod taxa with salinity (solid black line) sampled in the Gulf of Cariaco. *A.tonsa*: *Acartia tonsa*, *T. turbi*: *Temora turbinata*, *P.quasi*: *Paracalanus quasimodo*, *S.subcra*: *Subeucalanus subcrassus*, *S.subte*: *Subeucalanus subtenius*. Rain period (black triangle) and drought (white circle).

El ACC considerando las especies más abundantes, durante la época de lluvia, mostró una correlación entre variables ambientales y el conjunto de especies de 0,69, se caracterizó por una relación directa de *A. tonsa* con la salinidad y la clorofila *a*, mientras que el componente 2, que tuvo una correlación ambiente-especies de 0,45, estuvo caracterizado por una relación directa de *T. turbinata* y *P. quasimodo* con la temperatura y el oxígeno disuelto (Figura 6a).

Por otra parte, en la época de sequía, mostró una correlación ambiente-especies de 0,69, se caracterizó por una relación directa de *A. tonsa* con la salinidad y el oxígeno disuelto, mientras que el componente 2, tuvo una correlación ambiente-especies de 0,43, estuvo caracterizado por una relación directa de *S. subcrassus* con la salinidad y la clorofila *a* con *P. aculeatus*. Los resultados del ACC corroboran lo encontrado en las correlaciones no paramétricas de Spearman, que sugiere que la abundancia de las especies más abundantes de copépodos mostraron variaciones estacionales significativas, principalmente en *A. tonsa* y *T. turbinata* e incluso en estas especies quedó demostrado las relaciones significativas con la salinidad.

The ACC considering the most abundant species, during the rainy season, showed a correlation between environmental variables and the set of species of 0.69, it was characterized by a direct relationship of *A. tonsa* with salinity and chlorophyll-*a*, while the component 2, which had an environment-species correlation of 0.45, was characterized by a direct relationship between *T. turbinata* and *P. quasimodo* with temperature and dissolved oxygen (Figure 6a).

On the other hand, in the dry season, it showed an environment-species correlation of 0.69, it was characterized by a direct relationship of *A. tonsa* with salinity and dissolved oxygen, while component 2, had an environment-species correlation of 0.43, was characterized by a direct relationship of *S. subcrassus* with salinity and chlorophyll-*a* with *P. aculeatus*. The ACC results corroborate what was found in Spearman's non-parametric correlations, which suggests that the abundance of the most abundant species of copepods showed significant seasonal variations, mainly in *A. tonsa* and *T. turbinata* and even in these species the relationships were demonstrated significant with salinity.

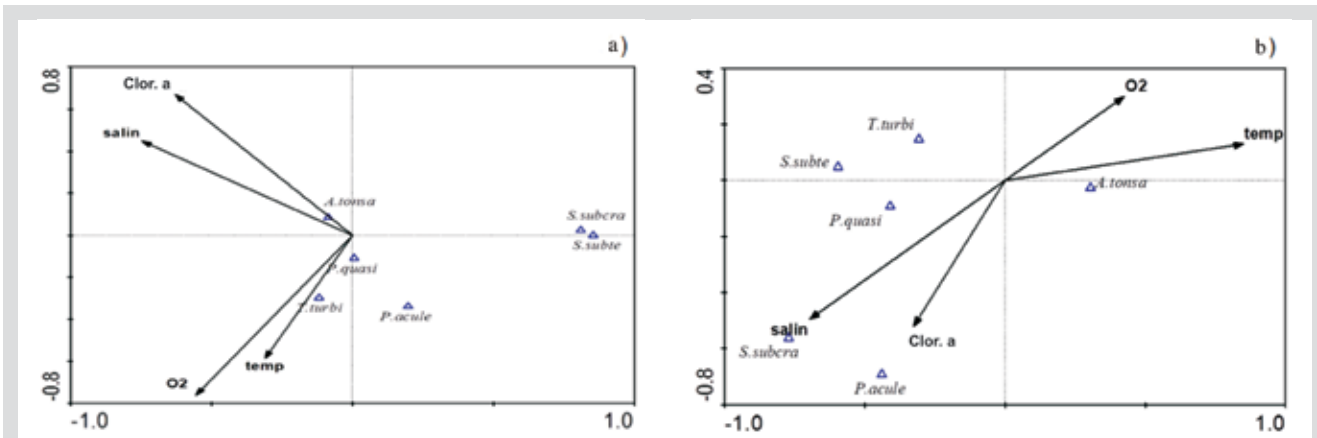


Figura 6. Proyección ortogonal del ACC en época de lluvia a) y sequía b) entre las especies de copépodos más abundantes y las variables ambientales medidas en el saco del golfo de Cariaco. salin: salinidad, temp: temperatura, O2: oxígeno disuelto, Clor. a: clorofila *a*, *A.tonsa*: *Acartia tonsa*, *P.quasi*: *Paracalanus quasimodo*, *P.acule*: *Paracalanus aculeatus*, *S.subtera*: *Subeucalanus subcrassus*, *S.subte*: *Subeucalanus subtemuis*, *T.turbi*: *Temora turbinata*.

Figure 6. ACC orthogonal projection in the rainy season a) and drought b) among the most abundant copepod species and the environmental variables measured in the Gulf of Cariaco sack. salin: salinity, temp: temperature, O2: dissolved oxygen, Clor. a: chlorophyll-*a*, *A.tonsa*: *Acartia tonsa*, *P.quasi*: *Paracalanus quasimodo*, *P.acule*: *Paracalanus aculeatus*, *S.subtera*: *Subeucalanus subcrassus*, *S.subte*: *Subeucalanus subtemuis*, *T.turbi*: *Temora turbinata*.

DISCUSIÓN

Al considerar los ecosistemas estuarinos tropicales en Venezuela (Zoppi, 1974; Gómez, 1983; Briceño *et al.*, 2009; Márquez-Rojas *et al.*, 2017; Villalba *et al.*, 2017) y en todo el mundo (Sterza y Fernandes, 2006; Garboza da Costa *et al.*, 2008; Magalhães *et al.*, 2009; Da Costa *et al.*, 2011) se corrobora que los cambios estacionales en la salinidad están influenciados principalmente por las lluvias. Esta afirmación quedo corroborada en el saco del golfo de Cariaco con la marcada fluctuación estacional que presentó la salinidad. Los valores elevados en las precipitaciones registrados entre junio y septiembre de 2010, incrementaron los caudales de los ríos, especialmente Carinicuao y Cariaco, reflejando una disminución de los valores de salinidad en la época de lluvias. Esta variación temporal de la salinidad en el extremo oriental del golfo coincidió con lo mencionado por Simpson y Griffiths (1967), Okuda *et al.* (1978) y más recientemente con Márquez *et al.* (2011), Martínez *et al.* (2011), Márquez-Rojas *et al.* (2017).

El patrón estacional de distribución observado en la abundancia total de copépodos, con los valores más altos registrados en la época de lluvias, estuvo en parte relacionada con el comportamiento de *Acartia tonsa*, que fue la especie más abundante; esto también fue encontrado en muchos otros sistemas estuarinos (Magalhães *et al.*, 2009; Da Costa *et al.*, 2011; Escamilla *et al.*, 2011; Teiguel-C, 2015; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016). Este copépodo calanoide planctónico es una especie cosmopolita, dominante en muchas zonas subtropicales y zonas templadas (Mauchline, 1998), muestra alto grado de tolerancia a los cambios ambientales logrando soportar normalmente intervalos de salinidad desde 5 UPS (Cervetto *et al.*, 1999) hasta 30 UPS (Calliari *et al.*, 2006), excepcionalmente se han encontrado ejemplares en sistemas con salinidad de 0 UPS (Cronin *et al.*, 1962) hasta 52 UPS (Rey *et al.*, 1991).

La ausencia de correlación significativa entre *Acartia tonsa* y la salinidad en el saco del golfo de Cariaco, indica que esta especie no demostró preferencia por las aguas estuarinas. Sin embargo, la tolerancia intraespecífica a las salinidades bajas y moderadas podría explicar la mayor cantidad numérica de *A. tonsa* durante todo el período de lluvia. Para *Temora turbinata*, una especie ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales, miembro conspicuo de las comunidades mesozooplancónicas superficiales y cercanas a la superficie en estuarios y en aguas neríticas y oceánicas (Ara, 2002), la correlación entre

DISCUSSION

When considering tropical estuarine ecosystems in Venezuela (Zoppi, 1974; Gómez, 1983; Briceño *et al.*, 2009; Márquez-Rojas *et al.*, 2017; Villalba *et al.*, 2017) and throughout the world (Sterza and Fernandes, 2006; Garboza da Costa *et al.*, 2008; Magalhães *et al.*, 2009; Da Costa *et al.*, 2011) it is corroborated that seasonal changes in salinity are mainly influenced by rainfall. This statement was corroborated in the Gulf of Cariaco bag with the marked seasonal fluctuation that salinity presented. The high values in rainfall registered between June and September 2010 increased the flow rates of the rivers, especially Carinicuao and Cariaco, reflecting a decrease in salinity values in the rainy season. This temporal variation in salinity in the eastern end of the gulf coincided with that mentioned by Simpson and Griffiths (1967), Okuda *et al.* (1978) and more recently with Márquez *et al.* (2011), Martínez *et al.* (2011), Márquez-Rojas *et al.* (2017).

The seasonal distribution pattern observed in the total abundance of copepods, with the highest values recorded in the rainy season, was partly related to the behavior of *Acartia tonsa*, which was the most abundant species; this was also found in many other estuarine systems (Magalhães *et al.*, 2009; Da Costa *et al.*, 2011; Escamilla *et al.*, 2011; Teiguel-C, 2015; Ruíz-Pineda *et al.*, 2016). This planktonic calanoid copepod is a cosmopolitan species, dominant in many subtropical and temperate zones (Mauchline, 1998), it shows a high degree of tolerance to environmental changes, managing to normally withstand salinity intervals from 5 UPS (Cervetto *et al.*, 1999) to 30 UPS (Calliari *et al.*, 2006), exceptionally, samples have been found in systems with salinity from 0 UPS (Cronin *et al.*, 1962) to 52 UPS (Rey *et al.*, 1991).

The absence of a significant correlation between *Acartia tonsa* and salinity in the Gulf of Cariaco sack indicates that this species did not demonstrate a preference for estuarine waters. However, intraspecific tolerance to low and moderate salinities could explain the greater numerical amount of *A. tonsa* throughout the rainy season. For *Temora turbinata*, a species widely distributed in tropical and subtropical regions, a conspicuous member of superficial and near-surface mesozooplankton communities in estuaries and neritic and oceanic waters (Ara, 2002), the correlation between salinity and abundance was significant and positive. The

la salinidad y la abundancia fue significativa y positiva. Las abundancias altas registradas en el período de sequía sugieren que la presencia de esta especie en el área estudiada, depende del aumento de la salinidad.

Ruíz-Pineda *et al.* (2016) mencionan que los géneros *Acartia*, *Temora*, *Paracalanus* y *Labidocera* son elementos faunísticos eurihalinos y euritéricos, con afinidad estuarina. Por lo tanto, *A. tonsa* y *T. turbinata* ha sido reportada con gran éxito en medios estuarinos, en lagunas costeras con fuerte influencia marina y en zonas con influencia terrígena (Peck *et al.*, 2015), ratificando una vez más la presencia de estas especies en el extremo oriental del golfo. Por su parte, *P. quasimodo* fue la tercera especie en abundancia en la presente investigación, con incrementos más altos en la época de lluvia; sin embargo, no se halló correlación con la salinidad. Los resultados en cuanto a la abundancia de esta especie coincidió con lo reportado por Villalba *et al.* (2017) en la laguna costera El Morro, isla de Margarita, Venezuela, donde la contabilizaron como la segunda especie más abundante durante el período de relajación. Por consiguiente, los copépodos *A. tonsa*, *T. turbinata* y *P. quasimodo* estuvieron presentes en ambos períodos estudiados y en elevadas abundancias; por lo tanto, se puede concluir que estas especies son residentes permanentes de este cuerpo de agua.

La gran variabilidad de las condiciones físico-químicas en los estuarios, requiere que las especies que allí habitan tengan una mayor tolerancia a los cambios ambientales, lo que resulta en comunidades ecológicas menos diversas que en los ecosistemas acuáticos adyacentes, por lo que no solamente la tolerancia fisiológica de las especies es importante, sino también las estrategias de alimentación (Elliott y Whitfield, 2011; Márquez-Rojas *et al.*, 2017). Por ejemplo, los copépodos típicamente estuarinos, *A. tonsa* y *T. turbinata* son conocidos por ser especies eurihalinas (Paffenhöfer, 1991; Ara, 2002; Hwang *et al.*, 2006), incluso, la primera tiene un amplio intervalo de tolerancia (0-50 UPS) (Paffenhöfer, 1991; Rey *et al.*, 1991; Martínez-Barragán *et al.*, 2009), en tanto que *A. tonsa* tiene un espectro más amplio de alimentos con una mayor capacidad de seleccionar su presa entre la materia inorgánica, incluso debido a su capacidad omnívora, le permite ingerir grandes células de fitoplancton (que son comunes en medios con influencia de aguas continentales) y controlar a sus competidores potenciales, depredando a sus nauplios y copepoditos (Paffenhöfer, 1991), en contraste con *T. turbinata* que se alimenta principalmente de diatomeas

high abundances recorded in the dry period suggest that the presence of this species in the studied area depends on the increase in salinity.

Ruíz-Pineda *et al.* (2016) mention that the genera *Acartia*, *Temora*, *Paracalanus*, and *Labidocera* are euryhaline and eurythermic fauna elements, with estuarine affinity. Therefore, *A. tonsa* and *T. turbinata* have been reported with great success in estuarine environments, in coastal lagoons with a strong marine influence and areas with a terrigenous influence (Peck *et al.*, 2015), once again ratifying the presence of these species at the eastern end of the gulf. On the other hand, *P. quasimodo* was the third species in abundance in the present investigation, with higher increases in the rainy season; however, no correlation was found with salinity. The results regarding the abundance of this species coincided with that reported by Villalba *et al.* (2017) in the El Morro coastal lagoon, isla de Margarita, Venezuela, where it was counted as the second most abundant species during the relaxation period. Consequently, the copepods *A. tonsa*, *T. turbinata*, and *P. quasimodo* were present in both periods studied and in high abundances; therefore, it can be concluded that these species are permanent residents of this body of water.

The great variability of the physical-chemical conditions in estuaries requires that the species that inhabit them have a greater tolerance to environmental changes, resulting in less diverse ecological communities than in adjacent aquatic ecosystems, so not only the species physiological tolerance is important, but also feeding strategies (Elliott and Whitfield, 2011; Márquez-Rojas *et al.*, 2017). For example, typically estuarine copepods, *A. tonsa*, and *T. turbinata* are known to be euryhaline species (Paffenhöfer, 1991; Ara, 2002; Hwang *et al.*, 2006), even the former has a wide tolerance range (0-50 UPS) (Paffenhöfer, 1991; Rey *et al.*, 1991; Martínez-Barragán *et al.*, 2009), while *A. tonsa* has a broader spectrum of food with a greater ability to select its prey among the material inorganic, even due to its omnivorous capacity, allows it to ingest large phytoplankton cells (which are common in environments influenced by inland waters) and control its potential competitors, preying on its nauplii and copepodites (Paffenhöfer, 1991), in contrast to *T. turbinata* that feeds mainly on diatoms with frustules (Eskinazi-Sant'anna, 2000). This *A. tonsa* feeding strategy is an advantage in the eastern end of the Gulf of Cariaco, due to the influence of inland waters, it is an area with high turbidity, high content of suspended matter, high

con frústulas (Eskinazi-Sant'anna, 2000). Esta estrategia de alimentación de *A. tonsa* es una ventaja en el extremo oriental del golfo de Cariaco, debido a la influencia de las aguas continentales, es una zona con alta turbidez, alto contenido de materia en suspensión, concentraciones altas de nutrientes principalmente de origen terrestre (Márquez *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2011). Además, esta premisa quedó confirmada con la relación directa de *A. tonsa* con la salinidad y la clorofila *a* en el ACC, durante la época de lluvias. De igual manera, Camatti *et al.* (2019) corroboraron que la distribución estacional de *A. tonsa* en la laguna de Venecia, mar Mediterráneo, estaba asociada positiva y significativamente con la temperatura, el fitoplancton, la clorofila *a* y el gradiente de salinidad, confirmando que es una especie tolerante oportunista que puede tomar provecho de los ecosistemas eutróficos.

En el extremo oriental del golfo de Cariaco, la diversidad no mostró diferencias estacionales significativas; no obstante, la comunidad de copépodos presentó valores un poco más altos en lluvia. Este ligero aumento durante los meses de lluvias probablemente estuvo relacionado con la mayor riqueza de especies registradas en este período, a pesar que durante estos meses hubo una mayor contribución de *A. tonsa* en la abundancia total de los copépodos. En este sentido, la abundancia de *A. tonsa* se incrementó con el descenso de la salinidad, debido al incremento de la descarga de los ríos Carinicuaó y Cariaco que descargan justamente en la zona de estudio; sin embargo, no se encontró una correlación significativa entre esta especie y la salinidad, donde se pueda deducir que la salinidad la afecta directamente. Numerosos estudios en estuarios han descrito la reducción en la diversidad de los copépodos durante la estación lluviosa (Mwaluma *et al.*, 2003; Osore *et al.*, 2004; Magalhães *et al.*, 2015); sin embargo, se verificó una tendencia opuesta en el saco del golfo de Cariaco. Los valores bajos de diversidad de copépodos obtenidos en el sector oriental del golfo de Cariaco coinciden con lo encontrado por Magalhães *et al.* (2009) en el estuario de Curuçá, Brasil (0,5-2,7 bits/ind⁻¹) y por Ruíz-Pineda *et al.* (2016) en el sistema estuarino de la bahía de Chetumal, México (1,1-1,8 bits/ind⁻¹).

La equidad a diferencia de la diversidad, si presentó diferencia estacional; no obstante, siguió el mismo patrón de la diversidad, con valores más altos en lluvia. Esta situación coincidió con un incremento en la frecuencia y abundancia de los géneros de hábitos estuarinos *Labidocera*, *Pseudodiaptomus* y *Saphirella* y podría ser el resultado de

concentraciones de nutrientes principalmente de origen terrestre (Márquez *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2011). Furthermore, this premise was confirmed with the direct relationship of *A. tonsa* with salinity and chlorophyll-*a* in the ACC, during the rainy season. Similarly, Camatti *et al.* (2019) corroborated that the seasonal distribution of *A. tonsa* in the Venice lagoon, Mediterranean Sea, was positively and significantly associated with temperature, phytoplankton, chlorophyll-*a* and the salinity gradient, confirming that it is an opportunistic tolerant species that can take advantage of eutrophic ecosystems.

At the eastern end of the Gulf of Cariaco, diversity did not show significant seasonal differences; however, the copepod community showed slightly higher values in rain. This slight increase during the rainy months was probably related to the greater species richness recorded in this period, although during these months there was a greater contribution of *A. tonsa* in the total abundance of copepods. In this sense, the abundance of *A. tonsa* increased with the decrease in salinity, due to the increase in the discharge of the Carinicuaó and Cariaco rivers that discharge precisely in the study area; however, no significant correlation was found between this species and salinity, where it can be deduced that salinity affects it directly. Numerous studies in estuaries have described the reduction in the diversity of copepods during the rainy season (Mwaluma *et al.*, 2003; Osore *et al.*, 2004; Magalhães *et al.*, 2015); however, an opposite trend was verified in the Gulf of Cariaco sack. The low values of copepod diversity obtained in the eastern sector of the Gulf of Cariaco coincide with what was found by Magalhães *et al.* (2009) in the Curuçá estuary, Brazil (0.5-2.7 bits/ind⁻¹) and by Ruíz-Pineda *et al.* (2016) in the Chetumal Bay estuarine system, Mexico (1.1-1.8 bits/ind⁻¹).

Equity unlike diversity, if it presented seasonal differences; however, it followed the same pattern of diversity, with higher values in rainfall. This situation coincided with an increase in the frequency and abundance of the genus of estuarine habits *Labidocera*, *Pseudodiaptomus*, and *Saphirella* and could be the result of a phenomenon of "drift" of zooplankton from the adjacent Caribbean Sea. According to Bradford-Grieve *et al.* (1999) and Ordóñez-López and Ornelas-Roa (2003), these genera with their estuarine-coastal condition are frequent in the coastal zooplankton and their presence in the Gulf of Cariaco sack indicates fauna exchange between estuarine and marine environments. The slight increase

un fenómeno de “deriva” del zooplancton proveniente del mar Caribe adyacente. De acuerdo con Bradford-Grieve *et al.* (1999) y Ordóñez-López y Ornelas-Roa (2003) estos géneros con su condición estuarina-costera son frecuentes en el zooplancton costero y su presencia en el saco del golfo de Cariaco indica intercambio de fauna entre los ambientes estuarinos y marinos. El ligero aumento de los índices ecológicos del zooplancton en la época de lluvias apoya esta hipótesis.

Por consiguiente, se evidenció que durante la época de lluvias se incrementó significativamente el número de individuos y la ocurrencia de ciertas especies. Esto también fue registrado en varios sistemas estuarinos tropicales, registrando densidades altas durante la temporada de lluvias, como por ejemplo el trabajo de Sterza y Fernandes (2006) en la bahía Vitória, sureste de Brasil, el de Garboza da Costa *et al.* (2008) y Da Costa *et al.* (2011) en el estuario Taperaçu y Caeté, respectivamente, norte de Brasil. De hecho, estudios sobre la comunidad de copépodos realizados en zonas estuarinas de regiones tropicales y subtropicales, mencionados anteriormente, coinciden en que la salinidad es el factor determinante en la distribución espacial de algunas especies mientras que factores como la lluvia, la temperatura y el oxígeno disuelto pueden determinar la distribución temporal (Villate *et al.*, 2017).

Diversos trabajos han discutido largamente la relación de los zooplanctéres y el ambiente estuarino, sin embargo es evidente que la abundancia de las poblaciones cambian (Day *et al.*, 1989; Ordóñez-López y Ornelas-Roa, 2003). En este sentido, el gradiente halino, la temperatura y la descarga de agua dulce no fueron los únicos factores que determinaron los patrones de distribución de los copépodos planctónicos, es probable que factores biológicos como el flujo de estadios tempranos (naupliar o copepodites), la competencia y la depredación tengan un papel importante en la variación de la abundancia de los organismos para las poblaciones de copépodos del saco del golfo de Cariaco. Estas presunciones también son apoyadas por Chaalali *et al.* (2013) y David *et al.* (2016), quienes mencionan que la coexistencia y dominancia de pocas especies en el mismo sistema podría ser explicado por las segregaciones espaciales y temporales causadas por las diferencias en las estrategias reproductivas y la dieta.

Los cambios mensuales y estacionales en el balance de la abundancia relativa de las principales especies de copépodos como se visualiza en las curvas de K-dominancia, influyeron directamente en el comportamiento de los índices

in ecological indices of zooplankton in the rainy season supports this hypothesis.

Consequently, it was evident that during the rainy season the number of individuals and the occurrence of certain species increased significantly. This was also recorded in several tropical estuarine systems, registering high densities during the rainy season, such as the work of Sterza and Fernandes (2006) in Vitória Bay, southeast Brazil, that of Garboza da Costa *et al.* (2008) and Da Costa *et al.* (2011) in the Taperaçu and Caeté estuaries, respectively, northern Brazil. Studies on the copepod community carried out in estuarine areas of tropical and subtropical regions, mentioned above, agree that salinity is the determining factor in the spatial distribution of some species, while factors such as rainfall, temperature, and dissolved oxygen can determine the temporal distribution (Villate *et al.*, 2017).

Various studies have long discussed the relationship between zooplankton and the estuarine environment, however, it is evident that the abundance of population changes (Day *et al.*, 1989; Ordóñez-López and Ornelas-Roa, 2003). In this sense, the haline gradient, the temperature, and the freshwater discharge were not the only factors that determined the distribution patterns of the planktonic copepods, it is probable that biological factors such as the flow of early stages (naupliar or copepodites), the Competition and predation play an important role in the variation of the abundance of organisms for the copepod populations of the Gulf of Cariaco sack. These assumptions are also supported by Chaalali *et al.* (2013) and David *et al.* (2016), who mentioned that the coexistence and dominance of few species in the same system could be explained by spatial and temporal segregations caused by differences in reproductive strategies and diet.

The monthly and seasonal changes in the balance of the relative abundance of the main copepod species as visualized in the K-dominance curves directly influenced the behavior of the ecological indices. In particular, the changes in the contribution of *A. tonsa* in the periods studied were responsible for the changes in these indices.

The present study has not shown, in the eastern sector of the Gulf of Cariaco, a clear seasonal pattern in the abundance, diversity, and uniformity of the copepod community and the salinity values, which has also been visualized in the cluster and multidimensional scaling analysis (MDS). Therefore, the studied area can be

ecológicos. En particular, los cambios en la contribución de *A. tonsa* en los períodos estudiados fueron responsables de las alteraciones en estos índices.

El presente estudio no ha mostrado, en el sector oriental del golfo de Cariaco, un claro patrón estacional en la abundancia, diversidad y la uniformidad de la comunidad de copépodos y los valores de salinidad, lo cual también se ha visualizado en el cluster y en el análisis de escalamiento multidimensional (MDS). Por lo tanto, el área estudiada puede considerarse espacialmente uniforme y estacionalmente homogéneo en relación a estos parámetros. Sin embargo, hay que mencionar que la comunidad de copépodos registró una mayor abundancia y riqueza de especies en el período de lluvias. Por lo tanto, investigaciones nuevas sobre la biomasa y estructura comunitaria de los copépodos en el saco del golfo de Cariaco, deben ser evaluadas para proporcionar una mejor comprensión de la estructura trófica de este ecosistema.

En definitiva, se sabe que los copépodos son particularmente sensibles a los cambios ambientales, ya sea como resultado de las condiciones ambientales naturales o por acción antropogénica (Li *et al.*, 2000; Camatti *et al.*, 2019). La interacción entre la actividad antropogénica, el cambio climático y las comunidades planctónicas, centrándose en los cambios sistemáticos en la estructura comunitaria, en la abundancia y la distribución en las últimas décadas, es un tema global clave, así como los potenciales impactos socioeconómicos de estos cambios (Hays *et al.*, 2005). En ambientes con constantes cambios, como el extremo oriental del golfo de Cariaco, por la influencia de la surgencia costera, la descarga de las aguas servidas y la sobrepesca, el monitoreo de la dinámica ecológica de las especies es de suma importancia. En particular, deben considerarse las modificaciones continuas de los ensamblajes de copépodos en respuesta a factores estresantes antropogénicos y ambientales. El monitoreo continuo del plancton actuará como investigación centinela para identificar futuros cambios en este complejo ecosistema fuertemente impactado y su red alimentaria relacionada que proporciona sustento a especies como la sardina (*Sardinella aurita*), el principal recurso pesquero en el golfo (Quintero *et al.*, 2002).

PARTICIPACIÓN DE AUTORES

MRB Toma de la muestra, análisis de datos y escritura del documento, TL análisis de datos estadísticos y escritura del manuscrito y ZRE concepción, diseño y escritura del documento.

considered spatially uniform and seasonally homogeneous with these parameters. However, it should be mentioned that the copepod community registered a greater abundance and species richness in the rainy season. Therefore, new research on the biomass and community structure of copepods in the Gulf of Cariaco sack should be evaluated to provide a better understanding of the trophic structure of this ecosystem.

Ultimately, copepods are known to be particularly sensitive to environmental changes, either as a result of natural environmental conditions or by anthropogenic action (Li *et al.*, 2000; Camatti *et al.*, 2019). The interaction between anthropogenic activity, climate change, and planktonic communities, focusing on systematic changes in community structure, abundance, and distribution in recent decades, is a key global issue, as well as the potential socio-economic impacts of these changes (Hays *et al.*, 2005). In environments with constant changes, such as the eastern end of the Gulf of Cariaco, due to the influence of coastal upwelling, sewage discharge, and overfishing, monitoring the ecological dynamics of the species is of utmost importance. In particular, continuous modifications of copepod assemblies in response to anthropogenic and environmental stressors should be considered. Continuous monitoring of plankton will act as sentinel research to identify future changes in this highly impacted complex ecosystem and its related food web that provides sustenance for species such as sardines (*Sardinella aurita*), the main fishing resource in the gulf (Quintero *et al.*, 2002).

AUTHORS PARTICIPATION

MRB Sample taking, data analysis, and writing of the document, TL analysis of statistical data and writing of the manuscript and ZRE conception, design, and writing of the document.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the support staff and technicians of the Venezuelan Oceanographic Institute who participated in the field and laboratory work. The first author thanks the Research Council of the Universidad de Oriente, for the financial support through the project entitled Planktonic study in the Gulf of Cariaco sack (CI-2-030601-1411/08).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal de apoyo y técnicos del Instituto Oceanográfico de Venezuela que participaron en el trabajo de campo y laboratorio. La primera autora agradece al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, por el apoyo económico a través del proyecto intitulado Estudio planctónico en el saco del golfo de Cariaco (CI-2-030601-1411/08).

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Ara, K. 2002. Variabilidad temporal y producción de *Temoraturbinata* (Copepoda: Calanoida) en el complejo estuarino-lagunar de Cananéia, São Paulo, Brasil. *Sci. Mar.*, 66(4): 399-406. doi:10.3989/scimar.2002.66n4399
- Beisner, B.E. 2001. Plankton community structure in fluctuating environments and the role of productivity. *Oikos*. 95: 496-510. doi:10.1034/j.1600-0706.2001.950315.x.
- Bonilla, J., A. Márquez y B. Gamboa. 1985. Características geoquímicas en núcleos de sedimentos de la región nororiental y río Orinoco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 24(1-2): 43-61.
- Bradford-Grieve, J., E.L. Markhaseva, C.E. Rocha y B. Abiahy. 1999. Copepoda. 869-1098. En: Boltovskoy, D. (Ed.). *South Atlantic Zooplankton*, Netherlands. Backhuys. 1706 p.
- Branco, C.W., B. Kozlowsky-Suzuki and F.A. Esteves. 2007. Environmental changes and zooplankton temporal and spatial variation in a disturbed Brazilian coastal lagoon. *Braz. J. Biol.*, 67: 251-262. doi:10.1590/S1519-69842007000200010.
- Briceño, H., R. Buonocore, C. Sangronis, L. García, J. Rojas, J. Chirinos, A. González y C. López. 2009. Composición y abundancia del plancton de la Costa noreste de la bahía El Tablazo, Sistema de Maracaibo, Venezuela. *Bol. Centro Invest. Bio.*, 43(4): 463-485.
- Calliari, D., C.M. Andersen, P. Thor, E. Gorokhova and P. Tiselius. 2006. Salinity modulates the energy balance and reproductive success of co-occurring copepods *Acartia tonsa* and *Acartia clause* in different ways. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 312: 177-188.
- Camatti, E., M. Pansera and A. Bergamasco. 2019. The copepod *Acartia tonsa* dana in a microtidal Mediterranean lagoon: history of a successful invasion. *Water*, 11(6): 1200. doi:10.3390/w11061200.
- Campos-Hernández, A y E. Suárez-Morales. 1994. Copépodos pelágicos del golfo de México y mar Caribe. I. *Biología y Sistemática*. Centro de Investigaciones de Quintana Roo. Conacyt. México. 398 p.
- Caraballo, M. 1982. El golfo de Cariaco. Parte I. Morfología y batimetría submarina. Estructuras y tectonismo reciente. *Bol. Inst. Oceanogr.*, 21(1 y 2): 13-35.
- Cervetto, G., R. Gaudy and M. Pagano. 1999. Influence of salinity on the distribution of *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 239(1): 33-45. doi:10.1016/S0022-0981(99)00023-4.
- Chaalali, A., G. Beaugrand, V. Raybaud, E. Goberville, V. David, P. Boëty and B. Sautour. 2013. Climatic facilitation of the colonization of an estuary by *Acartia tonsa*. *PLoS ONE* 8: e74531. doi:10.1371/journal.pone.0074531.
- Clarke, K and R. Gorley. 2006. *PRIMER v5 (and v6): User manual/tutorial*. Plymouth: PRIMER-E.
- Cochran, W.G. 1977. *Sampling Techniques*. (3rd edition). Wiley, New York.
- Cronin L.E., J.D. Daiber and E.M. Hulbert. 1962. Quantitative seasonal aspects of zooplankton in the Delaware River Estuary. *Chesapeake Sci.*, 3: 63-93.
- Da Costa, R.M., P. Atique, K.G. Da Costa and L.C. Pereira. 2011. Seasonal and spatial variation in hydrological parameters and microzooplankton communities in an Amazonian estuary. *J. Coastal. Res.*, (64): 1477-1481.
- David, V., J. Selleslagh, A. Nowaczyk, S. Dubois, G. Bachelet, H. Blanchet, B. Gouillieux, N. Lavesque, M. Leconte, N. Savoye, B. Sautour and J. Lobry. 2016. Estuarine habitats structure zooplankton communities: Implications for the pelagic trophic pathways. *Estuar. Coast. Shelf. S.*, 179: 99-111. doi:10.1016/j.eess.2016.01.022.
- Day J.W., C.A. Hall, W.M. Kemp and A. Yanez-Arancibia. 1989. *Estuarine ecology*. John Wiley and Sons, New York.
- Elliott, M. and A.K. Whitfield. 2011. Challenging paradigms in estuarine ecology and management. *Estuar. Coast. Shelf. S.*, 94(4): 306-314. doi:10.1016/j.eess.2011.06.016.
- Escamilla, J.B., U. Ordóñez-López U y E. Suárez-Morales. 2011. Variabilidad espacial y estacional de *Acartia* (Copepoda) en una laguna costera del sur del golfo de México. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 46: 379-390. doi:10.4067/S0718-19572011000300008.
- Eskinazi-Sant'anna, E.M. 2000. Estudo da dieta natural de *Parvocalanus crassirostris*, *Paracalanus quasimodo*, *Temora stylifera* e *Temora turbinata* (Copepoda, Calanoida), no Canal de São Sebastião (SP, Brasil). São Paulo, Tese (Doutorado em Oceanografia). Universidade de São Paulo.



- Garboza da Costa, I.K., L.C. Carneiro y M. Da Costa. 2008. Short and long-term temporal variation of the zooplankton in a tropical estuary (Amazon region, Brazil). *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Nat.*, Belém. 3(2): 127-141.
- Gómez, A. 1983. Pigmentos clorofílicos, producción primaria y abundancia planctónica en el canal de entrada a la laguna de La Restinga, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 22(1-2): 43-63.
- Hays, G.C., A.J. Richardson and C. Robinson. 2005. Climate change and marine plankton. *Trends Ecol. Evol.*, 20: 337-344. doi:10.1016/j.tree.2005.03.004.
- Hwang, J.S., S. Souissi, L.C. Tseng, L. Seuront, F. Schmitt and L.S. Fang. 2006. A 5-year study of the influence of the northeast and southwest monsoons on copepod assemblages in the boundary coastal waters between the East China Sea and the Taiwan Strait. *J. Plank. Res.*, 28(10): 943-958. doi:10.1093/plankt/fbl031.
- Infante, J. y L. Urosa. 1986. Distribución vertical de copépodos en aguas deficientes de oxígeno. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 25(1-2): 175-194.
- Kiorboe, T. 2011. What makes pelagic copepods so successful? *J. Plank. Res.*, 33(5): 677-685
- Krebs, C.J. 1999. *Ecological methodology*. Second edition. New York: Addison-Wesley. Educational Publishers, Inc., Menlo Park. 620 p.
- Lamshead, P.J., H.M. Platt and K.M. Shaw. 1983. The detection of differences among assemblages of marine benthic species based on an assessment of dominance and diversity. *J. Nat. Hist.*, 17: 859-874.
- Legaré, E.H. 1961. Estudios preliminares del zooplancton en la región de Cariaco. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 1(1): 191-218.
- Legendre, P. and L. Legendre. 1998. *Numerical ecology*. 2nd English Edition, Elsevier Science, Amsterdam. 852 p.
- Li, M., A. Gargett and K. Denman. 2000. What determines seasonal and interannual variability of phytoplankton and zooplankton in strongly estuarine systems? Application to the semi enclosed estuary of Strait of Georgia and Juan de Fuca Strait. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, 50: 467-488.
- López-Monroy, F. y L. Tróccoli. 2015. Aproximación sobre la climatología de la isla de Margarita y su importancia en los procesos oceánicos. *Saber*, 26(4): 467-471.
- López-Peralta, R.H. y L.H. Mojica-López. 2015. Influencia abiótica sobre algunos géneros de copépodos (Crustacea) epipelágicos en el pacífico colombiano. Septiembre de 2002. *Revista Fac. Ciencias B. Universidad Militar Nueva Granada*, 11(1): 20-33.
- Lorenzoni, L., G.T. Taylor, C. Benítez, D.A. Hansell, E. Montes, R. Masserini, K. Fanning, R. Varela, Y. Astor, L. Guzmán and F. Muller-Karger. 2013. Spatial and seasonal variability of dissolved organic matter in the Cariaco Basin. *J. Geophys. Res-Bioge.*, 118:951-962. doi.org/10.1002/jgrg.20075.
- Magalhães, A., L.C. Pereira and R.M. Costa. 2015. Relationships between copepod community structure, rainfall regimes, and hydrological variables in a tropical mangrove estuary (Amazon coast, Brazil). *Helgol. Mar. Res.*, 69(1): 123-136. <https://doi.org/10.1007/s10152-014-0421-4>.
- Magalhães, A., N. Leite, J.G. Silva, L.C. Pereira and R.M. Da Costa. 2009. Seasonal variation in the copepod community structure from a tropical Amazon estuary, Northern Brazil. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 81(2): 187-197.
- Marques, S.C., U.M. Azeiteiro, J.C. Marques, J. Neto and M.A. Pardal. 2006. Zooplankton and ichthyoplankton communities in a temperate estuary: spatial and temporal patterns. *J. Plank. Res.*, 28(3): 297-312. doi:10.1093/plankt/fbi126.
- Márquez, A., W. Senior, A. Benítez, I. Fermín, G. Martínez, A. González, J. Castañeda, L. Alcalá y R. De la Cruz. 2011. Sector oriental del golfo de Cariaco, Venezuela. Una descripción de su dinámica hidroquímica, procesos y del rol de la surgencia costera estacional. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 50(2): 255-272.
- Márquez-Rojas, B., B. Marín, E. Zoppi y C. Moreno. 2006. Zooplancton del golfo de Cariaco. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 45(1): 61-78.
- Márquez-Rojas, B., E. Zoppi de Roa, L. Tróccoli y E. Montiel. 2017. Cambios estructurales del mesozooplancton en relación a las condiciones hidrográficas en el golfo de Cariaco, Venezuela. *Biota Colombiana* 18(1): 148-171. DOI: 10.21068/c2017.v18n01a9.
- Márquez-Rojas, B., L. Tróccoli, L. Marcano, J. Morales, T. Allen, B. Marín y R. Díaz. 2011. Estructura comunitaria del zooplancton en dos localidades del golfo de Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 45(1): 61-78.
- Márquez-Rojas, B., O. Díaz-Díaz, L. Tróccoli, J. Morales y L.M. Marcano. 2014a. Corycaidae Dana, 1852 (Copepoda: Poecilostomatoida) del golfo de Cariaco, Venezuela. *MES.*, 9(3): 1-18.
- Márquez-Rojas, B., O. Díaz-Díaz, L. Tróccoli, J. Morales y L.M. Marcano. 2014b. Distribución espacial y abundancia de la Familia Corycaidae Dana, 1852 (Copepoda: Poecilostomatoida) en el golfo de Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 53(2): 221-233.
- Martínez, G., D. Hernández, A. Quintero, A. Márquez, W. Senior y A. González. 2011. Estudio físicoquímico de las aguas del sector oriental del golfo de Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 50(2): 273-287.
- Martínez-Barragán, M., J. Medina-Calderón, A. Franco-Herrera y A. Santos-Martínez. 2009. La comunidad de copépodos (Crustacea) en las islas de Providencia y Santa Catalina (Caribe colombiano) durante el período lluvioso de 2005. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 38(1): 85-103.
- Mauchline, J. 1998. *The Biology of Calanoid copepods*. *Advances in Marine Biology*. V. 33, Academic Press, New York. 710p.
- Mclusky, D.S. and M. Elliott. 2004. *The estuarine ecosystem: ecology, threats and management*. Oxford University Press, New York. 216 p.
- Mwaluma, J., M. Osore, J. Kamau and P. Wawiye. 2003. Composition, abundance and seasonality of zooplankton in Mida Creek, Kenya. *Western Indian Ocean J. Mar. Sci.*, 2(2): 147-155. doi:10.4314/wiojms.v2i2.28440.

- Neumann-Leitão, S., P.A. Melo, R. Schwamborn, X.F. Diaz, L.G. Figueiredo, A.P. Silva and M. Araújo. 2018. Zooplankton from a reef system under the influence of the Amazon River plume. *Front. Microbiol.*, 9: 355-361. doi:10.3389/fmicb.2018.00355.
- Okuda, T., J. Bonilla, J. Benítez, A. García y G. Cedeño. 1978. Características hidrográficas del golfo de Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 17(1-2): 69-88.
- Ordóñez-López, U. y M. Ornelas-Roa. 2003. Variación de la comunidad de copépodos plánticos en el gradiente estuarino-costero de Celestún, Yucatán, México. *Hidrobiológica*, 13: 231-238.
- Osore, M.K., J.M. Mwaluma, F. Fiers and M.H. Daro. 2004. Zooplankton composition and abundance in Mida Creek, Kenya. *Zool. Stud.*, 43(2): 415-424.
- Paffenhöfer, G. 1991. Some characteristics of abundant subtropical copepods in estuarine, shelf and oceanic waters. *Proc. 4th International Conference on Copepoda. Bull. Plank. Soc. Jpn. Spec.*, 1: 201-216.
- Peck, N., J. Peters, R. Diekmann, S. Laakmann and J. Renz. 2015. Interactive effects of temperature and salinity on populations of the calanoid copepod *Acartia tonsa*. *J. Plank. Res.*, 37(1): 197-210. doi:10.1093/plankt/fbu093.
- Quintero, A., G. Terejova, G. Vicent, A. Padrón y J. Bonilla J. 2002. Los pescadores del golfo de Cariaco. *Interciencia*, 27(6): 286-292.
- Razouls, C., F. De Bovée, J. Kouwenberg y N. Desreumaux. 2005-2019. Diversity and geographic distribution of marine planktonic copepods. <http://copepodes.obs-banyuls.fr/en.19/07/2019>.
- Rey, J.R., T. Kain, R. Crossman, M. Peterson, J. Shaffer y F. Vose. 1991. Zooplankton of impounded marshes and shallow areas of a subtropical lagoon. *Florida Scientist.*, 54(3-4): 191-203.
- Rice, E., H.G. Dam y G. Stewart. 2015. Impact of climate change on estuarine zooplankton: surface water warming in long island sound is associated with changes in copepod size and community structure. *Estuaries and Coasts*, 38:13-23. doi:10.1007/s12237-014-9770-0.
- Rose, T.H., J.R. Tweedley, R.M. Warwick y I.C. Potter. 2019. Zooplankton dynamics in a highly eutrophic microtidal estuary. *Mar. Pollut. Bull.*, 142: 433-451. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.047>.
- Ruiz-Pineda, C., E. Suárez-Morales y R. Gasca. 2016. Copépodos planctónicos de la bahía de Chetumal, Caribe mexicano: variaciones estacionales durante un ciclo anual. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 51(2): 301-316. doi: 10.4067/S0718-19572016000200008.
- Seda, J. and M. Devetter. 2000. Zooplankton community structure along a trophic gradient in a canyon-shaped dam reservoir. *J. Plank. Res.*, 22(10): 1829-1840. doi:10.1093/plankt/22.10.1829.
- Sheskin, D. 2004. Parametric and nonparametric statistical procedures. 4ed. Boca Ratón, Florida: Chapman & Hall. 585 p.
- Simpson, J. y R. Griffith. 1967. La distribución de densidad pesquera en el golfo de Cariaco, Venezuela. *Serie: Recursos y explotación pesqueros*, 1(8): 305-320.
- Sterza, J.M. and L. Fernandes. 2006. Zooplankton community of the Vitória Bay estuarine system (Southeastern Brazil). Characterization during a three-year study. *Braz. J. Oceanogr.*, 95-105. doi: 10.1590/S1679-87592006000200001.
- Strickland, J.D. and T.R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. 2ed. J. Fish. Res. Board.Can. *Bulle.* 167 p.
- Suárez-Morales, E. 1995. Clave ilustrada para la identificación de los copépodos plánticos de la bahía de Chetumal. *Ava. Cient.*, 12: 16-24.
- Teiguel-C, N.K. 2015. Efecto del estrés halino en la tasa de crecimiento y Reproducción de *Acartia tonsa* en el estuario del río Valdivia. Universidad Austral de Chile. Tesis de maestría. Chile. 177 p.
- Ter Braak, C.J. and P.E. Verdonschot. 1995. Canonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology. *Aquat. Sci.*, 57(3): 255-289.
- Vásquez-Yeomans, L., I. Castellanos, E. Suárez-Morales y R. Gasca. 2012. Variación espacio-temporal de la biomasa de zooplancton en un sistema estuarino del Caribe Occidental durante dos ciclos anuales. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 47(2): 213-225. doi.org/10.4067/S0718-19572012000200005.
- Villalba, W., Márquez-Rojas, B., L. Tróccoli, M. Alzolar y J. López. 2017. Composición y abundancia del zooplancton en la laguna El Morro, isla de Margarita, Venezuela. *Rev. Peru. Biol.*, 24(4): 343-356. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v24i4.14062>.
- Villate, F., A. Iriarte, I. Uriarte and I. Sánchez. 2017. Seasonal and interannual variability of mesozooplankton in two contrasting estuaries of the Bay of Biscay: Relationship to environmental factors. *J. Sea Res.*, 130: 189-203. doi:10.1016/j.seares.2017.05.002.
- Vukanic, V., N. Glisovic, T. Jaksic, N. Zivic y D. Vukanic. 2018. Seasonal abundance of copepods in the Bojana Estuary (Southeastern Adriatic Sea). *Fresen Environ Bull.*, 27: 7209-7221.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*, 4th ed., Prentice Hall, Englewoods Cliff, New Jersey. 699 p.
- Zoppi, E. 1961. Distribución vertical del zooplancton en el golfo y extremo este de la fosa de Cariaco. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 1(1): 219-248.
- Zoppi, E. 1974. Comparación de algunas características del plancton entre las lagunas costeras de Tacarigua y Unare, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 13(1-2): 129-146.



Variación espacio-temporal de larvas de peces en el golfo de Guayaquil, Ecuador

Temporal space-variation of fish larvae in the Gulf of Guayaquil, Ecuador

Gregoria Calderón-Peralta^{1,2*}, Gabriela Ayora-Macías^{1,2} y Pilar Solís-Coello¹

0000-0001-9464-9246

0000-0002-9415-323X

0000-0002-3735-9303

1. Instituto Nacional de Pesca. Guayaquil, Ecuador.

2. Lab. Ictioplancton. Guayaquil, Ecuador. gcalderon@institutopesca.gob.ec*, gayora@institutopesca.gob.ec, psolis@institutopesca.gob.ec

* Autora para correspondencia.

RESUMEN

Este estudio presenta la densidad, composición taxonómica, distribución espacial y temporal de larvas de peces en el golfo de Guayaquil, así como la relación con algunas variables físico-químicas. Se recolectaron muestras en 16 estaciones, tomadas en la primera milla náutica del estuario externo e interior del golfo, ubicadas frente a la provincia de Guayas y noroeste de la isla Puná, durante junio a diciembre de 2012. Se realizaron arrastres superficiales con una red cónica simple (ojo de malla: 300 μm ; diámetro de boca: 0,3 m; largo: 1,2 m). La temperatura, salinidad y transparencia fueron medidas antes de cada arrastre. Se detectaron diferencias significativas entre zonas, registrando mayor temperatura, menor salinidad y transparencia en el estuario interior. Se colectaron 321 638 ind/100m³ de larvas de peces, pertenecientes a 13 familias y 36 especies entre la zona externa e interna. Engraulidae (58,9 %) fue la familia más abundante en las estaciones del estuario exterior, seguida de Sciaenidae (22,8 %) y Haemulidae (9,6 %). Las familias más frecuentes en el estuario interior fueron Engraulidae (74,4 %) y Gobiidae (16,1 %). El 85 % de la densidad total fue aportada por cinco especies, de las cuales *Anchoa* sp. y *Bairdiella* sp. fueron las más abundantes y dominantes, principalmente durante diciembre. La estructura y composición de la comunidad larvaria fue significativamente diferentes entre áreas (MW-U = 450; $p < 0,05$) y meses de muestreo (KW = 14,24; $p < 0,05$), con mayores registros en el estuario exterior durante diciembre. Con el análisis de redundancia (ADR) se observa que, en el área externa, las especies estuvieron asociadas con la transparencia del agua, mientras que las especies que concurren en la zona interna se relacionaron positivamente con la salinidad. En términos generales, la abundancia y riqueza de larvas de peces en el área externa del golfo de Guayaquil está relacionada con las condiciones de transparencia y salinidad local, las cuales favorecieron a la presencia larval.

PALABRAS CLAVE: ictioplancton, golfo de Guayaquil, variables hidrográficas, estuario, Ecuador.

ABSTRACT

This study presents the density, taxonomic composition, spatial and temporal distribution of fish larvae in the Gulf of Guayaquil, as well as the relationship with some physical-chemical variables. Samples were collected at 16 stations, taken in the first nautical mile of the external and internal estuary of the gulf, located in front of the province of Guayas and northwest of the island of Puná, during June to December 2012. Surface trawls were carried out with a simple conical network (mesh eye: 300 μm ; mouth diameter: 0.3 m; length: 1.2 m). Temperature, salinity, and transparency were measured before each drag. Significant differences were detected between zones, registering higher temperatures, lower salinity, and transparency in the interior estuary. 321 638 ind/100m³ of fish larvae were collected, belonging to 13 families and 36 species between the external and internal zone. Engraulidae (58.9 %) was the most abundant family in the exterior estuary stations, followed by Sciaenidae (22.8 %) and Haemulidae (9.6 %). Most frequent families in the interior estuary were Engraulidae (74.4 %) and Gobiidae (16.1 %). 85 % of the total density was contributed by five species, of which *Anchoa* sp. and *Bairdiella* sp. were the most abundant and dominant, mainly during December. Structure and composition of the larval community were significantly different between areas (MW-U = 450; $p < 0.05$) and months of sampling (KW = 14.24; $p < 0.05$), with higher records in the exterior estuary during December. With the redundancy analysis (ADR) it is observed that in the exterior area, the species were associated with the transparency of the water, while the species that concurred in the interior zone were positively related to salinity. In general terms, the abundance and richness of fish larvae in the external area of the Gulf of Guayaquil is related to the conditions of transparency and local salinity, which favored the larval presence.

KEYWORDS: ichthyoplankton, gulf of Guayaquil, hydrographic variables, estuary, Ecuador.

DOI: 1025268/bimc.invemar.2020.49.1.778

Publicado por INVEMAR

Este es un manuscrito de acceso abierto bajo la licencia CC Reconocimiento-No Comercial-Compartir Igual

Published by INVEMAR

This is an open Access article under the CC BY-NC-SA

INTRODUCCIÓN

El golfo de Guayaquil constituye el rasgo geomorfológico más singular de todo el perfil de la costa ecuatoriana. Se trata de una región oceánica y otra costera dividida en dos grandes sistemas estuarinos con propiedades fisiográficas, geológicas y oceanográficas, características representadas por su alta productividad, baja diversidad y un pronunciado estrés ambiental, dominado por impredecibles fluctuaciones de salinidad (Comisión Asesora Ambiental [CAAM], 1995).

Los estuarios juegan un rol destacado en el ciclo vital de muchas poblaciones marinas (Ketchum, 1992). Son identificados como sitios importantes de crianza, dada la disponibilidad apropiada de áreas para refugio y/o alimentación, lo cual genera condiciones favorables para el asentamiento de larvas y juveniles de diferentes organismos acuáticos de valor económico (Barletta *et al.*, 1998, 2003; Able *et al.*, 1999) como crustáceos, moluscos y peces. Estos últimos están considerados como uno de los grupos más importantes, puesto que desempeñan roles ecosistémicos significativos tales como transformación del potencial energético del detritus, transferencia de energía entre diferentes niveles de las redes tróficas y balance de energía entre ecosistemas vecinos (Yáñez-Arancibia y Nugent, 1977; Beck *et al.*, 2001).

Las comunidades de peces estuarinos representan una combinación de especies de agua dulce y marina, que viven en el límite de su distribución, residentes estuarinos y especies migratorias que atraviesan el estuario con fines reproductivos o tróficos (Maes *et al.*, 1998). La distribución de sus etapas planctónicas está determinada en conjunto por diversos factores fisicoquímicos, ciclo de mareas y corrientes, dado que las larvas al permanecer suspendidas en la columna de agua están en mayor grado relacionadas a los movimientos de los ciclos mareales. De igual modo, están sujetas a los ciclos anuales de maduración de los adultos conjuntamente con sus estrategias reproductivas, ya que más del 80 % de los peces litorales utilizan el estuario en alguna de sus etapas de madurez y/o desarrollo (Yáñez-Arancibia y Nugent, 1977). La gran mayoría entran al estuario como larvas, desde ambientes marinos adyacentes; otros peces desovan dentro del estuario hasta completar su ciclo de vida y lo abandonan siendo juveniles (Whitfield, 1999). Por ende, la composición del ictioplancton de un estuario es fluctuante a lo largo del tiempo y existe poca relación con la composición de adultos cuando se trata de especies

INTRODUCTION

The Gulf of Guayaquil constitutes the most singular geomorphological feature of the entire profile of the Ecuadorian coast. It is an oceanic and a coastal region divided into two large estuarine systems with physiographic, geological and oceanographic properties, characteristics represented by its high productivity, low diversity and pronounced environmental stress, dominated by unpredictable fluctuations in salinity (Comisión Asesora Ambiental [CAAM], 1995).

Estuaries play a prominent role in the life cycle of many marine populations (Ketchum, 1992). They are identified as important breeding sites, given the appropriate availability of areas for shelter and/or feeding, which generates favorable conditions for the settlement of larvae and juveniles of different aquatic organisms of economic value (Barletta *et al.*, 1998, 2003; Able *et al.*, 1999) such as crustaceans, mollusks, and fish. The latter is considered one of the most important groups since they play significant ecosystem roles such as the transformation of the debris energy potential, energy transfer between different levels of the trophic networks and energy balance between neighboring ecosystems (Yáñez-Arancibia and Nugent, 1977; Beck *et al.*, 2001).

Estuarine fish communities represent a combination of freshwater and marine species, living on the edge of their distribution, estuarine residents, and migratory species that traverse the estuary for reproductive or trophic purposes (Maes *et al.*, 1998). The distribution of their planktonic stages is determined jointly by various physicochemical factors, tidal cycle and currents, since the larvae when suspended in the water column are to a greater degree related to the movements of the tidal cycles. Likewise, they are subject to the annual maturation cycles of adults together with their reproductive strategies, since more than 80 % of the coastal fish use the estuary in one of its stages of maturity and/or development (Yáñez-Arancibia and Nugent, 1977). The vast majority enters the estuary as larvae, from adjacent marine environments; other fish spawn within the estuary to complete their life cycle and leave it as juveniles (Whitfield, 1999). Therefore, the composition of the ichthyoplankton in an estuary fluctuates over time, with little relation to the composition of adults when it comes to non-resident species. Given this, knowledge of the temporal and spatial distribution of ichthyoplankton is essential, not only for understanding adult population fluctuations and

no residentes. Dado esto, el conocimiento de la distribución temporal y espacial del ictioplancton es fundamental, no solo para el entendimiento de las fluctuaciones poblacionales de los adultos y sus áreas potenciales de desove, sino también para comprender el funcionamiento general del ecosistema estuarino (Moser y Smith, 1993a; Cowan y Shaw, 2002; Ottersen *et al.*, 2010) y la recurrencia de las especies en este sistema.

En Ecuador, se han desarrollado variadas investigaciones taxonómicas de larvas de peces marinos, pudiendo establecer su distribución y abundancia. Los trabajos de Cajas e Hinostroza (1981), Peribonio *et al.* (1981), García (1983), Ortega *et al.* (1996), Luzuriaga de Cruz *et al.* (1998), Torres *et al.* (2003-2004) y Calderón *et al.* (2018) enfatizan al golfo de Guayaquil como un área productiva, siendo particularmente al sur de la isla Puná donde se presenta la mayor dominancia de huevos y larvas de peces primordialmente de interés comercial, y que se extiende al norte del golfo hacia la costa y al sur del océano, donde según Jiménez y Bonilla (1980) existe una relación entre el patrón de distribución del fitoplancton con el del ictioplancton. Recientemente, Salcedo y Coello (2018), en su trabajo sobre la dinámica del plancton frente a la provincia de El Oro, reportan la dominancia de larvas de peces de la familia Engraulidae con dos períodos de abundancia, de junio a agosto y de octubre a diciembre, resultado de las concentraciones de *Anchovia macrolepidota*, la especie característica de este ecosistema. El presente trabajo de investigación determinó los patrones de densidad y distribución (espacial y temporal) de larvas de peces en el estuario interior y exterior adyacente del golfo de Guayaquil, evaluando su relación con las condiciones locales de temperatura, salinidad y transparencia, durante junio a diciembre de 2012, meses que caracterizan a la época seca y de transición en el Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La provincia del Guayas está ubicada al suroeste de Ecuador y recibe la influencia de varias corrientes marinas, especialmente la fría de Humboldt durante la época seca, de julio a noviembre, y la cálida de El Niño en la época lluviosa, de enero a mayo, mientras que junio y diciembre son considerados meses de transición (Twilley *et al.*, 2001; Prado *et al.*, 2015), los cuales producen un clima de tipo tropical sabana y tropical monzón con temperaturas promedio de 25°C y precipitaciones anuales entre 500 a 1000 mm (Twilley *et al.*,

their potential spawning areas but also for understanding the general functioning of the estuarine ecosystem (Moser and Smith, 1993a; Cowan and Shaw, 2002; Ottersen *et al.*, 2010) and the recurrence of species in this system.

In Ecuador, various taxonomic investigations of marine fish larvae have been carried out, establishing their distribution and abundance. The works by Cajas and Hinostroza (1981), Peribonio *et al.* (1981), García (1983), Ortega *et al.* (1996), Luzuriaga de Cruz *et al.* (1998), Torres *et al.* (2003-2004) and Calderón *et al.* (2018) emphasize the Gulf of Guayaquil as a productive area, being particular to the south of the Puná Island where the increased dominance of fish eggs and larvae primarily of commercial interest, and that it extends to the north of the gulf towards the coast and to the south of the ocean, where according to Jiménez and Bonilla (1980) there is a relationship between the distribution pattern of phytoplankton with that of ichthyoplankton. Recently, Salcedo and Coello (2018), in their work on the dynamics of plankton against the province of El Oro, report the dominance of fish larvae of the family Engraulidae with two periods of abundance, from June to August and from October to December, a result of the concentrations of *Anchovia macrolepidota*, the characteristic species of this ecosystem. This research work determined the density and distribution patterns (spatial and temporal) of fish larvae in the adjacent interior and exterior estuary of the Gulf of Guayaquil, evaluating their relationship with local conditions of temperature, salinity, and transparency, during June to December 2012, months that characterize the dry and transitional season in Ecuador.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The Guayas province is located in the southwest of Ecuador and is influenced by several marine currents, especially the cold of Humboldt during the dry season, from July to November, and the warm El Niño in the rainy season, from January to May; while June and December are considered transitional months (Twilley *et al.*, 2001; Prado *et al.*, 2015), which produce a tropical savanna and tropical monsoon type climate with average temperatures of 25 °C and annual rainfall between 500 to 1000 mm (Twilley *et al.*, 2001). In the coastal margin of this province, the Gulf of Guayaquil (3° S. 80° W), the Southeast Pacific main estuary, is located, which is divided into two specific areas: a so-called exterior estuary, an open oceanic region

2001). En el margen costero de esta provincia, está ubicado el golfo de Guayaquil (3° S. 80° W), principal estuario del Pacífico sudeste, el cual se divide en dos áreas específicas: una denominada estuario exterior, región oceánica abierta influenciada por las masas de aguas del pacífico tropical, que se inicia a la altura de la puntilla de Santa Elena y posee como límite la plataforma a lo largo del meridiano 81° W hasta el lado occidental de la isla Puná (80° $15'$ W), con predominio de cordones litorales y acantilados altos e inestables (Ayón, 1987). Por otra parte, el estuario interior, conocido como el estuario del río Guayas, se encuentra conformado al noroeste por el estero Salado y al sureste por el estero Churute, que recibe los aportes de los ríos Taura y Churute (Cucalón, 1996), regido principalmente por las mareas, la descarga fluvial y el esfuerzo del viento, con abundancia de manglar que le da un aspecto de un gran pantano (CAAM, 1995). En términos generales, la profundidad del golfo de Guayaquil en la plataforma continental va desde 180 m en el borde occidental hasta menos de 20 m en la parte interior (Montaño-Armijos y Sanfeliu-Montolio, 2008).

Muestreo

El material proviene de 112 muestras de zooplancton recolectadas en 16 estaciones de muestreo, ubicadas a 1 mn (1,8 km) de distancia del margen costero frente a la provincia del Guayas y el noroeste de la isla Puná, durante el período de época seca (julio a noviembre) y transición (junio y diciembre) de 2012. Las estaciones fueron seleccionadas por su importancia como áreas de actividad reproductiva de peces y categorizadas en función de su ubicación: la zona interna o estuario interior, representada por ocho (8,9,10,11,12,13,14 y 15) estaciones someras y cercanas a la influencia de estuarios y ríos, y la zona externa o estuario exterior por ocho (1,2,3,4,5,6,7 y 16) estaciones con mayor influencia marina (Figura 1).

En cada estación se efectuaron registros verticales de temperatura y salinidad con un perfilador de CTD marca Sea-Bird, modelo Seacat S19V2, y la transparencia del agua se determinó con un disco Secchi (m). Las muestras de zooplancton fueron colectadas durante marea alta mediante arrastres superficiales (0-1 m de profundidad), diurnos (entre las 08:00 y 11:00 horas), circulares, con una duración de 5 min y a una velocidad de 3,7 km/h a bordo de una embarcación con motor fuera de borda. Se utilizó una red cónica simple de 30 cm de diámetro, 1,2 m de longitud y 300 μ m de abertura de malla. En la boca de la red se adosó un flujómetro General Electric® para cuantificar el volumen de agua filtrada y estandarizar la abundancia por unidad de volumen. Las

influenciadas por las masas de aguas tropicales del Pacífico, que comienza a la altura de la punta de Santa Elena y tiene como límite la plataforma a lo largo del meridiano 81° W hasta el lado occidental de la isla Puná (80° $15'$ W), con predominio de cordones litorales y acantilados altos e inestables (Ayón, 1987). Por otra parte, el estuario interior, conocido como el estuario del río Guayas, se encuentra conformado al noroeste por el estero Salado y al sureste por el estero Churute, que recibe los aportes de los ríos Taura y Churute (Cucalón, 1996), gobernado principalmente por las mareas, la descarga fluvial y el esfuerzo del viento, con abundancia de manglares que le dan un aspecto de un gran pantano (CAAM, 1995). En términos generales, la profundidad del Golfo de Guayaquil en la plataforma continental varía desde 180 m en el borde occidental hasta menos de 20 m en el interior (Montaño-Armijos y Sanfeliu-Montolio, 2008).

Sampling

The material comes from 112 samples of zooplankton collected in 16 sampling stations, located 1 mn (1.8 km) away from the coastal margin in front of the province of Guayas and northwest of the island of Puná, during the dry season period (July to November) and transition (June and December) 2012. The stations were selected for their importance as areas of fish reproductive activity and categorized according to their location: the interior zone or inland estuary, represented by eight (8,9, 10,11,12,13,14 and 15) shallow and close stations influenced by estuaries and rivers, and the exterior zone or exterior estuary by eight (1,2,3,4,5,6,7 and 16) stations with greater marine influence (Figure 1).

Vertical records of temperature and salinity were made in each station with a Sea-Bird brand CTD profiler, Seacat S19V2 model, and the transparency of the water was determined with a Secchi (m) disk. The zooplankton samples were collected at high tide using surface trawls (0-1 m deep), daytime (between 08:00 and 11:00 am), circular, with a duration of 5 min and at a speed of 3.7 km/h on board a boat with an outboard motor. A simple conical net 30 cm in diameter, 1.2 m in length, and 300 μ m of mesh opening was used. At the mouth of the network, a General Electric® flowmeter was attached to quantify the volume of filtered water and standardize the abundance per unit volume. The zooplankton samples were fixed in a formalin solution with seawater at a final concentration of 4 % and transported to the Ichthyoplankton Laboratory of the National Fisheries Institute (Guayaquil, Ecuador).

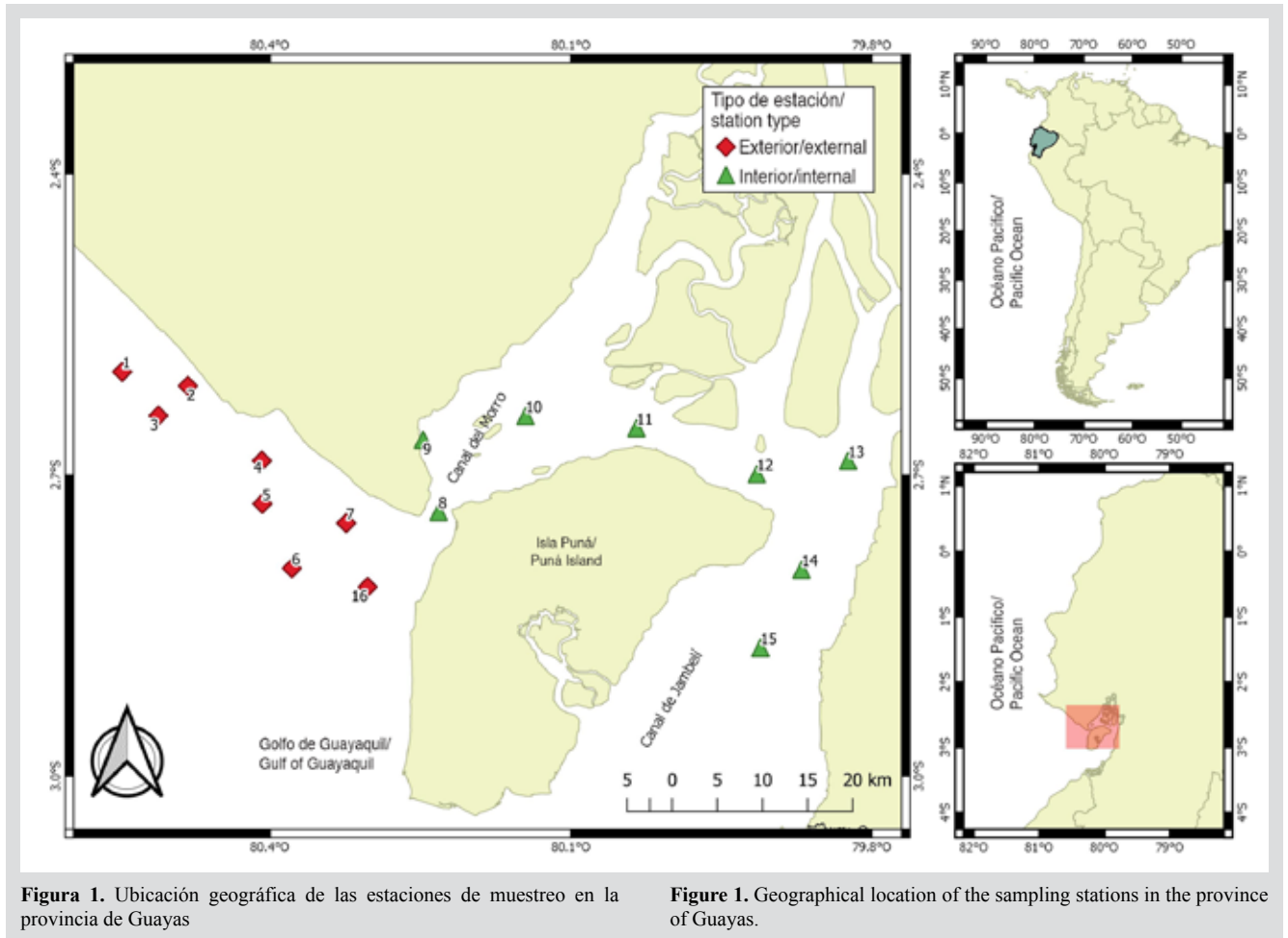


Figura 1. Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo en la provincia de Guayas

Figure 1. Geographical location of the sampling stations in the province of Guayas.

muestras de zooplancton fueron fijadas en una solución de formalina con agua de mar a una concentración final de 4 % y se transportaron al Laboratorio de Ictioplancton del Instituto Nacional de Pesca (Guayaquil, Ecuador).

Análisis de laboratorio

Se revisó la totalidad de cada una de las muestras. Se separaron, contaron y estandarizaron a número de individuos/100 m³ de superficie marina, a partir del método descrito por Smith y Richardson (1979). Las larvas fueron identificadas hasta el menor nivel taxonómico posible, siguiendo los criterios establecidos en Moser (1996), Beltrán-León y Ríos (2000-2001), Richards (2005) y Calderón (2011).

Análisis de datos

Se evaluaron las diferencias de la variabilidad hidrográfica y la abundancia de larvas de peces, considerando como factor de variabilidad en el espacio las zonas de estudio (interna y externa) y utilizando la prueba paramétrica de Mann Whitney (MW-U) (Sheskin, 2004) mediante el programa Statgraphics Plus 5,1.

Laboratory analysis

All of the samples were reviewed. The number of individuals/100 m³ of sea surface was separated, counted, and standardized, using the method described by Smith and Richardson (1979). Larvae were identified down to the lowest possible taxonomic level, following the criteria established in Moser (1996), Beltrán-León and Ríos (2000-2001), Richards (2005) and Calderón (2011).

Analysis of data

Differences in hydrographic variability and abundance of fish larvae were evaluated, considering the study areas (internal and external) as a factor of variability in space, and using the Mann Whitney parametric test (MW-U) (Sheskin, 2004) through the Statgraphics Plus 5.1 program.

With the quantitative data, the relative abundance of the families and species of fish larvae by months and study areas was calculated. The estimation of the specific richness (S), diversity (H') and equity (J') of the larval

Con los datos cuantitativos se procedió al cálculo de la abundancia relativa de las familias y especies de larvas de peces por meses y zonas de estudio. La estimación de la riqueza específica (S), diversidad (H') y equidad (J') de la comunidad larvaria se describió mediante los índices de atributos comunitarios de Shannon-Weaver (Shanon y Weaver, 1963) y Pielou utilizando el logaritmo base 2 (Tsirstsitsis y Karydis, 1998; Krebs, 1999) con una unidad de bits/Ind y desarrollado con el software estadístico de libre acceso Past 3.0. Además, se utilizó el método de interpolación “inverso a la distancia” con el programa computacional QGIS® 3.0 para representar la variación espacial de la abundancia de larvas de peces y las condiciones oceanográficas en el área para la época de estudio.

Para establecer posibles diferencias en la estructura comunitaria de larvas de peces entre zonas, se utilizó el análisis multidimensional no paramétrico (MDS-Anosim), y para determinar el aporte de las especies entre zonas, se obtuvo el porcentaje de similitud Simper. Todos los análisis multivariados se realizaron mediante el software Past 3.0 (Hammer *et al.*, 2001). Por último, se evaluó el grado de relación entre la estructura establecida del ensamblaje de larvas de peces y las condiciones físico-químicas por cada zona de estudio utilizando un análisis de redundancia (RDA) desarrollado con el software estadístico de libre acceso PcOrd 6.0 (McCune y Grace, 2002). Esta prueba de asociación multivariada maximiza el grado de correlación entre la abundancia de larvas peces y los parámetros físico-químicos.

RESULTADOS

Condiciones ambientales

La variabilidad de la temperatura superficial del mar (TSM) permitió identificar diferencias significativas (MW-U: 2632; $p < 0,05$) entre las zonas de estudio (Figura 2; Tabla 1) y los mayores registros promedios en el estuario interior (25,7 °C), principalmente en las estaciones cercanas al canal del Morro (estación nueve, 10 y 11) (Figura 3a). La variación temporal de la TSM mostró un promedio de 25,2 °C ($\pm 0,71$) con el valor mínimo (24,3 °C) en agosto y el máximo (26,5 °C) en junio. En conjunto, los meses de la época de transición (junio y diciembre) registraron los valores más altos de temperatura superficial del mar (26,1-25,5 °C) (Figura 2a y Figura 2b).

La salinidad presentó diferencias significativas (Figura 2; Tabla 1) entre zonas de muestreo (MW-U: 89; $p < 0,05$), con los menores registros en el estuario interior, principalmente en las estaciones ocho y diez. En el estuario

community was described utilizing the community attribute indices of Shannon-Weaver (Shanon and Weaver, 1963) and Pielou using the base logarithm 2 (Tsirstsitsis and Karydis, 1998; Krebs, 1999) with a bit/Ind unit and developed with the open-access statistical software Past 3.0. Also, the “inverse to distance” interpolation method was used with the QGIS® 3.0 computer program to represent the spatial variation of the abundance of fish larvae and the oceanographic conditions in the area for the study period.

To establish possible differences in the community structure of fish larvae between zones, nonparametric multidimensional analysis (MDS-Anosim) was used and to determine the contribution of the species between zones, the SIMPER percentage of similarity was obtained. All multivariate analyzes were performed using the Past 3.0 software (Hammer *et al.*, 2001). Finally, the degree of relationship between the established structure of the fish larvae assembly and the physical-chemical conditions for each study area was evaluated, using redundancy analysis (RDA) developed with the free access statistical software PcOrd 6.0 (McCune and Grace, 2002). This multivariate association test maximizes the degree of correlation between the abundance of fish larvae and the physical-chemical parameters.

RESULTS

Environmental conditions

The variability of the sea surface temperature (SST) allowed identifying significant differences (MW-U: 2632; $p < 0.05$) between the study areas (Figure 2; Table 1) and the highest average records in the interior estuary (25.7 °C), mainly in the stations near the Morro canal (station nine, 10 and 11) (Figure 3a). The temporal variation of the SST showed an average of 25.2 °C (± 0.71) with the minimum value (24.3 °C) in August and the maximum (26.5 °C) in June. Overall, the months of the transition period (June and December) recorded the highest values of sea surface temperature (26.1-25.5 °C) (Figure 2a and Figure 2b).

Salinity presented significant differences (Figure 2; Table 1) between sampling areas (MW-U: 89; $p < 0.05$), with the lowest records in the interior estuary, mainly in stations eight and ten. In the exterior estuary, the highest salinity values were recorded in stations two and three, located near the coast of Santa Elena and with the greatest

exterior, los máximos valores de salinidad se registraron en las estaciones dos y tres, ubicadas cerca de la costa de Santa Elena y con mayor aporte marino (Figura 3b). La salinidad promedio de junio a diciembre fue de 31,4 ($\pm 0,7$) con rangos de 30,7 a 32,2 ups, con el mínimo en junio, julio y agosto, y el máximo en noviembre (Figura 2c y Figura 2d).

marine contribution (Figure 3b). The average salinity from June to December was 31.4 (± 0.7) with ranges from 30.7 to 32.2 ups, with the minimum in June, July, and August, and the maximum in November (Figure 2c and Figure 2d).

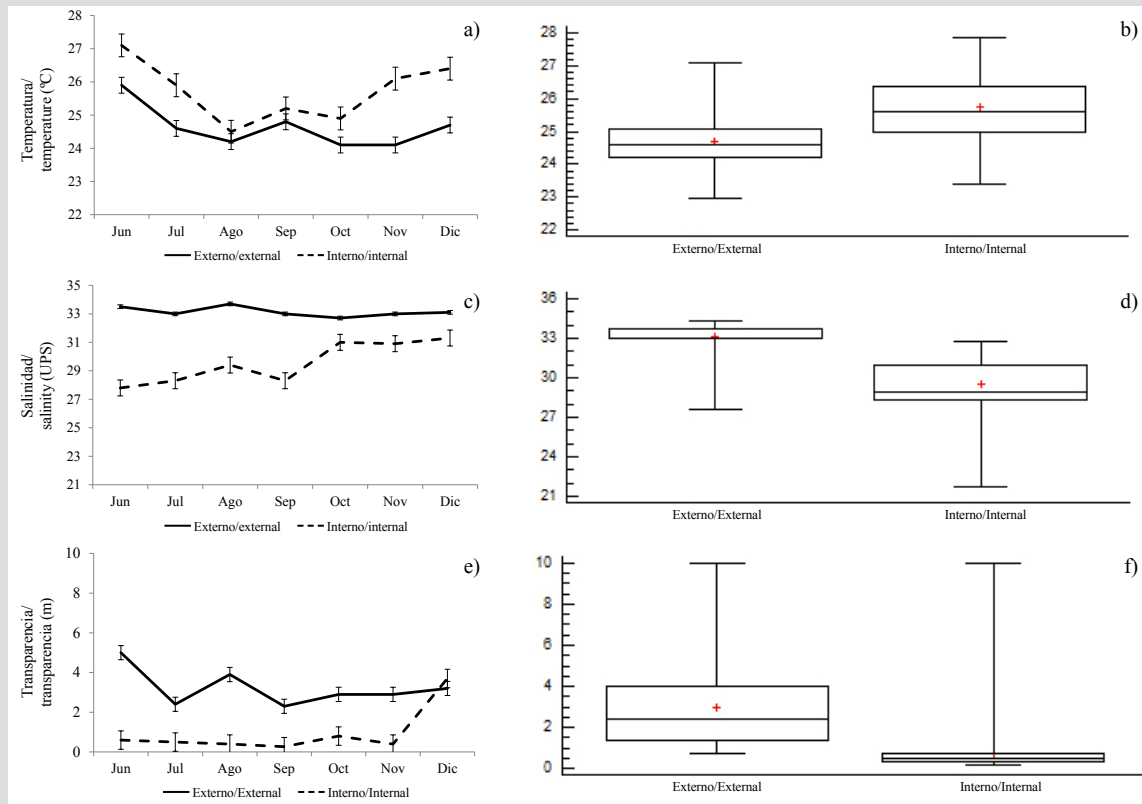
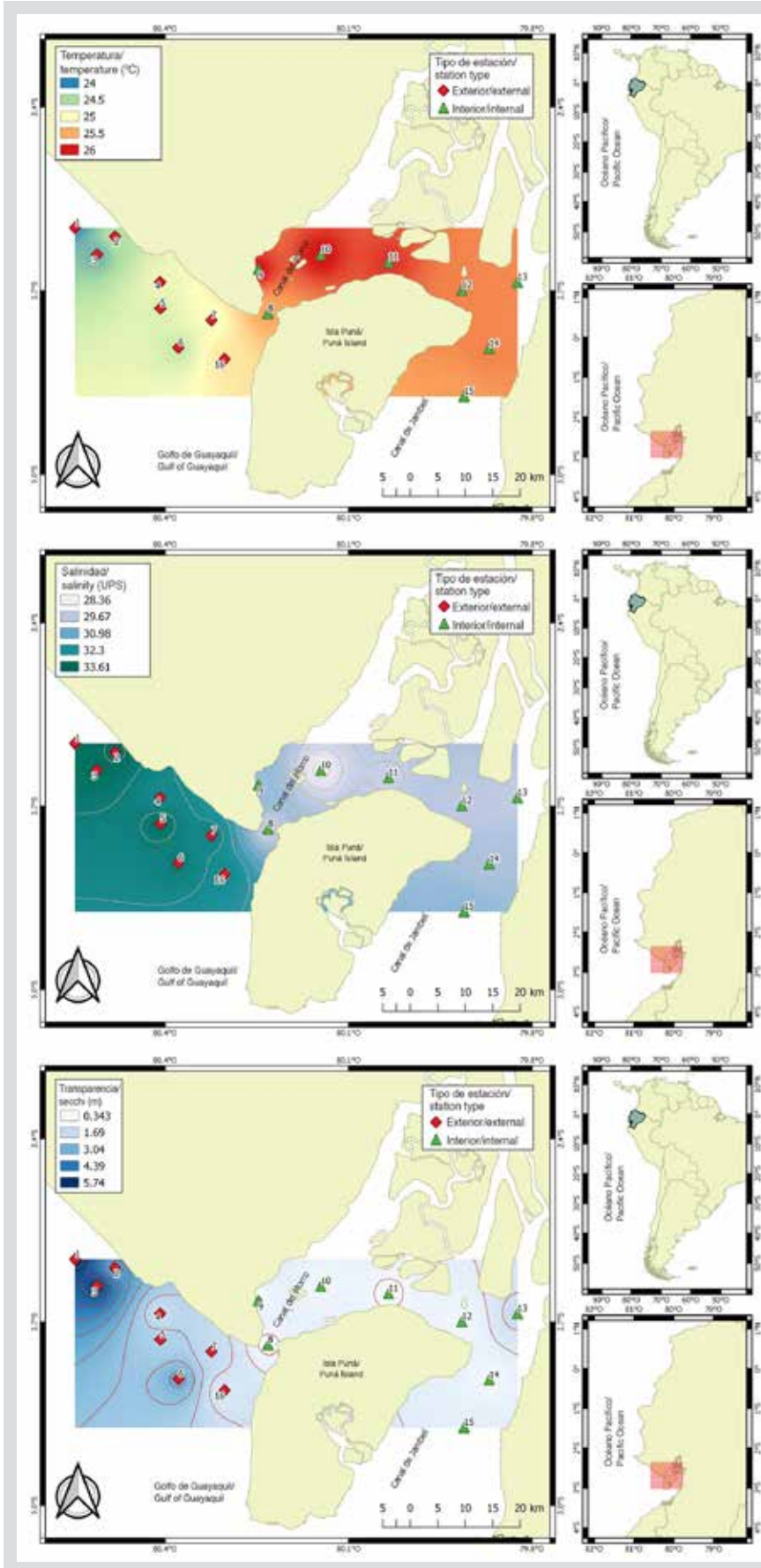


Figura 2. Variación mensual y por zonas: a y b) temperatura, c y d) salinidad, e y f) transparencia, en el estuario exterior e interior del golfo de Guayaquil frente a la provincia del Guayas entre junio y diciembre de 2012. La línea horizontal corresponde a la mediana y el punto al promedio.

Figure 2. Monthly variation and by zones: a and b) temperature, c and d) salinity, e and f) transparency, in the exterior and interior estuary of the Gulf of Guayaquil against the province of Guayas between June and December 2012. The horizontal line corresponds to the median and the point to the average.

La transparencia del agua mostró un promedio de 2,0 m ($\pm 2,4$), con diferencias significativas (Figura 2, Tabla 1) entre zonas (MW-U: 120; $p < 0,05$), con los menores registros en el estuario interior, principalmente en las estaciones ubicadas en la boca del canal del Morro (8, 9, 10) y el canal Cascajal (11 y 12) (Figura 3c). En los meses estudiados, la transparencia mostró el menor registro (1,3 m) en julio y el máximo (2,6 m) en junio (Figura 2g y Figura 2h). En general, se observó la zona externa con menor temperatura, pero con mayor salinidad y transparencia con respecto a la zona interna del golfo de Guayaquil (Figura 3, Tabla 1).

The transparency of the water showed an average of 2.0 m (± 2.4), with significant differences (Figure 2, Table 1) between zones (MW-U: 120; $p < 0.05$), with the lowest records in the interior estuary, mainly in the stations located at the mouth of the Morro channel (8, 9, 10) and the Cascajal channel (11 and 12) (Figure 3c). In the months studied, transparency showed the lowest record (1.3 m) in July and the highest (2.6 m) in June (Figure 2g and Figure 2h). In general, the external zone was observed with a lower temperature, but with greater salinity and transparency to the internal zone of the Gulf of Guayaquil (Figure 3, Table 1).



a)

b)

c)

Figura 3. Variabilidad espacial de a) temperatura, b) salinidad y c) transparencia, en el estuario exterior e interior del golfo de Guayaquil frente a la provincia del Guayas.

Figure 3. Spatial variability of a) temperature, b) salinity, and c) transparency, in the exterior and interior estuary of the Gulf of Guayaquil against the province of Guayas.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos registrados en el estuario exterior e interior del golfo de Guayaquil frente a la provincia del Guayas entre junio y diciembre de 2012. μ : promedio, D.s.: desviación estándar, Min: valor mínimo registrado. Max: valor máximo registrado. W: valor de Wilcoxon, p: valor de probabilidad.

	Estuario exterior/Exterior estuary				Estuario interior/Interior estuary				W	P
	μ	D.s.	Min	Max	μ	D.s.	Min	Max		
Temperatura/Temperature (°C)	24.67	0.10	24.10	25.16	25.75	0.12	25.52	26.06	2632	<0.05
Salinidad/Salinity (UPS)	33.08	0.12	32.49	33.57	29.57	0.25	28.35	30.41	89	<0.05
Transparencia/Transparency (m)	2.98	0.27	1.11	5.75	0.69	0.19	0.34	1.7	492	<0.05

Table 1. Physical-chemical parameters recorded in the exterior and interior estuary of the Gulf of Guayaquil against the province of Guayas between June and December 2012. μ : average, D.s.: standard deviation, Min: minimum recorded value. Max: maximum registered value. W: Wilcoxon value, p: probability value.

Estructura comunitaria de larvas de peces

Se cuantificaron un total de 321 638 larvas/100 m³, con diferencias significativas entre las zonas de muestreo (MW-U: 450; p < 0,05) (Figura 4). La distribución espacial mostró mayores densidades larvales promedio hacia el estuario exterior (8458 larvas/100 m³, ± 25215), con máximos (122 648 larvas/100 m³) en la estación siete y mínimos (16 376 larvas/100 m³) en la estación cinco. El estuario interior, con un promedio de 2 272 larvas/100 m³ (± 4 967), registró la máxima densidad en la estación ocho, ubicada en la bocana del canal del Morro, con 8 676 larvas/100 m³ y menor densidad en la estación nueve con 906 larvas/100 m³ (Figura 4).

Community structure of fish larvae

A total of 321,638 larvae/100 m³ were quantified, with significant differences between the sampling areas (MW-U: 450; p < 0.05) (Figure 4). The spatial distribution showed higher average larval densities towards the exterior estuary (8,458 larvae/100 m³, ± 25,215), with maximums (122,648 larvae/100 m³) in station seven and minimums (16,376 larvae/100 m³) in station five. The interior estuary, with an average of 2,272 larvae/100 m³ (± 4,967), registered the highest density in station eight, located at the mouth of the Canal del Morro, with 8,676 larvae/100 m³ and lower density in station nine with 906 larvae/100 m³ (Figure 4).

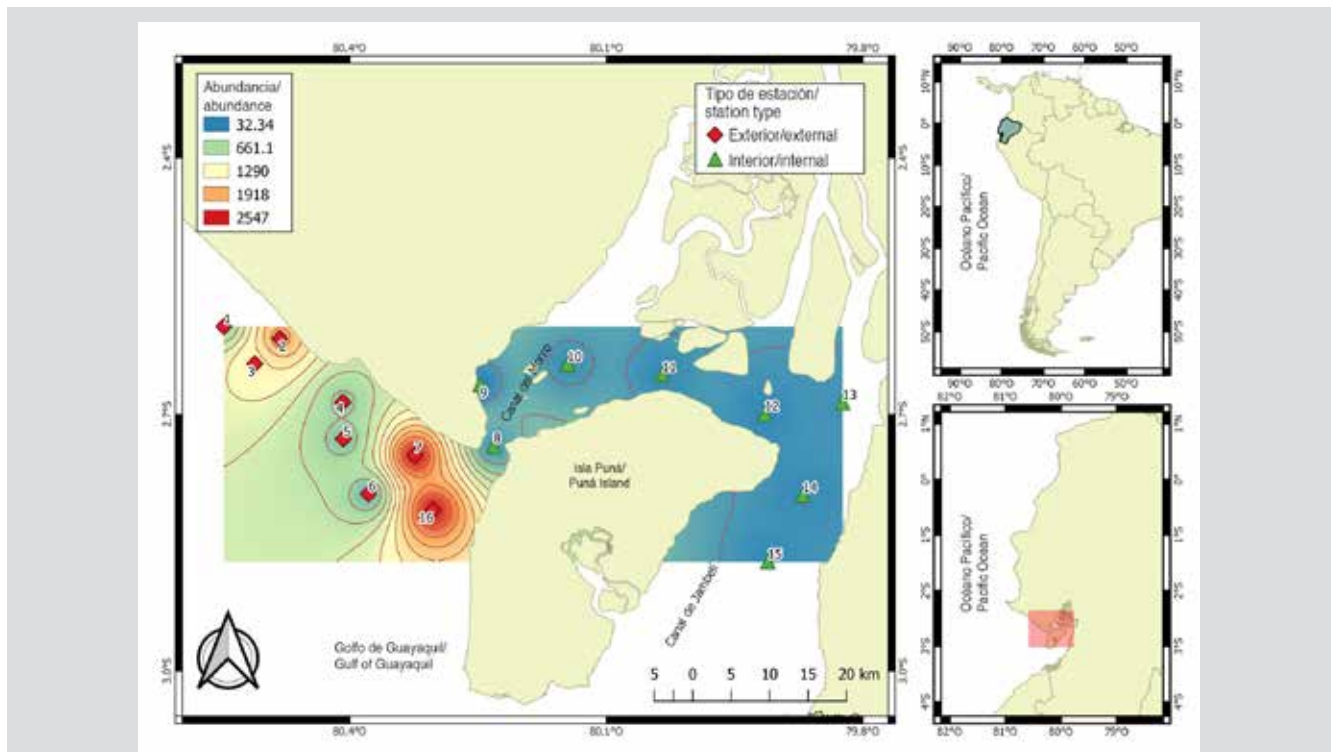


Figura 4. Variabilidad espacial de la abundancia de larvas de peces en el estuario exterior e interior del golfo de Guayaquil frente a la provincia del Guayas.

Figure 4. Spatial variability of the abundance of fish larvae in the exterior and interior estuary of the Gulf of Guayaquil against the province of Guayas.

La abundancia larval mostró variaciones temporales, con diferencias significativas entre los meses (KW=14,24; $p < 0,05$). Las máximas densidades de larvas correspondieron a diciembre (121 220 larvas/100 m³) y julio (107 631 larvas/100 m³), mientras que la mínima fue registrada en noviembre (6 690 larvas/100 m³). El patrón general exhibió mayores abundancias hacia el estuario exterior del golfo de Guayaquil, enmarcada hacia el inicio de la época seca (julio) y de transición (diciembre) (Figura 5a y Figura 5b). Las especies larvales que caracterizaron la zona externa e interna fueron *Anchoa* sp. y *Bairdiella* sp., con altos valores durante diciembre, en tanto que *Gobiosoma* sp. y *Haemulon* sp. registraron máximas densidades durante julio, y *Anchovia macrolepidota* en agosto (Tabla 2).

Se identificó un total de 17 familias y 36 especies, de las cuales 34 concurren en las estaciones del estuario exterior y 16 en el estuario interior (Tabla 2). Un total de tres familias (Engraulidae, Gobiidae y Sciaenidae) estuvieron presentes consistentemente durante todos los meses de estudio. Las muestras en la zona externa estuvieron dominadas por larvas de las familias Engraulidae (58,9 %), Sciaenidae (22,8 %) y Haemulidae (9,6 %), representadas por las especies *Anchoa* sp. (49,6 %), *Bairdiella* sp. (10,7 %) y *Haemulon* sp. (9,6 %), respectivamente. Mientras tanto, en el estuario interior, fueron Engraulidae (74,4 %) y Gobiidae (16,1 %) los grupos más abundantes y representados en este mismo sentido por *Anchoa* sp., (56,2 %), *Anchovia macrolepidota* (14,5 %) y *Gobiosoma* sp. (15,3 %). En general, los taxones *Anchoa* sp. (50,3 %), *Bairdiella* sp. (9,7 %) *Anchovia macrolepidota* (9,6 %), *Haemulon* sp. (8,6 %) y *Gobiosoma* sp. (7,0 %) representaron 85 % del total de la densidad larval para las dos zonas de estudio (Tabla 2).

Tabla 2. Lista taxonómica de larvas de peces encontrados en el estuario exterior (E) e interior (I) del golfo de Guayaquil, durante julio a diciembre de 2012. Se indican la abundancia relativa (Ar. %) y meses de ocurrencia de las larvas recolectadas las dos zonas de estudio.

Taxón/Taxon	Ar. % (E)	Ar. % (I)	Meses/Months						
			J	J	A	S	O	N	D
Achiridae	0.07	0.1							
<i>Achirus mazatlanus</i>	0.05	0.1		139			35		
<i>Achirus</i> sp.	0.02								70
Blenniidae	2.01	0.2							
<i>Hypsoblennius</i> sp. 1	0.24				697				
<i>Hypsoblennius</i> sp.	1.77		906	1847		592	1742	70	

Larval abundance showed temporal variations, with significant differences between months (KW = 14.24; $p < 0.05$). The highest larval densities corresponded to December (121,220 larvae/100 m³) and July (107,631 larvae/100 m³), while the lowest was recorded in November (6,690 larvae/100m³). The general pattern exhibited greater abundances towards the exterior estuary of the Gulf of Guayaquil and framed towards the beginning of the dry season (July) and the transitional season (December) (Figure 5a and Figure 5b). The larval species that characterized the external and internal zone were *Anchoa* sp. and *Bairdiella* sp. with high values during December, while *Gobiosoma* sp. and *Haemulon* sp. registered maximum densities during July, and *Anchovia macrolepidota* in August (Table 2).

A total of 17 families and 36 species were identified, of which 34 concurred in the stations of the exterior estuary and 16 in the interior estuary (Table 2). A total of three families (Engraulidae, Gobiidae, and Sciaenidae) were consistently present during all the months of the study. The samples in the external zone were dominated by larvae of the families Engraulidae (58.9 %), Sciaenidae (22.8 %) and Haemulidae (9.6 %), represented by the species *Anchoa* sp. (49.6 %), *Bairdiella* sp. (10.7 %) and *Haemulon* sp. (9.6 %), respectively. While in the interior estuary, they were Engraulidae (74.4 %) and Gobiidae (16.1 %), the most abundant groups and represented in this sense by *Anchoa* sp. (56.2 %), *Anchovia macrolepidota* (14.5 %) and *Gobiosoma* sp. (15.3 %). In general, the taxa *Anchoa* sp. (50.3 %), *Bairdiella* sp. (9.7 %) *Anchovia macrolepidota* (9.6 %), *Haemulon* sp. (8.6 %), and *Gobiosoma* sp. (7.0 %) represented 85 % of the total larval density for the two study areas (Table 2).

Table 2. Taxonomic list of fish larvae found in the exterior (E) and interior (I) estuary of the Gulf of Guayaquil, from July to December 2012. The relative abundance (Ar. %) and months of the occurrence of the larvae collected from the two study areas.



Taxón/Taxon	Ar. % (E)	Ar. % (I)	Meses/Months						
			J	J	A	S	O	N	D
Carangidae	0.5								
<i>Chloroscombrus orqueta</i>	0.04		70				35		
<i>Oligoplites saurus</i>	0.02		70						
<i>Seriola lalandi</i>	0.06				174				
<i>Seriola</i> sp.	0.23		279	105		279			
<i>Trachurus</i> sp.	0.15		418						
Clupeidae	0.24								
<i>Etrumeus acuminatus</i>	0.12		348						
<i>Opisthonema</i> sp.	0.12			348					
Dactyloscopidae	0.32								
<i>Dactyloscopus pectoralis</i>	0.19				105		348		105
<i>Dactyloscopus</i> sp.	0.12							348	
Engraulidae	58.9	74.4							
<i>Anchoa</i> sp.	49.63	56.24	10244	42787	2125	15923	1185	2787	86829
<i>Anchovia macrolepidota</i>	9.01	14.52	2787	6341	12544	523	4390	1394	2892
<i>Cetengraulis mysticetus</i>	0.01	3.78			1080		209		35
<i>Engraulis ringens</i>	0.24		697						
Gerreidae	2.62								
<i>Eucinostomus gracilis</i>	2.5		976	4564	105	488	697		348
<i>Eucinostomus</i> sp.	0.12			348					
Gobiesocidae		0.51							
<i>Gobiesox</i> sp.		0.51			139			35	
Gobiidae									
<i>Gobionellus</i> sp.		0.82	70					209	
<i>Gobiosoma</i> sp.	0.91	15.34	1394	1847	383	1777	1220	1115	105
Haemulidae	9.62	0.31							
<i>Haemulon</i> sp.	9.62	0.31	1882	21254	3554		383		697
Labrisomidae	0.23	0.51							
<i>Labrisomus</i> sp.	0.23	0.51		244	35			383	174
Mugilidae	0.02								
<i>Mugil cephalus</i>	0.02		70						
Nomeidae	0.24								
<i>Nomeus</i> sp.	0.24		697						
Sciaenidae	22.78	7.76							
<i>Bairdiella</i> sp.	10.7	1.94	2091	383			348		28606
<i>Cynoscion</i> sp.	1.77	2.86	2718	3310					35
<i>Larimus</i> sp.	0.74	2.15	836	70	139	279	348		1185
<i>Menticirrhus</i> sp.	0.28	0.21			70	662			139
<i>Micropogonias altipinnis</i>	7.88			22648					
<i>Stellifer</i> sp.	1.42	0.61	139	348		3449		348	
Serranidae	1.48								
<i>Diplectrum</i> sp.	0.24			697					
<i>Paralabrax</i> sp.	1.24			348		3206			
Synodontidae	0.01								
<i>Synodus lucioceps</i>	0.01					35			
Tetraodontidae	0.05	0.1							
<i>Sphaeroides lobatus</i>	0.05		139		35				

La riqueza específica varió de 9 especies en noviembre a 20 en junio con un promedio temporal de 13 especies ($\pm 3,89$). Se observaron diferencias significativas entre zonas (MW-U: 325; $p < 0,05$), mostrando la mayor riqueza en el estuario exterior con similar tendencia que la abundancia larval registrada (Figura 5c y Figura 5d).

La diversidad larval (H') varió significativamente entre las zonas de estudio (MW-U: 2655; $p < 0,05$), registrándose valores mínimos en el estuario interno durante septiembre (0,81 bits/ind) y máximo en agosto (1,5 bits/ind). En el estuario exterior durante junio (2,32 bits/ind) se observó la mayor diversidad y en diciembre (0,74 bits/ind), la menor (Figura 5e y Figura 5f). En general, la diversidad observada en la zona interna tuvo un comportamiento más constante en el tiempo en comparación con las registradas en la zona externa (Figura 5e y Figura 5f).

The specific richness varied from 9 species in November to 20 in June with a temporal average of 13 species (± 3.89). Significant differences were observed between zones (MW-U: 325; $p < 0.05$), showing the greatest wealth in the exterior estuary with a similar trend as the recorded larval abundance (Figure 5c and Figure 5d).

Larval diversity (H') varied significantly between study areas (MW-U: 2655; $p < 0.05$), with minimum values being recorded in the internal estuary during September (0.81 bits/ind) and maximum in August (1.5 bits/ind). In the exterior estuary during June (2.32 bits/ind), the highest diversity was observed and in December (0.74 bits/ind), the lowest (Figure 5e and Figure 5f). In general, the diversity observed in the internal zone had more constant behavior over time compared to those registered in the external zone (Figure 5e and Figure 5f).

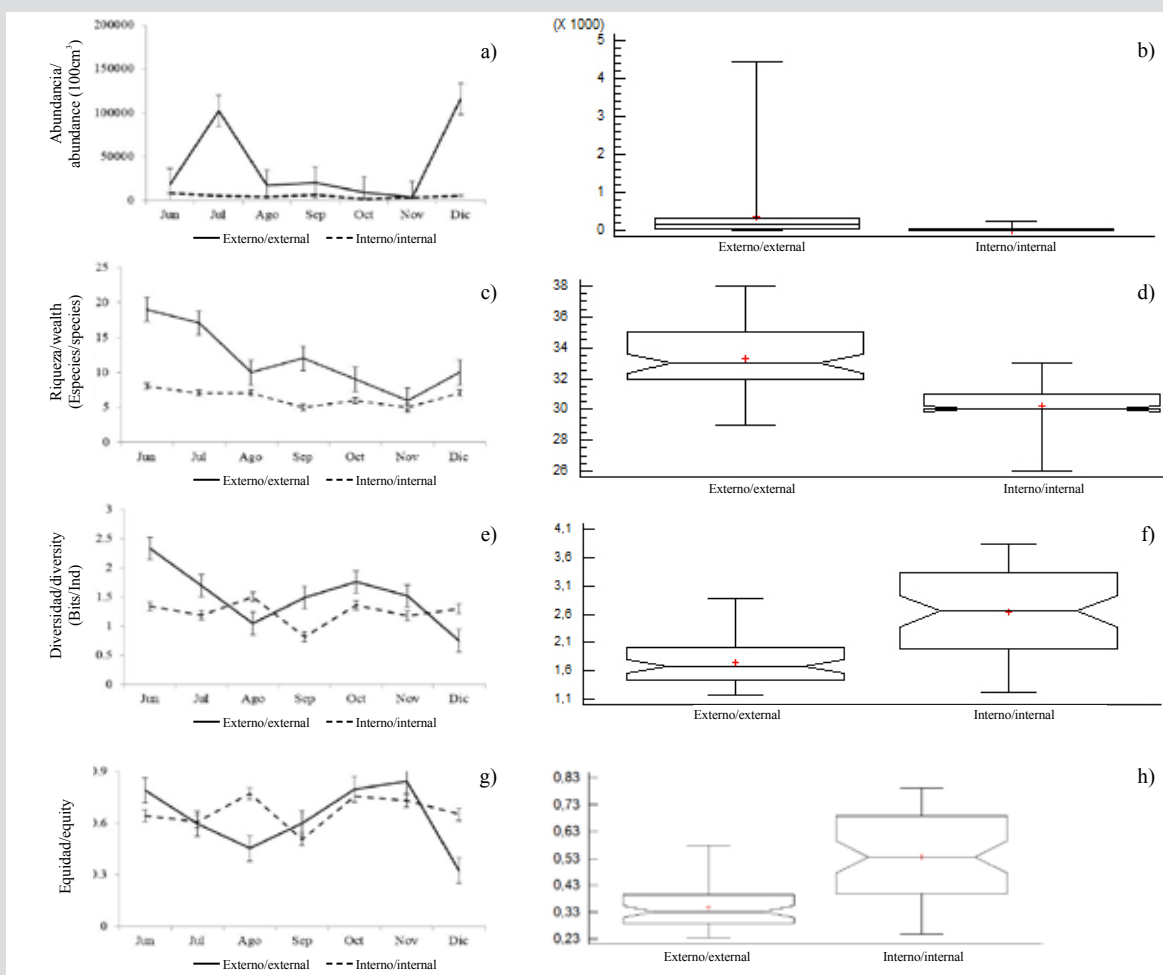


Figura 5. Variación mensual de a y b) abundancia, c y d) riqueza, e y f) diversidad y g y h) equidad del ictioplancton en la zona externa y estuario interior del golfo de Guayaquil frente a la provincia del Guayas entre junio y diciembre de 2012. La línea horizontal corresponde a la mediana y el punto, a promedio.

Figure 5. Monthly variation of a and b) abundance, c and d) wealth, e and f) diversity, g and h) equity of ichthyoplankton in the exterior zone and interior estuary of the Gulf of Guayaquil against the province of Guayas between June and December 2012. The horizontal line corresponds to the median and points to average.

La equidad mínima (0,31) se observó en diciembre y la máxima, en octubre (0,77). Entre zonas se presentaron diferencias significativas (MW-U: 2702, $p < 0,05$), mostrando una mayor homogeneidad en la zona estuarina (Figura 5g y Figura 5h).

Al explorar las relaciones de similitud (MDS Anosim) entre las comunidades de ictioplancton se establecieron diferencias significativas ($R: 0,62$; $p < 0,05$) entre las zonas externa e interna del golfo de Guayaquil. No obstante, se observa que hay especies que se encuentran en ambas zonas y muestran una mayor heterogeneidad en las estaciones internas con un estrés de 0,11 (Figura 6). Al realizar el análisis de porcentajes de similitud (Simper) para explorar los aspectos de la estructura interna de las zonas del estuario interior y exterior, se notaron diferencias entre las dos, distinguiéndose a *Anchoa* spp., *Haemulon* sp., *Anchovia macrolepidota* como las especies que más contribuyeron a separar las zonas (Tabla 3).

The minimum equity (0.31) was observed in December and the maximum in October (0.77). There were significant differences between zones (MW-U: 2702, $p < 0.05$), showing greater homogeneity in the estuarine zone (Figure 5g and Figure 5h).

When exploring the similarity relationships (MDS Anosim) between the ichthyoplankton communities, significant differences ($R: 0.62$; $p < 0.05$) were established between the external and internal zones of the Gulf of Guayaquil. However, it is observed that there are species found in both zones and that showed a greater heterogeneity in the internal stations with the stress of 0.11 (Figure 6). When performing the percentage similarity analysis (SIMPER) to explore aspects of the internal structure of the interior and exterior estuary areas, differences were noted between the two, distinguishing *Anchoa* spp., *Haemulon* sp., *Anchovia macrolepidota* as the species that contributed the most to separating the areas (Table 3).

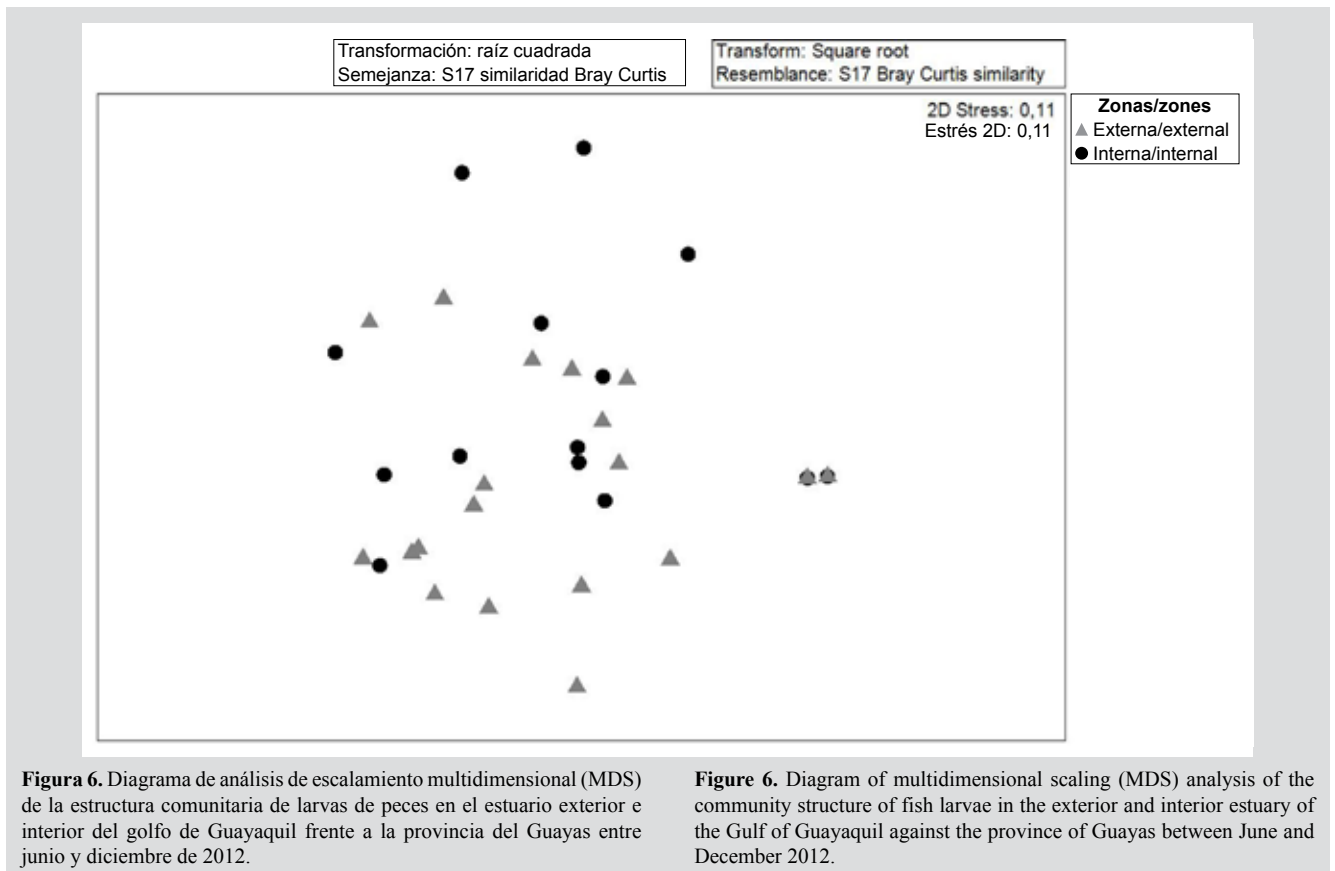


Figura 6. Diagrama de análisis de escalamiento multidimensional (MDS) de la estructura comunitaria de larvas de peces en el estuario exterior e interior del golfo de Guayaquil frente a la provincia del Guayas entre junio y diciembre de 2012.

Figure 6. Diagram of multidimensional scaling (MDS) analysis of the community structure of fish larvae in the exterior and interior estuary of the Gulf of Guayaquil against the province of Guayas between June and December 2012.

Tabla 3. Resumen del análisis Simper de las especies de ictioplancton en el estuario exterior e interior del golfo de Guayaquil frente a la provincia del Guayas entre junio y diciembre de 2012.

Especies/Species	Estuario exterior/Exterior estuary	Estuario interior/Interior estuary	Contribución/ Contribution (%)	Acumulación/ Accumulation (%)
	Abundancia promedio/ Average abundance	Abundancia promedio/Average abundance		
<i>Anchoa</i> sp.	118.66	43.8	17.85	17.85
<i>Haemulon</i> sp.	45.51	3.66	9.81	27.66
<i>Anchovia macrolepidota</i>	49.46	24.06	9.49	37.16
<i>Micropogonias altipinnis</i>	37	0	8.51	45.67
<i>Bairdiella</i> sp.	38.03	8.76	7.66	53.33
<i>Hypsoblennius</i> sp.	20.88	4.32	4.97	58.3
<i>Gobiosoma</i> sp.	7.35	22.67	4.94	63.24
<i>Eucinostomus gracilis</i>	22.6	1.61	4.86	68.1
<i>Stellifer</i> sp.	20.52	3.88	4.38	72.48
<i>Cynoscion</i> sp.	12.76	10.1	3.57	76.05

Table 3. Summary of the SIMPER analysis of the ichthyoplankton species in the exterior and interior estuary of the Gulf of Guayaquil against the province of Guayas between June and December 2012.

Relación entre larvas de peces y variables ambientales

El análisis de redundancia (RDA) permitió estudiar la relación entre la estructura de ictioplancton y las variables ambientales del estuario interior y exterior. El RDA para la zona exterior explicó 14,0 % de la varianza total en los dos primeros ejes, con una correlación de Pearson de $r = 0,50$, indicando la correlación positiva de las especies y las variables ambientales (Tabla 4). El primer eje explicó 12,1 % de la varianza y presentó un eigenvalor de 0,54. La variable transparencia (m) registró correlación negativa alcanzando el valor de $r = -0,63$. El eje dos solo contribuyó con 1,9 % y presentó un eigenvalor de 0,50, registrando la salinidad con correlación negativa de $r = -0,53$ (Tabla 4). El diagrama de dispersión muestra que las especies como *Etrumeus acuminatus*, *Achirus mazatlanus*, *Sphoroiedes lobatus*, *Oligoplites saurus* *Diplectrum* sp., se asociaron a una mayor transparencia del agua. En tanto que las especies como *Gobiosoma* sp., *Labrisomus* sp., *Larimus* sp., *Cynoscion* sp., *Synodus lucioceps*, *Eucinostomus gracilis*, *Seriola lalandi* y *Stellifer* sp. se relacionaron con valores altos de salinidad (Figura 7a).

Para la zona interna, el RDA explicó una varianza en los dos primeros ejes de 19,4 %, con un coeficiente de correlación de Pearson de $r = 0,71$. El primer eje fue el que más contribuyó con 15,5 % de la varianza explicada y un eigenvalor de 0,87 (Tabla 4). La variable salinidad registró correlación negativa con valor de $r = -0,56$. El eje dos tan solo aportó 3,9 % del total y presentó un eigenvalor de 0,63. La variable transparencia registró correlación negativa de $r = -0,63$ con respecto a este eje (Tabla 4). El diagrama

Relationship between fish larvae and environmental variables

The redundancy analysis (RDA) allowed studying the relationship between the structure of ichthyoplankton and the environmental variables of the interior and exterior estuary. The RDA for the exterior zone explained 14.0 % of the total variance in the first two axes, with a Pearson correlation of $r = 0.50$, indicating the positive correlation of the species and the environmental variables (Table 4). The first axis explained 12.1 % of the variance and presented an eigenvalue of 0.54. The transparency variable (m) registered a negative correlation, reaching the value of $r = -0.63$. Axis two only contributed 1.9 % and presented an eigenvalue of 0.50, registering salinity with a negative correlation of $r = -0.53$ (Table 4). The scatter diagram shows that species such as *Etrumeus acuminatus*, *Achirus mazatlanus*, *Sphoroiedes lobatus*, *Oligoplites saurus* *Diplectrum* sp. were associated with increased water transparency. While species such as *Gobiosoma* sp., *Labrisomus* sp., *Larimus* sp., *Cynoscion* sp., *Synodus lucioceps*, *Eucinostomus gracilis*, *Seriola lalandi* and *Stellifer* sp. were related to high salinity values (Figure 7a).

For the internal zone, the RDA explained variance in the first two axes of 19.4 %, with a Pearson's correlation coefficient of $r = 0.71$. The first axis was the one that contributed the most with 15.5 % of the explained variance and an eigenvalue of 0.87 (Table 4). The salinity variable registered a negative correlation with a value of $r = -0.56$. Axis two only contributed 3.9 % of the total and presented an eigenvalue of 0.63. The transparency variable registered a negative correlation of $r = -0.63$ to this axis (Table 4). The

de dispersión muestra que *Gobiesox* sp. y *Haemulon* sp. se asociaron con altas concentraciones de salinidad. Los *taxas* como *Bairdiella* sp., *Labrisomus* sp. y *Larimus* sp. se relacionaron con las estaciones de mayor transparencia. En contraste, *Anchoa* sp., *Anchovia macrolepidota*, *Gobiosoma* sp. y *Cetengraulis mysticetus* se asociaron con valores bajos de salinidad (Figura 7b).

scatter diagram shows that *Gobiesox* sp. and *Haemulon* sp. were associated with high concentrations of salinity. Taxes such as *Bairdiella* sp., *Labrisomus* sp. and *Larimus* sp. were related to the stations with the highest transparency. In contrast, *Anchoa* sp., *Anchovia macrolepidota*, *Gobiosoma* sp. and *Cetengraulis mysticetus* were associated with low salinity values (Figure 7b).

Tabla 4. Análisis de redundancia sobre la relación espacial de las especies de ictioplancton en el estuario exterior e interior del golfo de Guayaquil frente a la provincia del Guayas entre junio y diciembre de 2012.

Table 4. Redundancy analysis on the spatial relationship of the ichthyoplankton species in the exterior and interior estuary of the Gulf of Guayaquil against the province of Guayas between June and December 2012.

Estadístico/Statistical	Estuario exterior/Exterior estuary			Estuario interior/Interior estuary			
	Eje/Axe 1	Eje/Axe 2	Eje/Axe 3	Eje/Axe 1	Eje/Axe 2	Eje/Axe 3	
Eigenvalor/Eigenvalue	0.54	0.50	0.38	0.87	0.63	0.35	
Varianza explicada/Variance explained (%)	12.1	1.9	1.5	15.1	3.9	2.2	
Varianza acumulada/Cumulative variance (%)	12.1	14.0	15.5	15.1	19.4	21.6	
Correlación de Pearson (especies-ambiente)/ Pearson's correlation (species-environment)	0.59	0.55	0.32	0.72	0.71	0.54	
Valores de correlación/Correlation values		Estuario exterior/Exterior estuary			Estuario interior/Interior estuary		
Variables		Eje/Axe 1	Eje/Axe 2	Eje/Axe 3	Eje/Axe 1	Eje/Axe 2	Eje/Axe 3
Transparencia del agua/Water transparency (M)		-0.63	0.37	0.39	0.31	-0.63	0.09
Salinidad superficial del mar/Sea surface salinity (SSM)		-0.57	-0.53	-0.75	-0.56	-0.43	-0.11
Temperatura superficial del mar/Sea surface temperature (TSM)		-0.56	-0.33	0.62	0.31	0.15	0.48

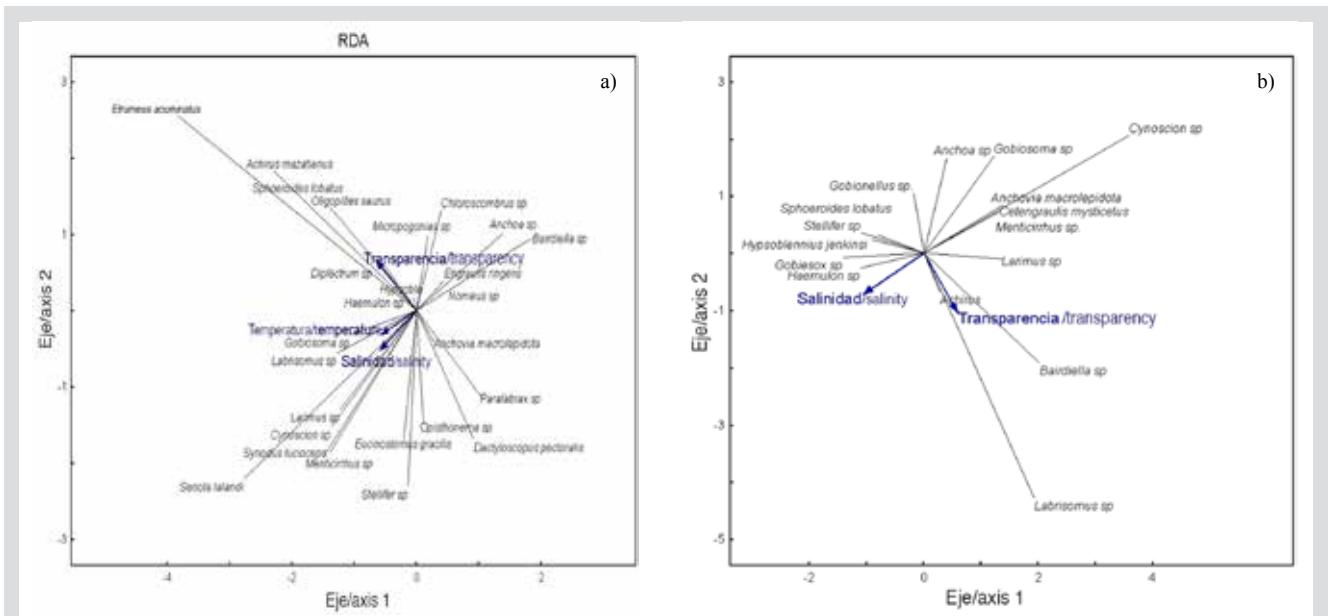


Figura 7. Diagrama de dispersión de larvas de peces en el estuario exterior a) y estuario interior b) del golfo de Guayaquil frente la provincia del Guayas entre junio y diciembre 2012. Temperatura (TSM). Salinidad (SSM). Transparencia (M).

Figure 7. Scatter diagram of fish larvae in the exterior estuary a) and interior estuary b) of the Gulf of Guayaquil in front of the province of Guayas between June and December 2012. Temperature (SST). Salinity (SSM). Transparency (M).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En el presente estudio, las diferencias de las condiciones hidrográficas del golfo de Guayaquil en el estuario exterior e interior son claras, evidenciadas por las relaciones de temperatura, salinidad y transparencia. Una zona externa, donde la influencia oceánica es evidente —con menor temperatura, mayor salinidad y transparencia— con respecto a la zona interna del golfo, donde la profundidad se reduce por el gran aporte sedimentario, los procesos de mezcla aumentan y la salinidad disminuye, especialmente durante la estación seca, producto del flujo de mareas (semidiurno) influenciado por el aporte de agua dulce del río Guayas (Stevenson, 1981) y, en conjunto, regulada por las fluctuaciones estacionales de la época seca, con temperaturas frías a partir de julio a noviembre, oscilación normal dada la intensificación de la corriente fría de Humboldt que avanza desde el sur hacia la costa del Ecuador, desplazando sus aguas frías, salinas y ricas en nutrientes para estos meses.

Nuestros resultados muestran características similares a las observadas en otros estudios realizados en el golfo de Guayaquil o áreas adyacentes (Cajas e Hinostroza, 1981; Ortega y Elías, 1996; Torres *et al.*, 2003; Elías *et al.*, 2007; Calderón *et al.*, 2018; Salcedo y Coello, 2018), con densidades larvales relativamente altas en la zona externa del golfo, con predominancia de larvas de engráulidos y baja diversidad larval. La mayor abundancia larval se registró en la parte exterior del golfo, específicamente en las estaciones colindantes al canal del Morro, donde al parecer la temperatura, salinidad y transparencia del agua fueron más estables; por tanto, podrían haber favorecido el desarrollo de huevos y larvas de peces (Saborido, 2008). Otro elemento que pudo contribuir a dicha distribución es la combinación de ambientes en los sitios externos, como fondos rocosos y/o arenosos y la mayor influencia marina, los cuales permiten que mayor diversidad de adultos se agrupen, ya sea con fines reproductivos, alimentación o de refugio (Whitfield, 1999), y afecten así la composición y abundancia del ictioplancton. Por ejemplo, en estos sitios aparecieron especies como *Hypsoblennius* sp. 1, que habitan principalmente fondos rocosos y únicamente fueron encontrados en los sitios externos. A medida que se ingresa en el estuario interior, se observa que las densidades larvales decrecen como respuesta a varios factores, entre ellos la topografía del fondo, que incide sobre las mareas y la turbulencia, puesto que, al disminuir la profundidad, aumentan los procesos de mezcla y reducen la fotosíntesis por la presencia de partículas suspendidas y disueltas (Prado

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

In the present study, the differences in the hydrographic conditions of the Gulf of Guayaquil in the exterior and interior estuary are clear, evidenced by the relationships of temperature, salinity, and transparency. An external zone, where the oceanic influence is evident —with a lower temperature, greater salinity, and transparency— to the internal zone of the gulf, where the depth is reduced by the great sedimentary contribution, the mixing processes increase and the salinity decreases, especially during the dry season, as a result of the tidal flow (semi-day) influenced by the supply of freshwater from the Guayas River (Stevenson, 1981) and, as a whole, regulated by seasonal fluctuations of the dry season, with cold temperatures from July to November, normal oscillation, given the intensification of the cold Humboldt current that advances from the south to the coast of Ecuador, displacing its cold, saline and nutrient-rich waters for these months.

Our results showed characteristics similar to those observed in other studies carried out in the Gulf of Guayaquil or adjacent areas (Cajas and Hinostroza, 1981; Ortega and Elías, 1996; Torres *et al.*, 2003; Elías *et al.*, 2007; Calderón *et al.*, 2018; Salcedo and Coello, 2018), with relatively high larval densities in the external area of the gulf, with a predominance of engraulid larvae and low larval diversity. The greatest larval abundance was registered in the exterior part of the gulf, specifically in the stations adjacent to the Morro channel, where the temperature, salinity, and transparency of the water were more stable; therefore, they could have favored the development of fish eggs and larvae (Saborido, 2008). Another element that could contribute to said distribution is the combination of environments in external sites, such as rocky and/or sandy bottoms and the greater marine influence, which allow a greater diversity of adults to group, whether for reproductive purposes, food or refuge (Whitfield, 1999), thus affecting the composition and abundance of ichthyoplankton. For example, species such as *Hypsoblennius* sp. 1 appeared in these sites, which mainly inhabit rocky bottoms and were only found in external sites. As one enters the inland estuary, it is observed that larval densities decrease as a response of several factors, among them the bottom topography, which affects the tides and turbulence since the depth decreases, the mixing processes and photosynthesis reduces due to the presence of suspended and dissolved particles (Prado and Buchelli, 2012), which results in reduced food and less presence of fish larvae.

y Buchelli, 2012), lo que se traduce en un reducido alimento y en menor presencia de larvas de peces.

Una de las características distintivas de los ensamblajes de larvas de peces en estuarios tropicales es la dominancia de pocas especies, las cuales generalmente aparecen asociadas a un alto número de especies en baja abundancia que frecuentan el estuario de manera ocasional (Whitfield, 1989, 1999; Morais, 1994; Barletta-Bergan *et al.*, 2002; Barletta y Barletta-Bergan, 2009). En el golfo de Guayaquil se observa esta condición, ya que estuvo dominado por larvas de tres familias de peces: engráulidos, scianidos y góbidos, coincidente con lo descrito por Calderón *et al.* (2018) y Salcedo y Coello (2018).

Así mismo, en los sistemas heterogéneos existe una alta variedad de especies de peces con distintos requerimientos y/o patrones de desove, donde algunas especies se reproducen durante todo el año y otras exhiben uno o dos picos de reproducción (Pittman *et al.*, 2004). Con base en esto, en el golfo, la variabilidad temporal encontrada puede reflejar los diferentes patrones reproductivos que presentan las especies que, como adultos, habitan en este sistema. Los engráulidos, representados principalmente por *Anchoa* sp., sobresalieron con máximas densidades en toda el área —tanto en la zona interna como externa— y meses de estudio, lo que sugiere que su presencia como estadio larval no es estacional, y que probablemente en esta área de estudio se reproduzca varias veces al año, pudiendo desovar en la zona externa para que sus larvas ingresen y se desarrollen en el estuario interior (Day *et al.*, 1989; Whitfield, 1999). Igualmente, su distribución estaría explicada por ser una familia al igual que Gobiidae de hábitat salobre-marino (Whitehead *et al.*, 1988; Whitehead y Rodríguez-Sánchez, 1995), las cuales son reportadas regularmente en estuarios o bahías (Silva-Segundo *et al.*, 2008). Mientras tanto, aquellos estadios larvales que solo fueron registrados en una área y/o mes de muestreo —como por ejemplo los scianidos, especies demersales, estuario-dependientes, con desoves en áreas costeras, estuarios y bahías (Ocaña-Luna y Sánchez Ramírez, 2003) y que migran desde el área de puesta a las desembocaduras de las zonas de crianza— podrían corresponder a especies con un solo período reproductivo anual en el área externa del golfo.

La diversidad varió en el espacio y en el tiempo. En el estuario interior se registró la mayor diversidad larval, observándose una relación inversa entre la abundancia y riqueza de especies. Esto sugiere un importante intercambio

One distinguishing characteristic of fish larvae assemblages in tropical estuaries is the dominance of few species, which generally appear associated with a high number of species in low abundance that occasionally frequent the estuary (Whitfield, 1989, 1999; Morais, 1994; Barletta-Bergan *et al.*, 2002; Barletta and Barletta-Bergan, 2009). This condition is observed in the Guayaquil Gulf since it was dominated by larvae of three fish families: engulid, scianid and gobiidae, coinciding with that described by Calderón *et al.* (2018) and Salcedo and Coello (2018).

Likewise, in heterogeneous systems, there is a high variety of fish species with different requirements and/or spawning patterns, where some species reproduce throughout the year and others exhibit one or two reproductive peaks (Pittman *et al.*, 2004). Based on this, in the gulf, the temporal variability found can reflect the different reproductive patterns that species that inhabit this system as adults present. The engulids, mainly represented by *Anchoa* sp., stood out with maximum densities in the entire area —both in the internal and external zones— and months of study, which suggests that their presence as a larval stage is not seasonal, and that probably in this study area reproduces several times a year, being able to spawn in the external zone, so that its larvae enter and develop in the interior estuary (Day *et al.*, 1989; Whitfield, 1999). Likewise, its distribution would be explained by being a family-like Gobiidae of brackish-marine habitat (Whitehead *et al.*, 1988; Whitehead and Rodríguez-Sánchez, 1995), which are regularly reported in estuaries or bays (Silva-Segundo *et al.*, 2008). Meanwhile, those larval stages that were only recorded in a sampling area and/or month —such as scianids, demersal, estuary-dependent species, with spawning in coastal areas, estuaries and bays (Ocaña-Luna and Sánchez Ramírez, 2003) and that migrate from the laying area to the mouths of the breeding areas— could correspond to species with a single annual reproductive period in the external area of the gulf.

Diversity varied in space and time. The largest larval diversity was recorded in the interior estuary, observing an inverse relationship between species abundance and richness. This suggests an important exchange and mix of marine and estuary species. In relation, Day *et al.* (1989) and McLusky and Elliot (2004) pointed out that it is common that in areas with marine influence, the richness of zooplankton organisms is greater, particularly in the mouth, forming a mixed community. On the other hand, other authors point out that internal areas favor larval aggregation by providing

y mezcla de especies marinas y del estuario. En relación, Day *et al.* (1989) y McLusky y Elliot (2004) señalaron que es común que en áreas con influencia marina, la riqueza de organismos del zooplancton sea mayor, particularmente en la bocana, conformando una comunidad mixta. Por otro lado, otros autores señalan que las áreas internas favorecen la agregación larval por brindar condiciones de refugio y alimentación, relacionadas con una mayor turbidez, las grandes raíces de manglar y la alta sedimentación debida a la descarga de agua de los esteros (Barletta-Bergan *et al.*, 2002; Barletta y Barletta-Bergan, 2009). Sin embargo, no necesariamente es un reflejo de la diversidad larval en cada zona, debido a que no todas las etapas larvianas ocupan esta área permanentemente, ya que un alto número de ellas son arrastradas por las corrientes de mareas (Neira y Potter, 1992; Ramos *et al.*, 2005), dado que su locomoción es limitada en las primeras etapas de vida (Jiménez, 2008).

En cuanto a la riqueza de especies, es posible identificar un incremento en las estaciones con mayor influencia marina (estuario exterior), pero en la boca del canal del Moro (estación ocho y nueve) el pulso es máximo como reflejo de un alto tránsito de especies, que coinciden con la distribución de la salinidad, variable que juega un rol importante en la distribución y los procesos reproductivos de las especies. Esto no solo evidencia las estrategias biológicas y ecológicas especializadas que poseen las especies —como por ejemplo *Anchoa* sp., que posee condiciones para moverse en zonas de gran variabilidad ambiental (Yáñez-Arancibia *et al.*, 1985)—, sino que también revela a este sitio como zona importante de reclutamiento de muchas especies, que aprovechan las condiciones propicias que ofrece este sistema como son alta productividad biológica y el refugio del ambiente como área de cría y puesta.

Si bien se conoce que generalmente en zonas estuarinas tropicales, la distribución espacio-temporal de peces adultos y juveniles está influenciada por los cambios en los factores ambientales (como temperatura y salinidad) (Laroche *et al.*, 1997) y por la precipitación y cambios de mareas. Cada estuario presenta características morfológicas particulares como tipo de sustrato, distancia hacia el océano, etc., factores que también influyen en la estructura de las comunidades de peces (Pérez-Ruzafa *et al.*, 2007).

Con base en ello, mediante el análisis de redundancia, se pudo observar que, para el golfo de Guayaquil, las relaciones larvales se dieron mayormente en torno a la turbidez y la salinidad del agua. En general, se considera que, para muchas especies marinas, los

shelter and feeding conditions, related to greater turbidity, large mangrove roots and high sedimentation due to the discharge of water from the estuaries (Barletta-Bergan *et al.*, 2002; Barletta and Barletta-Bergan, 2009). However, it is not necessarily a reflection of larval diversity in each zone, since not all larval stages occupy this area permanently since a high number of them are carried by tidal currents (Neira and Potter, 1992; Ramos *et al.*, 2005), since their locomotion is limited in the early stages of life (Jiménez, 2008).

Regarding species richness, it is possible to identify an increase in the stations with the greatest marine influence (exterior estuary), but in the boca del Canal del Moro (station eight and nine) the pulse is maximum, reflecting high traffic of species, and that coincides with the distribution of salinity, a variable that plays an important role in the distribution and species reproductive processes. This not only evidences the specialized biological and ecological strategies that species possess —such as *Anchoa* sp., which has conditions to move in areas of great environmental variability (Yáñez-Arancibia *et al.*, 1985)—, but also reveals this site as an important recruitment area for many species, which take advantage of the favorable conditions offered by this system, such as high biological productivity and the refuge of the environment as breeding and laying area.

Although it is known that generally in tropical estuarine areas, the spatio-temporal distribution of adult and juvenile fish is influenced by changes in environmental factors (such as temperature and salinity) (Laroche *et al.*, 1997) and by precipitation and changes in tides. Each estuary presents particular morphological characteristics such as type of substrate, distance to the ocean, etc., factors that also influence the structure of fish communities (Pérez-Ruzafa *et al.*, 2007).

Based on this, utilizing the redundancy analysis, it was observed that for the Gulf of Guayaquil the larval relationships occurred mainly around the turbidity and salinity of the water. In general, larval and juvenile stages are considered to be more tolerant of environmental variability for many marine species than adults (Holliday, 1971). Larvae species such as *Gobiosoma* sp., *Labrisomus* sp., *Larimus* sp., *Cynoscion* sp., *Synodus lucioceps*, *Haemulon* sp., *Eucinostomus gracilis*, *Seriola lalandi*, *Stellifer* sp., *Gobiesox* sp., *Anchoa* sp., *Anchovia macrolepidota*, and *Cetengraulis mysticetus*, which are considered mostly estuarine species, were associated with high and low salinity. This suggests that these species show greater

estadios larvales y juveniles resultan más tolerantes a la variabilidad ambiental que los adultos (Holliday, 1971). Las especies de larvas como *Gobiosoma* sp., *Labrisomus* sp., *Larimus* sp., *Cynoscion* sp., *Synodus lucioceps*, *Haemulon* sp., *Eucinostomus gracilis*, *Seriola lalandi*, *Stellifer* sp., *Gobiesox* sp., *Anchoa* sp., *Anchovia macrolepidota*, y *Cetengraulis mysticetus*, que son consideradas, en su mayoría, especies estuarinas, estuvieron asociadas con alta y baja salinidad. Lo anterior sugiere que estas especies evidencian mayor tolerancia a rangos de salinidad, por lo que muchas de ellas estuvieron presentes tanto en el ambiente estuarino como de influencia marina en tanto que especies como *Etrumeus acuminatus*, *Achirus mazatlanus*, *Spheroiodes lobatus*, *Oligoplites saurus*, *Bairdiella* sp., *Diplectrum* sp., *Engraulis ringens* y *Opisthonema* sp., las cuales en su mayoría pertenecen al componente marino como *Etrumeus acuminatus*, *Engraulis ringens* y *Opisthonema* sp., permanecieron en una zona o área. Específicamente en la zona externa se asociaron positivamente con la mayor transparencia, lo que refleja la preferencia de estas especies por características fisicoquímicas específicas.

Por lo tanto, es posible hipotetizar que, en un ambiente estuarino, la variación temporal de las condiciones ambientales estaría modulando la distribución, abundancia y, en general, la comunidad de larvas de peces. Así mismo, estas fluctuaciones estacionales y temporales representan las estrategias reproductivas de cada especie vinculadas a su hábitat (Sánchez, 1997), teniendo como premisa la disponibilidad de alimento para su supervivencia (Whitehead *et al.*, 1988), dado que, frecuentemente, la abundancia de larvas de peces está estrechamente relacionada con la biomasa de zooplankton (Kaunda-Arara *et al.*, 2009).

De acuerdo con los resultados obtenidos, el golfo de Guayaquil, al menos durante el período muestreado, presentó un ensamblaje de larvas de peces con una composición taxonómica integrada principalmente por la presencia de especies estuarinas con la dominancia de una familia (Engraulidae). Esta dominancia podría ser el resultado del efecto de varios factores físico-químicos, entre los que destacaron la salinidad, la transparencia y los eventos reproductivos de las especies presentes en el área, lo que permiten inferir que en general esta sección del golfo (área externa) es un área importante como salacuna para las especies. Sería interesante realizar más estudios y con muestreos más prolongados para comprobar el comportamiento del sistema en una ventana de tiempo mayor.

tolerance to salinity ranges, which is why many of them were present both in the estuarine environment and under the marine influence whereas species such as *Etrumeus acuminatus*, *Achirus mazatlanus*, *Spheroiodes lobatus*, *Oligoplites saurus*, *Bairdiella* sp., *Diplectrum* sp., *Engraulis ringens*, and *Opisthonema* sp., which mostly belong to the marine component such as *Etrumeus acuminatus*, *Engraulis ringens* and *Opisthonema* sp., remained in one zone or area. Specifically, in the external zone they were positively associated with the highest transparency, reflecting the preference of these species for specific physicochemical characteristics.

Therefore, it is possible to hypothesize that in an estuarine environment, the temporal variation of environmental conditions would be modulating the distribution, abundance, and, in general, the community of fish larvae. Likewise, these seasonal and temporal fluctuations represent the reproductive strategies of each species linked to their habitat (Sánchez, 1997), assuming the availability of food for their survival (Whitehead *et al.*, 1988), since frequently the abundance of fish larvae is closely related to the biomass of zooplankton (Kaunda-Arara *et al.*, 2009).

According to the results obtained, the Gulf of Guayaquil, at least during the sampled period, presents an assembly of fish larvae with a taxonomic composition composed mainly of the presence of estuarine species with the dominance of a family (Engraulidae). This dominance could be the result of the effect of various physical-chemical factors, among which salinity, transparency and the reproductive events of the species present in the area stood out, what allows to infer that in general this section of the gulf (external area) is an important area as a nursery for species. It would be interesting to carry out more studies and with longer samplings to check the behavior of the system in a longer window of time.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the oceanographer Mario Hurtado for preparing the maps of this manuscript. To the SENESCYT (National Secretariat for Higher Education, Science, Technology and Innovation) of Ecuador, the entity that financed this project within the first nautical mile off the Ecuadorian coast of the province of Guayas during June to December 2012. The project was executed by the National Fisheries Institute through the specific agreement 20120132.

AGRADECIMIENTOS

Al oceanógrafo Mario Hurtado por la elaboración de los mapas de este manuscrito. A la Senescyt (Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación) de Ecuador, ente que financió este proyecto dentro de la primera milla náutica frente a la costa ecuatoriana de la provincia de Guayas durante junio a diciembre de 2012. Proyecto ejecutado por el Instituto Nacional de Pesca a través del convenio específico 20120132.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Able, K., J. Manderson and A. Studholme. 1999. Habitat quality for shallow water fishes in an urban estuary: the effects of man-made structures on growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 187: 227-235.
- Arias de la Peña, C.M. 1991. Preliminary study of some groups of the ichthyoplankton of the Gulf of Nicoya. Costa Rica. Master's Thesis. Univ. Costa Rica.
- Ayón, H. 1987. Main geomorphological features of the Ecuadorian coast. *Guayaquil*. 10 p.
- Barletta, M. and A. Barletta-Bergan. 2009. Endogenous activity rhythms of larval fish assemblages in a mangrove-fringed estuary in North Brazil. *Open. Fish. Sci. J.*, 2: 15-24.
- Barletta, M., A. Barletta-Bergan and U. Saint-Paul. 1998. The description of the fishery structure in the mangrove dominated region of Bragança (State of Pará-North Brazil). *Ekotropical*, 4: 41-53.
- Barletta-Bergan, A., M. Barletta and U. Saint-Paul. 2002. Structure and seasonal dynamics of larval fish in the Caeté River in northern Brazil. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 154: 193-206.
- Beck, M., K. Heck, K. Able, D. Childers, D. Eggleston, B. Gillanders, B. Halpern, C. Hays, K. Hostino, T. Minello, R. Orth, P. Sheridan and M. Weinstein. 2001. The role of nearshore ecosystems as fish and shellfish nurseries. *Bioscience*, 51: 633-641.
- Beltrán-León, B. and R. Ríos. 2000. Early stages of fish in the Colombian Pacific. Vol. 1. National Institute of Fisheries and Aquaculture. Buenaventura. 359 p.
- Beltrán-León, B. and R. Ríos. 2001. Early stages of fish of the Colombian Pacific. Volume 2. National Institute of Fisheries and Aquaculture. Buenaventura. 360-727 p.
- Boyer, J., J. Fourqrean and R. Jones. 1997. Spatial characterization of water quality in Florida Bay and Whitewater Bay by multivariate analyzes: Zones of similar influence. *Estuaries*, 20: 743-758.
- CAAM (Environmental Advisory Commission). 1995. Development and environmental problems of the Gulf of Guayaquil area. Create Image, Quito.
- Calderón, G. 2011. Catalog of fish eggs and larvae collected in Ecuadorian waters. *Special Bull.*, 2(4): 118.
- Calderón, G., G. Ayora and E. Elías. 2018. Distribution and abundance of ichthyoplankton within the first nautical mile off the province of Santa Elena Ecuador. *Rev. Cienc. Mar Limnol.*, 12(1): 10.
- Cajas, L. and D. Hinojosa. 1981. Clupeid and engraulid eggs and larvae in the Gulf of Guayaquil. *Rev. Cienc. Mar. Limnol.*, 2: 37-47.
- Cowan Jr, J.H. and R.F. Shaw. 2002. Recruitment: 88-111. In: Fuiman L.A. and R.G. Werner (Eds.). *Fish. Sci.: the unique contributions of the early stages*. Blackwell Science. 326 p.
- Cucalón, E. 1996. First part: Oceanography and physical systems. In *Biophysical Systems of the Gulf of Guayaquil* (1st ed.: 1-109). Quito: Environmental Advisory Commission of the Presidency of the Republic of Ecuador.
- Day, J.W., C.A.S. Hall, W.M. Kemp and A. Yañez-Arancibia (Eds.). *Estuarine Ecology*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 558 p.
- Favero, M. and C.A. Lasta. 2001. Fish breeding area of the Samborombón Bay (Argentina) as sustenance for migratory fish-eating birds: trophic interactions. Final report. Torch Foundation. Project A-13672/1-4: 44.
- García, M.L. 1983. Variability in the distribution and abundance of mackerel eggs and larvae (*Scomber japonicus peruanus*) and some clupeids in Ecuadorian waters. *FAO Fish. Rep.*, 291(2): 553.
- Hammer, O., D. Harper and P. Ryan. 2001. Paleontological statistics software: package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.*, 4: 1-9.



- Holliday, F.G.T. 1971: Salinity: Animals-Fishes: 997-1033. In: Kinne, O. (Ed.). *Marine Ecology* Vol. 1. Part. 2. Wiley-Interscienc, London.
- Jiménez, I.L. 2008. Prospecting ichthyoplankton on the surface of the Colombian Pacific Ocean. Period 19.sep-08.oct.04.regional study of the El Niño phenomenon (ERFEN). Thesis. Univ. Militar Nueva Granada.
- Jiménez, R and D. Bonilla. 1980. Composition and distribution of plankton biomass on the equatorial front. *Inocate Ecuador Oceanogr. Act. Pac.*, 1(1): 19-64.
- Kaunda-Arara, B., J.M. Mwaluma, G.A. Locham, V. Oresland and M.K. Osore. 2009. Temporal variability in fish larval supply to Malindi Marine Park, coastal Kenya. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.*, 19(S1): S10-S18.
- Ketchum, B.H. 1992. *Ecosystems of the World. Est. Encl. Be.*, 183-203.
- Krebs, C. 1999. *Ecological methodology*. Benjamin Cumming. California. 760 p.
- Laroche, J., E. Baran and N.B. Rasoanandrasana. 1997. Temporal patterns in a fish assemblage of a semiarid mangrove zone in Madagascar. *J. Fish Biol.*, 51: 3-20.
- Luzuriaga de Cruz, M., D. Ortega and E. Elías. 1998. Abundance and distribution of ichthyoplankton, phytoplankton, and zooplankton in the Ecuadorian Sea in April 1995. *Act. Oceanogr. Esp.*, 9(1).
- Maes, J., A. Taillieu., P.A. Van Damme, K. Cottenie and F. Ollevier. 1998. Seasonal patterns in the fish and crustacean community of a turbid temperate estuary (Zeeschelde Estuary. Belgium). *Est. Coast. Shelf Sci.*, 47: 143-151.
- McCune, B. and J.B. Grace. 2002. *Analysis of ecological communities*. Bruce McCune, US. 143-164.
- McLuski, D. and E. Marriot. 2011. Challenging paradigms in estuarine ecology and management. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 94.
- Meadow, M. and R. Buchelli. 2012. Distribution and abundance of plankton in the Daule-Peripa reservoir during 2011-2012. *Bol. Cient. Tecn.*, 14(2).
- Montaño-Armijos, M. and T. Sanfeliu-Montolio. 2008. Guayas ecosystems (Ecuador). *Environ. Sust. Rev. Tecn. ESPOL.*, 21(1): 1-6.
- Morais, T. 1994. The abundance and diversity of larval and juvenile fish in a tropical estuary. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 17: 216-225.
- Moser, H.G. 1996. The early stages of fishes in the California Current region. *CalCOFI. Atlas No. 33*. 1505 p.
- Moser, H.G. and P.E. Smith. 1993. Larval fish assemblages and oceanic boundaries. *Bull. Mar. Sci.*, 53(2): 283-289.
- Neira, F. and I. Potter. 1992. Movement of larval fishes through the entrance channel of a seasonally open estuary in Western Australia. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 35: 213-224.
- Ocaña-Luna, A. and M. Sánchez-Ramírez. 2003. Diversity of Ichthyoplankton in Tampamachoco Lagoon. Veracruz. Mexico. *An. Inst. Biol.*, 74(2): 179-193.
- Ortega, D., E. Elías and R Zurita. 1996. Distribution of ichthyoplankton and zooplankton on the Ecuadorian coast in September 1995. *Bol. Cient. Tec.*, 14(1): 52-64.
- Ottersen, G., S. Kim, G. Huse, J. J. Polovina and N.C. Stenseth. 2010. Major pathways by which climate may force marine fish populations. *J. Mar. Syst.*, (3): 343-360.
- Pérez-Ruzafa, A., M.C. Mompean and C. Marcos. 2007. Hydrographic, geomorphologic and fish assemblage relationships in coastal lagoons. *Hydrobiologia*, 107-125.
- Peribonio, R., R. Repelín, M. Luzuriaga, D. Hinostrroza and M.E. Villarroel. 1981. Ecological study of the mesoplankton of the Gulf of Guayaquil abundance. nictemeral cycles and relationships between the Guayas river estuary and the ocean. *Bol. Cient. Tecn.*, 4(2).
- Pittman, S.C., A. McAlpine and K. Pittman. 2004. Linking fish and prawns to their environment: a hierarchical landscape approach. *Mar. Ecol. Prog Ser.*, 283: 233-254.
- Prado, M., L. Troccoli and E. Moncayo. 2015. Structural changes of microfitoplankton in the coastal zone of the El Oro-Ecuador province in the dry season. *Bol. Inst. Oceanogr. Venez.*, 542: 139-152.
- Ramos, S., R. Cowen and A. Bordalo. 2005. Temporal and spatial distributions of larval fish assemblages in the Lima estuary (Portugal). *Est. Coast. Shelf Sci.*, 66: 303-314.
- Richards, W.J. and K.C. Lindeman. 1987. Recruitment dynamics of reef fishes' planktonic processes settlement and demersal ecologies and fishery analysis. *Bull. Mar. Sci.*, (41): 392-410.
- Richards, W. 2005. *Early stages of Atlantic fishes: an identification guide for the Western Central North Atlantic*. Vol. 1. Taylor and Francis Group. CRC Press. Boca Raton. USES. 2640 p.
- Saborido, F. 2008. Ecology of reproduction and reproductive potential in marine fish populations. *Inst. Invest. Mar. Univ. Vigo*. 71 p.

- Salcedo, J. and D. Coello. 2018. Plankton dynamics in the first nautical mile off the province of El Oro, Ecuador. *Rev. Biol. Trop.*, 66(2): 836-847.
- Sánchez-Ramírez, G. 1997. Abundance, growth and mortality of *Chloroscombrus chysurus* (Pisces Carangidae) larvae in the southern Gulf of Mexico. Doctoral thesis. Univ. Nac. Aut. México. 85 p.
- Shannon, C.E. and W. Weaver. 1963. The mathematical theory of communication. Urban. Univ. Illinois Press, 117 p.
- Silva-Segundo, C.A, R. Funes-Rodríguez, M.E. Hernández-Rivas, E. Ríos-Jara, E.G. Robles-Jarero and A. Hinojosa-Medina. 2008. Associations of fish larvae in relation to environmental changes in the Bays of Chamela, Jalisco and Santiago, Manzanillo, Colima (2001-2002). *Hydrobiologia*, 18(1): 89-103.
- Smith, E. and S. Richardson. 1979. Model techniques for prospecting eggs and larvae of pelagic fish. *FAO. Doc. Tec. Pesca*, (175): 1-107.
- Sheskin, D. 2004. Parametric and nonparametric statistical procedures. Chapman and Hall. Boca Raton. US. 423 p.
- Stevenson, M. 1981. Seasonal variations in the Gulf of Guayaquil, a tropical estuary. *Bol. Cient. Tecn.*, 4(1): 5-28.
- Tsirsis, G. and M. Karydis. 1998. Evaluation of phytoplankton community indices for detecting eutrophic trends in the marine environment. *Environ. Monit. Assess.*, 50: 255-269.
- Torres, G., V. Calderón, E. Franco, T. Cedeño and E. Salazar. 2003-2004. Composition of plankton in the Puntilla de Santa Elena during August 2002. *Act. Oceanogr. Pac.*, 12(1): 63-74.
- Twilley, R., W. Cárdenas, V. Rivera-Monroy, J. Espinoza, R. Suescum, M. Armijos and L. Solórzano. 2001. The Gulf of Guayaquil and the Guayas river estuary. Ecuador: 245-263. *Coast. Mar. Ecosyst. of Latin America*.
- Whitehead, P.J.P., G.J. Nelson and T. Wongratana. 1988. *FAO species catalog. Clupeoid fishes of the world (Suborder Clupei)*. An annotated and illustrated catalog of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies, and wolf-herrings. Part 2. *Engraulidae*. *FAO Fish. Syn.*, 125(17): 305-579.
- Whitehead, P.J.P. and R. Rodríguez-Sánchez. 1995. *Engraulidae*. In: Fischer W. F Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter and V.H. Niem (Eds). *FAO Guide to Species Identification for Fishing Purposes. Central-Eastern Pacific. Vol. II and III Parts 1 and 2*: 1067-1068.
- Whitfield, A. 1989. Fish larval composition abundance and seasonality in a Southern-African estuarine lake. *S.A. J. Zool.*, 24: 217-224.
- Whitfield, A. 1999. Ichthyofaunal assemblages in estuaries: A South African case study. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 9: 151-186.
- Yáñez-Arancibia, A. and R. Nugent. 1977. The ecological role of fish in estuaries and coastal lagoons. *An. Centro Cien. Mar Limnol. Univ. Nac. Auton. Mexico*. 4: 107-117.
- Yáñez-Arancibia, A., A.L. Lara-Domínguez, A. Aguirre-León, S. Díaz-Ruiz, F. Amezcua-Linares, D. Flores-Hernández and P. Chavance. 1985. Ecology of dominant fish populations in tropical estuaries: environmental factors that regulate biological strategies and production: 311-366. In: Yáñez-Arancibia, A. (Ed.). *Fish community ecology in estuaries and coastal lagoons: Towards ecosystem integration*. Univ. Nac. Aut. México.

RECIBIDO/RECEIVED: 16/08/2019

APROBADO/APPROVED: 03/05/2020



NOTA/NOTE

Abundancia del pez león invasor *Pterois volitans* en los arrecifes de coral costeros del Caribe colombiano

Abundance of the invasive lionfish *Pterois volitans* in the coastal coral reefs from Colombian Caribbean

Luis Chasqui*, Natalia Rincón-Díaz y María Juliana Vanegas

0000-0002-9381-2301

0000-0002-4908-4802

0000-0002-0125-0728

1. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR), Santa Marta, Colombia. natalia.rincon@invemar.org.co, majuli_19@hotmail.com, luis.chasqui@invemar.org.co *Autor para correspondencia.

RESUMEN

Se evaluó la abundancia del pez león invasor *Pterois volitans* mediante censos visuales realizados en 2015 y 2016 en 54 sitios de seis localidades con arrecifes de coral a lo largo de la costa Caribe colombiana. El invasor se observó en todos los lugares y en la mayoría de las inmersiones, con una frecuencia de avistamiento de 88 %, valores de abundancia desde 0 hasta $9,7 \pm 2,1$ ind/250 m² (388 ind/ha) y un promedio de $0,8 \pm 1,3$ ind/250 m² (32 ind/ha). La densidad media fue similar a los valores reportados en otros trabajos que contaron pez león en una amplia escala espacial en el área invadida y el valor más alto se aproximó a la densidad máxima estimada en Colombia y otros lugares del Caribe.

PALABRAS CLAVE: Caribe sur, especie exótica invasora, censos visuales submarinos, densidad de pez león.

ABSTRACT

The abundance of the invasive lionfish *Pterois volitans* was assessed through visual censuses conducted in 2015 and 2016 at 54 sites in six localities with coral reefs across the Colombian Caribbean coast. The invader was observed across locations and in most of the dives, with sighting frequency of 88 %, abundance values from 0 to 9.7 ± 2.1 ind/250 m² (388 ind/ha), and 0.8 ± 1.3 ind/250 m² (32 ind/ha) as total mean. The average density was similar to values reported in other works that counted lionfish in a broad spatial scale on the invaded area and the highest value approximated the maximum density estimated in Colombia and other locations around the Caribbean.

KEY WORDS: southern Caribbean, invasive alien species, underwater visual census, lionfish density.

El pez león *Pterois volitans* (Linnaeus) es un escorpénido nativo del Indopacífico que fue introducido en el Atlántico occidental (AO) hace más de tres décadas. La primera captura conocida de la especie en el AO tuvo lugar en Florida, EE. UU., en 1985, y en la década siguiente se conocieron registros adicionales en lugares de EE. UU. y las Bermudas (Schofield, 2009). Para el 2010, el pez león ya se consideraba una especie exótica invasora en la mayor parte del gran Caribe, incluida Colombia (González *et al.*, 2009; Schofield, 2010). Mostrando una notable capacidad de dispersión, el invasor en menos de 30 años hizo presencia en gran parte del AO, desde Carolina del Norte en la costa este de los EE. UU., el golfo de México y el Caribe (USGS-NAS, 2020). Con un área ocupada de casi 7,3 millones de km² (Côté *et al.*, 2013), la invasión del pez león es ahora reconocida como la más rápida por un pez marino en la historia (Hamner *et al.*, 2007; Schofield, 2010; Betancur-R *et al.*, 2011). Incluso hay un registro de un pez león capturado en 2014 tan al sur como lo es Río de Janeiro, Brasil (Ferreira *et al.*, 2015).

El pez león posee un conjunto de características biológicas que determinan su éxito como invasor y lo convierten en una seria amenaza para la biota nativa del AO: un rápido crecimiento (Pusack *et al.*, 2016) y un alto rendimiento reproductivo (Gardner *et al.*, 2015; Fogg *et al.*, 2017), así como rasgos generalistas en hábitat y dieta (Muñoz *et al.*, 2011; Claydon *et al.*, 2012; Cure *et al.*, 2014; Acero *et al.*, 2019); además de una serie de características fisiológicas, morfológicas y de comportamiento que lo convierten en un cazador poderoso y en una presa difícil (Morris, 2013; Díaz-Ferguson y Hunter, 2019; Green *et al.*, 2019; Rojas *et al.*, 2019). La aparente ubicuidad y la abundancia de la especie en el área invadida, en sinergia con su carácter de depredador voraz y oportunista, le dan un gran potencial para afectar catastróficamente las comunidades de peces nativos (Côté *et al.*, 2013; Ballew *et al.*, 2016; Ingeman, 2016). Las poblaciones de peces en los arrecifes de coral están particularmente en riesgo de descenso por el pez león, poniendo en peligro la economía local de los pescadores (Albins y Hixon, 2008; Green *et al.*, 2012) e incluso provocando efectos en cascada en la estructura de las comunidades bentónicas (Lesser y Slattery, 2011).

El primer avistamiento registrado de pez león en Colombia data de diciembre de 2008 en el sitio de buceo Manta City, en la isla de Providencia, a 5 m de profundidad (Schofield, 2009). Cinco meses después, la especie se registró en el Parque Nacional Natural (PNN) Tayrona a 16 m

The lionfish *Pterois volitans* (Linnaeus) is a scorpionfish native to the Indo-Pacific that was introduced in the Western Atlantic (WA) more than three decades ago. The first known capture of the species in the WA took place in Florida, USA, in 1985, and in the following decade additional records from locations in the USA and Bermuda were known (Schofield, 2009). By 2010 the lionfish was already considered an exotic invasive species across most of the Greater Caribbean, including Colombia (González *et al.*, 2009; Schofield, 2010). Showing a remarkable dispersal capacity, in less than 30 years the invader made presence in most of the WA, from North Carolina on the east coast of USA, Gulf of Mexico, and the Caribbean (USGS-NAS, 2020). With an occupied area of almost 7.3 million km² (Côté *et al.*, 2013), lionfish invasion is now recognized as the fastest invasion by a marine fish in history (Hamner *et al.*, 2007; Schofield, 2010; Betancur-R *et al.*, 2011). There is even a report of a lionfish caught in 2014 as far south as Rio de Janeiro, Brazil (Ferreira *et al.*, 2015).

The lionfish has a set of biological characteristics that determine its success as an invader and turn it on a serious threat to the WA native biota: a rapid growth (Pusack *et al.*, 2016) and high reproductive output (Gardner *et al.*, 2015; Fogg *et al.*, 2017), as well as generalist traits in habitat and diet (Muñoz *et al.*, 2011; Claydon *et al.*, 2012; Cure *et al.*, 2014; Acero *et al.*, 2019); in addition to a series of physiological, morphological and behavioral characteristics make it a mighty hunter and a difficult prey (Morris, 2013; Díaz-Ferguson and Hunter, 2019; Green *et al.*, 2019; Rojas *et al.*, 2019). The apparent everywhere and abundance of the species in the invaded area synergistically with its character as a voracious and opportunistic predator, give it a great potential to catastrophically affect the native fish communities (Côté *et al.*, 2013; Ballew *et al.*, 2016; Ingeman, 2016). Coral reefs fish populations are particularly in risk of reduction by lionfish, putting local fishermen's economy in peril (Albins and Hixon, 2008; Green *et al.*, 2012) and even triggering cascading effects on the benthic community's structure (Lesser and Slattery, 2011).

The first recorded sighting of lionfish in Colombia dates of December 2008 at the Manta City dive site, on the island of Providencia, at 5 m depth (Schofield, 2009). Five months later the species was recorded in the Tayrona National Natural Park (NNP) at 16 m depth (González *et al.*, 2009), and since then a lot of records have been received in the INVEMAR database for the entire

de profundidad (González *et al.*, 2009), y desde entonces se han recibido muchos registros de todo el Caribe colombiano en la base de datos del INVEMAR (<http://invasoresmarinos.invemar.org.co/>). Desde ese primer registro, se han adelantado en el país investigaciones sobre la invasión en varios temas, desde la caracterización de la especie (Hernández-Abello *et al.*, 2015; González *et al.*, 2011) hasta aspectos de su ecología trófica (*e.g.* Muñoz-Escobar y Gil-Agudelo, 2012; Pabón y Acero, 2015; Acero *et al.*, 2019). Algunos estudios han estimado la abundancia del pez león en lugares específicos, como el PNN Tayrona y Santa Marta (Bayraktarov *et al.*, 2014; Coronado-Carrascal *et al.*, 2015; García-Urueña *et al.*, 2015), y en la isla de San Andrés (González-Corredor *et al.*, 2016), pero hasta la fecha, solo existe un trabajo publicado en el que se evaluaron lugares distantes (Rojas-Vélez *et al.*, 2019). Hasta el momento, no hay estudios de la abundancia de esta especie con metodologías estandarizadas y en un número de localidades que permitan comparaciones en una escala espacial más amplia. En ese sentido, este trabajo ofrece información sobre la distribución y abundancia del pez león a nivel regional en Colombia, contribuyendo al acervo de información sobre esta invasión biológica en el país.

Entre agosto-octubre de 2015 y mayo-septiembre de 2016 se visitaron las seis localidades con la mayor extensión de formaciones coralinas en el Caribe continental colombiano, a fin de verificar la presencia y estimar la abundancia del pez león (Figura 1; Tabla 1). Los censos de pez león se hicieron entre las 7 a. m. y las 5 p. m. siguiendo la metodología de Green (2013), ampliamente utilizada en el AO. Mediante buceo SCUBA se realizó una búsqueda intensiva del pez león en transectos de 25×10 m, cuidando de buscar bajo las salientes y entre las grietas y oquedades del arrecife.

Los valores de densidad se estimaron en individuos por 250 m^2 , que se promediaron por sitio y localidad y se extrapolaron a hectáreas para comparación con otros estudios. El número de censos fue variable entre sitios (3 a 12) (Tabla 1) porque el tiempo para evaluar cada transecto cambió de acuerdo con los rasgos físicos de los sitios de muestreo (*e.g.* mayor/menor complejidad estructural, profundidad, visibilidad); así como con el tiempo de buceo en línea con los límites de descompresión del buceo con aire. Para evaluar las diferencias de densidad entre años, entre ubicaciones y en relación con la profundidad, se utilizó la prueba estadística para medianas de Mood. Previamente, se analizó la normalidad y la homocedasticidad de los datos con las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett. Para los análisis, se clasificaron las profundidades así: 1: 1-10 m, 2: > 10-20 m,

Colombian Caribbean (<http://invasoresmarinos.invemar.org.co/>). Since the first record, research on the invasion has been carried out in the country in several topics, from the characterization of the species (Hernández-Abello *et al.*, 2015; González *et al.*, 2011) to its trophic ecology (*e.g.* Muñoz-Escobar and Gil-Agudelo, 2012; Pabón and Acero, 2015; Acero *et al.*, 2019). Some studies have estimated lionfish abundance on specific locations, such as Tayrona NNP and Santa Marta (Bayraktarov *et al.*, 2014; Coronado-Carrascal *et al.*, 2015; García-Urueña *et al.*, 2015), and San Andrés island (González-Corredor *et al.*, 2016); but until date, just one published work exists in which distant locations were evaluated (Rojas-Vélez *et al.*, 2019). So far, there are no reports of this species abundance with standardized methodologies and in a number of locations as to make comparisons on a broader spatial scale. In that sense, this work offers information on the distribution and abundance of the lionfish on a regional level in Colombia, contributing to the information pool on this biological invasion in the country.

Between August-October 2015 and May-September 2016, the six localities with the most significant extension of coral formations throughout the Colombian continental Caribbean were visited to verify the presence and estimate the abundance of lionfish (Figure 1; Table 1). Lionfish census were made between 7-17 h following the Green (2013) methodology, widely used in the WA. Through SCUBA diving, an intensive search of lionfish in transects of 25×10 m was carried out, taking care of searching under the overhangs and among reef cavities and cracks.

Density values were estimated in individuals per 250 m^2 , averaged by site and locality and extrapolated to hectares for comparison with other studies. The number of census vary between sites (3 to 12) (Table 1) because time to evaluate each transect changed according to physical traits of the sampling sites (*e.g.* greater/lesser structural complexity, depth, visibility); as well as with diving time in line to decompression limits of scuba diving with air. To assess for differences in density among years, between locations, and related to depth, the statistical test of Mood for the medians was used. Previously, the normality and homoscedasticity of the data were analyzed with the Shapiro-Wilk and Bartlett tests. For the analyzes depth were ranked as follows: 1: 1-10 m, 2: > 10-20 m, 3: > 20-30 m, 4: > 30-40 m. All analyzes were done with Statgraphics Centurion XVI.

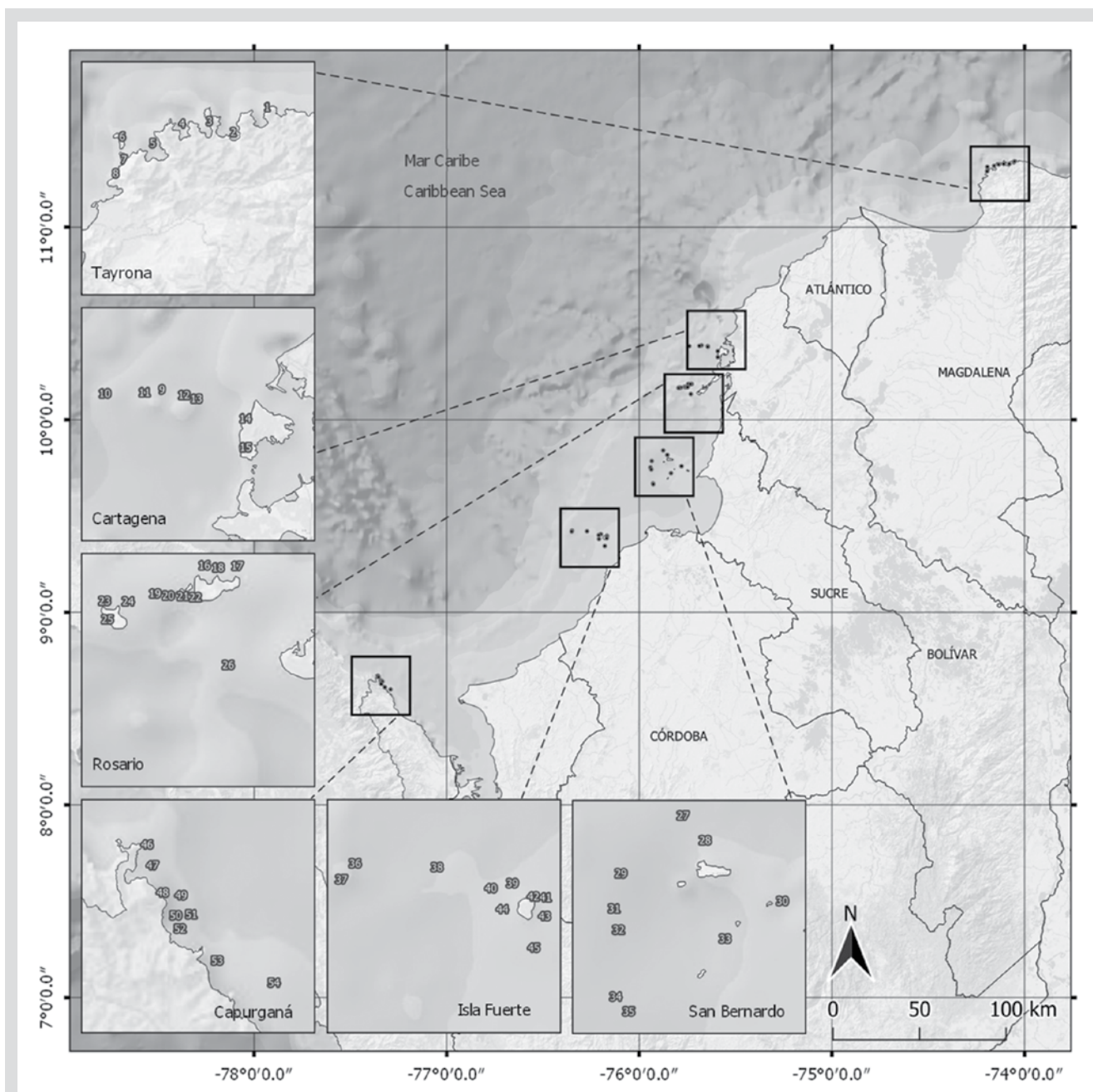


Figura 1. Sitios de muestreo en seis localidades de la costa Caribe colombiana donde se evaluó la abundancia del pez león en 2015 y 2016. Los nombres de los sitios correspondientes a cada número en los cuadros de localidades se encuentran en la Tabla 1.

Figure 1. Sampling sites in six localities from the Colombian Caribbean coast where lionfish abundance was evaluated in 2015 and 2016. The names of the sites corresponding to each number in the localities boxes are in Table 1.

3: > 20-30 m, 4: > 30-40 m. Todos los análisis se hicieron con Statgraphics Centurion XVI.

Se hicieron en total 452 censos en 54 sitios en las seis localidades durante los dos años (191 en 2015; 261 en 2016), cubriendo un área muestreada total de 113 000 m² entre 4,5 y 44 m de profundidad. La búsqueda en cada transecto duró 17,3 min en promedio para un tiempo total de muestreo de alrededor de 130 h, durante el cual se observaron 350

A total of 452 censuses were conducted in 54 sites in the six localities during the two years (191 in 2015; 261 in 2016), with a sampled area of 113,000 m² between 4.5 and 44 m deep. The search in each transect lasted 17.3 min on average for a whole sampling time of around 130 h, during which 350 lionfishes were observed in 185 transects from 48 sites. From a total of 85 dives, the invader was observed in 75 for a sighting frequency



Tabla 1. Abundancia del pez león en la costa Caribe colombiana en 2015 y 2016. Densidad promedio (individuos/250 m²) ± 1 desviación estándar con el número de censos por sitio de muestreo entre paréntesis. ND significa que el sitio no fue evaluado ese año.

Table 1. Lionfish abundance in the Colombian Caribbean coast in 2015 and 2016. Average density (individuals/250 m²) ± 1 standard deviation with the number of censuses per sampling site in parentheses. ND means the site was not evaluated that year.

Localidad/Locality	Sitio de muestreo/Sampling site	Geolocalización/Geolocation	2015	2016
Parque Nacional Natural Tayrona/ Tayrona National Natural Park	Cinto	1 11° 20' 31" N, 74° 03' 10" W	0.8 ± 0.8 (6)	1.2 ± 2.0 (6)
	Neguanje	2 11° 19' 42" N, 74° 04' 48" W	0 (6)	0.4 ± 0.8 (12)
	Gayraca	3 11° 19' 42" N, 74° 06' 33" W	0 (6)	0.5 ± 0.6 (4)
	Chengue	4 11° 19' 33" N, 74° 08' 09" W	0.2 ± 0.4 (6)	1.2 ± 1.3 (6)
	Concha	5 11° 19' 09" N, 74° 09' 34" W	0.7 ± 1.2 (6)	1.5 ± 2.1 (6)
	Isla Aguja/Aguja island	6 11° 18' 48" N, 74° 11' 39" W	ND	0.8 ± 1.6 (6)
	Granate	7 11° 17' 50" N, 74° 11' 33" W	1.0 ± 1.1 (6)	0.3 ± 0.5 (6)
	Punta Granate	8 11° 17' 23" N, 74° 11' 44" W	ND	0.2 ± 0.4 (6)
Cartagena	Salmedina	9 10° 23' 12" N, 75° 40' 40" W	1.2 ± 2.2 (5)	0.8 ± 1.2 (6)
	Burbujas 2	10 10° 22' 57" N, 75° 44' 28" W	0.4 ± 0.5 (5)	ND
	Burbujas Nati	11 10° 23' 01" N, 75° 41' 18" W	1.3 ± 0.5 (6)	0.5 ± 0.9 (12)
	Barco Faro	12 10° 22' 57" N, 75° 38' 43" W	0.7 ± 1.2 (6)	1.8 ± 2.1 (6)
	Barco Cemento	13 10° 22' 43" N, 75° 38' 41" W	1.2 ± 0.8 (5)	ND
	Horno	14 10° 21' 22" N, 75° 35' 36" W	0.2 ± 0.4 (6)	ND
	La Monja	15 10° 19' 33" N, 75° 35' 35" W	ND	1.0 ± 0.9 (6)
Archipiélago del Rosario/ Rosario archipelago	Punta Brava	16 10° 11' 11" N, 75° 44' 45" W	ND	0.5 ± 0.8 (6)
	Isla Fiesta/Fiesta island	17 10° 11' 10" N, 75° 43' 43" W	0.9 ± 1.0 (10)	0.2 ± 0.4 (6)
	Latifundio	18 10° 11' 07" N, 75° 44' 08" W	1.2 ± 1.3 (5)	1.5 ± 1.6 (6)
	Pavitos	19 10° 10' 18" N, 75° 45' 56" W	0 (5)	0 (6)
	Alex Place	20 10° 10' 14" N, 75° 45' 42" W	ND	0.3 ± 0.8 (6)
	Telber	21 10° 10' 13" N, 75° 45' 14" W	ND	0.5 ± 0.8 (6)
	Luis Guerra	22 10° 10' 11" N, 75° 45' 02" W	0.8 ± 0.8 (5)	0.2 ± 0.4 (6)
	Rosario 2	23 10° 10' 04" N, 75° 47' 42" W	0.4 ± 0.5 (5)	ND
	Barco Hundido	24 10° 10' 03" N, 75° 47' 09" W	0 (5)	0.3 ± 0.5 (6)
	Rosario 1	25 10° 09' 53" N, 75° 47' 48" W	0.4 ± 0.5 (5)	ND
Isla Arena/Arena island	26 10° 08' 03" N, 75° 44' 00" W	0.6 ± 1.3 (5)	0.7 ± 1.2 (6)	
Archipiélago de San Bernardo/ San Bernardo archipelago	Bajo Picuas	27 09° 50' 29" N, 75° 52' 35" W	ND	0 (4)
	Bajo del Medio	28 09° 49' 04" N, 75° 51' 19" W	ND	0 (4)
	Bajo Tiosolda	29 09° 47' 10" N, 75° 56' 09" W	ND	0 (5)
	Isla Mangle/Mangle island	30 09° 45' 35" N, 75° 46' 53" W	ND	0 (4)
	Bajo Minalta 2	31 09° 45' 09" N, 75° 56' 32" W	ND	0 (4)
	Bajo Minalta	32 09° 44' 34" N, 75° 56' 17" W	ND	0.8 ± 0.8 (5)
	N20	33 09° 43' 25" N, 75° 50' 10" W	ND	0.5 ± 0.6 (4)
	Bajo Nuevo Norte	34 09° 40' 11" N, 75° 55' 46" W	ND	0.8 ± 1.0 (4)
Bajo Nuevo	35 09° 39' 58" N, 75° 55' 42" W	ND	1.0 ± 1.2 (4)	

Localidad/Locality	Sitio de muestreo/Sampling site	Geolocalización/Geolocation	2015	2016	
Isla Fuerte/Fuerte island	Bushnell-Laberinto	36	09° 25' 29" N, 76° 21' 00" W	2.8 ± 2.5 (4)	0.3 ± 0.6 (3)
	Bushnell-Rana	37	09° 25' 12" N, 76° 21' 06" W	1.8 ± 1.5 (6)	1.5 ± 1.0 (6)
	Bartolo	38	09° 25' 16" N, 76° 16' 19" W	9.7 ± 2.1 (3)	ND
	Socorro	39	09° 24' 21" N, 76° 12' 01" W	1.0 ± 1.1 (6)	0.3 ± 0.5 (6)
	Bajo de los Pargos	40	09° 24' 04" N, 76° 12' 39" W	ND	0.4 ± 0.5 (5)
	El Inglés	41	09° 23' 54" N, 76° 10' 07" W	0.5 ± 0.5 (6)	0.8 ± 1.0 (6)
	Alicia	42	09° 23' 41" N, 76° 10' 08" W	1.0 ± 1.3 (6)	0.3 ± 0.8 (6)
	Venados	43	09° 23' 06" N, 76° 10' 10" W	1.0 ± 2.0 (6)	0.8 ± 0.4 (5)
	Fondo Loco	44	09° 22' 52" N, 76° 12' 35" W	ND	0.6 ± 0.9 (5)
	Planchón	45	09° 20' 40" N, 76° 10' 47" W	ND	0.6 ± 0.5 (5)
Capurganá	Cabo Tiburón/Tiburón cape	46	08° 40' 18" N, 77° 21' 26" W	1.6 ± 2.1 (5)	3.2 ± 2.2 (5)
	El Palmar	47	08° 39' 51" N, 77° 21' 16" W	0.2 ± 0.4 (5)	1.0 ± 0.8 (5)
	Piscina de Dios	48	08° 38' 49" N, 77° 20' 38" W	0.6 ± 0.9 (5)	ND
	Bajo Naui	49	08° 38' 44" N, 77° 20' 23" W	1.4 ± 2.1 (5)	1.4 ± 1.1 (5)
	La Grieta	50	08° 38' 30" N, 77° 20' 11" W	0.2 ± 0.4 (5)	0.6 ± 1.3 (5)
	Bajo Carey	51	08° 38' 29" N, 77° 20' 04" W	1.0 ± 1.0 (5)	1.2 ± 0.8 (5)
	El Regalo	52	08° 37' 45" N, 77° 20' 25" W	ND	0.2 ± 0.4 (5)
	Aguacate	53	08° 36' 43" N, 77° 19' 16" W	0.8 ± 0.8 (5)	0.5 ± 1.0 (5)
Isla Pájaro/Pájaro island	54	08° 36' 02" N, 77° 17' 31" W	0.2 ± 0.4 (5)	1.3 ± 1.0 (5)	

peces león en 185 transectos de 48 sitios. De un total de 85 inmersiones, el invasor se observó en 75, para una frecuencia de avistamiento de 88 %, lo que permite considerar la especie como frecuente en los lugares y años de muestreo (> 70 %), de acuerdo con los estándares de Schmitt y Sullivan (1996). Los sitios donde no se registró la especie durante los censos fueron Pavitos, en el archipiélago del Rosario, que se visitó en ambos años (n = 11), y Bajo Picuas (n = 4), Bajo del Medio (n = 4), Bajo Tiosolda (n = 4), isla Mangle (n = 4) y Bajo Minalta 2 (n = 4), que están en el archipiélago de San Bernardo y que se visitaron solamente en 2016 (Tabla 1).

Durante el estudio se registraron valores de densidad entre 0 y 12 ind/250 m² (480 ind/ha), con un promedio general de 0,8 ± 1,3 ind/250 m² (32 ind/ha). En 2015, la densidad promedio fue de 0,9 ± 1,6, y en 2016 fue de 0,7 ± 1,1 ind/250 m². La densidad promedio más alta por sitio fue de 9,7 ± 2,1 ind/250 m² (388 ind/ha) y se registró en Bartolo (isla Fuerte) en octubre de 2015. La localidad con la densidad promedio más alta en los dos años fue isla Fuerte con 1,2 ± 2,8 ind/250 m² (48 ind/ha), seguido de Capurganá y Cartagena con 0,9 ± 1,3 ind/250 m² y 0,9 ± 1,2 ind/250 m²,

of 88 %, which allows considering the species as frequent in the locations and years of sampling (> 70 %) according to the standards of Schmitt and Sullivan (1996). The sites where the species was not registered during the censuses were Pavitos in the Rosario archipelago, which was visited both years (n = 11); and Bajo Picuas (n = 4), Bajo del Medio (n = 4), Bajo Tiosolda (n = 4), Mangle island (n = 4) and Bajo Minalta 2 (n = 4), which are in the archipelago of San Bernardo and which were visited only in 2016 (Table 1).

Density values between 0 to 12 ind/250 m² (480 ind/ha) were recorded during the study, with a general average of 0.8 ± 1.3 ind/250 m² (32 ind/ha). In 2015 the average density was 0.9 ± 1.6, and in 2016 it was 0.7 ± 1.1 ind/250 m². The highest average density per site was 9.7 ± 2.1 ind/250 m² (388 ind/ha) and was registered in Bartolo (Fuerte island) in October 2015. The locality with the highest average density in the two years was Fuerte island with 1.2 ± 2.8 ind/250 m² (48 ind/ha), followed by Capurganá and Cartagena with 0.9 ± 1.3 ind/250 m² and 0.9 ± 1.2 ind/250 m² respectively. When extrapolated to hectares the highest average density per site is similar to

respectivamente. La densidad promedio más alta por sitio cuando se extrapola a hectáreas es similar a la densidad máxima de pez león reportada en Colombia por González-Corredor *et al.* (2016), que es de 379,03 ind/ha durante 2012 en la isla de San Andrés. Los valores de densidad del pez león de San Andrés y Bajo Bartolo están cerca de algunas de las densidades más altas reportadas para la especie en el área invadida por estudios que utilizaron métodos similares (Tabla 2).

Bartolo es una elevación del fondo marino ubicada a unos 10 km al noroeste de isla Fuerte, cuya parte más somera tiene alrededor de 35 m de profundidad. Esto hace que el sitio no sea adecuado para la pesca submarina o el buceo recreativo, y por lo tanto, que la extracción del pez león haya sido inusual o ausente en Bartolo antes de este trabajo. Otros lugares con densidades significativas de pez león fueron Bushnell-Laberinto ($2,8 \pm 2,5$ ind/250 m²), también en isla Fuerte, y cabo Tiburón, en la localidad de Capurganá ($3,2 \pm 2,2$ ind/250 m²). En términos generales, estos son sitios remotos, donde las acciones para controlar la invasión son poco frecuentes o nulas por problemas logísticos para el buceo y una presencia limitada de las autoridades ambientales debido a que no son áreas realmente protegidas. La densidad media más baja del pez león se registró en el archipiélago de San Bernardo con solo 13,7 ind/ha ($0,3 \pm 0,7$ ind/250 m²), e incluso estuvo ausente en cinco de los nueve sitios muestreados en esta localidad (Tabla 1).

Si se asume que, en los dos años, la densidad promedio en todos los sitios ($0,8 \pm 1,3$ ind/250 m²; 32 ind/ha) fue representativa de la abundancia de pez león en el Caribe continental colombiano, se puede decir que este valor fue bajo en comparación con las densidades reportadas en trabajos con métodos similares (*i.e.* censos visuales en transectos) en otros lugares del Caribe como Bahamas, islas Caimán, Cuba, Belice, México, Costa Rica, Venezuela, y Curazao (Tabla 2). En Colombia, se han registrado densidades mucho más altas en sondeos locales, como el de González-Corredor *et al.* (2016) en San Andrés, y en el estudio de García-Urueña *et al.* (2015) en Santa Marta (Tabla 2). Sin embargo, al hacer comparaciones sobre la densidad del pez león entre estudios, se debe considerar un conjunto de factores como la profundidad, la fecha de muestreo, el tiempo transcurrido desde la llegada del invasor, el tamaño del transecto (largo y ancho) y la escala espacial del muestreo, entre otros.

Al considerar solo densidades reportadas por estudios que incluyeron múltiples ubicaciones en una escala regional (*e.g.* superior a 100 km), encontramos valores similares a la densidad promedio registrada aquí. Por ejemplo, Agudo y

the maximum density of lionfish reported in Colombia by González-Corredor *et al.* (2016), that is of 379.03 ind/ha during 2012 in San Andrés island. Both, San Andrés and Bajo Bartolo's lionfish density values are near to some of the highest densities reported for the species on the invaded area by studies that used similar methods (Table 2).

Bajo Bartolo is a seafloor elevation located about 10 km northwest of Fuerte island, which shallow part is around 35 m deep, making the site unsuitable for spearfishing or recreational diving so that lionfish removal has been unusual or absent before this work. Other places with significant densities of lionfish were Bushnell-Laberinto (2.8 ± 2.5 ind/250 m²), also on Fuerte island, and Tiburón cape in the locality of Capurganá (3.2 ± 2.2 ind/250 m²). In general terms, these are remote sites, where actions to control the invasion are infrequent or null due to logistical issues for diving and a limited presence of environmental authorities because they are not real protected areas. The lowest average density of lionfish was recorded in San Bernardo archipelago with just 13.7 ind/ha (0.3 ± 0.7 ind/250 m²), being even absent in five out of nine sampled sites at this locality (Table 1).

Assuming that the average density throughout sites in the two years (0.8 ± 1.3 ind/250 m²) (32 ind/ha) was representative of lionfish abundance on the Colombian continental Caribbean, then we can say that this value was low compared to densities reported in works with similar methods (*i.e.* UVC in transects) in other places in the Caribbean, such as in the Bahamas, Cayman islands, Cuba, Belize, Mexico, Costa Rica, Venezuela, and Curacao (Table 2). In Colombia, much higher densities have been recorded in local surveys, like that by González-Corredor *et al.* (2016) in San Andrés, and the study by García-Urueña *et al.* (2015) in Santa Marta (Table 2). However, when making comparisons on lionfish density among studies, a suite of factors must be considered, such as depth, date of sampling, the time elapsed since the arrival of the invader, transect size (length and width), and spatial scale of the survey, among others.

When considering only densities reported by studies including multiple locations at a regional scale (*e.g.* greater than 100 km), we found similar values to the average density reported here. For example, Agudo and Klein (2014) sampled five localities distributed over more than 400 km of the Venezuelan coast in 2013 and reported 25.83 ind/ha; Whitfield *et al.* (2007) scan sites along 160 km off the North Carolina coast in 2004 and

Tabla 2. Densidades de pez león estimadas mediante censos visuales en estudios realizados en varios lugares del Atlántico occidental. DE: Desviación estándar; n: número de transectos.**Table 2.** Lionfish densities estimated through visual censuses in studies carried out in several places of the Western Atlantic. SD: Standard deviation; n: number of transects.

Sitio/Site	Primer registro/ First recording	Fecha del muestreo/ Date of sampling	Tamaño del transecto/ Transect size	Densidad media ± DE, n (profundidad)/Average density ± SD, n (depth)	Referencia/Reference
Parque Tayrona, Cartagena, archipiélago del Rosario, archipiélago de San Bernardo, isla Fuerte y Capurganá, Colombia/ Tayrona Park, Cartagena, Rosario archipelago, San Bernardo archipelago, Fuerte Island and Capurganá, Colombia	2009	Ago-2015 a sep-2016/ Aug-2015 to Sep-2016	25 × 10 m	0.8 ± 1.3 ind/250 m ² , n = 452 (4.5-44 m)	Este estudio/ Present study
San Andrés, Colombia	2008	Ago-2011 a mar-2013/ Aug-2011 to Mar-2013	100 × 3 m, 200 × 3 m	379.03 ± 220 ind/ha (10-22 m)	González-Corredor <i>et al.</i> (2016)
Santa Marta y Parque Tayrona, Colombia/ Santa Marta and Tayrona Park, Colombia	2009	Ene-dic 2012/ Jan-Dec 2012	30 × 4 m	2.6 ± 2.1 ind/120 m ² (10-12 m)	García-Urueña <i>et al.</i> (2015)
Santa Marta y Parque Tayrona, Colombia/ Santa Marta and Tayrona Park, Colombia	2009	Dic-2011 a dic-2012/ Dec-2011 to Dec-2012	30 × 10 m	2.60 ± 2.12 ind/300 m ² (10-12 m)	Coronado-Carrascal <i>et al.</i> (2015)
Parque Tayrona, Colombia/ Tayrona Park, Colombia	2009	2012	50 × 5 m	2.9 ± 0.9 ind/ha, n = 288 (9-11 m)	Bayraktarov <i>et al.</i> (2014)
Dos Mosquises, Venezuela	2010	Mar-2011, mar-2013	30 × 2 m	121 ± 164 ind/ha, n = 22 (6-12 m)	Elise <i>et al.</i> (2015)
Parque Nacional Morrocoy, Ocumare de la Costa, Chichirivichi de la Costa, Chuspa y Parque Nacional Mochina, Venezuela/ Morrocoy National Park, Ocumare de la Costa, Chichirivichi de la Costa, Chuspa and Mochina National Park, Venezuela	2009	2013	30 × 4 m	25.83 ± 66.51 ind/ha, n = 200 (5-20 m)	Agudo and Klein (2014)
Bonaire, Caribe sur/ Bonaire, southern Caribbean	2009	Jun-ago 2011/ Jun-Aug 2011	50 × 40 m	66 ind/ha, n = 151 (5, 25, 35 m)	De León <i>et al.</i> (2013)
Curacao, Caribe sur/ Curacao, southern Caribbean	2009	Jun-ago 2011/ Jun-Aug 2011	50 × 40 m	127 ind/ha, n = 147 (5, 25, 35 m)	De León <i>et al.</i> (2013)
Costa Caribe sur de Costa Rica/ Southern Caribbean coast of Costa Rica	2008	Mar-jun 2011	15-43 m × 5 m	92 ± 130 ind/ha, n = 26 (0-7 m)	Sandel <i>et al.</i> (2015)
Reserva de la Biosfera Banco Chinchorro (BCBR), México/ Banco Chinchorro Biosphere Reserve (BCBR), Mexico	2008	Mar-may 2013	30 × 4 m	97.58 ± 140.25 ind/ha, n = 130	Sabido-Itzá y García-Rivas (2019)
Barrera Mesoamericana Belice-México/ Mesoamerican Barrier Belize-Mexico	2008	May-jul 2012	50 × 10 m	1.6 ind/100 m ²	Hackerott <i>et al.</i> (2013)
Little Cayman Island, UK	2008	2011	50 × 4 m	233-650 ind/ha	Frazer <i>et al.</i> (2012)
Parque Marino Cayos de San Felipe, Cuba/ Cayos de San Felipe Marine Park, Cuba	2009	2013-2015	50 × 2 m	0.4 ind/100 m ² , n = 72 (15 m); 0.3 ind/100 m ² , n = 72 (25 m)	De la Guardia <i>et al.</i> (2017)
Parque Nacional Guanahacabibes, Cuba/ Guanahacabibes National Park, Cuba	2009	Dic-2010, sep-2011, abr-2012, jun-2013, feb-2014/ Dec-2010, Sep-2011, Apr-2012, Jun-2013, Feb-2014	50 × 2 m	0.031 ind/m ² , (15-25 m)	Cobián <i>et al.</i> (2016)
Arrecifes de la costa oeste de La Habana, Cuba/ Reefs off the west coast of La Habana, Cuba	2007	Jun-jul 2012, dic-2012 a ene-2013/ Jun-Jul 2012, Dec-2012 to Jan-2013	50 × 2 m	1.6 ± 1.8 ind/100 m ² , n = 12 (10-12 m)	García-Rodríguez <i>et al.</i> (2015)

Sitio/Site	Primer registro/ First recording	Fecha del muestreo/ Date of sampling	Tamaño del transecto/ Transect size	Densidad media \pm DE, n (profundidad)/Average density \pm SD, n (depth)	Referencia/Reference
Jardines de la Reina, Cuba	2007	May-jun 2011	50 \times 10 m	1.5 ind/100 m ²	Hackerott <i>et al.</i> (2013)
Eleuthera, Bahamas	2005	2009	50 \times 10 m	4.4 \pm 0.5 ind/100 m ² , n = 12	Hackerott <i>et al.</i> (2013)
Eleuthera, Bahamas	2007	Jun-2011 a feb-2012/ Jun-2011 to Feb-2012	24-30 \times 4 m	3 \pm 6 ind/100 m ² , n = 33	Green <i>et al.</i> (2013)
New Providence, Bahamas	2004	May-jul 2008	50 \times 10 m	393.3 \pm 144.4 ind/ha, n = 12 (12-20 m)	Green and Côté (2009)
New Providence, Bahamas	2004	May-jul 2008	50 \times 10 m	101.7 \pm 103.0 ind/ha, n = 75 (5-20 m)	Darling <i>et al.</i> (2011)
Carolina del Norte, EE. UU./ North Carolina, USA	2000	Ago-2004/ Aug-2004	50 m, 100 m	21.2 \pm 5.1 ind/ha, n = 17 (30-45 m)	Whitfield <i>et al.</i> 2007

Klein (2014) muestrearon cinco localidades distribuidas en más de 400 km de costa venezolana en 2013 e informaron 25,83 ind/ha; Whitfield *et al.* (2007) exploraron sitios a lo largo de 160 km en la costa de Carolina del Norte en 2004 y reportaron densidades de 21,2 ind/ha. Por lo tanto, parece que las densidades de pez león obtenidas por estudios con varias localidades dispersas en grandes áreas pueden ser más diagnósticas de esta invasión biológica a escala nacional. Además, tales estudios permiten hacer comparaciones directas entre lugares por la consistencia en los métodos de muestreo, lo que destaca la importancia de establecer programas de monitoreo estandarizados en el país.

En Colombia no existen estudios que evalúen la abundancia de pez león en una escala espacial amplia mediante censos visuales en transectos. Recientemente, Rojas-Vélez *et al.* (2019), evaluando una hipótesis de resistencia biológica, contaron *P. volitans* mediante censos visuales errantes y reportaron densidades equivalentes a 84 ind/ha (0,84 \pm 0,89 ind/100 m²). Las diferencias en los métodos, la intensidad de muestreo y los sitios impiden una comparación directa con los resultados de este estudio; sin embargo, a pesar del menor esfuerzo de muestreo (44 censos en 24 sitios *versus* 452 transectos en 54 sitios), su densidad promedio es tres veces mayor que la registrada en esta investigación, lo que podría explicarse por diferencias metodológicas y sus conteos en la isla de San Andrés, donde se han registrado las densidades más altas de pez león en Colombia (González-Corredor *et al.*, 2016).

El único lugar en Colombia con varias publicaciones sobre la abundancia del pez león estimada a través de censos visuales en transectos es el PNN Tayrona, y la variabilidad en los valores de densidad es notoria, pues van desde 2,9 ind/ha (Bayraktarov *et al.*, 2014) hasta 216,7 ind/ha (García-Urueña

reported densities of 21.2 ind/ha. Therefore, it seems like lionfish densities obtained by studies with several localities scattered in large areas can be more diagnostic of this biological invasion on a national scale. Furthermore, such studies allow direct comparisons to be made among places by the consistency in sampling methods, highlighting the importance of establishing standardized monitoring programs in the country.

Studies on a broad spatial scale evaluating lionfish abundance through underwater visual censuses in transects do not exist in Colombia. Recently, Rojas-Vélez *et al.* (2019) evaluating a biological resistance hypothesis counted *P. volitans* through roving visual censuses and reported densities equivalent to 84 ind/ha (0.84 \pm 0.89 ind/100 m²). Differences in methods, sampling intensity, and sites preclude a direct comparison with our results; however, despite lower sampling effort (44 censuses in 24 sites *versus* 452 transects in 54 sites), their average density is three-fold than the one herein reported, which could be explained by methodological differences and their counts in San Andrés island, where highest lionfish densities in Colombia have been recorded (González-Corredor *et al.*, 2016).

The only one location in Colombia with several publications on lionfish abundance estimated through visual censuses in transects is Tayrona NNP, and the variability in density values are remarkable, ranging from 2.9 ind/ha (Bayraktarov *et al.*, 2014) up to 216.7 ind/ha (García-Urueña *et al.*, 2015). The estimated abundances in this study for that locality (Table 1) are more similar to those in Coronado-Carrascal *et al.* (2015), who reported values equivalent to 68, 63.7, and 37 ind/ha for Cinto, Chengue, and Aguja island. It cannot be ruled out that

et al., 2015). Las abundancias estimadas en este estudio para esa localidad (Tabla 1) son más similares a las de Coronado-Carrascal *et al.* (2015), que reportaron valores equivalentes a 68, 63,7 y 37 ind/ha para Cinto, Chengue e isla Aguja. No se puede descartar que toda esta variabilidad en las estimaciones de abundancia del pez león, incluso en un solo lugar, puede ser un reflejo de poblaciones altamente dinámicas por las variaciones en el esfuerzo reproductivo y el éxito del reclutamiento *versus* la mortalidad natural más la mortalidad por pesca debido a esfuerzos de control diferentes en cada localidad. Sin embargo, en ausencia de resultados de un monitoreo a largo plazo con métodos estándar, es más fácil atribuir esa variabilidad a las diferencias en los métodos y al esfuerzo de muestreo entre los diferentes estudios. De ahí la importancia de establecer un programa nacional de monitoreo para la invasión por pez león.

Las densidades de pez león en la mayoría de los sitios estudiados fueron similares entre años; sin embargo, se obtuvieron algunos valores extremos con algunos sitios que muestran densidades mucho más altas que el promedio, y otros donde no se registró la presencia de pez león (Figura 2). La prueba de la mediana de Mood mostró que no hubo diferencias significativas en las densidades de pez león entre los años muestreados ($X_1^2 = 1,70$; $p = 0,19$), ni entre las localidades ($X_5^2 = 5,93$; $p = 0,31$), ni entre las profundidades de muestreo ($X_3^2 = 1,47$; $p = 0,68$).

Las variaciones en la densidad del pez león entre localidades podrían deberse a diferencias en el régimen de acciones de control, principalmente porque los torneos de pez león y la cacería frecuente que hacen las escuelas de buceo están ocurriendo solo en algunas áreas. Por ejemplo, las localidades Rosario, San Bernardo y Tayrona, al ser áreas protegidas en el Sistema Nacional de Parques Naturales, tienen acciones de control de la invasión desde 2010 (*e.g.* Resolución MAVDT 0132 de 2010). Además, debido a la proximidad de las ciudades turísticas a estas áreas, la cacería del pez león por parte de pescadores y buzos es frecuente (L. Chasqui *obs. pers.*). Por el contrario, Capurganá e isla Fuerte son lugares remotos que carecen de figuras de protección y donde la presencia de buzos es escasa; por lo tanto, las acciones de control de las poblaciones del invasor han sido prácticamente inexistentes. Diferentes estudios en el AO destacan la necesidad de controlar el número de peces león mediante la cacería constante y los torneos de pesca, que son quizás las únicas acciones disponibles hasta la fecha para enfrentar la invasión biológica por *P. volitans* (Barbour *et al.*, 2011; Frazer *et al.*, 2012; De León *et al.*, 2103; Green *et al.*, 2017).

all this variability in lionfish abundance estimates, even in one location, can be a reflection of highly dynamic populations due to variations in reproductive effort and recruitment success *versus* natural mortality, plus fishing mortality caused by differential control efforts in each locality. However, in the absence of results from a long-term monitoring with standard methods, it is easier to attribute that variability to differences in methods and sampling effort among the different studies. Hence the importance to establish a national monitoring program for lionfish invasion.

Lionfish densities at the majority of surveyed sites were similar between years; however, some extreme values were present, with a few sites showing densities much higher than average and others where the presence of lionfish was not recorded (Figure 2). The Mood median test showed that there were no significant differences in lionfish densities between the sampled years ($X_1^2 = 1.70$; $p = 0.19$), neither among localities ($X_5^2 = 5.93$; $p = 0.31$) and nor between sampling depths ($X_3^2 = 1.47$; $p = 0.68$).

Variations in lionfish density between localities could be due to differences in the regime of control actions, mainly because lionfish derbies and frequent culling by diving schools are happening just in some areas. For example, the localities Rosario, San Bernardo, and Tayrona, are protected areas into the National System of Natural Parks and have control actions of the invasion since 2010 (*e.g.* Resolution MAVDT 0132 of 2010). Furthermore, due to the proximity of touristic cities to these areas, lionfish culling by fishers and divers are frequent (L. Chasqui *pers. obs.*). On the contrary, Capurganá and Fuerte island are remote places without protection status and where the presence of divers is scarce; therefore, control actions of the invader populations have been practically non-existent. Different studies in the WA stand out the need of controlling lionfish numbers through constant culling and derbies, which are maybe the only actions available until date to face the biological invasion by *P. volitans* (Barbour *et al.*, 2011; Frazer *et al.*, 2012; De León *et al.*, 2103; Green *et al.*, 2017).

Variations in lionfish abundance (and size) have been previously documented in different locations on the invaded area, often increasing with depth (*e.g.* Claydon *et al.*, 2012; González *et al.*, 2016; Hunt *et al.*, 2019). Among the explanations, a highest fishing pressure in shallow waters has been mentioned. However, fishing pressure decreases with depth until being virtually non-existent

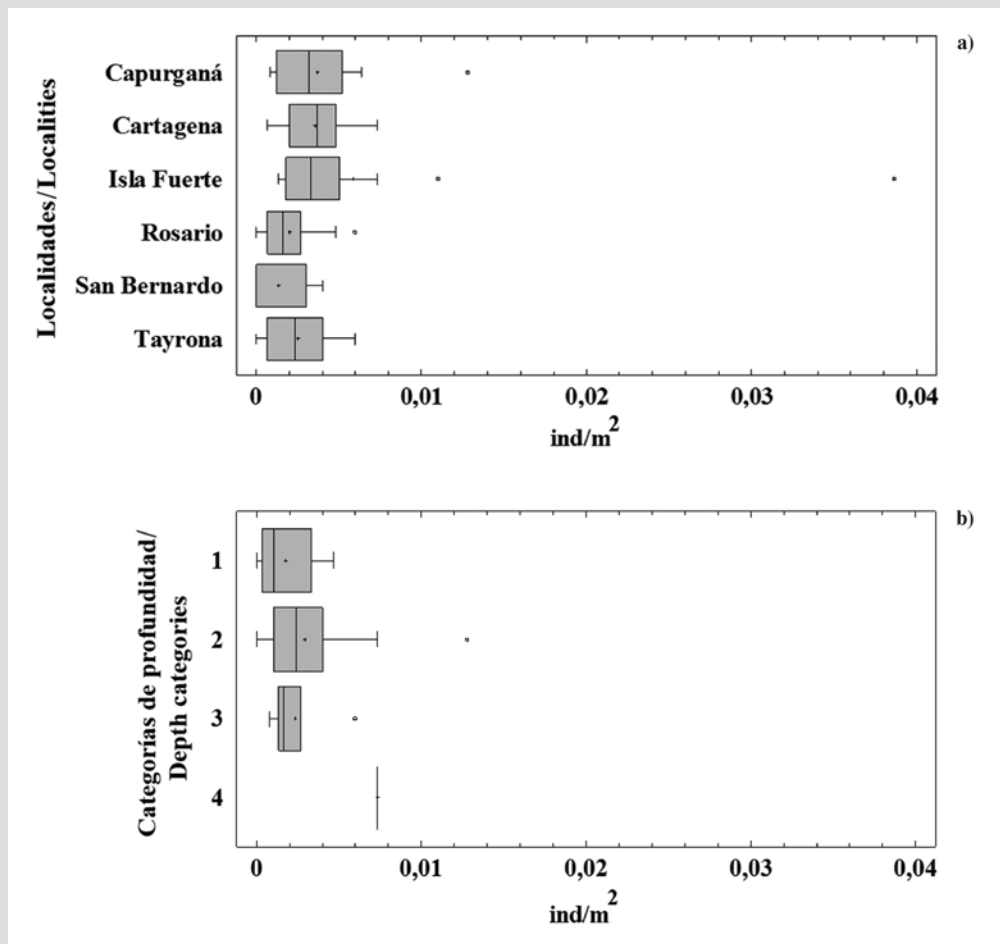


Figura 2. a) Densidad del pez león en seis localidades de la costa Caribe colombiana: Capurganá (n = 77), Cartagena (n = 63), isla Fuerte (n = 84), Rosario (n = 99), San Bernardo (n = 38), Tayrona (n = 88). b) Densidad del pez león a diferentes profundidades: 1 (1-10 m, n = 25), 2 (> 10-20 m, n = 108), 3 (> 20-30 m, n = 34), 4 (> 30-40 m, n = 3). La línea dentro de las cajas representa la mediana, los límites de las cajas son los percentiles 25 y 75, los bigotes marcan los valores mínimo y máximo, y los puntos por fuera de las cajas son datos atípicos.

Figure 2. a) Lionfish density in six localities from the Colombian Caribbean coast: Capurganá (n = 77), Cartagena (n = 63), Fuerte island (n = 84), Rosario (n = 99), San Bernardo (n = 38), Tayrona (n = 88). b) Lionfish density at different depths: 1 (1-10 m, n = 25), 2 (> 10-20 m, n = 108), 3 (> 20-30 m, n = 34), 4 (> 30-40 m, n = 3). The line inside boxes represents the median, the limits of the boxes are the 25th and 75th percentiles, the whiskers mark minimum and maximum values, and points outside the boxes are outliers.

Las variaciones en la abundancia (y tamaño) del pez león han sido documentadas previamente en diferentes lugares del área invadida, y a menudo aumentan con la profundidad (e.g. Claydon *et al.*, 2012; González *et al.*, 2016; Hunt *et al.*, 2019). Entre las explicaciones, se ha mencionado la mayor presión de pesca en aguas poco profundas, ya que la presión de la pesca disminuye con la profundidad hasta ser prácticamente inexistente en entornos fuera del alcance del buceo recreativo (e.g. ecosistemas coralinos mesofóticos - MCE). Al respecto, Andradi-Brown *et al.* (2017), al estudiar poblaciones de pez león en un gradiente de profundidad, encontraron altas densidades a más de 30 m, así como tamaños más grandes y hembras más fértiles, lo que puede estar minando los esfuerzos de control en aguas someras. Ellos señalan la necesidad de entender y

in environments outside the reach of recreational diving (e.g. mesophotic coral ecosystems - MCE). In this regard, Andradi-Brown *et al.* (2017) studying lionfish populations in a depth gradient found high densities over 30 m depth, as well as larger sizes and more fertile females, which may be undermining control efforts in shallow waters. They point out the need to understand and consider the importance of MCE in the life cycle of the species, and to seek strategies to extend control actions of lionfish invasion to those environments.

Multiple factors, acting alone or synergistically, can influence the distribution and abundance of lionfish, and can be determinant on the observed differences in density among sampling sites; for example, the structural

considerar la importancia de los MCE en el ciclo de vida de la especie, y de buscar estrategias para extender las acciones de control de la invasión del pez león a esos ambientes.

Múltiples factores que actúan solos o en sinergia pueden influir en la distribución y abundancia del pez león, y podrían haber determinado las diferencias observadas en la densidad entre los sitios de muestreo; por ejemplo, la complejidad estructural del fondo, la disponibilidad de refugios, la conectividad espacial de los parches de hábitat y la abundancia de presas, entre otros (Biggs y Olden, 2011; Hernández-Abello *et al.*, 2015; Rivera-Aponte *et al.*, 2019; Díaz-Ferguson y Hunter, 2019).

AGRADECIMIENTOS

El trabajo se realizó como parte del convenio 275 de 2015 entre MinAmbiente e INVEMAR, y la Resolución 0478 de MinAmbiente de 2016. Gracias a Arnold Fonseca, Maria Parrado, Javier Torres, Adolfo Sanjuan, Diana Vergara, Carlos Aponte, Arnold Llorente, Deibis Seguro y Diego Arnedo por su ayuda en la toma de datos. Gracias al personal del PNN Corales del Rosario y San Bernardo y del PNN Tayrona por el apoyo logístico durante el trabajo de campo en sus áreas protegidas. Gracias a David Forero por elaborar el mapa del área de estudio. Gracias a los evaluadores por su contribución a mejorar considerablemente el manuscrito. Número de contribución de INVEMAR # 1266.

complexity of the bottom, availability of shelters, the spatial connectivity of habitat patches, and prey abundance, among others (Biggs and Olden, 2011; Hernández-Abello *et al.*, 2015; Rivera-Aponte *et al.*, 2019; Díaz-Ferguson and Hunter, 2019).

ACKNOWLEDGMENTS

This work was done as part of the Agreement 275 of 2015 between MinAmbiente and INVEMAR, and the MinAmbiente Resolution 0478 of 2016. Thanks to Arnold Fonseca, Maria Parrado, Javier Torres, Adolfo Sanjuan, Diana Vergara, Carlos Aponte, Arnold Llorente, Deibis Seguro and Diego Arnedo for help in data collection. Thanks to the staff of Corales del Rosario and San Bernardo NNP and Tayrona NNP for logistical support during fieldwork in their protected areas. Thanks to David Forero for preparing the map of the study area. Thanks to the anonymous reviewers for their contribution to significantly improving the manuscript. INVEMAR contribution number 1266.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Acero P., A., D. Bustos-Montes, P. Pabón Q., C.J. Polo-Silva and A. Sanjuan M. 2019. Feeding habits of *Pterois volitans*: a real threat to Caribbean coral reef biodiversity. 269-314. En: Makowski, C. and C.W. Finkl (Eds). Impacts of Invasive Species on Coastal Environments. Coastal Research Library, vol. 29. Springer, Cham. 482 p.
- Agudo, E.A. and E. Klein. 2014. Lionfish abundance, size structure and spatial distribution along the Venezuelan coast (*Pterois volitans*, Pteroinae: Scorpaenidae). Rev. Biol. Trop., 62(3): 151-158.
- Albins, M.A. and M.A. Hixon. 2008. Invasive Indo-Pacific lionfish *Pterois volitans* reduce recruitment of Atlantic coral-reef fishes. Mar. Ecol. Prog. Ser., 367: 233- 238. doi: 10.3354/meps07620
- Andradi-Brown, D.A., R. Grey, A. Hendrix, D. Hitchner, C.L. Hunt, E. Gress, K. Madej, R.L. Parry, C. Régnier-McKellar, O.P. Jones, M. Arteaga, A.P. Izaguirre, A.D. Rogers and D.A. Exton. 2017. Depth-dependent effects of culling - do mesophotic lionfish populations undermine current management? R. Soc. open sci., 4: 170027. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.170027>
- Ballew, N.G., N.M. Bacheler, G.T. Kellison and A.M. Schueller. 2016. Invasive lionfish reduce native abundance on a regional scale. Sci. Rep. 6, 32169; doi: 10.1038/srep32169 (2016).
- Barbour, A.B., M.S. Allen, T.K. Frazer and K.D. Sherman. 2011. Evaluating the potential efficacy of invasive lionfish (*Pterois volitans*) removals. PLoS ONE, 6(5): e19666. doi:10.1371/journal.pone.0019666.
- Bayraktarov, E., J. Alarcón-Moscoco, A. Polanco F. and C. Wild. 2014. Spatial and temporal distribution of the invasive lionfish *Pterois volitans* in coral reefs of Tayrona National Natural Park, Colombian Caribbean. PeerJ 2:e397; DOI 10.7717/peerj.397
- Betancur-R., R., A. Hines, A. Acero P., G. Ortí, A.E. Wilbur and D.W. Freshwater. 2011. Reconstructing the lionfish invasion: insights into Greater Caribbean biogeography. J. Biogeogr., 38(7): 1281–1293. doi:10.1111/j.1365-2699.2011.02496.x



- Biggs, C.R. and J.D. Olden. 2011. Multi-scale habitat occupancy of invasive lionfish (*Pterois volitans*) in coral reef environments of Roatan, Honduras. *Aquat. Invasions*, 6(3): 347-353. doi: 10.3391/ai.2011.6.3.11
- Claydon, J.A.B., M.C. Calosso and S.B. Traiger. 2012. Progression of invasive lionfish in seagrass, mangrove and reef habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 448: 119-129. doi: 10.3354/meps09534
- Cobián Rojas, D., P. Chevalier Monteagudo, J.J. Schmitter-Soto, R.I. Corrada Wong, H. Salvat Torres, E. Cabrera Sansón, A. García Rodríguez, A. Fernández Osorio, L. Espinosa Pantoja, D. Cabrera Guerra, L.M. Pantoja Echevaria, H. Caballero Aragón and S. Perera Valderrama. 2016. Density, size, biomass, and diet of lionfish in Guanahacabibes National Park, western Cuba. *Aquat. Biol.*, 24: 219-226. doi: 10.3354/ab00651
- Coronado-Carrascal, V., R. García-Urueña y A. Acero P. 2015. Comunidad de peces arrecifales en relación con la invasión del pez león: el caso del Caribe sur. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 44(2): 291-302.
- Côté, I.M., S.J. Green and M.A. Hixon. 2013. Predatory fish invaders: Insights from Indo-Pacific lionfish in the Western Atlantic and Caribbean. *Biol. Conserv.*, 164: 50-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2013.04.014>
- Cure, K., J.L. McIlwain and M.A. Hixon. 2014. Habitat plasticity in native Pacific red lionfish *Pterois volitans* facilitates successful invasion of the Atlantic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 506: 243-253. doi: 10.3354/meps10789
- Darling, E.S., S.J. Green, J.K. O'Leary and I.M. Côté. 2011. Indo-Pacific lionfish are larger and more abundant on invaded reefs: a comparison of Kenyan and Bahamian lionfish populations. *Biol. Invasions*, 13: 2045-2051. DOI 10.1007/s10530-011-0020-0
- De la Guardia, E., D. Cobián-Rojas, L. Espinosa, Z. Hernández, L. García y J.E. Arias-González. 2017. Distribución y abundancia del pez león *Pterois volitans* (Scorpaeniformes: Scorpaenidae) y especies nativas asociadas en el Parque Marinos Cayos de San Felipe, Cuba. *Rev. Biol. Trop.*, 65(1): 117-125.
- De León, R., K. Vane, P. Bertuol, V.C. Chamberland, F. Simal, E. Imms and M.J.A. Vermeij. 2013. Effectiveness of lionfish removal efforts in the southern Caribbean. *Endang. Species Res.*, 22: 175-183. doi: 10.3354/esr00542
- Díaz-Ferguson, E.E. and M.E. Hunter. 2019. Life history, genetics, range expansion and new frontiers of the lionfish (*Pterois volitans*, Perciformes: Pteroidae) in Latin America. *Reg. Stud. Mar. Sci.*, 31: 100793. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100793>
- Elise, S., I. Urbina-Barreto, H. Boadas-Gil, M. Galindo-Vivas and M. Kulbicki. 2015. No detectable effect of lionfish (*Pterois volitans* and *P. miles*) invasion on a healthy reef fish assemblage in Archipelago Los Roques National Park, Venezuela. *Mar. Biol.*, 162: 319-330. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2571-y>
- Ferreira, C.E.L., O.J. Luiz, S.R. Floeter, M.B. Lucena, M.C. Barbosa, C.R. Rocha and L.A. Rocha. 2015. First record of invasive lionfish (*Pterois volitans*) for the Brazilian coast. *PLoS ONE* 10(4): e0123002. doi:10.1371/journal.pone.0123002
- Fogg, A.Q., N.J. Brown-Peterson and M.S. Peterson. 2017. Reproductive life history characteristics of invasive red lionfish (*Pterois volitans*) in the northern Gulf of Mexico. *Bull. Mar. Sci.*, 93(3): 791-813. <https://doi.org/10.5343/bms.2016.1095>
- Frazer, T.K., C.A. Jacoby, M.A. Edwards, S.C. Barry and C.M. Manfrino. 2012. Coping with the lionfish invasion: can targeted removals yield beneficial effects? *Rev. Fish. Sci.*, 20(4): 185-191, DOI: 10.1080/10641262.2012.700655
- García-Rodríguez, A., P.P. Chevalier M., E. Cabrera S., H. Caballero A., J.L. Hernández L. 2015. Densidad y biomasa de *Pterois volitans/miles* (Teleostei: Scorpaenidae) en arrecifes del litoral oeste de la Habana, Cuba. *Rev. Invest. Mar.*, 35(1): 21-36.
- García-Urueña, R., A. Acero P. y V. Coronado-Carrascal. 2015. Comunidad de peces arrecifales en presencia del pez león (*Pterois volitans*) en Santa Marta, Caribe colombiano. *Rev. MVZ Córdoba*, 20 (Supl.): 4989-5003.
- Gardner, P.G., T.K. Frazer, C.A. Jacoby and R.P.E. Yanong. 2015. Reproductive biology of invasive lionfish (*Pterois* spp.). *Front. Mar. Sci.*, 2:7. doi:10.3389/fmars.2015.00007
- González, J., M. Grijalba-Bendeck, A. Acero P. and R. Betancur-R. 2009. The invasive red lionfish, *Pterois volitans* (Linnaeus, 1758), in the southwestern Caribbean Sea. *Aquat. Invasions*, 4(3): 507-510. DOI 10.3391/ai.2009.4.3.12
- González, J.D., A. Acero P., A. Serrat-LL y R. Betancur-R. 2011. Caracterización taxonómica de la población del pez león *Pterois volitans* (Linnaeus 1758) (Scorpaenidae) residente en el Caribe colombiano: merística y morfometría. *Biota Colomb.*, 12(2): 15-21.
- González-Corredor, J.D., A. Acero P. y R. García-Urueña. 2016. Densidad y estructura de tallas del pez león *Pterois volitans* (Scorpaenidae) en el Caribe occidental insular colombiano. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 45(2): 317-333.
- Green, S.J. 2013. El monitoreo: una actividad fundamental. 59-82. En: J.A. Morris Jr. (ed.) El pez león invasor: guía para su control y manejo. Gulf and Caribbean Fisheries Institute Special Publication Series Number 2, Marathon, Florida, USA. 126 p.
- Green, S.J. and I.M. Côté. 2009. Record densities of Indo-Pacific lionfish on Bahamian coral reefs. *Coral Reefs*, 28: 107. DOI 10.1007/s00338-008-0446-8
- Green, S.J., J.L. Akins, A. Maljković and I.M. Côté. 2012. Invasive lionfish drive Atlantic coral reef fish declines. *PLoS ONE*, 7(3): e32596. doi:10.1371/journal.pone.0032596
- Green, S.J., N. Tamburello, S.E. Miller, J.L. Akins and I.M. Côté. 2013. Habitat complexity and fish size affect the detection of Indo-Pacific lionfish on invaded coral reefs. *Coral Reefs*, 32: 413-421. DOI 10.1007/s00338-012-0987-8

- Green, S.J., E.B. Underwood and J.L. Akins. 2017. Mobilizing volunteers to sustain local suppression of a global marine invasion. *Conserv. Lett.*, 10: 728-735. DOI: 10.1111/conl.12426
- Green, S.J., E.R. Dille, C.E. Benkwitt, A.C.D. Davis, K.E. Ingeman, T.L. Kindinger, L.J. Tuttle and M.A. Hixon. 2019. Trait-mediated foraging drives patterns of selective predation by native and invasive coral-reef fishes. *Ecosphere*, 10(6):e02752. DOI: 10.1002/ecs2.2752
- Hackerott, S., A. Valdivia, S.J. Green, I.M. Côté, C.E. Cox, L. Akins, C.A. Layman, W.F. Precht and J.F. Bruno. 2013. Native predators do not influence invasion success of Pacific lionfish on Caribbean Reefs. *PLoS ONE*, 8(7): e68259. doi:10.1371/journal.pone.0068259
- Hammer, R.M., D.W. Freshwater and P.E. Whitfield. 2007. Mitochondrial cytochrome *b* analysis reveals two invasive lionfish species with strong founder effects in the western Atlantic. *J. Fish. Biol.*, 71(Supp. B): 214-222. doi:10.1111/j.1095-8649.2007.01575.x
- Hernández-Abello, J.M., R.P. García-Urueña y A. Acero P. 2015. Estructura de tallas y preferencia al sustrato del pez león (*Pterois volitans*) (Scorpaeniformes: Scorpaenidae) en Santa Marta (Colombia). *Acta Biol. Colomb.*, 20(2):175-182. doi: http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n2.41611
- Hunt, C.L., G.R. Kelly, H. Windmill, J. Curtis-Quick, H. Conlon, M.D.V. Bodmer, A.D. Rogers and D.A. Exton. 2019. Aggregating behavior in invasive Caribbean lionfish is driven by habitat complexity. *Scientific Reports*, 9:783. DOI:10.1038/s41598-018-37459-w
- Ingeman, K.E. 2016. Lionfish cause increased mortality rates and drive local extirpation of native prey. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 558: 235-245. doi: 10.3354/meps11821
- Lesser, M.P. and M. Slattery. 2011. Phase shift to algal dominated communities at mesophotic depths associated with lionfish (*Pterois volitans*) invasion on a Bahamian coral reef. *Biol. Invasions*, 13: 1855-1868. DOI 10.1007/s10530-011-0005-z
- Morris, J.A. Jr. (Ed). 2013. El pez león invasor: guía para su control y manejo. Gulf and Caribbean Fisheries Institute Special Publication Series, No. 2, Marathon, Florida. USA. 126 p.
- Muñoz, R.C., C.A. Currin and P.E. Whitfield. 2011. Diet of invasive lionfish on hard bottom reefs of the Southeast USA: insights from stomach contents and stable isotopes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 432: 181-193. doi: 10.3354/meps09154
- Muñoz-Escobar, L. y D.L. Gil-Agudelo. 2012. Composición dietaria del pez león, *Pterois volitans* (Pisces: Scorpaenidae), en Santa Marta y el Parque Nacional Natural Tayrona. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 41(2): 471-477.
- Pabón Q., P. y A. Acero P. 2015. Ecología trófica del invasor pez león *Pterois volitans* en el Caribe colombiano: impacto sobre familias ícticas de Santa Marta y San Andrés. 51-74. En: Campos, N.H. y A. Acero P. (eds.). 2015. Contribuciones en Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Colombia-2015. Cecimar, Sede Caribe, Universidad Nacional de Colombia, Santa Marta, 130 p.
- Pusack, T.J., C.E. Benkwitt, K. Cure and T.L. Kindinger. 2016. Invasive red lionfish (*Pterois volitans*) grow faster in the Atlantic Ocean than in their native Pacific range. *Environ. Biol. Fish.*, 99: 571-579. DOI 10.1007/s10641-016-0499-4
- Rivera-Aponte, I.M., E. Hernández-Delgado, J. Bauzá-Ortega y W. Ithier-Guzmán. 2019. Distribución espacial y preferencia de hábitat del pez león *Pterois volitans* en el estuario urbano de la Bahía de San Juan. *Perspectivas en Asuntos Ambientales*, 7: 75-91.
- Rojas-Vélez, S., J. Tavera and A. Acero. 2019. Unraveling lionfish invasion: is *Pterois volitans* truly a morphologically novel predator in the Caribbean? *Biol. Invasions*, 21: 1921-1931. https://doi.org/10.1007/s10530-019-01946-6
- Sabido-Itzá, M.M. and M.C. García-Rivas. 2019. Record of abundance, spatial distribution and gregarious behavior of invasive lionfish *Pterois* spp. (Scorpaeniformes: Scorpaenidae) in coral reefs of Banco Chinchorro Biosphere Reserve, southeastern Mexico. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 47(2): 349-355. DOI: 10.3856/vol47-issue2-fulltext-15
- Sandel, V., D. Martínez-Fernández, D. Wangpraseurt and L. Sierra. 2015. Ecology and management of the invasive lionfish *Pterois volitans/miles* complex (Perciformes: Scorpaenidae) in Southern Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 63(1): 213-221.
- Schofield, P.J. 2009. Geographic extent and chronology of the invasion of non-native lionfish (*Pterois volitans* [Linnaeus 1758] and *P. miles* [Bennett 1828]) in the Western North Atlantic and Caribbean Sea. *Aquat. Invasions*, 4(3): 473-479. DOI 10.3391/ai.2009.4.3.5
- Schofield, P.J. 2010. Update on geographic spread of invasive lionfishes (*Pterois volitans* [Linnaeus, 1758] and *P. miles* [Bennett, 1828]) in the Western North Atlantic Ocean, Caribbean Sea and Gulf of Mexico. *Aquat. Invasions*, 5(Supp1): S117-S122. doi: 10.3391/ai.2010.5.S1.024
- Schmitt, E.F. and K.M. Sullivan. 1996. Analysis of a volunteer method for collecting fish presence and abundance data in the Florida Keys. *Bull. Mar. Sci.*, 59(2): 404-416.
- USGS-NAS. 2020. United States Geological Survey – Nonindigenous Aquatic Species Database (USGS-NAS). https://nas.er.usgs.gov, Access Date: 5/13/2020.
- Whitfield, P.E., J.A. Hare, A.W. David, S.L. Harter, R.C. Muñoz and C.M. Addison. 2007. Abundance estimates of the Indo-Pacific lionfish *Pterois volitans/miles* complex in the Western North Atlantic. *Biol. Invasions*, 9: 53-64. DOI 10.1007/s10530-006-9005-9



Guía de autores/Author's guide

Se consideran para publicación en el *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* únicamente trabajos originales, es decir, aquellos que incluyan resultados significativos que no han sido publicados ni están siendo considerados para publicación en otra revista. Se reciben artículos de investigación, notas científicas, artículos de revisión crítica y artículos de datos, que compilen y resuman adecuadamente el trabajo en un campo particular y señalen líneas de investigación a seguir. Como complemento, siempre se recomienda a los autores examinar cuidadosamente el estilo de presentación de los artículos en el último número de la revista.

El Boletín es una **revista científica de acceso abierto**, por lo que los autores no deben pagar por someter o publicar sus manuscritos con nosotros, a excepción de los costos de impresiones a color descritos más adelante en esta guía. Se tendrán en cuenta los manuscritos ajustados al siguiente formato:

Idiomas: español e inglés. El Boletín recibe manuscritos en alguno de los dos idiomas y obsequiará a los autores que culminen el proceso editorial el servicio de traducción español-inglés americano (o viceversa) hasta este número. Los autores no podrán retirar el manuscrito una vez este ha sido aceptado e inicia el proceso de traducción. Tanto el resumen y las palabras clave como las notas científicas deben ser enviados originalmente en los dos idiomas, español e inglés.

Presentación: para someter su artículo, debe cargarlo junto a los archivos complementarios a través de la página habiéndose registrado previamente en la página del Boletín o ingresando con su usuario y contraseña, si ya cuenta con uno. El archivo debe ir en un solo archivo en formato Word (.doc ó .docx), con las tablas y figuras incluidas (inicialmente en baja resolución). La carta de sometimiento debe ir en formato PDF *debidamente firmada*, al menos, por el líder de correspondencia, conforme el formato disponible para descarga. Si el manuscrito es aceptado para publicación, se solicitará a los autores las imágenes en alta resolución.

FORMATO

Fuente: Times New Roman, tamaño 11, configuración de página tamaño carta e interlineado a doble espacio.

Márgenes: izquierdo y superior de 3 cm y derecho e inferior de 2 cm como mínimo.

Títulos: en negrilla. El *título del trabajo* debe ir en altas y bajas y centrado. Además, ha de incluir al comienzo del abstract una traducción fiel al inglés (americano) cuando el manuscrito sea en español y viceversa cuando sea en inglés. Los títulos de *primer nivel* deben ir en mayúscula sostenida y centrados (aplica para los nombres científicos), dejando un espacio para comenzar el párrafo. Los títulos de *segundo nivel* deben ir en minúscula y en el centro, sin dejar espacio para comenzar el párrafo. Los títulos de *tercer nivel* deben ir en minúscula y alineados a la izquierda, sin dejar espacio para comenzar el párrafo.

Potential contributors to the *Bulletin of Marine and Coastal Research* should submit original works only; that means those having significant unpublished results and not under consideration by another journal. The journal also accepts critical revision manuscripts, data papers, articles and scientific notes, that compile and analyze studies in particular fields and propose research lines. We suggest that authors, in any case, check the presentation style in the last journal issue to follow the same structure.

The journal is an **open access scientific journal**, hence authors do not pay for submitting or publishing a manuscript, except color prints as mentioned in this guide. Authors should follow the subsequent instructions:

Languages: Spanish and English. The journal receives manuscripts in both languages and give to authors, free of charge, translation service Spanish-English or English-Spanish until this number. Authors cannot remove a manuscript once it is accepted and the translation process is ongoing. Both abstract and key words and scientific notes must be originally submitted in both languages, Spanish and English.

Presentation: to submit your article, you must upload it together with the complementary files through the page having previously registered in the journal page or by entering with your user and password, if you already have one. The file must be in a single file in Word format (.doc or .docx), with the tables and figures included (initially in low resolution). The letter of submission must be in PDF format, *duly signed* by, at least, the correspondence leader, according to the format available for download. If the manuscript is accepted for publication, the authors will be asked for the high resolution images.

FORMAT

Type of font: Times New Roman, size 11, letter-size page setup and double spaced.

Margins: Left and upper, 3 cm; right and lower, 2 cm.

Titles: must be written in boldface type. *Manuscript title* must be written in uppercase and lowercase, and centered. It should be given in both languages too. *Main titles* must be written in capital letters, centered (even scientific names) and must be one space before the first line of the text. *Subtitles* must be also centered but as lowercase letters and there, *third titles* must be written on the left side of the paper, as lower-case letter, and also with no space.

Note: Special attention should be given to titles. Title should be attractive and no longer than 40 characters. Google, for example, does not take titles longer than 50-60 characters. Avoid the use of hyphens, exclamation or interrogation marks.

All pages must be **numbered** consecutively.

Text: Manuscripts submitted as **articles** must have maximum 6000 words including tables and figures but excluded literature

Nota: tenga en cuenta que el título debe incitar la lectura del artículo y no ser muy extenso. El ideal son 40 caracteres. Google, por ejemplo, no lee más de 50-60 caracteres. Evite el uso de guiones, signos de admiración e interrogación.

Todas las hojas deben estar **numeradas** consecutivamente.

Texto: los manuscritos en forma de **artículo** deben tener una extensión máxima de 6000 palabras incluyendo figuras y tablas, pero sin bibliografía, resumen y abstract; solo en casos excepcionales y justificados, se aceptarán manuscritos más extensos. Los artículos deben tener la siguiente estructura: título, autor(es), número OrcID, afiliación institucional y correo electrónico del (o de los) autor(es), resumen, abstract, palabras clave, introducción, área de estudio, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones, agradecimientos y bibliografía. Este formato puede ser modificado si la naturaleza del trabajo lo exige. Aquellas instituciones o empresas que tengan su nombre registrado en inglés, pueden utilizar dicha versión.

Por su parte, los manuscritos en forma de **notas científicas** deben tener una extensión máxima de 1500 palabras, sin bibliografía y sin división en secciones como los artículos. Deben venir en ambos idiomas (español e inglés) y tener la siguiente estructura: resumen, abstract, palabras clave, texto, agradecimientos y bibliografía.

El **resumen** debe tener máximo 30 renglones en un solo párrafo y el **abstract** ha de ser una traducción fiel de lo escrito en el resumen. Ambos deben llevar al final y en renglón aparte máximo cinco (5) palabras clave escritas en minúscula.

Nota: es importante escoger bien las palabras clave. Recuerde que cualquier persona puede encontrar su trabajo en la web por intermedio de ellas. Recomendamos revisar las palabras clave a la luz del Tesoro Marino Ambiental Costero del Centro de Documentación del INVEMAR, disponible en <http://cinto.invemar.org.co/tematres/tesauro/index.php>

Tablas: elaboradas en procesador de texto con la opción Tabla, sin líneas verticales. La leyenda debe ir encima, en minúscula, y ser suficientemente explicativa. Los decimales que se incluyan en la tabla deben ir con punto. Las tablas deben ser numeradas consecutivamente y ubicadas conforme son citadas dentro del texto a consideración de los autores. La información incluida en las tablas no puede aparecer repetida en las figuras.

Figuras: incluye todas las ilustraciones como mapas, esquemas, dibujos, fotografías y láminas. La leyenda debe ir en el margen inferior, en minúscula, y ser suficientemente explicativa. Las figuras deben ser numeradas consecutivamente y ubicadas conforme son citadas dentro del texto a consideración de los autores.

Los **dibujos** deben tener letras y símbolos en tamaño apropiado, de modo que al reducirlos no pierdan su nitidez.

La revista asume los costos de publicar **fotografías** en blanco y negro. Los costos de fotografías e imágenes a color deben ser asumidos por el (los) autor(es)*. Los archivos deben ser guardados en formato JPG o TIF, con una resolución de, al menos, 360 dpi, y los colores deben corresponder a la escala CMYK. Se recomienda que en la primera versión del manuscrito se utilice una resolución de 72 dpi en escala RGB para facilitar la carga del archivo en la plataforma.

cited, *resumen* and abstract; only exceptional cases we will accept papers longer than that. Text must be structured as follows: title, author(s), OrcID, institutional affiliation, author's email, abstract, abstract in Spanish (*resumen*), introduction, study area, materials and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgements and literature cited. This format can be modified depending on the type of work. Those institutions or companies that have a registered English name can use that English version.

Manuscripts submitted as **notes** format must have maximum 1500 words (excluding literature cited), without divisions and subtitles like the long manuscripts. Notes must be submitted in two languages: Spanish and English (American) and divided only in abstract, abstract in Spanish (*resumen*), text, acknowledgements and literature cited.

Abstract must be one paragraph and should not exceed 30 lines. *Resumen* should be an exact translation of the abstract, both must include at the end a maximum of five key words in lowercase letters.

Note: Special attention should be paid to key words. Remember the people can find your article on internet through them. We recommend reviewing the key words in light of the Coastal Environmental Marine Thesaurus of the INVEMAR Documentation Center, available at <http://cinto.invemar.org.co/tematres/tesauro/index.php>

Tables: Must be processed using the Table tool as a text file, with vertical lines should be avoided, one table per page. Decimals included in the table should be with a period. Tables must be enumerated consecutively and included as long as you mention them in the text. The information included in tables should not be repeated in figures.

Figures: They include illustrations such as maps, schemes, pictures, photographs, and plates. Figure legends must be placed on bottom, in lowercase letters, and present clearly the content. They must be numbered and included as long as you mention them in the text.

Letters and symbols on **drawings** should have a suitable size, so that if they get reduced they will not lose their shape and details.

The journal covers the costs for publishing black and white **photographs**. If there are color images in the manuscript, the authors will have to afford color page fees*. Photographs and image files should be saved as JPG or TIF files, with at least 360 dpi resolution and colors should correspond to CMYK scale. We suggest sending images for first version in 72 dpi resolution, in RGB scale, so that files are not too heavy to charge in the platform.

* *The charge for color figures will be subject to quotation at the time of acceptance of the manuscript for publication. There may be no charge for this.*

Abbreviations: Abbreviations may be used and also common symbols, such as m, km, g, mg, %, or °C, as long as they are next to numbers. Do not use period marks after symbols or abbreviations. All decimal numbers have to be separated by comma (Spanish version) and points (English version).



* El cobro de figuras a color estará sometido a cotización al momento de aceptar el manuscrito para su publicación. Es posible que no se apliquen cargos por ello.

Abreviaturas: pueden usarse abreviaturas o símbolos comunes tales como m, cm, km, g, kg, mg, mL, L, % o °C, siempre y cuando acompañen números. Evitar los puntos al final de las abreviaturas. Todas las cifras decimales deben separarse con coma cuando la versión es en español y con punto, cuando es en inglés.

Citas: no se aceptan citas de citas. Por ejemplo: Pérez, 2007 (En: Fernández, 2008). Evitar el uso de *op. cit.* Dentro del texto, debe citarse como sigue:

“La especie vive sobre sustratos rocosos y coralinos (Pérez, 1980; Darwin y Scott, 1991), aunque, según García (1992), prefiere fondos de cascajo”. Cuando la referencia involucra a *más de dos autores*, debe citarse como Castro *et al.* (1965) o (Castro *et al.*, 1965). *et al.* debe aparecer siempre en letra cursiva. Las **comunicaciones personales** deben evitarse en lo posible, pero serán aceptadas a juicio del editor a cargo de cada artículo, según sea el caso. Su estructura será la siguiente:

Nombre completo (punto) Institución (punto) Ciudad (coma) País (punto) Año (punto) Com. Pers.

Referencias: se deben incluir todas aquellas que están citadas en el texto, en orden alfabético por apellido y en orden cronológico cuando haya varios trabajos del mismo autor. El símbolo &, comúnmente usado en la literatura en inglés, deberá reemplazarse por la letra “y” o la palabra “and”, según el idioma original del manuscrito. Recomendamos revisar el estilo de elaboración de las citas bibliográficas presentes en los trabajos publicados en este volumen para seguir el mismo formato. Su exactitud es responsabilidad únicamente de los autores. No se admiten citas de trabajos que no hayan sido aceptados para publicación.

Nota: de acuerdo con los estándares internacionales, es preferible incluir el DOI en aquellas referencias que lo tengan.

Las citas de *artículos en prensa* deben incluir el volumen, el año y el nombre de la revista en que serán publicados.

Los artículos publicados en *revistas periódicas* se deben citar de la siguiente manera:

Autor (punto) Año (punto) Título (punto) Nombre de la revista (coma) Volumen (dos puntos) Rango de páginas (punto). Ejemplo: Blanco, J.A., J.C. Nárvaez y E.A. Viloria. 2007. ENSO and the rise and fall of a tilapia fishery in northern Colombia. *Fish. Res.*, 88: 100-108.

En los casos en que la referencia incluya la *totalidad de las páginas de la revista periódica*, se debe citar así:

Autor (punto) Año (punto) Título (punto) Nombre de la revista (coma) Volumen (coma) Número total de páginas (p.).

Ejemplo: Pang, R.K. 1973. The systematics of some Jamaican excavating sponges. *Postilla*, 161, 75 p.

Cuando el nombre de la revista esté formado por más de una palabra, debe abreviarse siguiendo la información presentada en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog> (o en www.abbreviations.com, cuando en el anterior sitio web no se encuentre la revista). Para *revistas no listadas*, debe presentarse el nombre completo.

Citation style: There are not accepted indirect references like Pérez 2007 (In: Fernández, 2008). In the text, reference the bibliography as follows, avoiding use of *op. cit.*:

“The species lives in rocky and coral substrates (Pérez, 1980; Darwin and Scott, 1991), although following García (1992), it prefers gravel substrate.” When the reference includes *more than two authors*, it has to be quoted as Castro *et al.* (1965) or (Castro *et al.*, 1965), with *et al.* always written in italics. **Personal communications** should not be used but they may be accepted by the editor depending on the specific case. If they are included, they should be presented as:

Complete name (period) Institution (period) City (comma) Country (period) Year (period) Pers. Comm.

References: The literature cited must include all and just the references cited in the text, in alphabetical order and in chronological order when there is more than one article by the same author(s). The symbol &, frequently used, should be changed for the word “and” or “y” according to the original language of the manuscript. The citation style can be checked in any article in the last issue of the journal and its accuracy is the author’s responsibility. Unpublished data or manuscripts are not supposed to be cited.

Note: Considering international standards, please includes DOI in all references.

If a **manuscript in press** has to be cited, it should include information about issue, year, and title of the journal of the future publication.

Journals must be cited in the next format:

Author (period) Year (period) Title (period) Journal’s title (comma) Volume (two points) Page rank (period). *i.e.*: Blanco, J.A., J.C. Nárvaez y E.A. Viloria. 2007. ENSO and the rise and fall of a tilapia fishery in northern Colombia. *Fish. Res.*, 88: 100-108.

When the reference included *all pages of journal*, must be cited in next format:

Author (period) Year (period) Title (period) Journal’s title (comma) Volume (comma) Total number of pages (period). *i.e.*: Pang, R.K. 1973. The systematics of some Jamaican excavating sponges. *Postilla*, 161, 75 p.

When the journal’s title has more than one word, it should be abbreviated following the information presented at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog> (or at www.abbreviations.com, when the magazine is not found on the previous website). For *no listed journals*, use complete title.

For **books**, must follow next format:

Author (period) Year (period) Title (period) Publishing house (comma) City (period) Total number of pages (period).

i.e.: Dahl, G. 1971. Los peces del norte de Colombia. Inderena, Bogotá. 391 p.

Los **libros** se deben citar de la siguiente manera:

Autor (punto) Año (punto) Título (punto) Editorial (coma) Ciudad (punto) Número total de páginas (p.).

Ejemplo: Dahl, G. 1971. Los peces del norte de Colombia. Inderena, Bogotá. 391 p.

Los **capítulos de libros** se deben citar de la siguiente manera:

Autor (punto) Año (punto) Título del capítulo (punto) Rango de páginas (punto). En: Editores (punto) (Ed.). Título del libro (punto) Editorial (coma) Ciudad (punto) Número total de páginas (p.).

Ejemplo: Álvarez-León, R. y J. Blanco. 1985. Composición de las comunidades ictiofaunísticas de los complejos lagunares estuarinos de la bahía de Cartagena, ciénaga de Tesca y Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe colombiano. 535-555. En: Yáñez-Arancibia, A. (Ed.). Fish community ecology in estuaries and coastal lagoons. UNAM, México D.F. 653 p.

Las **memorias de reuniones** y documentos inéditos y de escasa divulgación (**tesis y literatura gris**) solo se citarán a criterio del editor del manuscrito.

Las **tesis** se deben citar como los libros.

Autor (punto) Año (punto) Título (punto) Tesis y abreviatura del programa de estudios (coma) Universidad (coma) Ciudad (punto) Número total de páginas (p.).

Ejemplo: Arboleda, E. 2002. Estado actual del conocimiento y riqueza de peces, crustáceos decápodos, moluscos, equinodermos y corales escleractíneos del océano Pacífico colombiano. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Bogotá. 125 p.

Los **informes** se citan de la siguiente manera:

Autor (punto) Año (punto) Título (punto) Informe final (coma) Entidad (coma) Ciudad (punto) Número total de páginas (p.).

Ejemplo: Pedraza, R.A., S. Suárez y R. Julio. 1979. Evaluación de captura en la Ciénaga Grande de Santa Marta. Informe final, Inderena, Bogotá. 39 p.

Los **documentos electrónicos** varían constantemente dentro de los sitios web. Por lo tanto, se prefiere que los autores citen documentos de este tipo únicamente en los casos en que sea indispensable hacerlo y serán aceptados a juicio del editor a cargo de cada artículo. Si tiene, añadir el DOI. Su estructura será la siguiente:

Autor (punto) Año (punto) Título (punto) URL completa (sin punto) Fecha de consulta [DD/MM/AAA] (punto).

Ejemplo: Hammer, O., D.A.T. Harper y P.D. Ryan. 2008. PAST - Palaentological Statistics, ver. 1.81. <http://folk.uio.no/ohammer/past/past.pdf>. 08/06/2008

OTRAS DISPOSICIONES

- No se admiten notas de pie de página.
- Los nombres científicos de géneros y especies deben escribirse en cursiva. Todos ellos deben estar sujetos a los códigos de nomenclatura zoológica o botánica.
- Los registros taxonómicos deben hacerse siguiendo los códigos internacionales de nomenclatura, para lo cual el

For **chapter of books**, must follow next format:

Author (period) Year (period) Chapter name (period) Page rank (period). In: Editors' name (period) (Ed.). Title of the book (period) Publishing house (comma) City (period) Total number of pages (period).

i.e.: Álvarez-León, R. y J. Blanco. 1985. Composición de las comunidades ictiofaunísticas de los complejos lagunares estuarinos de la bahía de Cartagena, ciénaga de Tesca y Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe colombiano. 535-555. En: Yáñez-Arancibia, A. (Ed.). Fish community ecology in estuaries and coastal lagoons. UNAM, México D.F. 653 p.

Memoirs of meetings and unpublished documents of limited circulation (**theses and grey literature**) will be cited only at the discretion of the editor of the manuscript.

Theses should be cited like books.

Author (period) Year (period) Title (period) Title (period) Tesis and Abbreviation of study program (comma) University (comma) City (period) Total number of pages (p.).

i.e.: Arboleda, E. 2002. Estado actual del conocimiento y riqueza de peces, crustáceos decápodos, moluscos, equinodermos y corales escleractíneos del océano Pacífico colombiano. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Bogotá. 125 p.

Reports are quoted as follows:

Author (period) Year (period) Title (period) Informe final (comma) Organization (comma) City (period) Total number of pages (p.).

Ejemplo: Pedraza, R.A., S. Suárez y R. Julio. 1979. Evaluación de captura en la Ciénaga Grande de Santa Marta. Informe final, Inderena, Bogotá. 39 p.

Web documents vary constantly. Therefore, they should be avoided as references in the manuscripts if it is not really necessary. In special cases, it will be the editor's decision to accept it or not. Add DOI whether it is possible. If they are included, they should be presented as:

Author (period) Year (period) Title (period) Complete URL (without period) Consultation date [DD/MM/YYYY] (period).

i.e.: Hammer, O., D.A.T. Harper and P.D. Ryan. 2008. PAST - Palaentological Statistics, ver. 1.81. <http://folk.uio.no/ohammer/past/past.pdf>. 08/06/2008.

OTHER DISPOSITIONS

- Use of footnotes in the text is strongly discouraged.
- Scientific names of genera and species must be written in italics type or underlined. All of them must be subject to the zoological or botanical nomenclature.
- Taxonomic reports should be made following the international nomenclature code, for which the journal has a model with examples, available upon request.



Boletín tiene un modelo con ejemplos, disponible para quien lo solicite.

- Las medidas se deben expresar en unidades del sistema métrico decimal. Los valores de salinidad deben presentarse sin unidades o símbolos.
- Al postular su manuscrito, los autores deben indicar su nombre completo, filiación institucional, dirección de correspondencia, correo electrónico y OrcID. Si alguno no lo tiene, puede obtenerlo de forma gratuita en <https://orcid.org/>
- Se deben sugerir los nombres de, al menos, tres evaluadores para el documento sometido, incluyendo la información necesaria para contactarlos (correo electrónico).
- A los manuscritos publicados en el Boletín se les asignará DOI tanto en la versión electrónica como en impresa. Tener esto en cuenta para la respectiva referencia bibliográfica.

PROCEDIMIENTO EDITORIAL

1. Los autores deben registrarse en la plataforma para obtener un usuario y contraseña y cargar el manuscrito a la plataforma. El registro se realiza una sola vez, por lo que con solo ingresar a su cuenta podrá ver el estado de su manuscrito o someter uno nuevo.
2. Junto con el artículo o nota científica, cargue como archivo complementario la **carta de sometimiento** en formato PDF. Recuerde que el texto debe incluir las figuras y tablas en baja resolución.
3. Una vez cargado el documento, este es sometido a una revisión preliminar y posteriormente es asignado a un editor de sección.
4. En manos del editor de sección, se define si el manuscrito pasa a evaluación por pares o debe corregirse antes de ello. Si obtiene el visto bueno del editor, el manuscrito pasa a evaluación por pares y se determina si es publicable (bien sea con cambios menores o importantes) e incluso si pasa a nueva ronda de evaluación. Si el manuscrito no es publicable, se les notifica oportunamente a sus autores. Recuerde que nuestro proceso de evaluación es simple ciego. Para artículos y revisiones, se emite un concepto editorial con, al menos, dos pares evaluadores; para notas y comunicaciones cortas, con un solo par evaluador.
5. Una vez aprobado para publicación, se inician las actividades de producción relacionadas con corrección de estilo, traducción, maquetación y pruebas de galera.
6. Publicación en línea e impresión.
7. Distribución en línea y física.

Nota: en cualquier parte del proceso, los autores pueden visualizar el estado de su manuscrito ingresando con su usuario y contraseña a la plataforma. El proceso editorial puede tomar alrededor de 10 meses. Sin embargo, tenga en cuenta que los tiempos dependen directamente de los actores que intervienen en él: editores, autores y revisores.

- Measurements have to be marked using metric system. Salinity values have to be presented without symbols or units.
- When submitting their manuscript, authors should indicate their complete name, institutional affiliation, correspondence address, e-mail and OrcID. If one does not have it, you can get it for free at <https://orcid.org/>
- You should suggest the names of at least three potential reviewers for the manuscript, including their contact information (email).
- The manuscripts published since this number are going to have DOI, in electronic and printed version, therefore it must be referenced.

EDITORIAL PROCEDURE

1. Authors must register on the platform to obtain a username and password and submit the manuscript to the platform. The registration is done only once, so just by logging into your account, you can see the status of your manuscript or submit a new one.
2. With the article or note, please charge complementary files like **submission letter** in PDF. Remember that the figures and tables must be included in the text.
3. When the manuscript is charged, a preliminary check is done. Then it is assigned to a section editor.
4. The section editor will decide and notify if the manuscript is acceptable to go forward or if it needs minor or important changes before going to peer review. If you get the approval of the section editor, the manuscript goes to peer review. Then he/she determines if it is publishable (either with minor changes or important) and even if a new round of evaluation is needed. If it is unacceptable, authors receive an official communication. Remember our evaluation methodology is simple peer review. For articles, the editorial decision is based on two peer reviewers' concept, at least; for notes, only one peer reviewer concept is needed.
5. If the manuscript is accepted, production process begins. This includes copyediting, translation, layout and galley proofs.
6. Publication online and printing.
7. Online and print journal distribution.

Note: Any time of process, authors could visualize the state of their manuscripts, logging into the platform. All editorial process takes maximum 10 months. However, consider the time process depends directly on the actors involved: editors, authors and reviewers.

Ética de publicación/Publication ethics

El *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* asume todos los gastos de impresión, incluyendo el de fotografías en blanco y negro. En el caso de figuras a color, los costos se determinan según cotización de imprenta al momento de aceptar el manuscrito para su publicación.

La revista es de acceso abierto, por lo que su distribución y divulgación es libre, siempre y cuando se respeten los respectivos créditos de los manuscritos.

Las contribuciones son completa responsabilidad de sus autores, no del *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, de su cuerpo editorial o del INVEMAR. El envío de un manuscrito se entiende como una declaración explícita por parte del (de los) autor(es) de que este no ha sido publicado ni aceptado para su publicación en otra revista o medio de difusión científica.

Copyright: El *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* está bajo la licencia de Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir igual 4.0 Internacional (BY-NC-SA 4.0).

Políticas de privacidad: Los nombres, direcciones y correos registrados por los autores para el sometimiento de su manuscrito en nuestro *Boletín* serán única y exclusivamente utilizados para los fines declarados por la revista y no serán suministrados a terceros para un propósito distinto. Recomendamos, en el caso de los autores colombianos, tener el CvLac actualizado. Una vez los documentos sean aceptados y publicados en el sitio web del *Boletín*, les sugerimos a los autores que los compartan en sus redes científicas para darle mayor visibilidad a sus escritos.

Responsabilidades de los autores: Los autores están obligados a participar del proceso de evaluación respetando los tiempos estipulados de revisión y cumpliendo con los plazos de entrega. Los manuscritos que tarden más de 60 días en ser entregados por los autores cuando se les soliciten correcciones se retirarán automáticamente del *Boletín* y deberán ser sometidos nuevamente.

El sometimiento de un manuscrito debe estar acompañado por una carta dirigida al editor general de la revista, donde los autores firman y declaran que:

- Todos han leído y aprobado el manuscrito remitido en su contenido, organización, presentación y orden de autoría, por lo que no existe conflicto de intereses.
- El manuscrito es resultado de un trabajo original, el cual no ha sido publicado, no se encuentra bajo consideración en ninguna publicación y no se someterá a otra revista hasta conocer la respuesta del comité editorial del *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*.
- En caso de que el manuscrito sea aceptado, se autoriza su publicación, reproducción y difusión bajo las normas y licenciamiento establecidos por la revista.

The *Bulletin of Marine and Coastal Research* assumes all the costs of printing, including pictures in black and white. In the case of color pictures or figures, the costs should be assumed by the author, according to print quotation.

This journal is open access, so its distribution and dissemination are free, respecting each credits and authorship of the manuscripts.

Contributions are the complete responsibility of their authors, not of the *Bulletin of Marine and Coastal Research*, its editorial board or INVEMAR. Submission of a manuscript is understood as an explicit statement by the author(s) that it has not been published or accepted for publication in another journal or scientific dissemination medium.

Copyright: The *Bulletin of Coastal and Marine Research* is under Creative Commons license BY-NC-SA 4.0.

Privacy politics: The names, addresses and emails registered by the authors for the submission of your manuscript in our journal will be unique and exclusively used for the purposes declared by the journal and will not be supplied to third parties for any other purpose. In the case of Colombian authors, we recommend they have the CvLac updated. Once the documents are accepted and published on the journal website, we suggest the authors share them on their scientific networks to give greater visibility to their writings.

Author's responsibilities: Authors are required to participate in the evaluation process by respecting the stipulated review times and meeting deadlines. Manuscripts that take more than 60 days when corrections are requested will be automatically withdrawn from the journal and must be resubmitted.

The submission of a manuscript must be accompanied by a letter addressed to the journal's editor-in-chief, where the authors sign and declare that:

- All of them have read and approved the manuscript submitted in its content, organization, presentation and order of authorship, so there is no conflict of interest.
- The manuscript is the result of an original work, which has not been published, is not under consideration in any publication and will not be submitted to another journal until to know the response of the editorial board of the *Bulletin of Marine and Coastal Research*.
- If the manuscript is accepted, its publication, reproduction and dissemination are authorized under the rules and license established by the journal.
- The manuscript does not include text, tables or figures with copyright. If you have them, you have the authorization for their use and reproduction.
- The manuscript does not contain citations or transcriptions of works that lack properly cited bibliographic references.



- El documento no incluye textos, tablas o figuras con reserva de derechos. Si los tuviere, se cuenta con la autorización para su uso y reproducción.
- El documento no contiene citas o transcripciones de obras que carecen de referencias bibliográficas debidamente citadas.
- Se aceptan los términos y condiciones expresados por la revista en la guía para autores.

Responsabilidades de los evaluadores: Los evaluadores son investigadores invitados por la revista para que revisen *ad honorem* los manuscritos sometidos. Cada semestre se incluye al inicio del número correspondiente el listado de evaluadores que participaron en la revisión de los manuscritos publicados. Sus funciones son las siguientes:

- Evaluar los manuscritos asignados y emitir una decisión debidamente justificada.
- Adoptar una posición imparcial, crítica y constructiva frente a los trabajos que evalúan.
- Proteger el carácter confidencial de los manuscritos que revisan.
- Proteger la integridad y confidencialidad del trabajo de cada autor.

Responsabilidad del comité editorial: El comité editorial es responsable de la gestión de la revista. Está integrado por investigadores de entidades nacionales e internacionales, asegurando la presencia de pluralidad en las disciplinas y líneas de investigación marina y costera. Sus funciones son las siguientes:

- Garantizar la calidad del contenido de los artículos.
- Proteger la integridad y confidencialidad del trabajo de cada autor y el anonimato de cada evaluador.
- Tienen la autoridad y responsabilidad de aceptar o rechazar los manuscritos sometidos.
- No tener conflicto de intereses.
- En el caso de errores, promover la corrección o retracción en la publicación.

Sanciones: En caso de encontrar alguna violación de los apartes anteriores, se aplicarán las siguientes sanciones:

- Rechazo inmediato y retiro del manuscrito de la revista.
- Prohibición a todos los autores para presentar nuevos manuscritos de forma individual o colectiva. Esta sanción tendrá vigencia por dos años.
- El editor general y el director de la revista se reservan el derecho de imponer sanciones adicionales, si lo consideran.

- All of them accept all terms and conditions expressed in the author's guide.

Reviewers' responsibilities: Reviewers are researchers invited by the journal to revise *ad honorem* the manuscripts submitted. Every semester, the respective volume includes at the beginning the complete list of reviewers who participated in the review. The functions of the reviewers are:

- Evaluate assigned manuscripts and give a substantiated decision.
- Adopt an impartial, critical and constructive position towards the manuscripts they evaluate.
- Protect the confidentiality of the manuscripts reviewed.
- Protect the integrity and confidentiality of each author's work.

Editorial board responsibilities: The editorial board is responsible for the journal's management. It is composed of researchers from national and international institutions, ensuring plurality in the different disciplines and research lines of marine and coastal topics. The functions of the editorial board are:

- Guarantee the quality of the articles' content.
- Protect the integrity and confidentiality of the author's work and the anonymity of each reviewer.
- They have authority and responsibility to accept or refuse the submitted manuscripts.
- Do not have any conflict of interest.
- In case of errors, promote correction or retraction in the publication.

Sanctions: In any violation of the above paragraphs, the following sanctions will be applied:

- Immediate rejection and withdrawal of the manuscript from the journal.
- Prohibition for all authors to submit new manuscripts individually or with others authors. This sanction will be in force for two years.
- The editor-in-chief and the director of the journal reserve the right to impose additional sanctions, if they consider.

BOLETÍN DE INVESTIGACIONES MARINAS Y COSTERAS

Bulletin of Marine and Coastal Research

(Bol. Invest. Mar. Cost.)

Vol. 49 (1) Santa Marta, Colombia, 2020

TABLA DE CONTENIDO/CONTENTS

Luis Felipe Freites, Miguel Guevara, Adrián Márquez, Jormil Revilla, Mariela Narváez y César Lodeiros Relación entre variables ambientales y el crecimiento de <i>Pteria colymbus</i> (Mollusca Bivalvia: Pteriidae) en tres profundidades de cultivo Relationship between environmental variables and growth of <i>Pteria colymbus</i> (Mollusca Bivalvia: Pteriidae) at three cultivation depths	9
Rafael Chávez-López, Arturo Rocha-Ramírez y Ángel Morán-Silva Presencia de <i>Poecilia mexicana</i> Steindachner en un estuario hiperhalino temporal del golfo de México Presence of <i>Poecilia mexicana</i> Steindachner in a temporary hyperhaline estuary of the Gulf of Mexico.	27
Alexander Araya-Vargas, Linnet Busutil, Andrea García-Rojas, José Miguel Pereira Chaves y Liliana Piedra-Castro Evaluación de la estructura comunitaria de las esponjas marinas en parches arrecifales del Caribe sur, Costa Rica Evaluation of the community structure of marine sponges in reef patches of the southern Caribbean, Costa Rica	39
Jordan Steven Ruiz-Toquica, Laura Milena Becerra-Real y Luisa Marcela Villamil-Díaz Evaluación del efecto de <i>Bacillus firmus</i> C101 en el crecimiento de <i>Litopenaeus vannamei</i> Boone (camarón blanco) y <i>Brachionus plicatilis</i> s.s. Müller (rotífero) Effect of <i>Bacillus firmus</i> C101 on the growth of <i>Litopenaeus vannamei</i> Boone (White Shrimp) post-larvae, and <i>Brachionus plicatilis</i> s.s. Müller (Rotifer)	63
Patricio Colón Velásquez-López, Ivonne Yadira López Sánchez y María Fernanda Rivera Velásquez Estimación del riesgo ecológico y a la salud humana del mercurio en una zona de manglar del estuario La Puntilla, provincia de El Oro, sur del Ecuador Estimation of the ecological and human health risk of mercury in a mangrove area of the La Puntilla estuary, El Oro province, southern Ecuador.	81
Ángela Marulanda-Gómez, Mateo López-Victoria y Sven Zea Colonización a largo plazo de corales por una esponja excavadora del Caribe Long-term coral colonization by an excavating Caribbean sponge	101
Brightdoom Márquez-Rojas, Luis Tróccoli y Evelyn Zoppi de Roa† Variación estacional de la comunidad de copépodos en el sector oriental del golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela Seasonal variation of the community of copepods in the eastern sector of the Gulf of Cariaco, Sucre state, Venezuela	113
Gregoria Calderón-Peralta, Gabriela Ayora-Macias y Pilar Solís-Coello Variación espacio-temporal de larvas de peces en el golfo de Guayaquil, Ecuador Temporal space-variation of fish larvae in the Gulf of Guayaquil, Ecuador.	135
Luis Chasqui, Natalia Rincón-Díaz y María Juliana Vanegas Abundancia del pez león invasor <i>Pterois volitans</i> en los arrecifes de coral costeros del Caribe colombiano Abundance of the invasive lionfish <i>Pterois volitans</i> in the coastal coral reefs from Colombian Caribbean.	157
Guía de autores/Author's guide	171
Ética de publicación/Publication ethics	176



invemar

www.invemar.org.co/boletin