Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras

Since 1967 -

Bulletin of Marine and Coastal Research



Serie de Publicaciones Periódicas

Volumen 53 (1) Año 2024 (enero-junio / *January-June*)



Santa Marta • Colombia

ISSN: 0122-9761 e-ISSN: 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

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 Andréis" (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 Q3 del Scimago Journal Ranking (SJR) en la categoría "Animal Science and Zoology") y recientemente en Publindex.

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 Andréis" (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 Q3 of Scimago Journal Ranking (SJR) on Animal Science and Zoology category) and currently on Publindex ...

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 general / General Director

Francisco A. Arias Isaza, PhD

Director de la revista / Journal Director

Jesús A. Garay, MSc Invemar, Colombia

Editor general / Editor-in-Chief

Arturo Acero Pizarro, PhD Universidad Nacional de Colombia sede Caribe (Cecimar), Colombia

····

Comite editorial / Editorial Board	
Antonio Baeza, <i>PhD</i> Clemson University y Smithsonian Marine Station at Fort Pierce, EE. UU.	D 0000-0002-2573-6773
Arturo Acero Pizarro, <i>PhD</i> Universidad Nacional de Colombia sede Ca	D 0000-0002-6637-9901 aribe (Cecimar), Colombia
Edgardo Londoño-Cruz, <i>PhD</i> Universidad del Valle, Colombia.	D 0000-0001-5762-9430
Gabriel R. Navas S., <i>PhD</i> Universidad de Cartagena, Colombia	0000-0001-9554-6345
Gladys Bernal, <i>PhD</i> Universidad Nacional de Colombia sede M	D 0000-0001-6333-6028 edellín, Colombia
Javier A. Díaz Ochoa, <i>PhD</i> Universidad de Magallanes, Chile	0000-0002-1911-0467
Jorge Enrique Páramo, <i>PhD</i> Universidad del Magdalena, Colombia	0000-0002-8380-2716
Iosé Horrillo Caraballo, <i>PhD</i> Swansea University, Reino Unido	0000-0001-7694-3812
Iosé Julián Tavera, <i>PhD</i> Universidad del Valle, Colombia	0000-0003-4517-9238
Julio César Herrera Carmona, <i>PhD</i> Universidad del Valle, Colombia	0000-0003-0446-3275
Marco Alejandro Correa, <i>PhD</i> Invemar, Colombia	0000-0002-4714-9553
María del Pilar Blanco Parra, <i>PhD</i> Universidad de Quintana Roo, México	0000-0003-2492-2168
María Isabel Criales, <i>PhD</i> Universidad Nacional de Colombia sede Bo	D 0000-0001-5608-8943 ogotá, Colombia
Maribeb Castro, <i>PhD</i> Universidad Militar Nueva Granada, Colon	D 0000-0001-6353-1018 nbia
Mateo López Victoria, <i>Dr.rer.nat.</i> Pontificia Universidad Javeriana Cali, Colo	D 0000-0002-7307-8680 mbia
Nikita Gaibor, <i>PhD</i> Instituto Nacional de Pesca, Ecuador	0000-0002-4773-3434
Óscar Álvarez Silva, <i>PhD</i> Universidad del Norte. Colombia	0000-0002-5121-5875
Valentina Hurtado-McCormick, <i>PhD</i> Commonwealth Scientific and Industrial Re (CSIRO), Environment Perth, WA, Australi	b 0000-0001-9407-5924 esearch Organisation a

Jefe de Comunicación Científica / Head of Scientific Communication Isabela Katime Arroyave Invemar, Colombia

Asistente del comité editorial / Editorial Board Professional Tatiana Gómez Orgulloso, MSc Invemar. Colombia

Foto portada / Cover Photo Ostra (Pinctada imbricata). Foto: Dr. César Madeiros

Traducción / Translation

José Daniel Gutiérrez Mendoza

Comité científico / Scientific Board	
Adolfo Sanjuan Muñoz, <i>MSc</i> Universidad de Bogotá Jorge Tade	© 0000-0002-4786-862X o Lozano, Colombia
Andia Chávez Fonnegra, <i>PhD</i> Florida Atlantic University, EE. UI	D 0000-0002-6781-0089
Alfredo Gómez Gaspar, <i>MSc</i> Museo Marino de Margarita y Uni	versidad de Oriente (Nueva Esparta), Venezuela
Diego L. Gil Agudelo, <i>PhD</i> Texas A&M University at Galvesto	D 0000-0001-7873-4694
Efraín Rodríguez Rubio, <i>PhD</i> Centro de Innovación y Tecnología	© 0000-0002-1150-3194 a-ICP y Ecopetrol, Colombia
Gloria E. Sánchez, <i>PhD</i> Universidad de Magallanes, Chile	
Guillermo Díaz Pulido, <i>PhD</i> Griffith University, Australia	D 0000-0002-0901-3727
Juan Manuel Díaz, <i>Dr.rer.nat.</i> Fundación Marviva, Colombia	0000-0002-2026-6522
Klaudia Hernández, <i>PhD</i> Universidad Andrés Bello, Chile	0000-0002-8490-2882
Luisa Espinosa, <i>PhD</i> Invemar, Colombia	0000-0003-1452-3104
Marie Luise Schnetter, <i>Dr.rer.nat.</i> Justus-Liebig-Universität Gießen, .	Alemania
Mónica Puyana, <i>PhD</i> Universidad de Bogotá Jorge Tade	© 0000-0001-7600-3118 o Lozano, Colombia
Yves François Thomas, <i>PhD</i> Université Paris 1 Panthéon-Sorbo	D 0000-0003-1896-0774 nne, Francia
Evaluadores de este número / Reviewers	for this issue
Alfredo Rodríguez, PhD	Universidad del Magdalena, Colombia
Ángela Moncaleano, PhD	Pontificia Universidad Javeriana, Colon
Arturo Acero P, PhD	Universidad Nacional de Colombia, Col
Elielton Nascimento, MSc	Universidade Federal de Pernambuco, E
Fernando J. Parra-Velandia, Dr.Sc.	Universidad de Antioquia, Colombia
Gloria Sánchez Sánchez, PhD	Universidad de Magallanes, Chile
Guerly Avila Parga, Esp	Universidad de Cadiz, España
Guillermo Duque, PhD	Universidad Nacional de Colombia, Col

luz	luores de este numero / Keviewers jor inis issue	
	Alfredo Rodríguez, PhD	Universidad del Magdalena, Colombia
	Ángela Moncaleano, PhD	Pontificia Universidad Javeriana, Colombia
	Arturo Acero P, PhD	Universidad Nacional de Colombia, Colombia
	Elielton Nascimento, MSc	Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
	Fernando J. Parra-Velandia, Dr.Sc.	Universidad de Antioquia, Colombia
	Gloria Sánchez Sánchez, PhD	Universidad de Magallanes, Chile
	Guerly Avila Parga, Esp	Universidad de Cadiz, España
	Guillermo Duque, PhD	Universidad Nacional de Colombia, Colombia
	Héctor Villalobos, PhD	Instituto Politécnico Nacional, México
	Jorge Corredor, PhD	Universidad de Puerto Rico, Puerto Rico
	José Iannacone, PhD	Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica, Colombia
	Juan Manuel Pacheco, PhD	Universidad Autónoma de Baja California Sur, México
	Laura Valderrama, MSc	Universidad Nacional de Colombia, Colombia
	Luisa Fernanda Dueñas Montalvo, PhD	Universidad Nacional de Colombia, Colombia
	Luz María Dalila Aldana Aranda, PhD	Cinvestav IPN Mérida, México
	Nikita Gaibor, PhD	Instituto Publico de Investigación de Acuicultura y Pesca, Ecuador
	Norman Duke, PhD	James Cook University, Australia
	Paloma Lumi, PhD	Federal University of Rio Grande, Brasil
	Xavier Cornejo Sotomayor, MSc	Universidad de Guayaquil, Ecuador
	Ximena Moreno Gutiérrez, MSc	Parques Nacionales Naturales de Colombia, Colombia

Diagramación y montaje / Layout and Assembly

John Khatib (Ediprint SAS)

Canje / Exchange

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

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. 2024. Título del artículo. Bol. Invest. Mar. Cost., 53(1): rango de páginas. Authors. 2024. Title of article or note. Bull. Cost. Mar. Res., 53(1): page range.

BOLETÍN DE INVESTIGACIONES MARINAS Y COSTERAS Bulletin of Marine and Coastal Research

(Bol. Invest. Mar. Cost.)

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

53 (1)



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis"

Vinculado al Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible

Santa Marta, Colombia, 2024 (enero-junio / January-June)

TABLA DE CONTENIDO / CONTENTS

ARTÍCULOS / ARTICLES

Edgar Zapata-Vívenes, Gabriela Sánchez, Leida Marcano y Mariannys Antón
Inmunotoxicidad y daño lisosomal en la ostra Pinctada imbricata (Röding) expuesta a lubricantes usados de motores de automóviles
Immunotoxicity and lysosomal damage on <i>Pinctada imbricata</i> (Röding) exposed to used automobile crankcase oils
Hanna Elizabeth Hernández-Acevedo, Leenin Flores-Ramos, Alberto Oscanoa-Huaynate, Anthony Ruiz-Soto y Carla Aguilar-Samanamud
Perfil nutricional de cepas de microalgas peruanas de los géneros <i>Chaetoceros</i> y <i>Skeletonema</i> de la costa central del Perú como ingrediente potencial para acuicultura
Nutricional profile of native strains of the genera Chaetoceros and Skeletonema from the central coast of Peru as a potential ingredient for aquaculture
Cristina Cedeño - Posso, Fernando Dorado - Roncancio, Oscar Martínez - Ramírez y Johanna Medellín - Mora
Diversidad de sifonóforos en Colombia (Cnidaria: Hydrozoa): lista actualizada
Diversity of siphonophores in Colombia (Cnidaria: Hydrozoa): updated checklist
Ingrid Arboleda, Andrés Molina y Guillermo Duque
Influencia de las condiciones ambientales sobre la distribución y tipos de microplásticos en aguas superficiales en la bahía de Tumaco, Pacífico colombiano
Influence of environmental conditions on distribution and types of microplastics in surface waters of Tumaco Bay, Colombian Pacific
Nicoll Lizarazo y Sven Zea
Esponjas de la plataforma continental (73 – 210 m) del área suroccidental de isla Fuerte y alta Guajira, con la descripción de nuevos registros para el Caribe colombiano
Sponges in the continental shelf $(73 - 210 \text{ m})$ of the southwestern area of Isla Fuerte and Alta Guajira, with the description of new records for the Colombian Caribbean
Daniel Alejandro López Perdomo y Ángela Inés Guzmán Alvis
Determinación de una Zona Exclusiva de Pesca Artesanal-ZEPA como estrategia de manejo sostenible de los recursos pesqueros y de adaptación climática para los pescadores artesanales del Pacifico sur colombiano
Determination of an Exclusive Artisanal Fishing Zone-ZEPA as a strategy for the sustainable management of fishery resources and climate adaptation for artisanal fishers of the Colombian South Pacific
Gustavo Cuadros, Pedro Ramiro Castillo, Luis La Cruz, Carlos Valdez, Cecilia Peña, German Chacón, Luis Escudero y José Salcedo
Variabilidad de la anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>) entre febrero y junio en la zona restringida a la pesca industrial en el inicio la primera temporada de pesca del 2022
Variability of anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>) between February and June in the area restricted to industrial fishing at the start of the first fishing season of 2022

NOTAS / NOTES

Joaquín Antonio Torres-Duque, Amanda Selene Rojas-Aguirre, Tania Carolina Hoyos-Ruiz, JP Caicedo-García y Paula Cristina Sierra-Correa Presencia del mangle de té <i>Pelliciera benthamii</i> en la Bahía de Cispatá, Córdoba, Caribe colombiano Presence of the tea mangrove <i>Pelliciera benthamii</i> in Cispatá Bay, Córdoba, Colombian Caribbean
Laura Sofía Coral-Chamorro, Jenny Alejandra Ruiz-Jiménez, María Isabel Críales-Hernández y Rafael Cabanzo-Hernández Evaluación de las técnicas para la digestión y extracción de microplásticos ingeridos por el zooplancton marino Assessment of techniques for the digestion and extraction of microplastics ingestion by marine zooplankton
Guía de autores / Author's guide
Ética de publicación / Publication ethics



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Inmunotoxicidad y daño lisosomal en la ostra *Pinctada imbricata* (Röding) expuesta a lubricantes usados de motores de automóviles

Immunotoxicity and lysosomal damage on *Pinctada imbricata* (Röding) exposed to used automobile crankcase oils

Edgar Zapata-Vívenes¹*, Gabriela Sánchez²⁺, Leida Marcano² y Mariannys Antón²

1. Departamento de Acuicultura, Pesca y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Acuicultura y Ciencias del Mar, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. edgar.zapata@utm.edu.ec

2. Laboratorio de Bioquímica y Ecotoxicología, Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Venezuela

* Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

In este estudio se evaluaron los efectos que ocasiona la exposición a fracciones acuosas de lubricantes usados de motores de automóviles (Faluma) sobre parámetros hematológicos, sistema inmune, estabilidad de la membrana lisosomal de hemocitos y niveles peroxidación lipídica y lisozimas en la glándula digestiva de la ostra perla *Pinctada imbricada*. Las ostras fueron expuestas a 0, 1, 10 y 20 % v/v de Faluma durante diferentes períodos: 3, 5 y 7 días, en sistema estático de acuarios bajo condiciones controladas (oxigenación 6 mg/L; 25 ± 1 °C; pH 8.0 y 36 ‰). Durante el período temprano de exposición fue observado un aumento en el número total de hemocitos (NTH) de ostras expuestas a 10 % de Faluma. En ostras expuestas a 20 % al séptimo día se observó un descenso en los parámetros inmunohematológicos, asociados a una elevada desestabilización de la membrana lisosomal y contenido de malondialdehido (MDA). Las ostras mostraron respuestas celulares compensatorias a bajas concentraciones de Faluma, resultando mermadas durante la exposición aguda. Se evidenciaron efectos immunomodulatorios inducidos por la mezcla de compuestos xenobióticos contentivos en Faluma. Las respuestas moleculares e inmune-celulares estimadas en *P. imbricada* pueden suministrar información sobre los cambios en la fisiología normal de organismos que habitan ambientes impactados por mezclas complejas de xenobióticos.

PALABRAS CLAVE: hemocito, desestabilidad lisosomal, aceite, inmunología, estrés.

ABSTRACT

The effect of exposure to water-soluble fractions of used automobile crankcase oils (WSF-AUCO) on haematology parameters, immune system, stability of lysosomal membranes of hemocytes and lipid peroxidation in the digestive gland of the pearl oyster *Pinctada imbricata* was evaluated in this study. The oysters were exposed to 0, 1, 10 and 20 % v/v of WSF-AUCO during different periods: 3, 5 and 7 d, in static aquaria under controlled conditions (oxygenation 6 mg/L; 25 ± 1 °C; pH 8.0 and 36 ‰). During the early period (3d) of exposure, an increase in the total count of hemocytes (TCH) was observed to 10 % of WSF-AUCO. In oyster exposed to 20 % during 7 d significant decreases in immuno-hematological parameters associated with high lysosomal destabilization of hemocytes and malondialdehyde (MDA) concentration was observed. The oysters showed compensatory cellular responses to the WSF-AUCO low concentrations, but these decreased during acute exposure. Immuno-modulator effects were induced by complex mixtures of compounds of WSF-AUCO. The molecular and immune-cellular responses estimated in *P. imbricada* offer appropriate information on the change in the normal physiology of organisms that inhabit impacted environments by complex mixtures of xenobiotics.

KEYWORDS: hemocyte, lysosomal destabilization, oil, immunology, stress.

DOI: https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2024.53.1.1208 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 lubricantes usados de motores de automóviles contienen compuestos químicos potencialmente tóxicos al ambiente, dentro de los cuales se incluyen hidrocarburos aromáticos policíclicos, compuestos clorados, y metales pesados. Tales xenobióticos son producidos por combustión incompleta en el motor, desgaste y contaminación de sustancias provenientes de los combustibles (Olonisakin et al., 2005; Cvengros et al., 2017). Generalmente después de un recorrido a 5 000 a 8 000 km. los lubricantes de motores son removidos del cárter y posteriormente almacenados; sin embargo, una disposición final inadecuada puede resultar en la dispersión de los xenobióticos orgánicos e inorgánicos en los ecosistemas marinos-costeros, los cuales pueden ser fácilmente absorbidos e incorporados a la biota. Las alteraciones de las respuestas bioquímicas y celulares provocadas por fracciones hidrosolubles de lubricantes usados de motores de automóviles (Faluma) han sido evaluadas previamente en distintos organismos modelos: anélidos (Zapata-Vívenes et al., 2018), bivalvos (Zapata-Vívenes et al., 2022) y peces (Freitas et al., 2020).

La toxicidad de la Faluma suele ser incrementada debido a la formación de especies reactivas del oxígeno (ERO) u otros radicales libres, que ocurre durante el metabolismo redox de sus xenobióticos a nivel celular (Zheng et al., 2020). La sobreproducción de ERO puede perturbar la eficiencia antioxidante celular, lo cual ofrece un preámbulo para cambios oxidativos tales como peroxidación de lípidos, modificaciones en las propiedades estructurales de las membranas biológicas, alteración de su fluidez y reducción de la capacidad para mantener el balance iónico (He et al., 2017; Basria et al., 2019). Las alteraciones en las membranas biológicas pueden comprometer la estabilidad y funcionabilidad de los lisosomas, lo cual puede conllevar a procesos degradativos y lisis celular (Trivedi et al., 2020). Los lisosomas presentan un rol fundamental en la metabolización y almacenamiento de xenobióticos, y la desestabilización de sus membranas ha sido usada como un marcador de estrés celular (Aliko et al., 2015; Parisi et al., 2021).

Los biomarcadores que determinan estrés por polución comprenden una gama de respuestas moleculares y celulares, las cuales pueden ser moduladas de manera sensible a la presencia de contaminantes (Zannella *et al.*, 2017). A través del uso de biomarcadores en organismos representativitos del medio, particularmente estimados en especies sésiles y filtradoras como los moluscos-bivalvos, se ha hecho factible el monitoreo del estado de salud de ecosistemas marinos-costeros

INTRODUCTION

Used automobile engine lubricants contain chemical compounds that are potentially toxic to the environment, including polycyclic aromatic hydrocarbons, chlorinated compounds, and heavy metals. Such xenobiotics are produced by incomplete combustion in the engine, wear and tear, and contamination by substances from the fuels (Olonisakin et al., 2005; Cvengros et al., 2017). Generally, after traveling 5 000 to 8 000 km, engine lubricants are removed from the sump and subsequently stored. However, improper disposal can result in the dispersion of organic and inorganic xenobiotics in marine-coastal ecosystems, which can be easily absorbed and incorporated into the biota. Alterations in biochemical and cellular responses caused by water-soluble fractions of used automobile engine lubricants (Wsfual) have been previously evaluated in various model organisms: annelids (Zapata-Vívenes et al., 2018), bivalves (Zapata-Vívenes et al., 2022), and fish (Freitas et al., 2020).

Wsfual toxicity often increases due to the formation of reactive oxygen species (ROS) or other free radicals, which occur during the redox metabolism of their xenobiotics at the cellular level (Zheng et al., 2020). The overproduction of ROS can disrupt cellular antioxidant efficiency, which constitutes a prelude to oxidative changes such as lipid peroxidation, alterations in the structural properties of biological membranes, the disruption of their fluidity, and the reduction of the capacity to maintain ionic balance (He et al., 2017; Basria et al., 2019). Changes in biological membranes may compromise the stability and functionality of lysosomes, which can lead to degradative processes and cell lysis (Trivedi et al., 2020). Lysosomes play a fundamental role in the metabolism and storage of xenobiotics, and the destabilization of their membranes has been used as a marker of cellular stress (Aliko et al., 2015; Parisi et al., 2021).

Biomarkers that determine stress by pollution encompass a range of molecular and cellular responses, which can be sensitively modulated by the presence of contaminants (Zannella *et al.*, 2017). By using biomarkers in representative organisms of the environment, particularly estimated in sessile and filter-feeding species such as bivalve mollusks, it has become feasible to monitor the health status of marine-coastal ecosystems (Krishnakumar *et al.*, 2018). Particularly, immunological biomarkers have been frequently used to estimate the effects of environments impacted by xenobiotic mixtures, and, in bivalves, they offer (Krishnakumar *et al.*, 2018). En particular, los biomarcadores inmunológicos han sido frecuentemente utilizados para estimar los efectos de ambientes impactados por mezclas xenobióticos, y en los bivalvos ofrecen aspectos de interés para su aplicación en estudios de ecotoxicológicos (Balbi *et al.*, 2021). La capacidad inmunitaria en bivalvo está mediada por hemocitos y sustancias bacteriolíticas que constituyen mecanismos de defensa de primera línea eficaces contra microorganismos invasores (Zannella *et al.* 2017), y han sido usadas como señales de alerta para poder identificar áreas impactadas por polución (Renault *et al.* 2015).

Pinctada imbricata (Röding) es una ostra perlífera de abundancia relativa y amplia distribución en el océano Atlántico. Se encuentra formando densos bancos en el mar Caribe, particularmente en Colombia y Venezuela, desarrollándose en aguas poco profundas en general en zonas arrecifales y praderas de Thalassia testudinum (Vásquez et al., 2015). Esta especie tiene importancia económica dual, ya que su carne es aprovechada como fuente proteínica y adicionalmente su concha es usada por su producción de nácar. El potencial uso de P. imbricata en la maricultura ha sido conocido (Lodeiros et al., 2016; Romero-Ferreira et al., 2017), y adicionalmente, ha sido propuesta como modelo biológico en pruebas ecotoxicológicas (Nusetti et al., 2004; Villegas et al., 2015). En tal sentido, esta investigación evaluó los efectos de concentraciones subletales de Faluma, a corto plazo, sobre las respuestas inmune-innatas (celular y humoral) y la estabilidad de las membranas lisosomales en hemocitos del bivalvo P. imbricata. Paralelamente, en la glándula digestiva fueron determinados los niveles de malondialdehido y actividad de lisozimas como marcadores de daño oxidativo y defensa humoral, respectivamente. Las concentraciones seleccionadas en el bioensayo de exposición representan posibles escenarios de contaminación por derrame de Faluma en ecosistema marino-costeros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organismos. Ejemplares adultos de la ostra perla *P. imbricata*, sin distinción de sexo, con longitud anteroposterior de 50-60 mm, fueron colectados de manera manual por buceo libre en áreas arrecifales localizadas en la región sur del golfo de Cariaco ($10^{\circ} 26'56''$ N, $64^{\circ} 02'00''$ W), Venezuela, durante la temporada de surgencia costera. Las ostras fueron transportadas en envases isotérmicos hasta el laboratorio, para luego ser mantenidas en acuarios de 40 L de capacidad, con agua de mar filtrada ($10 \ \mu m$) a una temperatura 25 ± 1 °C, salinidad

interesting aspects for application in ecotoxicological studies (Balbi *et al.*, 2021). The immune capacity of bivalves is mediated by hemocytes and bacteriolytic substances that constitute effective first-line defense mechanisms against invasive microorganisms (Zannella *et al.* 2017) and have been used as warning signals to identify areas impacted by pollution (Renault *et al.* 2015).

Pinctada imbricata (Röding 1758) is a pearl oyster with relative abundance and broad distribution in the Atlantic Ocean. It has been found to form dense beds in the Caribbean Sea, particularly in Colombia and Venezuela, and generally develops in shallow waters in reef areas and Thalassia testudinum seagrass beds (Vásquez et al., 2015). This species holds dual economic importance, as its meat is utilized as a protein source and its shell is valued for nacre production. The potential use of P. imbricata in mariculture has been recognized (Lodeiros et al., 2016; Romero-Ferreira et al., 2017), and it has been proposed as a biological model in ecotoxicological tests (Nusetti et al., 2004; Villegas et al., 2015). In this vein, this research evaluated the short-term effects of sublethal concentrations of Wsfual on the immuneinnate responses (cellular and humoral) and the stability of lysosomal membranes in hemocytes of the bivalve P. imbricata. Concurrently, in the digestive gland, the levels of malondialdehyde and lysozyme activity were determined as markers of oxidative damage and humoral defense, respectively. The concentrations selected for the exposure bioassay represent possible contamination scenarios caused by Wsfual spills in marine-coastal ecosystems.

MATERIALS AND METHODS

Organisms. Adult specimens of the pearl oyster *P. imbricata*, without sex distinction and an anteroposterior length of 50-60 mm, were manually collected by free diving in reef areas located in the southern region of the Cariaco Gulf ($10^{\circ}26'56''$ N, $64^{\circ}02'00''$ W), Venezuela, during the coastal upwelling season. The oysters were transported in isothermal containers to the laboratory and then maintained in 40 L capacity aquariums with filtered seawater ($10 \mu m$) at a temperature of $25 \pm 1^{\circ}$ C, a salinity of 36, and a pH of 7.8 \pm 0.2. They were oxygenated (6.2 mg/L) for one week as an acclimatization period. These physicochemical variables were similar to those found in their environment at the time of collection. The oysters were fed daily *ad libitum* with an isomix of the cultured microalgae (*Chaetoceros araya* and *Tetraselmis chuii*).

11

36; pH 7.8 \pm 0.2; y oxigenación de 6.2 mg/L durante una semana como período de aclimatamiento. Estas variables fisicoquímicas fueron similares a las encontradas en su ambiente para el momento de la colecta. Las ostras fueron alimentadas diariamente *ad libitum* con una isomezcla de microalgas cultivadas (*Chaetoceros araya* y *Tetraselmis chuii*).

Fracción acuosa de lubricantes. La fuente de contaminantes consistió una mezcla de lubricantes usados de motores de vehículos obtenidos en una estación de servicio local (gasolinera) y agua de mar filtrada (45 μ m), en una relación 1:9 v/v. La mezcla se mantuvo bajo agitación constante durante un período de 24 h, a temperatura ambiente, con una hora de reposo. Para eliminar los remanentes de la fracción no solubles, la mezcla fue separada por sifoneo y posteriormente filtrada bajo un sistema de vacío a través de un papel Whatman # 1. La Faluma colectada fue usada como solución stock (100 % v/v) para realizar las diluciones (Zapata-Vívenes *et al.*, 2020).

Bioensayos de exposición. Veinte organismos por acuario (por triplicado) fueron expuestos a concentraciones ascendentes de 1, 10 y 20 % v/v de la Faluma durante diversos períodos: 3, 5 y 7 días. Las concentraciones subletales fueron seleccionadas partiendo de una concentración letal media estimada previamente ($LC_{50} = 83.10$ %; 96 h). Un grupo de organismos, que sirvió como control, fueron colocados en solo en agua de mar sin contacto con contaminantes. La calidad v parámetros fisicoquímicos del agua de mar fueron mantenidas de manera similar al período de aclimatamiento. Tres cuartas partes del agua de mar fueron cambiadas diariamente, con la finalidad de mantener disponible las concentraciones de la mezcla de contaminantes, remover las pseudoheces y productos de excreción de los organismos. Para determinar los parámetros citológicos e inmunológicos después de cada período de exposición, se le extrajo la hemolinfa a cada ostra. Adicionalmente, la glándula digestiva fue disecada para cuantificar la actividad de lisozima, niveles de lípidos peroxidados y proteínas totales.

Extracción de hemolinfa. Haciendo uso de una jeringa hipodérmica de 1 mL de capacidad, precargada con 0.2 mL de agua de mar-EDTA al 0.01 mmol/L, se procedió a realizar una punción directa sobre seno venoso, localizado cercano a la porción fásica del músculo abductor, ayudado por una separación mecánica de las valvas. Entre 0.5 a 1 mL de hemolinfa fue extraída por cada ejemplar. La hemolinfa fue vertida en tubos de microcentrífuga colocados en hielo (4 °C). La muestra fue lavada y resuspendida en 1 mL de agua de mar filtrada-EDTA 0.01 mmol/L a pH 7.8. Finalmente fue conservada a 8 °C para su posterior análisis.

Water-soluble fraction of lubricants. The source of contaminants consisted of a mix of used vehicle engine lubricants obtained from a local service station (gas station) and filtered seawater (45 μ m), at a 1:9 v/v ratio. The mix was kept under constant agitation for a period of 24 hours at room temperature, with one hour of settling time. To eliminate the remnants of the non-soluble fraction, the mixture was separated by siphoning and subsequently filtered under a vacuum system through a Whatman #1 paper. The collected Wsfual was used as a stock solution (100 % v/v) to perform dilutions (Zapata-Vívenes *et al.*, 2020).

Exposure bioassays. 20 organisms per aquarium (in triplicate) were exposed to ascending concentrations of 1, 10, and 20 % v/v of Wsfual for various periods: 3, 5, and 7 days. The sublethal concentrations were selected based on a previously estimated median lethal concentration $(LC_{50} = 83.10 \%; 96 h)$. A group of organisms, which served as a control, were placed alone in seawater and without contact with contaminants. The quality and physicochemical parameters of the seawater were maintained similarly to the acclimation period. Three quarters of the seawater were changed daily, in order to maintain the available concentrations of the contaminant mix and remove pseudofeces and excretion products from the organisms. To measure the cytological and immunological parameters after each exposure period, hemolymph was extracted from each oyster. Additionally, the digestive gland was dissected to quantify lysozyme activity and the levels of peroxidized lipids and total proteins.

Hemolymph extraction. Using a 1 mL capacity hypodermic syringe preloaded with 0.2 mL of seawater-EDTA at 0.01 mmol/L, a direct puncture was made into the venous sinus located near the phasic portion of the adductor muscle, aided by a mechanical separation of the valves. 0.5-1 mL of hemolymph was extracted from each specimen. The hemolymph was poured into microcentrifuge tubes placed on ice (4 °C). The sample was washed and resuspended in 1 mL of filtered seawater-EDTA 0.01 mmol/L at pH 7.8. Finally, it was preserved at 8 °C for subsequent analysis.

Cell viability and total hemocyte count. A mixture of 20 μ L of the final hemocyte suspension was combined with an equal volume of 0.4 % trypan blue solution (Sigma) (Strober, 2015). Cell viability and the total number of hemocytes (TNH) per mL were determined via light microscopy in a Neubauer chamber at a magnification of 400X. The THC per mL was

Viabilidad celular y conteo total de hemocitos. Se mezclaron 20 µL de la suspensión final de hemocitos con un volumen igual de azul tripano (Sigma) al 0.4 % (Strober, 2015). La determinación de viabilidad celular y el número total de hemocitos (NTH) por mL fue realizada en una cámara de Neubauer a una magnificación de 400X por microscopía de luz. El THC por mL se determinó con la media de 4 cuadrantes (X) de la cámara y se calculó según la siguiente fórmula: *THC/mL* = (X/4) × factor de dilución × 10 000 (Zapata-Vívenes *et al.*, 2022).

Fagocitosis. Una muestra de hemolinfa ajustada a concentración de 2 x 10⁶ células/mL fue utilizada en presencia de la levadura Sacharomyces cereviceaea (3 mg/mL) inactivada por calor como fuente de antígeno. En un tubo de microcentrífuga se añadió 100 µL de la suspensión de hemocitos, con un volumen igual de levaduras, centrifugándose a 1 000 x g por 5 min. Las muestras se incubaron por un período de 24 h a 8 °C. Al precipitado celular se le añadió 100 µL de azul tripano al 0.4 % y se resuspendió con una pipeta Pasteur. Finalmente se colocaron 10 µL en una cámara de Neubauer para su contaje en un microscopio de luz, a una magnificación de 400X. Se contaron 100-200 células viables por cada muestra, considerándose fagocitos a los hemocitos que contenían al menos una levadura visible en su citoplasma (Nusetti et al. 2004). Este proceso se repitió al menos tres veces.

Estabilidad de la membrana lisosomal. La estabilidad de la membrana se parametrizó mediante conteo de células dañadas (Lowe *et al.*, 1992). Se añadieron 40 µL de solución stock de rojo neutro (4 mg/mL disuelto en dimetil sulfóxido) en un mismo volumen de hemolinfa. Se mezcló e incubó en una cámara húmeda y oscura por 15 min. Porcentaje de hemocitos con desestabilización de la membrana lisosomal (DML; %) fue estimado durante 240 min (Méthé *et al.*, 2017).

Lisozima. El protocolo empleado para evaluar la actividad de lisozima en la glándula digestiva de *P. imbricata* estuvo basado en la lisis de la pared celular de *Micrococcus lysodeikticus*, empleando lisoplacas de agarosa. Los diámetros de los halos de inhibición de la lisis fueron compararon con el estándar de lisozimas de clara de huevo (HEL), utilizando un análisis de regresión lineal (Goven y Kennedy, 1996).

Peroxidación de lípidos y proteínas totales. El nivel de malondialdehido (MDA) en la glándula digestiva fue determinado espectrofotométricamente a 535 nm por el revelado a través del ácido tiobarbitúrico, usando a

determined using the average of four quadrants (X) of the chamber and was calculated using the following formula: $THC/mL = (X/4) \times dilution \ factor \times 10,000$ (Zapata-Vivenes *et al.*, 2022).

Phagocytosis. A hemolymph sample adjusted to a concentration of 2 x 10⁶ cells/mL was used in the presence of heat-inactivated *Sacharomyces cereviceaea* yeast (3 mg/mL) as an antigen source. In a microcentrifuge tube, 100 μ L of the hemocyte suspension were added, along with an equal volume of yeast, and centrifuged at 1 000 x g for 5 min. The samples were incubated for a period of 24 h at 8 °C. To the cell precipitate, 100 μ L of 0.4 % trypan blue were added and resuspended with a Pasteur pipette. Finally, 10 μ L were placed in a Neubauer chamber for counting under a light microscope at a magnification of 400X. A total of 100-200 viable cells were counted for each sample, and hemocytes containing at least one visible yeast in their cytoplasm were considered to be phagocytes (Nusetti *et al.* 2004). This process was repeated at least three times.

Lysosomal membrane stability. Lysosomal membrane stability was parameterized by counting damaged cells (Lowe *et al.*, 1992). A total of 40 μ L of neutral red stock solution (4 mg/mL dissolved in dimethyl sulfoxide) were added to an equal volume of hemolymph. Mixing and incubation were performed in a moist and dark chamber for 15 min. The percentage of hemocytes with lysosomal membrane destabilization (LMD; %) was estimated for 240 min (Méthé *et al.*, 2017).

Lysozyme. The protocol used to assess lysozyme activity in the digestive gland of *P. imbricata* was based on the lysis of the cell wall of *Micrococcus lysodeikticus*, using agarose lyso-plates. The diameters of the lysis inhibition halos were compared to the standard of hen egg-white lysozymes (HEL) through linear regression analysis (Goven and Kennedy, 1996).

Lipid peroxidation and total proteins. The malondialdehyde (MDA) level in the digestive gland was determined spectrophotometrically at 535 nm through a thiobarbituric acid reactive substances assay, using 1,1,3,3-tetraethoxypropane as a standard (Ohkawa *et al.* 1979). The values were normalized to the total protein content. Protein quantification was carried out following the methodology proposed by Lowry *et al.* (1951).

13

1,1,3,3-tetraetoxipropano como estándar (Ohkawa *et al.* 1979). Los valores fueron normalizados con el contenido de proteínas totales. La cuantificación de proteínas se realizó siguiendo la metodología propuesta por Lowry *et al.* (1951).

Análisis estadísticos. Los efectos sobre parámetros inmunológicos y bioquímicos fueron analizados numéricamente por un ANOVA de dos vías (concentraciones y días de exposición) con una prueba *a posteriori* de Dunnet (Sokal y Rohlf, 2012). Previamente se comprobó la distribución normal de los datos y la homogeneidad de las varianzas. Todos los datos se analizaron mediante el software Statgraphics[®] Plus versión 5.1.

RESULTADOS

Contaje y viabilidad celular. Un aumento del NTH fue observado en las ostras expuestas a 1 % de Faluma durante los tres días de exposición (F = 4.32 p < 0.001), en contraste con las ostras controles para este período (Figura 1). Durante los días 5 y 7, las ostras expuestas a Faluma mostraron una tendencia a la disminución del NTH en todas las concentraciones de exposición (F = 15.80 p < 0.001), evidenciándose el mayor efecto a la concentración de 20 %.

Statistical analysis. The effects on immunological and biochemical parameters were numerically analyzed via a two-way ANOVA (concentrations and days of exposure) with a Dunnet *post hoc* test (Sokal and Rohlf, 2012). Prior to analysis, the data were tested for normal distribution and variance homogeneity. All data were analyzed using the Statgraphics Plus version 5.1 software.

RESULTS

Cell count and viability. An increase in the TNH) was observed in oysters exposed to 1 % Wsfual over three days of exposure (F = 4.32; p < 0.001), in contrast to control oysters for this period (**Figure 1**). During days 5 and 7, the oysters exposed to Wsfual showed a tendency towards a decrease in the TNH at all exposure concentrations (F = 15.80; p < 0.001), evidencing the greatest effect at the 20 % concentration.



Figura 1. Número total de hemocitos de *Pinctada imbricata* expuesta a concentraciones de $0 \% (\square)$, $1 \% (\blacksquare)$, $10 \% (\blacksquare)$ y $20 \% (\blacksquare)$ de una fracción acuosa de lubricantes usados de motores de automóviles (Faluma) durante distintos períodos. Las barras y las líneas de tendencias representan las medias y la desviación estándar respectivamente. (*) indican diferencia p < 0.05 con respecto al control (0 %).

Figure 1. Total hemocyte count of *Pinctada imbricata* exposed to concentrations *i.e.*, $0 \% (\square)$, $1 \% (\blacksquare)$, $10 \% (\blacksquare)$, and $20 \% (\blacksquare)$ of a watersoluble fraction of used automobile engine lubricants (Wsfual) over different periods. The bars and trend lines represent the means and standard deviation, respectively. (*) indicates a difference of p < 0.05 with respect to the control (0 %).

La viabilidad de los hemocitos las ostras expuestas a la Faluma y no expuestas varió significativamente, tanto a las distintas concentraciones como durante los períodos de exposición (F = 25.86 p < 0.001 y F = 4.28 p < 0.001, respectivamente) (Figura 2). Durante el día 3 de exposición, las ostras no presentaron variación en la viabilidad de hemocitos cuando se contrastó con los controles. Sin embargo, después del quinto día de exposición se observó una reducción evidente en este parámetro en todas las concentraciones de exposición. A los siete días, las ostras expuestas a la más alta concentración de Faluma mostraron una reducción en el porcentaje de células viables (~ 66 %). The viability of hemocytes in oysters exposed to Wsfual and those unexposed varied significantly, both at different concentrations and during the exposure periods (F = 25.86, p < 0.001 and F = 4.28, p < 0.001, respectively) (Figure 2). During day 3 of exposure, there was no variation in the oysters' hemocyte viability when contrasted with the controls. However, after the fifth day of exposure, a clear reduction in this parameter was observed at all exposure concentrations. After seven days, the oysters exposed to the highest concentration of Wsfual showed a reduction in the percentage of viable cells (~ 66 %).



Figura 2. Viabilidad de hemocitos en *Pinctada imbricata* expuesta a distintas concentraciones de $0 \% (\square)$, $1 \% (\blacksquare)$, $10 \% (\blacksquare)$ y $20 \% (\blacksquare)$ una fracción acuosa de lubricantes usados de motores de automóviles (Faluma) durante distintos períodos. Las barras y las líneas de tendencias representan las medias y la desviación estándar respectivamente. (*) indican diferencia p < 0.05 con respecto al control (0 %).

Figure 2. Hemocyte viability in *Pinctada imbricata* exposed to various concentrations *i.e.*, $0 \% (\Box)$, $1 \% (\Box)$, $10 \% (\Box)$, and $20 \% (\Box)$ of a watersoluble fraction of used automobile engine lubricants (Wsfual) over different periods. The bars and trend lines represent the means and standard deviation, respectively. (*) indicates a difference of p < 0.05 with respect to the control (0 %).

Fagocitosis y lisozima. El número de fagocitos (NF) mostró un incremento significativo durante el primer período de exposición, especialmente a las concentraciones de 10 y 20 %. Sin embargo, durante el séptimo día se experimentó un decrecimiento en esta respuesta, siendo el efecto más pronunciado en ostras expuestas a las concentraciones más elevadas de Faluma (Figura 3). La actividad de lisozima en la glándula digestiva mostró diferencias altamente significativas entre las concentraciones (F = 4.83; p < 0.001) entre los organismos sometidos a la Faluma; sin embargo, no mostró similar tendencia entre los días de exposición (F = 0.60; p > 0.05). Un descenso notorio fue observado en la actividad **Phagocytosis and lysozyme.** The number of phagocytes (NP) showed a significant increase during the first period of exposure, especially at concentrations of 10 and 20 %. However, during the seventh day, there was a decrease in this response, with the most pronounced effect taking place on oysters exposed to higher concentrations of Wsfual (Figure 3). Lysozyme activity in the digestive gland showed highly significant differences between concentrations (F = 4.83; p < 0.001) among the organisms subjected to Wsfual, but it did not show a similar trend over the days of exposure (F = 0.60; p > 0.05). A noticeable decrease in lysozyme activity was observed at the highest

de la lisozima a la mayor concentración (20 %) durante los primeros tres días de exposición (Figura 4); contrariamente, un incremento de la actividad de esta enzima bacteriolítica fue observado durante los siete días de exposición en las ostras expuestas a la concentración de 10 % de Faluma (F = 14.22; p < 0.001).

concentration (20 %) during the first three days of exposure (Figure 4). Conversely, an increase in the activity of this bacteriolytic enzyme was observed over the seven days of exposure in oysters exposed to the 10 % concentration of Wsfual (F = 14.22; p < 0.001).



Figura 3. Número de fagocitos en la hemolinfa de *Pinctada imbricata* expuesta a distintas concentraciones de $0 \% (\Box)$, $1 \% (\Box)$, $10 \% (\Box)$ y 20 % (\Box) una fracción acuosa de lubricantes usados de motores de automóviles (Faluma) durante distintos períodos. Las barras y las líneas de tendencias representan las medias y la desviación estándar respectivamente. (*) indican diferencia p < 0.05 con respecto al control (0 %).

Figure 3. Number of phagocytes in the hemolymph of *Pinctada imbricata* exposed to various concentrations *i.e.*, $0 \% (\square)$, $1 \% (\blacksquare)$, $10 \% (\blacksquare)$, and $20 \% (\blacksquare)$ of a water-soluble fraction of used automobile engine lubricants (Wsfual) over different periods. The bars and trend lines represent the means and the standard deviation, respectively. (*) indicates a difference of p < 0.05 with respect to the control (0 %).





Figure 4. Lysozyme activity (μ g/mL) in the digestive gland of *Pinctada imbricata* exposed to concentrations *i.e.*, 0 % (\square), 1 % (\blacksquare), 10 % (\blacksquare), and 20 % (\blacksquare) of a water-soluble fraction of used automobile engine lubricants (Wsfual) over different periods. The bars and trend lines represent the means and the standard deviation, respectively. (*) indicates a difference of p < 0.05 with respect to the control (0 %).

Estabilidad lisosomal. Las ostras expuestas a las crecientes concentraciones de Faluma presentaron una población de hemocitos con reducida capacidad para la retención del rojo neutro durante 240 min. Este parámetro mostró diferencias altamente significativas entre las ostras expuestas a las concentraciones experimentales (F = 22.54; p < 0.001) y entre los tres períodos de exposición a Faluma (F = 17.17; p < 0.001), observándose un incremento de daño lisosomal relacionado concomitantemente con las concentraciones de exposición. El máximo porcentaje de células dañadas fue evidenciado en las ostras expuestas a 20 % durante los siete días (Figura 5). **Lysosomal stability.** Oysters exposed to increasing concentrations of Wsfual exhibited a population of hemocytes with a reduced capacity for retaining neutral red over 240 min. This parameter showed highly significant differences between the oysters exposed to the experimental concentrations (F = 22.54; p < 0.001) and across the three periods of exposure to Wsfual (F = 17.17; p < 0.001), with an observed increase in lysosomal damage concomitantly associated with exposure concentrations. The highest percentage of damaged cells was evidenced in oysters exposed to 20 % for seven days (Figure 5).



Figura 5. Porcentaje de células con daños en la membrana de *Pinctada imbricata* (durante 240 min de incubación) expuesta a de $0 \% (\square)$, $1 \% (\blacksquare)$, $10 \% (\blacksquare)$ y 20 % (■) una fracción acuosa de lubricantes usados de motores de automóviles (Faluma) durante distintos períodos. Las barras y las líneas de tendencias representan las medias y la desviación estándar respectivamente. (*) indican diferencia p < 0.05 con respecto al control (0 %).

Figure 5. Percentage of cells with membrane damage in *Pinctada imbricata* (during 240 minutes of incubation) exposed to *i.e.*, $0 \% (\square)$, $1 \% (\blacksquare)$, $10 \% (\blacksquare)$, and $20 \% (\blacksquare)$ of a water-soluble fraction of used automobile engine lubricants (Wsfual) over different periods. The bars and trend lines represent the means and the standard deviation, respectively. (*) indicates a difference of p < 0.05 with respect to the control (0 %).

Peroxidación de lípidos. Los niveles de MDA en la glándula digestiva de las ostras expuestas durante los tres períodos presentaron contenidos similares (F = 1.90; p > 0.05). No obstante, se observaron diferencias altamente significativas entre las concentraciones experimentales (F = 6.17; p < 0.05). Se evidenció un ligero incremento en las concentraciones de MDA en las ostras expuestas a la concentración más alta, durante los tres y cinco días de exposición (Figura 6). **Lipid peroxidation.** The levels of MDA in the digestive gland of oysters exposed during the three periods showed similar contents (F = 1.90; p > 0.05). However, highly significant differences were observed between the experimental concentrations (F = 6.17; p < 0.05). A slight increase in the MDA concentrations was evidenced in oysters exposed to the highest concentration during three and five days of exposure (Figure 6).



Figura 6. Niveles de malondialdehido (MDA) en la glándula digestiva de *Pinctada imbricata* expuesta a de $0 \% (\square)$, $1 \% (\blacksquare)$, $10 \% (\blacksquare)$ y $20 \% (\blacksquare)$ una fracción acuosa de lubricantes usados de motores de automóviles (Faluma) durante distintos períodos. Las barras y las líneas de tendencias representan las medias y la desviación estándar respectivamente. (*) indican diferencia p < 0.05 con respecto al control (0 %).

Figure 6. Levels of malondialdehyde (MDA) in the digestive gland of Pinctada imbricata exposed to *i.e.*, $0 \% (\square)$, $1 \% (\blacksquare)$, $10 \% (\blacksquare)$, and $20 \% (\blacksquare)$ of a water-soluble fraction of used automobile engine lubricants (Wsfual) over different periods. The bars and trend lines represent the means and the standard deviation, respectively. (*) indicates a difference of p < 0.05 with respect to the control (0 %).

DISCUSIÓN

En este estudio se evidencia alteraciones en las respuestas hematológicas e inmunológicas innatas en la ostra P. imbricata, particularmente en las defensas mediadas por hemocitos y la activación de mecanismos de protección humoral en presencia de concentraciones subletales de Faluma. Estas indicaciones están fundamentadas en el incremento del NTH y NF en ostras contaminadas con Faluma durante el período más temprano de exposición. Al parecer, el aumento en la población de hemocitos en las ostras expuestas forma parte de las respuestas inespecíficas ante un estrés químico. Existen evidencias que sugieren que las funciones inmunes en los bivalvos pueden ser moduladas en presencia de mezclas de xenobióticos, lo cual está estrechamente relacionado con las concentraciones de exposición (Burgos-Aceves y Faggio. 2017; Zapata-Vívenes et al., 2022). En contraste, a concentraciones bajas de Faluma se encontró correspondencia entre NTH, PV y el incremento del NF, lo cual podría estar coligado a una posible estimulación hematopoyética de las ostras por acción directa de los xenobióticos, similar como suele ocurrir de manera inespecífica ante la invasión de microorganismos oportunistas (Allam y Raftos, 2015; Bachère et al., 2015). Similarmente se ha observado un incremento del daño celular provocado por oxiradicales sobre la viabilidad de hemocitos y las defensas

DISCUSSION

This study shows evidence of alterations in the hematological and innate immunological responses of the oyster P. imbricata, particularly in defenses mediated by hemocytes and the activation of humoral protection mechanisms in the presence of sublethal concentrations of Wsfual. These indications are based on the increase in TNH and NP in oysters contaminated with Wsfual during the earliest period of exposure. It appears that the increase in the hemocyte population in exposed oysters is part of the unspecific responses to chemical stress. There is evidence to suggest that immune functions in bivalves can be modulated in the presence of xenobiotic mixtures, which is closely related to exposure concentrations (Burgos-Aceves and Faggio, 2017; Zapata-Vívenes et al., 2022). In contrast, at low concentrations of Wsfual, there was a correspondence between TNH, PV, and the increase in NP, which could be linked to possible hematopoietic stimulation of oysters by the direct action of xenobiotics, similar to what often unspecifically occurs facing the invasion of opportunistic microorganisms (Allam and Raftos, 2015; Bachère et al., 2015). Similarly, an increase in cell damage caused by oxyradicals on hemocyte viability and immune defenses, such as the production of superoxide anions, TNH, and phagocytic activity, has been observed in the mussel Mytilus inmunes, tales como la producción de anión superóxido, NTH y actividad fagocitaria en el mejillón *Mytilus edulis* colectado en zonas impactadas por derrames petroleros (Auguste *et al.*, 2020; Balbi *et al.*, 2021) y en *Tegillarca granosa* asociado al ingreso de microplásticos (Sun *et al.*, 2020). Se considera que la producción de hemocitos y el incremento de la actividad fagocítica son procesos energéticamente costosos, y que en presencia de mezclas complejas de contaminantes pueden ser afectados por la desviación de la energía hacia los procesos fisiológicos de defensa molecular, a través del metabolismo redox, contra los xenobióticos recientemente incorporados (López-Landavery *et al.*, 2022).

En los períodos cinco y siete días, NTH y PF mostraron un descenso significativo, lo cual permite estimar el tiempo y la concentración mínima necesaria para que la Faluma cause un efecto perjudicial en las respuestas celulares. Los efectos supresores consecuencia de exposición a contaminantes han sido una respuesta notoria en bivalvos y en otros organismos de diferentes filas, especialmente cuando los mecanismos de defensas contra xenobióticos son sobrepasados a causa de su acumulación, metabolismo, sobreproducción de radicales libres o formación de sustancias con elevados niveles de toxicidad en contraste a la molécula originaria (Balbi et al., 2021; López-Landavery et al., 2022). La reducción en las respuestas de tipo celular durante la exposición más prologada es una señal fisiológica de su limitado desempeño y sensibilidad en ostras P. imbricata químicamente estresadas. Se supone que algunas funciones preponderantes de los hemocitos tales como fagocitosis, digestión, trasporte de metabolitos, almacenamiento de nutrientes, cicatrización y reparación de la concha, mineralización y excreción, quimiotaxis, reconocimiento de patógenos, y síntesis de antimicrobianos podrían estar verse alteradas por la presencia de mezclas de tóxicos (Song et al., 2010). Las respuestas inmunológicas pueden variar dependiendo del tipo de contaminante; por ejemplo, en ambientes impactados se ha registrado que algunas respuestas tales como actividad de fenoloxidasas es inhibida en almejas, en cambio la actividad de las lisozimas y esterasas, junto a NTH, se incrementa en individuos colectados en sitios de alta contaminación (Mansour et al., 2020), lo que conlleva a aumentar el riesgo de infección microbiana por la supresión de la actividad fagocítica de los hemocitos.

La actividad de lisozima en la glándula digestiva fue modulada en las distintas concentraciones de exposición. Inicialmente fue registrado un descenso débil de la actividad durante los primeros tres días de exposición a 20 %. Por *edulis* collected in areas impacted by oil spills (Auguste *et al.*, 2020; Balbi *et al.*, 2021), as well as in *Tegillarca granosa*, which is associated with the intake of microplastics (Sun *et al.*, 2020). It is considered that the production of hemocytes and the increase in phagocytic activity are energetically costly processes, and that, in the presence of complex mixtures of contaminants, they can be affected by the diversion of energy towards physiological processes of molecular defense, through redox metabolism, against the newly incorporated xenobiotics (López-Landavery *et al.*, 2022).

In the five- and seven-day periods, TNH and PF showed a significant decrease, thus allowing to estimate the time and minimum concentration necessary for the Wsfual to cause a detrimental effect on cellular responses. The suppressive effects resulting from exposure to contaminants have been a notable response in bivalves and other organisms from different phyla, especially when defense mechanisms against xenobiotics are overwhelmed due to accumulation, metabolism, the overproduction of free radicals, or the formation of substances with higher levels of toxicity in comparison with the original molecule (Balbi et al., 2021; López-Landavery et al., 2022). The reduction in cellulartype responses during prolonged exposure is a physiological signal of their limited performance and sensitivity in chemically stressed P. imbricata oysters. Some predominant functions of hemocytes, such as phagocytosis, digestion, metabolite transport, nutrient storage, wound healing and shell repair, mineralization and excretion, chemotaxis, pathogen recognition, and antimicrobial synthesis might be altered by the presence of toxic mixtures (Song et al., 2010). Immunological responses can vary depending on the type of contaminant. For example, in impacted environments, it has been recorded that some responses such as phenol oxidase activity are inhibited in clams, whereas lysozyme and esterase activities, along with TNH, are increased in individuals collected from highly polluted sites (Mansour et al., 2020), which leads to an increased risk of microbial infection due to the suppression of the phagocytic activity of hemocytes.

Lysozyme activity in the digestive gland was modulated at different exposure concentrations. Initially, a slight decrease in activity was recorded during the first three days of exposure at 20 %. On the contrary, during the seven days of exposure, the oysters maintained at 10 % Wsfual showed an increase in the activity of this enzyme. The action of lysozyme demonstrates a reciprocal el contrario, durante los siete días de exposición las ostras mantenidas a 10 % de Faluma mostraron un incremento de la actividad de esta enzima. La acción de la lisozima manifiesta un efecto reciproco con relación con las defensas inmunológicas mediada por hemocitos y el incremento de la actividad de lisozima en la glándula digestiva de P. imbricata expuesta a corto plazo a Faluma, muestra que esta respuesta forma parte del mecanismo de homeostasis humoral, la cual permite incrementar las defensas bioquímicas frente a una situación de estrés químico. El mecanismo de protección ha sido descrito otros invertebrados marinos, particularmente cuando algunos parámetros inmune-celulares se encuentra suprimidos en invertebrados (Zapata-Vivenes et al., 2022). La lisozima es una enzima antimicrobiana la cual actúa sobre las uniones de los peptidoglicanos de la pared de ciertas bacterias y hongos, como un componente innato que protege al organismo de bacterias en el ambiente y controla la flora simbiótica natural (Wei et al., 2017; Liao et al. 2020). Otros estudios, usando a P. imbricata como modelo mostraron que básicamente la capacidad fagocítica de los hemocitos y la actividad lítica microbiana de la lisozima no fueron adversamente alteradas durante el proceso de contaminación subletal por fracciones acuosas de una formulación de petróleo pesado (Nusetti et al., 2004). Probablemente, la condición de estrés manifestado en el organismo durante la exposición aguda a Faluma no tuvo mayores implicaciones en la capacidad de respuestas inmunológicas asociadas con el potencial fagocítico de los hemocitos y la actividad bacteriolítica de la lisozima, a pesar que el organismo desarrolló un estado de estrés oxidativo que en ciertos casos se corresponde con efectos inmunotóxicos.

Las ostras expuestas a Faluma presentaron poblaciones de hemocitos con elevados porcentajes de desestabilización lisosomal, mostrando una relación paralela entre dosis usadas y la respuesta obtenida. El máximo porcentaje de células dañadas fue evidenciado en ostras expuestas a la más alta concentración durante los siete días de exposición; este daño puede influenciar la reducción de la viabilidad celular. Similarmente, Hwang et al. (2014) registraron 50 % de las células desestabilizadas en presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos totales en la ostra Crassostrea virginica, afectando directamente las funciones inmunológicas. La disfunción de los procesos lisosomales ha sido relacionada con muchos aspectos de patologías asociadas a la toxicidad química y procesos degenerativos (Martínez-Gómez et al., 2008). Se conoce que los lisosomas en bivalvos son los organelos con mayor capacidad de acumulación y homeostasis de xenobióticos, incluyendo metales pesados (Zha

effect in relation to immunological defenses mediated by hemocytes, and the increase in lysozyme activity in the digestive gland of *P. imbricata* exposed in the short term to Wsfual indicates that this response is part of the humoral homeostasis mechanism, which increases biochemical defenses against a chemical stress situation. This protection mechanism has been described in other marine invertebrates, particularly when some immune-cellular parameters are suppressed in invertebrates (Zapata-Vivenes et al., 2022). Lysozyme is an antimicrobial enzyme that acts on the bonds of peptidoglycans in the walls of certain bacteria and fungi, as an innate component that protects the organism from environmental bacteria and controls the natural symbiotic flora (Wei et al., 2017; Liao et al., 2020). Other studies, using P. imbricata as a model, basically showed that the phagocytic capacity of hemocytes and the microbial lytic activity of lysozyme were not adversely altered during the process of sublethal contamination by aqueous fractions of a heavy oil formulation (Nusetti et al., 2004). Likely, the stress conditions manifested in the organism during acute exposure to Wsfual did not have major implications in the capacity of immunological responses associated with the phagocytic potential of hemocytes and the bacteriolytic activity of lysozyme, even though the organism developed a state of oxidative stress that, in certain cases, corresponds with immunotoxic effects.

The oysters exposed to Wsfual exhibited populations of hemocytes with elevated percentages of lysosomal destabilization, showing a parallel relationship between the doses used and the response obtained. The highest percentage of damaged cells was observed in oysters exposed to the highest concentration over seven days of exposure – this damage could influence the reduction of cell viability. Similarly, Hwang et al. (2014) recorded 50 % destabilized cells in the presence of total polycyclic aromatic hydrocarbons in the oyster Crassostrea virginica, directly affecting immunological functions. The dysfunction of lysosomal processes has been linked to many aspects of pathologies associated with chemical toxicity and degenerative processes (Martínez-Gómez et al., 2008). It is known that, in bivalves, lysosomes are the organelles with the greatest capacity for accumulation and homeostasis of xenobiotics, including heavy metals (Zha et al., 2019) and hydrocarbons (Xie et al., 2017). The modulation of the immune system by contaminant agents has been described in a variety of aquatic invertebrates, including bivalve mollusks. Generally, chronic exposure

20

et al., 2019) e hidrocarburos (Xie *et al.*, 2017). La modulación del sistema inmunológico por agentes contaminantes ha sido descrita en una variedad de invertebrados acuáticos, incluyendo moluscos bivalvos. Por lo general, la exposición crónica a sustancias orgánicas (hidrocarburos aromáticos, pesticidas, bifenilos policlorados, entre otros) ejercen efectos negativos sobre la actividad fagocítica de los hemocitos (Fournier *et al.*, 2000; Jian *et al.*, 2017); sin embargo, esta tendencia de disfunción inmunológica no es una constante en condiciones agudas.

Los niveles de MDA en las ostras expuestas a Faluma durante el último período demuestra el daño oxidativo sobre los lípidos sobrevenido por el metabolismo de xenobióticos. De manera similar, Nusetti et al. (2004) registraron que la exposición a fracciones acuosas de Combustóleo nº6 puede provocar el aumento de las actividades de las enzimas antioxidantes y metabolizadoras de xenobióticos en la glándula digestiva en P. imbricata, producto de la exacerbada producción de radicales libres. La peroxidación de lípidos puede perturbar las propiedades estructurales y funcionales de las membranas de los organelos citoplasmáticos. En este contexto, las alteraciones en las membranas biológicas pueden comprometer la funcionabilidad de los componentes lisosomales, generando procesos degradativos que pueden traer como consecuencia la autolisis celular (Domouhtsidou et al., 2004).

CONCLUSIONES

Los componentes químicos presentes Faluma alteran el normal funcionamiento del sistema de defensa inmune de la ostra *P. imbricata*, fundamentado en efectos moduladores sobre la inmunidad innata y alteración a la estabilidad de los lisosomas de sus hemocitos. Además, la exposición a Faluma conlleva daños oxidativos en la glándula digestiva, pudiendo perturbar sus funciones de tipo inmunológicas-humoral. Las respuestas moleculares e inmuno-celulares evaluadas muestran ser biomarcadores ideales para evaluar alteraciones por contaminantes, las cuales pueden ser implementadas como análisis de rutina en los monitoreos ambientales y sistemas de cultivos, usando como organismo modelo a *P. imbricata*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente y al Instituto Oceanográfico de Venezuela.

to organic substances (aromatic hydrocarbons, pesticides, polychlorinated biphenyls, among others) has negative effects on the phagocytic activity of hemocytes (Fournier *et al.*, 2000; Jian *et al.*, 2017), this trend of immunological dysfunction is not a constant under acute conditions.

The levels of MDA in oysters exposed to Wsfual during the last period demonstrate oxidative damage to lipids caused by the metabolism of xenobiotics. Similarly, Nusetti *et al.* (2004) recorded that exposure to aqueous fractions of Fuel Oil No. 6 can cause an increase in the activities of antioxidant enzymes and xenobiotic-metabolizing enzymes in the digestive gland of *P. imbricata*, as a result of the exacerbated production of free radicals. Lipid peroxidation can disturb the structural and functional properties of the membranes of cytoplasmic organelles. In this context, alterations in biological membranes can compromise the functionality of lysosomal components, entailing degradative processes that can lead to cellular autolysis (Domouhtsidou *et al.*, 2004).

CONCLUSIONS

The chemical components present in Wsfual alter the normal functioning of the immune defense system of the oyster *P. imbricata*, which is based on modulatory effects on innate immunity and the disruption of the stability of lysosomes in their hemocytes. Furthermore, exposure to Wsfual leads to oxidative damage in the digestive gland, potentially disturbing its immunological-humoral functions. The molecular and immune-cellular responses evaluated prove to be ideal biomarkers for assessing alterations caused by contaminants, which can be implemented as routine analyses in environmental monitoring and aquaculture systems, using *P. imbricata* as a model organism.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Research Council of Universidad de Oriente and the Oceanographic Institute of Venezuela.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Aliko, V., G. Hajdaraj, A. Caci and C. Faggio. 2015. Copper induced lysosomal membrane destabilisation in haemolymph cells of mediterranean green crab (*Carcinus aestuarii*, Nardo, 1847) from the Narta Lagoon (Albania). Braz. Arch. Biol. Technol. 58(5):750–756. https://doi.org/10.1590/s1516-89132015050244
- Allam, B. and D. Raftos. 2015. Immune responses to infectious diseases in bivalves. J. Invert. Pathol., 131: 121–136. https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.005
- Auguste, M., Balbi, T., Ciacci, C., Canonico, B., Papa, S., Borello, A., Vezzulli, L., Canesi, L. 2020. Shift in immune parameters after repeated exposure to nanoplastics in the marine bivalve *Mytilus*. Front Immunol. 15: 11:426. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00426
- Bachère, E., Rosa, R.D., Schmitt, P., Poirier, A., Merou, N. 2015. The new insights into the oyster antimicrobial defense: cellular, molecular and genetic view. Fish and Shellfish Immunology, 2015, 46 (1), pp.50-64. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.02.040
- Balbi, T., Auguste, M., Ciacci, C., Canesi, L. 2021. Immunological Responses of Marine Bivalves to Contaminant Exposure: Contribution of the -Omics Approach. Front Immunol. 12: 618726. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.618726
- Basria, S.M.N., R.I. Mydin and S. Okekpa. 2019. Reactive oxygen species, cellular redox homeostasis and cancer. homeostasis–an integrated vision. In: Lasacosvitsch F, S. Dos Anjos Garnes (Eds) BiotechOpen, London. https://doi.org/10.5772/intechopen.76096
- Burgos-Aceves, M. A., Faggio, C. 2017. An approach to the study of the immunity functions of bivalve haemocytes: Physiology and molecular aspects. Fish & Shellfish Immunology, 67, 513–517. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.042
- Cvengros, J., T. Liptaj and N. Pónayová. 2017. Study of polyaromatic hydrocarbons in current used motor oils, Int. J. Petrochem. Sci. Eng., 2(7) 219-226. https://doi.org/10.15406/ipcse.2017.02.00060
- Freitas, J.S., T.S. Boscolo-Pereira, C.N. Pereira-Boscolo, M. Navarro-García, C.A. de Oliveira-Rivero and E.A. De Almeida. 2020. Oxidative stress, biotransformation enzymes and histopathological alterations in Nile tilapia (*Orechromis niloticus*) exposed to new and used automotive lubricant oil. Comp. Physiol., 234: 1-11. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108770
- Goven, A. and J. Kennedy. 1996. Environmental pollution and toxicity in invertebrates: An earthworm model for immunotoxicology. Adv. Comp. Environ. Physiol., 24: 170-211. https://doi.org/10.1007/978-3-642-79847-4_7
- He, L., T. He, S. Farrar, L. Ji, T. Liu and X. Ma. 2017. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. Cell Physiol. Biochem., 44: 532-553. https://doi.org/10.1159/000485089
- Hwang, H.M., B. Stanton, T. Mcbride and M. Anderson. 2014. Polycyclic aromatic hydrocarbon body residues and lysosomal membrane destabilization in mussels exposed to the Dubai Star bunker fuel oil (intermediate fuel oil 380) spill in San Francisco Bay. Environ. Toxicol. Chem., 33: 1117–1121. https://doi.org/10.1002/etc.2518
- Jiang Y, Tang X, Sun T, Wang Y. BDE-47 Exposure Changed the Immune Function of Haemocytes in Mytilus edulis: An Explanation Based on ROS-Mediated Pathway. Aquat Toxicol (2017) 182:58–66. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.11.010
- Liao, Y., C. Cai, C. Yang, Z. Zheng, Q. Wang, X. Du, Y. Deng. 2020. Effect of protein sources in formulated diets on the growth, immune response, and intestinal microflora of pearl oyster *Pinctada fucata martensii*. Aquac. Rep., 16: 100253. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100253
- Lodeiros, C.J., L. Freites, A. Márquez, M.E. Glem, M. Guevara and P.E. Saucedo. 2016. Comparative growth and survival of spat of the Caribbean pearl oyster, *Pinctada imbricata* cultivated indoor with microalgae diets and outdoor with natural diet. Aquacul. Nutr., 23(3): 511–522. https://doi.org/10.1111/anu.12419
- López-Landavery, E.A., G. Amador-Cano, M.A. Tripp-Valdez, N. Ramírez-Álvarez, F. Cicala, R.J.E. Gómez-Reyes, F. Díaz, A.D. Re-Araujo, C.E. Galindo-Sánchez. 2022. Hydrocarbon exposure effect on energetic metabolism and immune response in *Crassostrea virginica*. Marine Pollution Bulletin. 180:113738. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113738.
- Lowe, D., M. Moore and B. Evans. 1992. Contaminant impact of interactions of molecular probes with lysosomes in living hepatocytes from dab *Limanda limanda*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 91 (1): 135-140. https://doi.org/10.3354/meps091135
- Lowry, O., N. Rosebroungh, A. Farr and R. Randall. 1951. Protein measurement with the folin reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275.
- Mansour, C., F.B. Taheur, and R. Omrani. 2020. Immune biomarker and hydrocarbon concentrations in carpet shell clams (*Ruditapes decussatus*) collected from a Mediterranean coastal lagoon. Euro-Mediterr J. Environ. Integr., 5: 11. https://doi.org/10.1007/s41207-020-0147-4
- Martínez-Gómez, C., J. Benedicto, J.A. Campillo and M. Moore. 2008. Application and evaluation of the neutral red retention (NRR) assay for lysosomal stability in mussel populations along the Iberian Mediterranean coast. J. Environ. Monit., 10(4): 490. https://doi.org/10.1039/b800441m

- Matozzo, V., M. Giacomazzo, L. Finos, M.G. Marin, L. Bargelloni and M. Milan. 2013. Can ecological history influence immunomarker responses and antioxidant enzyme activities in bivalves that have been experimentally exposed to contaminants? A new subject for discussion in "eco-immunology" studies. Fish Shell. Immunol., 35(1): 126–135. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.04.013
- Méthé, D., Comeau, L.A., Stryhn, H., Burka, J.F., Landry, T., Davidson, J. 2017. Haemolymph fluid osmolality influences the neutral-red retention assay in the eastern oyster Crassostrea virginica, J. Molluscan Stud. 83: 229–234. https://doi.org/10.1093/mollus/eyw050
- Nusetti, O., L. Marcano, E. Zapata, M. Escalpés, S. Nusetti y C. Lodeiros. 2004. Respuestas inmunológicas y de enzimas antioxidantes en la ostra perla *Pinctada imbricata* (Mollusca: Pteridae) expuesta a niveles subletales de fuel oil Nº6. Interciencia, 29(6): 324-328. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttextypid=S0378-18442004000600008ylng=esynrm=iso
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, Rev. Anal. Biochem. 95: 351–358. https:// doi. org/10.1016/0003-2697(79)90738
- Olonisakin, A., A. Adebayo and M.O. Aremu. 2005. Metal concentrations of fresh, used and treated crankcase oil. Biosci. Biotech. Res. Asia; 3: 187-191. Available from: http://www.biotech-asia.org/?p=4361
- Parisi, M.G., J. Pirrera, C.M. La Corte, D. Dara, M. Parrinello and Cammarata. 2021. Effects of organic mercury on *Mytilus galloprovincialis* hemocyte function and morphology. J. Comp. Physiol. B; 191: 143–158. https://doi.org/10.1007/s00360-020-01306-0
- Renault, T. 2015. Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves. Fish Shellfish Immunol., 46(1): 88–93. https://doi. org/10.1016/j.fsi.2015.04.011
- Romero-Fereira, P., D. Arrieche, V. Acosta, L. Pérez and C. Lodeiros. 2017. Gametogenic cycle of the oyster, *Pinctada imbricata*, in suspended culture in the Gulf of Cariaco, Venezuela. Lat. Am. J. Aquat. Res.;45(1): 139-148. https://doi.org/10.3856/vol45-issuel-fulltext-13
- Sun, S., Shi, W., Tang, Y., Han, Y., Du, X., Zhou, W. Hu, Y. Zhou, C., Liu, G. 2020. Immunotoxicity of petroleum hydrocarbons and microplastics alone or in combination to a bivalve species: Synergic impacts and potential toxication mechanisms. Sci. Total Environm., 728: https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2020.138852
- Strober, W. 2015. Trypan blue exclusion test of cell viability. Curr. Protoc. Im. 2 111, https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs111
- Sokal, R. and F. Rohlf. 2012. Biometry. 4th Ed. W.H. Freeman. New York.
- Trivedi, P.C., J.J. Bartlett, T. Pulinilkunnil. 2020. Lysosomal biology and function: Modern view of cellular debris bin. Cells, 9(5): 1131. https://doi. org/10.3390/cells9051131
- Vásquez, G., R. Crescini, W. Villalba, J. Mogollón y L. Troccoli. 2015. Aspectos biológicos básicos de *Pinctada imbricata* (Bivalvia: Pteriidae) en la laguna de La Restinga, isla de Margarita, Venezuela. Rev, Cienc. Mar. Cost., 7: 117-132. https://doi.org/10.15359/revmar.7.8
- Villegas, L., C. Lodeiros, K. Malavé, J. Revilla y M. Lemus. 2015. Efecto subletal del cadmio en la ostra perla del Caribe *Pinctada imbricata* (Pteroida: Pteriidae) Röding, 1798. Saber; 27 (1): 39-45
- Week, J., V. Sharp and T. Williams. 1997. Contaminant-induced lisosomal membrane damage in blood cells of green mussel *Perna viridis* (Mytilidae): a field transplant study. Technical Report WC/97/64. DFID-TDR Proyect R6191. Land-derived contaminant influx to Jakarta Bay, Indonesia; 2: 1-30.
- Wei J., B Liu, S Fan, B Zhang, J Su and D Yu. 2017. Serum immune response of pearl oyster *Pinctada fucata* to xenografts and allografts. Fish Shellfish Immunol., 62: 303-310. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.01.039
- Xie, J., C. Zhao, Q. Han, H. Zhou, Q. Li and X. Diao. 2017. Effects of pyrene exposure on immune response and oxidative stress in the pearl oyster, *Pinctada martensii*. Fish Shellfish Immunol., 63: 237–244. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.02.032
- Zha, S., J. Rong, X. Guan, Y. Tang, Y. Han, G. Liu. 2019. Immunotoxicity of four nanoparticles to a marine bivalve species, *Tegillarca granosa*. J. Hazard Mater 377:237–48. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.05.071
- Zannella, C., F. Mosca, F. Mariani, G. Franci, V. Folliero, M. Galdiero, P.G. Tiscar and M. Galdiero. 2017. Microbial diseases of bivalve mollusks: infections, immunology and antimicrobial defense. Mar. Drugs; 15(6):182. https://doi.org/10.3390/md15060182
- Zapata-Vívenes, E., L. Marcano y V. Acosta 2018. Respuestas inmunológicas, estabilidad lisosomal y frecuencia de micronúcleos en *Eurythoe complanata* (Polychaeta:Amphinomidae) expuestos a una fracción acuosa de lubricantes usados de motores de automóviles. Rev. Intern. Contam. Amb., 34 (2): 297-305. https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.02.10
- Zapata-Vívenes, E., O. Nusetti, L. Marcano, G. Sánchez and H. Guderley. 2020. Antioxidant defenses of flame scallop *Ctenoides scaber* (Born, 1778) exposed to the water-soluble fraction of used vehicle crankcase oils. Toxicol. Rep., 7:1597–1606. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.11.009

- Zapata Vívenes, E., Sánchez, G. Nusetti, O. Marcano, L. 2022. Modulation of innate immune responses in the flame scallop *Ctenoides scaber* (Born, 1778) caused by exposure to used automobile crankcase oils, Fish & Shellfish Immunology, 130: 342-349. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.09.020
- Zhao, C., L. Xiaoxu, L. Shibin and Y. Chang. 2011. Assessments of lysosomal membrane responses to stresses with neutral red retention assay and its potential application in the improvement of bivalve aquaculture. Afr, J. Biotechnol., 10 (64): 13968-13973. https://doi.org/10.5897/AJB10.2283

Zheng, F., F. Marques Gonçalves, Y. Abiko, H. Li, Y. Kumagai and M. Aschner. 2020. Redox toxicology of environmental chemicals causing oxidative stress. Redox Biol., 34: https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101475

RECIBIDO / RECEIVED: 14/01/2022

ACEPTADO / ACCEPTED: 14/04/2023



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Perfil nutricional de cepas de microalgas peruanas de los géneros Chaetoceros y Skeletonema de la costa central del Perú como ingrediente potencial para acuicultura

Nutricional profile of native strains of the genera *Chaetoceros* and *Skeletonema* from the central coast of Peru as a potential ingredient for aquaculture

Hanna Elizabeth Hernández-Acevedo¹*, Leenin Flores-Ramos², Alberto Oscanoa-Huavnate², D 0000-0002-2706-0834 D 0000-0002-6099-4321 (D) 0000-0001-6048-5167

> Anthony Ruiz-Soto² y Carla Aguilar-Samanamud¹ (D) 0000-0003-3865-3632 (D) 0000-0002-6244-143X

- 1. Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos, AFIA-DGIA, Instituto del Mar del Perú, Callao. hhernandez@imarpe.gob.pe*, caguilar@imarpe.gob.pe
- 2. Laboratorio de Análisis Instrumental, AFIA-DGIA, Instituto del Mar del Perú. Callao. Iflores@imarpe.gob.pe, aoscanoa@imarpe.gob.pe, aruiz@imarpe.gob.pe

* Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

as diatomeas marinas forman parte importante de la dieta de moluscos, crustáceos y peces debido a su perfil nutricional. El objetivo de esta investigación fue evaluar el perfil nutricional de ocho cepas de microalgas de los géneros Chaetoceros y Skeletonema, dominantes en la costa central del Perú, y valorar su potencial como ingrediente para acuicultura. Se realizaron cultivos de 7 L a pH de 7.5-8.5, a 17 °C, iluminación de 35 µmol.s⁻¹.m⁻² y fotoperiodo 12:12 horas. Luego de 15 días de cultivo, se obtuvo la biomasa seca mediante liofilización y se realizaron los análisis de perfil nutricional. Los resultados indican valores de humedad de 5 a 14 %, cenizas de 19 a 57 %, carbohidratos de 2 a 23 %, lípidos de 3 a 9 % y proteínas de 12 a 30 %. La cepa con mayor porcentaje de estos dos últimos compuestos fue la correspondiente a la especie S. costatum (IMP-BG-466). Así mismo, todas las cepas presentaron altos porcentajes relativos del ácido graso esencial, ácido eicopentaenoico (EPA), de 13 a 30 % y el aminoácido esencial leucina de 1 a 3 % (% p/p). Sin embargo, al presentar bajas concentraciones del ácido docosahexaenoico (DHA), arginina, histidina y lisina, es necesario complementar su utilización con otras fuentes para la formulación de dietas equilibradas.

PALABRAS CLAVE: diatomeas, perfil nutricional, cepas nativas, proteínas, lípidos.

ABSTRACT

arine diatoms are important part of the diet of mollusks, crustaceans and fish because of their nutritional profile. The objective of this study was to evaluate the nutritional profile of eight strains of microalgae of the genera Chaetoceros and Skeletonema, dominant in the central coast of Peru, in order to rate their potential as an ingredient for aquaculture. For this, 7 L cultures were carried out at a pH of 7.5-8.5, at 17 °C, illumination of 35 µmol.s⁻¹.m⁻² and a photoperiod of 12:12 hours. After 15 days of culture, the dry biomass was obtained by lyophilization and the nutritional profile analyzes were performed. The results show values of moisture from 5 to 14 %, ash from 19 to 57 %, carbohydrates from 2 to 23 %, lipids from 3 to 9 %, and proteins from 12 to 30 %. The strain with the highest percentage of the last two compounds was that corresponding to S. costatum (IMP-BG-466). Likewise, all the strains presented high relative percentages of the essential fatty acid, eicopentaenoic acid (EPA), from 13 to 30 % and the essential amino acid leucine from 1 to 3 % (% w/w). However, as this strain presents low concentrations of docosahexaenoic acid (DHA), arginine, histidine and lysine, it is necessary to supplement it with other sources for the formulation of balanced diets.

KEYWORDS: diatoms, nutritional profile, native strains, proteins, lipids.

DOI: https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2024.53.1.1250 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 microalgas son una fuente importante de alimento para diversos organismos acuáticos, esto ocurre debido a una serie de características claves, incluidos el tamaño celular, la facilidad de reproducción, la concentración y la calidad de sus biocompuestos (Díaz *et al.*, 2006; Martínez-Fernández *et al.*, 2006). Dentro del ecosistema microscópico marino podemos encontrar a las diatomeas (phylum Bacillariophyta), un grupo de microalgas que componen entre el 20 a 25 % de abundancia de especies en el fitoplancton. Además, este grupo aporta 30 a 60 % de proteínas y entre 5 a 20 % de lípidos en la dieta trófica, siendo alimento importante para diferentes etapas de crecimiento en larvas, peces, crustáceos y moluscos (Granum *et al.*, 2002).

Asimismo, la mayoría de diatomeas marinas producen compuestos bioactivos naturales importantes para diferentes industrias como la alimentaria, farmacéutica, nutracéutica y cosmética. También producen ácidos grasos poliinsaturados de cadena media y larga como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) (Baldisserotto *et al.*, 2019).

Por otro lado, al presentar una alta tasa de crecimiento, eficiencia fotosintética y contenido lipídico, son utilizados principalmente como suplementos nutricionales en acuicultura y como aditivos en la nutrición humana (Bozart *et al.*, 2009; Maeda, 2015). Estos metabolitos derivados poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antidiabéticas, antiangiogénicas y antimicrobianas (Bhattacharjya *et al.*, 2020).

La costa central del Perú registra una alta producción fitoplanctónica importante para la actividad pesquera al presentarse como principal fuente de nutrición en el primer eslabón de la cadena alimentaria (Ochoa y Tarazona, 2003). Dentro de las especies ampliamente distribuidas en la costa del Perú se encuentran las diatomeas del género *Skeletonema* y *Chaetoceros* (Delgado *et al.*, 2019). *Skeletonema costatum* es una especie dominante en las costas del Perú representando el 96 % del total de fitoplancton sobre todo en épocas de invierno, seguida de varias especies del género *Chaetoceros* (Arellana *et al.*, 2006). Estos géneros son reportados durante todo el año y son asociados a floraciones algales nocivas en bahías principales y zonas pesqueras (Orozco *et al.*, 2017; Baylón *et al.*, 2019).

Muchas investigaciones en acuicultura catalogan a las diatomeas como alimento adecuado para el cultivo de

INTRODUCTION

Microalgae are an important source of food for various aquatic organisms, which is due to a series of key features, including cell size, ease of reproduction, and the concentration and quality of their bio-compounds (Díaz *et al.*, 2006; Martínez-Fernández *et al.*, 2006). Within the microscopic marine ecosystem, there are diatoms (phylum Bacillariophyta), a group of microalgae that make up between 20 and 25 % of species abundance in phytoplankton. Moreover, this group contributes with 30 to 60 % of the proteins and between 5 and 20 % of the lipids in the trophic diet, serving as an important food source for different growth stages in larvae, fish, crustaceans, and mollusks (Granum *et al.*, 2002).

Likewise, most marine diatoms produce important natural bioactive compounds for different industries, such as the food, pharmaceutical, nutraceutical, and cosmetic sectors. They also produce medium- and long-chain polyunsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) (Baldisserotto *et al.*, 2019).

On the other hand, due to their high growth rate, photosynthetic efficiency, and lipid content, they are primarily used as nutritional supplements in aquaculture and as additives in human nutrition (Bozart *et al.*, 2009; Maeda, 2015). These derived metabolites possess antioxidant, antiinflammatory, anticancer, antidiabetic, antiangiogenic, and antimicrobial properties (Bhattacharjya *et al.*, 2020).

The central coast of Peru has a high phytoplankton production, which is important for fishing activities, as it constitutes the main source of nutrition in the first link of the food chain (Ochoa and Tarazona, 2003). Among the species widely distributed along the coast of Peru are the diatoms of the genus *Skeletonema* and *Chaetoceros* (Delgado *et al.*, 2019). *Skeletonema costatum* is a dominant species on the coasts of Peru, which represents 96 % of the total phytoplankton, especially during winter, followed by several species of the genus *Chaetoceros* (Arellana *et al.*, 2006). These genera are reported throughout the year and are associated with harmful algal blooms in major bays and fishing areas (Orozco *et al.*, 2017; Baylón *et al.*, 2019).

Many research studies on aquaculture catalogue diatoms as suitable food for the cultivation of organisms of commercial interest, *e.g.*, in bivalves, for the early larval stages of crustaceans, and in some fish species, given their organismos de interés comercial, por ejemplo, en bivalvos, para los primeros estadios larvales de crustáceos y algunas especies de peces, debido a su alto contenido proteico y EPA. Entre los géneros más destacados se encuentran *Skeletonema*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros* y *Thalassiosira* (Hernández y Labbé, 2014; Velasco *et al*, 2016; Araújo *et al.*, 2020).

La bioprospección de diatomeas es importante porque nos permite obtener cepas nativas que se encuentren adaptadas al medio ambiente y no generen un impacto ecológico sobre este (Elyakoubi *et al.*, 2020). Así mismo estas nuevas cepas tienen el potencial de presentar el perfil nutricional requerido para acuicultura y destacar sobre las cepas comerciales. Actualmente existen pocos estudios en cepas nativas potenciales para nutrición acuícola en el Perú. Debido a lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el perfil nutricional de dos géneros de diatomeas recolectadas en la costa central del Perú (Ica y Callao), cepas nativas del Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos (BGOA) del Instituto del Mar del Perú (Imarpe), con el fin de evaluar su potencial como ingrediente para acuicultura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Las muestras fueron recolectadas en las bahías de Callao (12°02'34" S, 77°10'13" W) e Ica (13°52'0.01" S, 76°16'0.01" W), costa central del Perú. Las cepas seleccionadas fueron obtenidas, identificadas y codificadas por el Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos (BGOA) presentando las siguientes características (Tabla 1): high protein content and EPA. Among the most prominent genera are *Skeletonema*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, and *Thalassiosira* (Hernández and Labbé, 2014; Velasco *et al.*, 2016; Araújo *et al.*, 2020).

Diatoms bioprospecting is important because it allows obtaining native strains that are adapted to the environment and have no ecological impact on it (Elyakoubi *et al.*, 2020). Likewise, these new strains potentially have the nutritional profile required for aquaculture and for standing out over commercial strains. Currently, there are few studies on potential native strains for aquaculture nutrition in Peru.

Given the above, this study aimed at evaluating the nutritional profile of two diatom genera collected from the central coast of Peru (Ica and Callao), which corresponded to native strains from the Germplasm Bank of Aquatic Organisms (BGOA) of the Peruvian Sea Institute (Imarpe), in order to assess their potential as an ingredient for aquaculture.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The samples were collected from the bays of Callao $(12^{\circ}02'34'' \text{ S}, 77^{\circ}10'13'' \text{ W})$ and Ica $(13^{\circ}52'0.01'' \text{ S}, 76^{\circ}16'0.01'' \text{ W})$ on the central coast of Peru. The selected strains were obtained, identified, and coded by the Germplasm Bank of Aquatic Organisms (BGOA), showing the following characteristics (Table 1):

Tabla 1. Cepas de microalgas utilizadas para análisis bioquímico

Table 1. Microalgae strains used for biochemical analysis.

Código / Code	Especie / Specie	Procedencia / Origin	Año de colecta / Collection year
IMP-BG-056	Chaetoceros debilis	Isla Frontón / Frontón Island, Callao	2013
IMP-BG-057	Chaetoceros socialis	Isla Frontón / Frontón Island , Callao	2013
IMP-BG-058	Chaetoceros compressus	Isla Frontón / Frontón Island, Callao	2013
IMP-BG-363	Skeletonema costatum	Isla San Lorenzo, Callao	2016
IMP-BG-364	Skeletonema costatum var. mariori	Isla San Lorenzo / San Lorenzo Island, Callao	2016
IMP-BG-429	Skeletonema costatum	Carpayo, Callao	2017
IMP-BG-465	Skeletonema costatum	Paracas, Ica	2017
IMP-BG-466	Skeletonema costatum	Carpayo, Callao	2017

Producción de biomasa microalgal

Se realizó un cultivo tipo "batch" desde 50 hasta 125 mL y fueron mantenidos en una cámara climática Binder (KBW 400, Alemania) a las siguientes condiciones: medio de cultivo f/2 (Guillard, 1975), pH 7.5 a 8.5, a 17 °C, iluminación de 35 µmol.s⁻¹.m⁻² y fotoperiodo 12:12 horas. Pasado los 12 días, se realizó el escalamiento a uno y siete litros por triplicado, bajo las condiciones anteriores y con un sistema de aireación por medio de una bomba de acuario. Luego de 15 días de cultivo, se concentró la biomasa mediante una centrífuga refrigerada Hettich (Rotina, Alemania) a 4500 rpm por 20 minutos a 10 °C. La biomasa húmeda obtenida fue conservada a -20 °C. Luego, fue secada con el liofilizador Labconco (18 L, USA) según los parámetros descritos en el manual de Imarpe (2020).

Perfil nutricional

Los ensayos de humedad y cenizas se realizaron de acuerdo con la metodología de Kolar (1992), los ensayos de lípidos de acuerdo con la metodología de Folch con modificaciones (Flores-Ramos *et al.* 2020), las proteínas fueron cuantificadas por el método modificado de Lowry *et al.* (1951) y los carbohidratos de acuerdo al método fenolácido sulfúrico de Dubois *et al.* (1956). Los resultados fueron expresados como porcentaje en peso (% p/p).

Los lípidos extraídos fueron derivatizados según la metodología de Ichihara y Fukubayashi (2010). Posteriormente los ésteres metílicos de ácidos grasos fueron analizados por cromatografía gaseosa en el equipo Varian (CP-3800, EE. UU.), usando una columna Restek, Stabilwax® WCOT fused silica de 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm, método de inyección *splitlles* (0.50 minuto), volumen de inyección de 1 µL, temperatura del inyector de 250 °C, el gas de arrastre fue helio a un flujo de 1 mL/min, la rampa de temperatura de 120 °C por un minuto, 30 °C/min hasta 160 °C, 160 °C por un minuto, 4 °C/min hasta 240 °C, 240 °C por 7 minutos. El tiempo total del programa de temperatura fue de 30.33 min y la temperatura programada del detector de 260 °C. Los resultados fueron expresados en porcentaje relativo.

El ensayo de aminoácidos se realizó de acuerdo con las instrucciones del kit de reactivos AccQ-Fluor (Waters Corporation, Milford, MA, EE. UU.). Se inyectaron los aminoácidos derivatizados en el HPLC Elite LaChrom (Hitachi High Technologies, Japón). Las condiciones del equipo fueron: Columna Hypersil GOLD C18 de 5 μ m × 4.6 mm × 150 mm, temperatura de la columna 37 °C, volumen de inyección 5 μ L, flujo de fase móvil 1 mL/min,

Microalgal biomass production

A batch-type culture was carried out from 50 mL to 125 mL and maintained in a Binder climatic chamber (KBW 400, Germany) under the following conditions: f/2 culture medium (Guillard, 1975); pH: 7.5 to 8.5; temperature: 17 °C; lighting: $35 \mu mol.s^{-1}.m^{-2}$; 12:12 hour photoperiod. After 12 days, scaling to 1 L and 7 L was carried out in triplicate, under the previous conditions, and with an aeration system using an aquarium pump. After 15 days of cultivation, the biomass was concentrated using a Hettich refrigerated centrifuge (Rotina, Germany) at 4500 rpm for 20 minutes at 10 °C. The wet biomass obtained was preserved at -20 °C. It was then dried using a Labconco lyophilizer (18 L, USA), according to the parameters described in the Imarpe manual (2020).

Nutritional profile

Moisture and ash tests were carried out according to Kolar's methodology (1992), and lipid assays according to Folch's methodology, with some modifications (Flores-Ramos *et al.* 2020). Proteins were quantified via the modified method of Lowry *et al.* (1951), and carbohydrates according to the phenol-sulfuric acid method of Dubois *et al.* (1956). The results were expressed as a percentage by weight (% w/w).

The extracted lipids were derivatized according to the methodology of Ichihara and Fukubayashi (2010). Subsequently, the fatty acid methyl esters were analyzed by gas chromatography using Varian equipment (CP-3800, USA) and a Restek, Stabilwax WCOT fused silica column of $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \text{ µm}$, employing a splitless injection method (0.50 minute), a 1 µL injection volume, an injector temperature of 250 °C, helium as the carrier gas at a flow rate of 1 mL/min, and a temperature ramp of 120 °C for one minute, 30 °C/min up to 160 °C, 160 °C for one minute, 4 °C/min up to 240 °C, and 240 °C for 7 minutes. The total time of the temperature program was 30.33 minutes, and the detector temperature was set at 260 °C. The results were expressed as a relative percentage.

The amino acid assay was carried out according to the instructions of the AccQ-Fluor reagent kit (Waters Corporation, Milford, MA, USA). The derivatized amino acids were injected into an HPLC Elite LaChrom (Hitachi High Technologies, Japan). The equipment conditions were as follows: Hypersil GOLD C18 column of 5 μ m × 4.6 mm × 150 mm, column temperature: 37 °C, injection volume: 5 μ L, mobile phase flow: 1 mL/min, excitation wavelength:

28

longitud de onda de excitación de 250 nm, longitud de onda de emisión de 395 nm, fase móvil A acetato de sodio pH 5.1, fase móvil B acetonitrilo, la rampa de la fase móvil fue: 0 min (100.0), 2 min (100.0), 24 min (83.5, 16.5), 30 min (75.25), 30.1 min (100.0) y 38 min (100.0). La cuantificación de los aminoácidos se realizó con una curva de calibración de 5 a 50 pmol/ μ L. Los resultados fueron expresados en como porcentaje en peso (% p/p).

Índice de aminoácidos

El score de aminoácidos (AAS) fue calculado de acuerdo a como lo describe Peñaflorida (1989) y Oser (1959). Se utilizó como proteína patrón los requerimientos de aminoácidos esenciales recomendados para las especies *Pleuronectes ferruginea, Hippoglosus hippoglosus y Paralichthys olivaceus*, peces planos como el "lenguado" (*Paralichthys adspersus*) cultivado en nuestro país (Kim y Lall, 2000) y para el camarón (*Penaeus vannamei*) (Xie *et al.*, 2012) (Tabla 2). En el caso que el *score* de aminoácidos fue superior a 1, este valor se reemplazó con 1. El índice de aminoácidos esenciales propuesta por Peñaflorida (1989) se muestra en la ecuación 1.

$$EAAI = \sqrt[n]{AAS_1 \times AAS_2 \dots \times AAS_n}$$
(1)

Un valor de EEAI mayor de 0.95 muestra una alta calidad de proteína, si está entre 0.86 y 0.95 se determina como "buena" calidad de proteína, entre 0.75 y 0.86 se determina como "utilizable", sin embargo, un valor menor de 0.75 se refiere a una proteína inadecuada (Oser, 1959).

250 nm, emission wavelength: 395 nm, mobile phase A: sodium acetate, pH 5.1, mobile phase B: acetonitrile. The mobile phase ramp was as follows: 0 min (100.0), 2 min (100.0), 24 min (83.5, 16.5), 30 min (75.25), 30.1 min (100.0), and 38 min (100.0). Amino acids were quantified using a calibration curve from 5 to 50 pmol/ μ L. The results were expressed as a percentage by weight (% w/w).

Amino acid index

The amino acid score (AAS) was calculated according to the description provided by Peñaflorida (1989) and Oser (1959). The standard protein used corresponded to the essential amino acid requirements recommended for the species *Pleuronectes ferruginea*, *Hippoglosus hippoglosus*, and *Paralichthys olivaceus*, flatfish like the 'flounder' (*Paralichthys adspersus*) cultivated in our country (Kim and Lall, 2000), as well as to those for shrimp (*Penaeus vannamei*) (Xie *et al.*, 2012) (Table 2). If the amino acid score was higher than 1, this value was replaced with 1. The essential amino acid index proposed by Peñaflorida (1989) is shown in Equation 1.

$$EAAI = \sqrt[n]{AAS_1 \times AAS_2 \dots \times AAS_n}$$
(1)

An EAAI value higher than 0.95 indicates a high quality of protein. If it is between 0.86 and 0.95, it is deemed to be of 'good' protein quality, and values between 0.75 and 0.86 correspond to a 'usable' protein quality. Finally, a value of less than 0.75 refers to an 'inadequate' protein (Oser, 1959).

Tabla 2. Requerimiento de aminoácidos en diferentes especies a	cuícolas
(% p/p), concentraciones adaptados de Kim y Lall (2000) y Xie et al	. (2012).

Table 2. Amino acid requirements in different aquaculture species (% w/w).

 Concentrations adapted from Kim and Lall (2000) and Xie *et al.* (2012)...

Aminoácidos / Amino acids	P. ferruginea	H. hippoglosus	P. olivaceus	P. vannamei
Arginina / Arginine (Arg)	6.79	6.85	6.75	1.96
Histidina / Histidine (His)	2.45	2.88	2.36	0.80
Isoleucina / Isoleucine (Ile)	4.11	4.36	3.91	1.73
Leucina / Leucine (Leu)	7.57	7.82	7.59	2.37
Lisina / Lysine (Lys)	8.56	8.85	9.15	1.64
Fenilalanina / Phenylalanine (Phe) + Tirosina / Tyrosine (Tyr)	6.51	7.45	7.86	1.40
Treonina / Threonine (Thr)	4.43	4.62	4.49	1.18
Valina / Valine (Val)	5.63	5.24	4.57	1.40

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y pruebas post-hoc Tukey, para comparar los promedios de todos los ensayos de lípidos, proteínas, carbohidratos, cenizas, humedad, ácidos grasos y aminoácidos mediante el software Minitab® 17 (Pennsylvania, EE. UU.). Así mismo, se utilizó el mapa de calor (Heat Map) para determinar la relación de las cepas de microalgas con los ácidos grasos y aminoácidos, mediante el software R-Studio 1.2.5001 (Boston, EE. UU.).

RESULTADOS

Perfil nutricional

El mayor porcentaje de proteínas lo obtuvo la cepa IMP-BG-466, del género *Skeletonema* (30.4 ± 0.8 %), y el menor porcentaje fue de la cepa IMP-BG-056 del género *Chaetoceros* (12.7 ± 0.7 %) (Figura 1). Las otras cepas del género *Skeletonema* no presentaron diferencias significativas entre sí (p > 0.05).

Con respecto al porcentaje de lípidos totales, las cepas IMP-BG-363 e IMP-BG-466, del género *Skeletonema*, presentaron los mayores porcentajes, $8.9 \pm 0.0 \%$ y $8.0 \pm 0.2 \%$ respectivamente, sin diferencias significativas entre estas (p > 0.05), las otras cepas del género *Skeletonema* no presentaron diferencias significativas entre sí (p > 0.05). Las cepas del género *Chaetoceros* obtuvieron porcentajes de lípidos totales menores a 3.5 % y no presentaron diferencias significativas entre sí (p > 0.05).

Los mayores porcentajes de carbohidratos se presentaron en el grupo del género *Skeletonema* (desde 9 hasta 23 %), mientras que las cepas de *Chaetoceros* no superaron el 5 %. Dentro de este último género, la cepa IMP-BG-056 presentó el menor porcentaje (2.5 ± 0.1 %), mientras que las cepas IMP-BG-057 e IMP-BG-058 correspondientes a las especies *C. socialis* y *C. compressus*, no presentaron diferencias significativas entre sí (p > 0.05). Asimismo, en el género *Skeletonema*, solo las cepas IMP-BG-364 e IMP-BG-465, obtuvieron el porcentaje de carbohidratos superior a 20 %, y no presentaron diferencias significativas entre sí (p > 0.05).

Con respecto al porcentaje de cenizas, las cepas del género *Chaetoceros*, presentaron valores superiores a 39 %, siendo la cepa IMP-BG-056 (*C. debilis*) la que mayor porcentaje presentó (57.1 \pm 0.1 %). Por otro lado, las cepas del género *Skeletonema*, presentaron porcentajes entre 19 a 27 % de cenizas.

Statistical analysis

An analysis of variance (ANOVA) was conducted with a significance level of $\alpha = 0.05$ and *post hoc* Tukey tests, in order to compare the averages of all assays regarding lipids, proteins, carbohydrates, ash, moisture, fatty acids, and amino acids. This was done via the Minitab 17 software (Pennsylvania, USA). Likewise, a heat map was used to determine the relationship between the microalgae strains and the fatty acids and amino acids using the R-Studio 1.2.5001 software (Boston, USA).

RESULTS

Nutritional profile

The highest percentage of proteins was obtained by strain IMP-BG-466 of the genus *Skeletonema* (30.4 ± 0.8 %), and the lowest percentage was from strain IMP-BG-056 of the genus *Chaetoceros* (12.7 ± 0.7 %) (Figure 1). The other strains of the genus *Skeletonema* did not show significant differences (p > 0.05).

Regarding the percentage of total lipids, strains IMP-BG-363 and IMP-BG-466 of the genus *Skeletonema* showed the highest percentages, *i.e.*, 8.9 ± 0.0 % and 8.0 ± 0.2 %, respectively, with no significant differences between them (p > 0.05). The other strains of the genus *Skeletonema* did not show significant differences (p > 0.05). The strains of the genus *Chaetoceros* reported total lipids percentages of less than 3.5 % and did not show significant differences (p > 0.05).

The highest percentages of carbohydrates were found in the group of the genus *Skeletonema* (ranging from 9 to 23 %), while the strains of *Chaetoceros* did not exceed 5 %. Within the latter, strain IMP-BG-056 showed the lowest percentage (2.5 ± 0.1 %), while strains IMP-BG-057 and IMP-BG-058, corresponding to the species *C. socialis* and *C. compressus*, did not show significant differences (p > 0.05). Likewise, in the genus *Skeletonema*, only strains IMP-BG-364 and IMP-BG-465 reported a carbohydrate percentage higher than 20 %, and they did not show significant differences between each other (p > 0.05).

Regarding the percentage of ash, the strains of the genus *Chaetoceros* showed values higher than 39 %, with strain IMP-BG-056 (*C. debilis*) being the one with the highest percentage (57.1 ± 0.1 %). On the other hand, the strains of the genus *Skeletonema* showed ash percentages between 19 and 27 %.

El porcentaje de humedad en todas las muestras fue menor a 14 %. Las cepas IMP-BG-364 e IMP-BG-429, del género *Skeletonema* fueron las que presentaron mayor porcentaje de humedad y no presentaron diferencias significativas entre sí (p > 0.05). Las cepas IMP-BG-465, IMP-BG-466 (género *Skeletonema*), IMP-BG-058 e IMP-BG-056, siendo estas últimas del género (*Chaetoceros*), tampoco presentaron diferencias significativas entre sí (p > 0.05). The percentage of moisture in all samples was less than 14 %. The strains IMP-BG-364 and IMP-BG-429 from the genus *Skeletonema* showed the highest moisture percentage and exhibited no significant differences (p > 0.05). The strains IMP-BG-465, IMP-BG-466 (genus *Skeletonema*), IMP-BG-058, and IMP-BG-056, the latter two belonging to the genus *Chaetoceros*, showed no significant differences between each other (p > 0.05).



Figura 1. Porcentaje proximal del perfil bioquímico de ocho diferentes cepas de microalgas marinas, las barras de error indican la desviación estándar de los promedios.

Figure 1. Proximate percentage corresponding to the biochemical profile of 8 different marine microalgae strains. Error bars indicate the standard deviation of the means.

Composición de ácidos grasos

En general, los ácidos grasos con mayores porcentajes relativos fueron C 14:0, C 16:3n-4 y el C 20:5n-3 (EPA). Los porcentajes relativos del ácido graso C 14:0 estuvieron entre 11 y 24 % con diferencias significativas entre sí (p < 0.05). Las cepas del género *Skeletonema* obtuvieron el mayor porcentaje relativo del ácido C 16:3n-4, entre 18 y 27 %, mientras que las cepas del género *Chaetoceros* obtuvieron los menores porcentajes entre 0.6 y 4.8 %. Con respecto al EPA, la cepa IMP-BG-056 de la especie *C. debillis* obtuvo el mayor porcentaje relativo (30.2 ± 0.9 %), y la cepa IMP-BG-465, correspondiente a *S. costatum*, obtuvo el menor porcentaje relativo (13.4 ± 0.0 %).

Fatty acid composition

In general, the fatty acids with the highest relative percentages were C14:0, C16:3n-4, and C20:5n-3 (EPA). The relative percentages of the fatty acid C14:0 ranged from 11 to 24 %, with significant differences between them (p < 0.05). Strains of the genus *Skeletonema* had the highest relative percentage of the acid C16:3n-4 (between 18 and 27 %), while strains of the genus *Chaetoceros* had the lowest percentages (between 0.6 and 4.8 %). Regarding EPA, the strain IMP-BG-056 of the species *C. debilis* showed the highest relative percentage (30.2 ± 0.9 %), and the strain IMP-BG-465, corresponding to *S. costatum*, had the lowest one (13.4 ± 0.0 %).

Por otro lado, la mayor proporción de DHA/EPA se registró en las cepas de *Skeletonema*, seguidas de las demás especies de *Chaetoceros*, esto debido a que los porcentajes relativos de DHA fueron casi nulos para *Chaetoceros*. Los porcentajes de ω 3 estuvieron entre 18 y 33 %, siendo el EPA el ácido graso de mayor aporte en todas las cepas, mientras que los valores de ω 6 estuvieron entre 0.5 y 1.2 %. Las cepas del género *Chaetoceros*, IMP-BG-056 e IMP-BG-058, superaron la proporción ω 3 / ω 6 > 50 (Tabla 3).

En el mapa de calor se agruparon las cepas del género *Skeletonema* y *Chaetoceros* en clústeres diferentes, debido a las diferencias de porcentaje relativo de los ácidos grasos C 16:0, C 16:3n-4 y C 18:1n-7. Los ácidos grasos se separaron en dos clústeres, los de mayor porcentaje relativo (C 16:3n-4, C 14:0 y EPA) y el resto de menor porcentaje relativo (Figura 2).

On the other hand, the highest DHA/EPA ratio was recorded for the *Skeletonema* strains, followed by the other species of *Chaetoceros* because the relative DHA percentages were less than 1 %. The percentages of ω 3 ranged from 18 to 33 %, with EPA being the fatty acid that contributed the most in all strains, while the ω 6 values were between 0.5 and 1.2 %. The strains of the genus *Chaetoceros*, IMP-BG-056 and IMP-BG-058, exceeded the ω 3 / ω 6 ratio > 50 (Table 3).

In the heat map, the strains of the genus *Skeletonema* and *Chaetoceros* were grouped into different clusters due to differences in the relative percentage of fatty acids C 16:0, C 16:3n-4, and C 18:1n-7. The fatty acids were separated into two clusters: those with a higher relative percentage (C16:3n-4, C 14:0, and EPA) and the rest with a lower relative percentage (Figure 2).

Tabla 3. Composición de ácidos grasos de las cepas evaluadas expresados
como promedio del porcentaje relativo ± desviación estándar.

Table 3. Fatty acid composition of the evaluated strains expressed as the average of the relative percentage \pm standard deviation.

Especie / Specie	C. debillis	C. socialis	C. compressus	S. costatum	S. costatum var. mariori	S. costatum	S. costatum	S. costatum
Código / Code	IMP- BG-056	IMP- BG-057	IMP- BG-058	IMP- BG-363	IMP- BG-364	IMP- BG-429	IMP- BG-465	IMP- BG-466
Lípidos / Lipids (%)	$3.3 \pm 0.3^{\circ}$	$3.2 \pm 0.3^{\circ}$	$3.3 \pm 0.2^{\circ}$	8.9 ± 0.0^{a}	6.0 ± 0.6^{b}	5.3 ± 0.1 ^b	5.3 ± 0.1 ^b	8.0 ± 0.3^{a}
C 14:0	$21.8\pm0.6^{\mathrm{b}}$	$11.1 \pm 0.0^{\rm \ f}$	14.3 ± 0.2 °	$20.0\pm0.3^{\mathrm{c}}$	$18.4\pm0.2~^{\text{d}}$	$18.7\pm0.4^{\text{cd}}$	$23.4\pm0.7^{\text{a}}$	$18.9\pm0.1^{\text{ cd}}$
C 16:0	8.5 ± 0.4 °	11.1 ± 0.4 ^b	16.1 ± 0.5^{a}	$4.6\pm0.5~^{\rm ef}$	6.1 ± 0.0 ^d	$4.9\pm0.1^{\rm \ de}$	5.2 ± 0.6 de	$3.3\pm0.0^{\rm ~f}$
C 18:0	$0.9\pm0.0^{\rm \ b}$	2.0 ± 0.1 ^a	$2.0\pm0.1~^{\text{a}}$	$0.5\pm0.2~^{\rm bc}$	$0.3\pm0.0~^\circ$	$0.4\pm0.1~^\circ$	$0.6\pm0.0^{\rm\ bc}$	$0.2\pm0.0~^{\circ}$
ΣSAFAs	31.2	24.3	32.4	25.1	24.6	23.9	29.2	22.4
C 16:1n-9	6.7 ± 0.4 ^a	4.8 ± 0.1 °	$6.8\pm0.2~^{\text{a}}$	$5.3\pm0.1~^{\rm bc}$	$2.9\pm0.0~^{\rm d}$	$3.2\pm0.0~^{\rm d}$	$5.8\pm0.0~^{\rm b}$	$5.8\pm0.1^{\text{ b}}$
C 16:1n-7	11.7 ± 0.4 °	$12.8\pm0.1~^{\rm d}$	16.0 ± 0.0 ^b	$10.5\pm0.0^{\rm ~f}$	$10.6\pm0.1^{\rm ~f}$	15.1 ± 0.2 °	16.7 ± 0.0 ^a	8.7 ± 0.0 g
C 18:1n-7	$8.2\pm0.1~^{\circ}$	$29.9\pm0.6~^{\text{a}}$	$12.5\pm0.1~^{\rm b}$	$1.2\pm0.0~^{\rm ef}$	$1.5\pm0.1~^{\rm ef}$	$2.3\pm0.1~^{\circ}$	$5.9\pm0.8~^{\rm d}$	$0.9\pm0.0^{\rm \ f}$
C 18:1n-9	1.1 ± 0.0 °	6.5 ± 0.2 ^a	$2.3\pm0.2~^{\rm b}$	$0.9\pm0.1~^\circ$	$0.7\pm0.0~^{\rm cd}$	$0.8\pm0.0~^{\rm cd}$	$1.9\pm0.2~^{\rm b}$	$0.4\pm0.0~^{\rm d}$
ΣMUFAs	27.6	53.9	37.6	17.9	15.7	21.5	30.3	15.8
C 16:2n-4	$3.6\pm0.0^{\rm \ b}$	$1.7\pm0.0^{\rm ~f}$	$3.1\pm0.0~^{\rm d}$	$2.3\pm0.0~^\circ$	$3.7\pm0.0^{\rm \ b}$	$3.7\pm0.0^{\rm \ b}$	3.4 ± 0.1 °	4.2 ± 0.0 ^a
C 16:3n-4	$4.9\pm0.1~^{\rm d}$	$0.7\pm0.1^{\rm \ f}$	$2.5\pm0.0~^{\circ}$	$24.4\pm0.7~^{\text{b}}$	26.2 ± 0.2 ^a	$24.9\pm0.2^{\ \text{ab}}$	18.5 ± 0.8 °	$25.8\pm0.2^{\text{ ab}}$
C 16:4n-3	$0.6\pm0.0~^{\text{a}}$	0.6 ± 0.0 ^a	$0.6\pm0.0~^{\rm a}$	$0.4\pm0.0^{\rm\ bc}$	0.3 ± 0.0 °	$0.3\pm0.0^{\rm \ bc}$	$0.5\pm0.1^{\ \text{ab}}$	0.5 ± 0.1 a
C 18:2n-6	$0.2\pm0.0^{\rm \ f}$	$0.3\pm0.0~^{\rm ef}$	$0.4\pm0.0~^{\text{de}}$	$0.6\pm0.1~^{\rm bc}$	$0.8\pm0.0~^{\text{a}}$	$0.7\pm0.0^{\text{ ab}}$	$0.4\pm0.0~^{\textrm{de}}$	$0.5\pm0.0~^{\rm cd}$
C 18:3n-6	$0.1\pm0.0~^{\rm bc}$	0.2 ± 0.0 ^a	$0.0\pm0.0~^\circ$	$0.1\pm0.0^{\rm \ cde}$	$0.1\pm0.0^{\rm\ bcd}$	$0.2\pm0.0~^{\text{ab}}$	$0.0\pm0.0~^{\rm de}$	$0.1\pm0.1~^{\rm bcd}$
C 18:3n-3	$0.0\pm0.0~^{\rm d}$	0.6 ± 0.0 ^a	$0.0\pm0.0~^{\rm d}$	$0.4\pm0.0~^{\rm bc}$	0.6 ± 0.0 $^{\rm a}$	$0.5\pm0.0~^{\rm ab}$	$0.3\pm0.0\ensuremath{^{\circ}}$ $^{\circ}$	0.6 ± 0.1 $^{\text{a}}$
C 18:4n-3	0.4 ± 0.0 °	$0.3\pm0.0~^{\rm ef}$	$0.3\pm0.0^{\rm ~f}$	0.7 ± 0.0 ^d	1.1 ± 0.0 °	0.7 ± 0.0 ^d	1.8 ± 0.0 ^b	2.4 ± 0.1 ^a
C 20:4n-3	0.4 ± 0.0 ^a	$0.1\pm0.0~^{\rm bc}$	$0.3\pm0.0~^{\text{ab}}$	0.1 ± 0.0 °	0.2 ± 0.0 bc	0.2 ± 0.0 bc	0.1 ± 0.0 °	$0.2\pm0.1~^{\rm bc}$
C 20:4n-6	0.1 ± 0.0 °	$0.2\pm0.0~^{\rm b}$	0.0 ± 0.0 °	0.3 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^d	0.3 ± 0.0 ^a

32

Marine and Coastal Research Institute

Especie / Specie	C. debillis	C. socialis	C. compressus	S. costatum	S. costatum var. mariori	S. costatum	S. costatum	S. costatum
Código / Code	IMP- BG-056	IMP- BG-057	IMP- BG-058	IMP- BG-363	IMP- BG-364	IMP- BG-429	IMP- BG-465	IMP- BG-466
C 20:5n-3 (EPA)	30.2 ± 0.9 ^a	17.2 ± 0.1 f	22.1 ± 0.6^{de}	$24.4\pm0.2~^{\rm bc}$	$23.4\pm0.2~^{\text{cd}}$	$20.4\pm0.5~^\circ$	13.4 ± 0.0 ^g	25.5 ± 0.1 ^b
C 22:6n-3 (DHA)	$0.6\pm0.1~^\circ$	$0.0\pm0.0~^{\rm f}$	$0.7\pm0.0\ensuremath{^\circ}$ $^\circ$	$3.5\pm0.1~^{\rm a}$	$2.9\pm0.0~^{\rm b}$	$2.8\pm0.0~^{\rm b}$	$2.0\pm0.1~^{\circ}$	$1.7\pm0.0~^{\rm d}$
ΣPUFAs	41.2	21.8	29.9	57.0	59.5	54.6	40.5	61.8
DHA / EPA	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.0
ΣDHA + EPA	30.8	17.2	22.8	27.9	26.3	23.2	15.4	27.2
Omega-3 (03)	32.2	18.8	23.8	29.4	28.4	24.9	18.1	30.9
Omega-6 (@6)	0.5	0.7	0.5	0.9	1.2	1.08	0.5	0.9
@3 / @6	62.8	26.2	52.2	34.3	24.0	23.0	34.2	36.0

SAFAs: ácidos grasos saturados, MUFAs: ácidos grasos mono saturados, PUFAs: ácidos grasos poliinsaturados. Las comparaciones de los promedios de los porcentajes relativos de ácidos grasos por cepas mostraron diferencias significativas indicadas por las letras de la a-g, según la prueba post-hoc de Tukey.

SAFAs: Saturated fatty acids, MUFAs: Monounsaturated fatty acids, PUFAs: Polyunsaturated fatty acids. Comparisons of the average relative fatty acid percentages by strain showed significant differences, as indicated by the letters a-g, according to the Tukey post hoc test.



Composición de aminoácidos

Dentro de los aminoácidos identificados, los ácidos glutámico y aspártico, la leucina y la alanina fueron los mayoritarios (cada una ≥ 1 %). Por otro lado, el aminoácido con menor porcentaje de todas las cepas fue la histidina (≤ 0.7 %). La cepa IMP-BG-466 de la especie *S. costatum* presentó el mayor porcentaje de aminoácidos (33.3 ± 0.2 %) (Tabla 4).

Con respecto al EAAI, en general para peces planos y el langostino, las cepas del género *Skeletonema* poseen una buena calidad de proteína debido a que los EAAIs se encontraron entre 0.86 y 0.95. No obstante, la tabla 4 muestra que las cepas del género *Chaetoceros* poseen una calidad utilizable de proteína (EAAIs \leq 0.86). Además, de acuerdo al *score* de aminoácidos (datos no mostrados), en ambos géneros de microalga, para peces planos, los aminoácidos limitantes fueron la lisina (de 0.45 a 0.80) y la histidina (de 0.61 a 1). En el caso del langostino *P. vannamei*, los aminoácidos limitantes fueron la histidina (de 0.52 a 0.70) y la arginina (de 0.73 a 0.94).

En el mapa de calor de aminoácidos (Figura 3), se clasificaron las cepas en dos grupos. El primer clúster agrupó la mayoría de las cepas del género *Skeletonema* y el segundo clasificó a las cepas del género *Chaetoceros* junto con la IMP-BG-363 de la especie *S. costatum*. Estos dos clústeres se separan por la diferencia de porcentajes de alanina y leucina. Asimismo, los aminoácidos se separaron en dos clústeres de acuerdo a su porcentaje, uno de mayor porcentaje en peso (ácido aspártico y ácido glutámico), y el otro con el resto de aminoácidos de menor porcentaje.

Amino acid composition

Among the identified amino acids, glutamic acid, aspartic acid, leucine, and alanine had the highest concentration (each one ≥ 1 %). On the other hand, the amino acid with the lowest percentage in all strains was histidine (≤ 0.7 %). The strain IMP-BG-466 of the species *S. costatum* showed the highest percentage of amino acids (33.3 ± 0.2 %) (Table 4).

Regarding the EAAI, in general for flatfish and shrimp, the strains of the genus *Skeletonema* have a good protein quality, as the EAAIs were between 0.86 and 0.95. Table 4 shows that strains of the genus *Chaetoceros* possess a usable protein quality of protein (EAAIs \leq 0.86). In addition, according to the amino acid score (data not shown) of both microalgae genera, for flatfish, the limiting amino acids were lysine (from 0.45 to 0.80) and histidine (from 0.61 to 1). In the case of the shrimp *P. vannamei*, the limiting amino acids were histidine (from 0.52 to 0.70) and arginine (from 0.73 to 0.94).

In the amino acid heat map (Figure 3), the strains were classified into two groups. The first cluster grouped most of the strains of the genus *Skeletonema*, and the second classified those of the genus *Chaetoceros* together with the strain IMP-BG-363 of the species *S. costatum*. These two clusters are separated by the difference in percentages of alanine and leucine. Likewise, the amino acids were separated into two clusters according to their percentage, one with a higher percentage by weight (aspartic acid and glutamic acid), and the other with the rest of the amino acids of a lower percentage.

Especie / Specie	C. debillis	C. socialis	C. compressus	S. costatum	S. costatum var. mariori	S. costatum	S. costatum	S. costatum	
Código / Code	IMP-BG-056	IMP-BG-057	IMP-BG-058	IMP-BG-363	IMP-BG-364	IMP-BG-429	IMP-BG-465	IMP-BG-466	
	Aminoácidos esenciales / Essential amino acids								
Arginina / Arginine (Arg)	$0.77\pm0.02^{\rm f}$	$1.34\pm0.05^{\rm d}$	$1.11 \pm 0.07^{\circ}$	$1.55\pm0.06^{\circ}$	$1.59 \pm 0.03^{\circ}$	1.96 ± 0.01^{a}	$1.78\pm0.05^{\mathrm{b}}$	$1.91\pm0.02^{\text{ab}}$	
Fenilalanina / Phenylalanine (Phe)	$0.94\pm0.03^\circ$	$1.65\pm0.07^{\text{bc}}$	$1.31\pm0.10^{\text{d}}$	$1.75\pm0.13^{\mathrm{b}}$	$1.55\pm0.02^{\text{bcd}}$	$1.65\pm0.01^{\text{bc}}$	$1.48\pm0.07^{\text{cd}}$	$2.07\pm0.00^{\text{a}}$	
Histidina / Histidine (His)	$0.24\pm0.01^{\text{ d}}$	$0.42\pm0.02^{\circ}$	$0.32\pm0.02^{\text{d}}$	$0.57\pm0.04^{\mathrm{b}}$	$0.54\pm0.01^{\mathrm{b}}$	$0.57\pm0.00^{\text{b}}$	0.52 ± 0.03^{b}	0.67 ± 0.00^{a}	
Isoleucina / Isoleucine (Ile)	$0.79\pm0.03^{\text{ d}}$	$1.34\pm0.06^{\text{b}}$	$1.10\pm0.07^{\circ}$	$1.46\pm0.05^{\mathrm{b}}$	$1.33\pm0.02^{\text{b}}$	$1.47\pm0.01^{\text{b}}$	1.31 ± 0.03^{b}	1.76 ± 0.03^{a}	

Tabla 4. Composición de aminoácidos (% p/p) de las cepas evaluadas.

Table 4. Amino acid composition (% w/w) of the evaluated strains.

Especie / Specie	C. debillis	C. socialis	C. compressus	S. costatum	S. costatum var. mariori	S. costatum	S. costatum	S. costatum
Código / Code	IMP-BG-056	IMP-BG-057	IMP-BG-058	IMP-BG-363	IMP-BG-364	IMP-BG-429	IMP-BG-465	IMP-BG-466
Leucina / Leucine (Leu)	$1.18\pm0.04^{\text{d}}$	$2.07\pm0.10^{\mathrm{b}}$	1.67 ± 0.11 °	2.27 ± 0.11 ^b	$2.04\pm0.04^{\mathrm{b}}$	2.25 ± 0.01 ^b	2.00 ± 0.03^{b}	2.70 ± 0.04
Lisina / Lysine (Lys)	$0.68\pm0.02^{\circ}$	$1.04\pm0.05^{\text{d}}$	$1.02\pm0.05^{\text{d}}$	$1.77\pm0.08^{\text{bc}}$	$1.79\pm0.02^{\mathrm{b}}$	1.95 ± 0.02^{a}	$1.62 \pm 0.02^{\circ}$	$2.06\pm0.01^{\text{a}}$
Treonina / Threonine (Thr)	$0.70 \pm 0.01^{\circ}$	1.40 ± 0.08^{ab}	$1.12\pm0.06^{\text{d}}$	$1.30\pm0.06^{\rm bc}$	$1.17\pm0.03^{\text{ cd}}$	$1.29\pm0.01^{\text{bcd}}$	$1.22\pm0.01^{\text{ cd}}$	1.53 ± 0.02^{a}
Valina / Valine (Val)	$0.83\pm0.03^{\text{ d}}$	$1.55\pm0.09^{\text{b}}$	$1.25\pm0.07^{\mathrm{c}}$	$1.54\pm0.05^{\text{b}}$	$1.39\pm0.01^{\rm bc}$	$1.55 \pm 0.01^{\mathrm{b}}$	$1.41\pm0.04^{\text{bc}}$	1.88 ± 0.01 ^a
Aminoácidos no esenciales / Non-essential amino acids								
Alanina / Alanine (Ala)	$0.95\pm0.46^{\circ}$	$1.24\pm0.04^{\circ}$	$1.48\pm0.59^{\text{bc}}$	$1.26\pm0.01^{\circ}$	$2.44\pm0.06^{\text{ab}}$	2.76 ± 0.03^{a}	$2.38\pm0.01^{\text{ab}}$	3.12 ± 0.01^{a}
Ácido aspártico / Aspartic acid (Asp)	$1.53\pm0.04~^{\text{d}}$	2.82 ± 0.15^{bc}	$2.52 \pm 0.14^{\circ}$	2.99 ± 0.13^{b}	$2.86\pm0.03^{\text{ bc}}$	3.48 ± 0.04 °	2.89 ± 0.03 ^b	3.66 ± 0.01^{a}
Glicina / Glycine (Gly)	$0.87\pm0.04~^{\text{d}}$	$1.67 \pm 0.11^{\mathrm{b}}$	$1.41 \pm 0.07^{\circ}$	$1.73\pm0.09^{\text{b}}$	$1.59\pm0.04^{\rm bc}$	$1.75\pm0.00^{\text{b}}$	1.58 ± 0.06^{bc}	2.03 ± 0.02^{a}
Serina / Serine (Ser)	$0.65\pm0.01^{\text{d}}$	1.30 ± 0.19^{b}	$1.03 \pm 0.06^{\circ}$	1.42 ± 0.09^{b}	1.24 ± 0.03^{b}	$1.38\pm0.02^{\mathrm{b}}$	$1.28 \pm 0.02^{\circ}$	1.67 ± 0.02^{a}
Prolina / Proline (Pro)	$0.56\pm0.02^{\text{d}}$	$1.04\pm0.06~^{\text{b}}$	$0.82\pm0.04^{\mathrm{c}}$	$1.1\pm0.05^{\mathrm{b}}$	$1.01\pm0.02^{\mathrm{b}}$	$1.1\pm0.00^{\mathrm{b}}$	$1.03\pm0.02^{\text{b}}$	1.34 ± 0.01^{a}
Ácido glutamico / Glutamic acid (Glu)	$1.75\pm0.04^{\text{d}}$	$3.86\pm0.16^{\text{bc}}$	3.1 ± 0.18°	$4.03\pm0.17^{\text{bc}}$	$3.87\pm0.07^{\text{bc}}$	$4.23\pm0.03^{\text{ab}}$	$3.40\pm0.03~^{\text{bc}}$	4.82 ± 0.02^{a}
Tirosina / Tyrosine (Tyr)	$0.49\pm0.01^\circ$	$0.87\pm0.04^{\mathrm{b}}$	$0.66\pm0.04^{\text{d}}$	$0.87\pm0.06^{\text{b}}$	$0.82\pm0.00^{\mathrm{bc}}$	$0.88\pm0.01^{\mathrm{b}}$	$0.73\pm0.01^{\text{ cd}}$	1.11 ± 0.01 ^a
Índice de Aminoácidos Esenciales / Essential Amino Acid Index (EAAI)								
P. ferruginea	0.86	0.84	0.85	0.91	0.92	0.93	0.93	0.91
H. hippoglossus	0.85	0.83	0.85	0.90	0.92	0.93	0.92	0.90
P. olivaceus	0.86	0.84	0.86	0.91	0.94	0.94	0.93	0.91
P. vannamei	0.85	0.82	0.84	0.89	0.89	0.89	0.90	0.89

Los grupos que no comparten la misma letra presentan promedios con diferencias estadisticamente significativas. The groups that do not share the same letter have averages with statistically significant differences.



DISCUSIÓN

Perfil nutricional

En acuicultura es necesaria la búsqueda de nuevas fuentes proteicas que cumplan con los requerimientos de cada especie cultivable. Según la FAO, los porcentajes de requerimiento de proteínas en las dietas de peces y langostinos oscilan entre 20 y 45 % (Tacón, 1987). Esta demanda sería satisfecha por los porcentajes de proteína analizadas en S. costatum (20 a 31 %), asimismo estos porcentajes se encuentran dentro de los valores registrados por la literatura (Brown y Jeffrey, 1995; Lestari et al., 2014; Van Houcke et al., 2017; Bastos et al., 2022). Según Vásquez-Suárez et al. (2010), estos porcentajes se podrían incrementar por encima de 45 %. Dentro del género Chaetoceros, los porcentajes de proteína de las cepas analizadas (12 a 18 %), coinciden con lo registrado por Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (1998) y Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra (2009) para la cepa de *C. mulleri* (6 a 30 %).

En el cultivo de organismos acuáticos los lípidos son esenciales para el crecimiento y supervivencia de larvas de peces (Kanazawa, 1983) y crustáceos (Pascual, 1984),

DISCUSSION

Nutritional profile

In aquaculture, it is necessary to search for new protein sources that meet the requirements of each cultivable species. According to the FAO, the protein requirements in the diets of fish and shrimp range between 20 and 45 % (Tacón, 1987). This demand would be satisfied by the protein percentages analyzed in *S. costatum* (20 to 31 %), and these percentages are within the values reported in the literature (Brown and Jeffrey, 1995; Lestari *et al.*, 2014; Van Houcke *et al.*, 2017; Bastos *et al.*, 2022). According to Vásquez-Suárez *et al.* (2010), these percentages could be increased to over 45 %. Within the genus *Chaetoceros*, the protein percentages of the strains analyzed (12 to 18 %), coincide with those reported by Medina-Reyna and Cordero-Esquivel (1998) and Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra (2009) for the *C. mulleri* strain (6 to 30 %).

In the culture of aquatic organisms, lipids are essential for the growth and survival of fish larvae (Kanazawa, 1983) and crustaceans (Pascual, 1984), with essential fatty acids of the omega-3 (ω 3) and omega-6 (ω 6)
siendo los ácidos grasos esenciales de la serie omega-3 (ω 3) v omega-6 (ω 6) los de mayor valor nutricional. Según la FAO, el requerimiento de lípidos totales es de 5 a 8 % de la dieta (Leger et. al., 1979; Tacón, 1987). Esta demanda sería satisfecha por las cepas analizadas de S. costatum (5 a 9%), pero no por las cepas analizadas del género Chaetoceros (<5%). Sin embargo, existen estudios sobre S. costatum que registran niveles elevados de lípidos entre 14 y 19 % (Brown y Jeffrey, 1995; Vásquez-Suárez, et al., 2010), mientras otros registran inferiores al 2 % (Lestari et al., 2014). En el caso del género Chaetoceros, los registros son variados; de 11 a 23 % de lípidos en cepas de C. calcitrans; de 19 a 22 % en C. muelleri (Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra, 2009; Banerjee et al., 2011; Velasco et al., 2016) y solo 7.6 % para la cepa CCMP 3283 de C. socialis (d'Ippolito et al., 2015). El menor porcentaje de lípidos en el género Chaetoceros se debió posiblemente a las condiciones óptimas de cultivo (Hu et al., 2008), además, estas cepas tienen el potencial de incrementarlo hasta 40 % en condiciones de estrés por deficiencia de nutrientes y altas intensidades lumínicas (Rodolfi et al., 2009).

En nutrición acuícola, al contrario de las proteínas y lípidos, los carbohidratos no poseen un porcentaje de requerimiento absoluto, son una fuente de energía de bajo costo, sustituyen la conversión de proteínas a energía y se utilizan en la formulación de dietas como aglutinantes y saborizantes (Tacón, 1987). Los porcentajes de carbohidratos de las cepas analizadas de S. costatum (9 y 23 %) no superaron los porcentajes de Van Houcke et al. (2017), de 23 a 25 %, para cepas de la misma especie, pero contienen el porcentaje de 18.3 % registrado por Vásquez-Suárez et al. (2010). Por otro lado, los porcentajes de carbohidratos de las cepas analizadas del género Chaetoceros (< 5 %) fueron similares a lo presentado por Brown y Jeffrey (1995) y por Banerjee et al. (2011) en C. calcitrans, los cuales fueron alrededor de 6 %. En contraste, Bastos et al. (2022) registraron valores entre 23 a 26 % para C. calcitrans, además para C. mulleri se registraron de 10 a 37 % según Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (1998), Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra (2009) y Velasco et al. (2016). Esta variación, posiblemente es debido a que los carbohidratos cumplen una función en el mantenimiento de la pared celular y es probable que su disponibilidad sea cambiante según condiciones de laboratorio y fase de crecimiento (Schmid et al., 1981).

En acuicultura los minerales de las cenizas son importantes porque concentran metales como el zinc que previenen enfermedades patológicas en peces (Shearer *et al.*, 1992) o que interviene en el crecimiento del tejido

series being of the highest nutritional value. According to the FAO, the requirement for total lipids is 5-8 % of the diet (Leger et al., 1979; Tacón, 1987). This demand would be met by the analyzed strains of S. costatum (5 to 9 %), but not by the analyzed strains of the genus *Chaetoceros* (< 5 %). However, there are studies on S. costatum that report high levels of lipids, *i.e.*, between 14 and 19 % (Brown and Jeffrey, 1995; Vásquez-Suárez, et al., 2010), while others report less than 2 % (Lestari et al., 2014). In the case of the genus Chaetoceros, the reports are varied: 11-23 % lipids in strains of C. calcitrans; 19-22 % in C. muelleri (Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra, 2009; Banerjee et al., 2011; Velasco et al., 2016); and only 7.6 % for the strain CCMP 3283 of C. socialis (d'Ippolito et al., 2015). The lower percentage of lipids in the genus Chaetoceros was possibly due to optimal culture conditions (Hu et al., 2008). Moreover, these strains have the potential to increase it up to 40 % under stress conditions due to nutrient deficiency and high light intensities (Rodolfi et al., 2009).

In aquaculture nutrition, contrary to proteins and lipids, carbohydrates do not have an absolute requirement percentage; they are a low-cost source of energy, substitute the conversion of proteins to energy, and are used in diet formulation as binders and flavor enhancers (Tacón, 1987). The carbohydrate percentages of the analyzed strains of S. costatum (9 and 23 %) did not exceed the percentages of Van Houcke et al. (2017), which were 23 to 25 % for strains of the same species, but they do contain the 18.3 % reported by Vásquez-Suárez et al. (2010). On the other hand, the carbohydrate percentages of the analyzed Chaetoceros strains (< 5 %) were similar to those reported by Brown and Jeffrey (1995) and Banerjee et al. (2011) in C. calcitrans, i.e., around 6 %. In contrast, Bastos et al. (2022) recorded values between 23 and 26 % for C. calcitrans, and values of 10 to 37 % were reported for C. mulleri according to Medina-Reyna and Cordero-Esquivel (1998), Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra (2009), and Velasco et al. (2016). This variation is possibly due to the fact that carbohydrates play a role in maintaining the cell wall, and it is likely that their availability changes according to laboratory conditions and growth phase (Schmid et al., 1981).

In aquaculture, the micronutrients present in ashes have very important functions, *e.g.*, zinc, which prevent fish diseases (Shearer *et al.*, 1992) or play a role in the growth of solid tissue such as exoskeletons of sponges and valves in mollusks and crustaceans (Simpson and Volcani, 1981; Welladsen *et al.*, 2014). However, some studies have sólido como exoesqueleto y valvas en esponjas, moluscos y crustáceos (Simpson y Volcani, 1981; Welladsen et al., 2014). Sin embargo, existen estudios que determinan una reducción de crecimiento en peces; afección en la digestibilidad del alimento y la calidad de agua del cultivo, por lo que su porcentaje se minimiza en la elaboración de piensos alimenticios (Satoh et al., 1987). Según los requerimientos nutricionales para dietas de peces, los porcentajes de cenizas deben estar entre 3 a 12 % y para camarones de 2 a 10 %, no obstante, existen insumos que aumentan dicha proporción hasta un 20 % de la dieta como la harina de pescado (Faidutti, 1992; Moreno-Álvarez et al., 2000; García et al., 2004; Cruz et al., 2012). De acuerdo con los resultados, se excedería el porcentaje requerido para peces y camarones en más del doble para del género Skeletonema y más del triple para el género Chaetoceros. Según Bastos et al. (2022), el porcentaje de cenizas de S. costatum y C. calcitrans aumentan en función de la concentración de silicatos en el medio de cultivo, hasta 53 y 50 % respectivamente. Por otro lado, Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (1998) y Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra (2009) lograron un máximo de 54 y 40 % en una cepa de C. muelleri respectivamente. Otros estudios mencionan que el incremento es debido a la naturaleza de las frústulas silíceas que forman las células (Paasche, 1973; Parsons et al., 1984; Cordero-Esquivel et al., 1993).

Composición de ácidos grasos

Ante la demanda de nuevas fuentes sostenibles de ácidos grasos, se propuso la utilización de microalgas marinas por ser fuentes naturales con alto porcentaje relativo de ácidos grasos poliinsaturados. Las investigaciones de Seiliez *et al.* (2003) e Izquierdo (2005) concluyeron que para el óptimo crecimiento del pez *Sparus aurata* se requiere al menos la proporción en la dieta de DHA/EPA de 1.3 y un máximo de 2.5 respectivamente. La proporción más alta de DHA/EPA en esta investigación fue de 0.15 en la cepa IMP-BG-465 de la especie *S. costatum.* Si bien no llega a la proporción requerida de DHA/EPA, se puede utilizar en combinación con otras cepas de microalgas de mayor porcentaje relativo de DHA o aceite de pescado.

Skeletonema costatum es una especie utilizada en la industria acuícola por a su alto porcentaje relativo de EPA, el cual es importante en la dieta de muchos organismos cultivables en la acuicultura como crustáceos y larvas de peces para su buen desarrollo y supervivencia (Koven et al., 2001; Pratiwy y Pratiwi, 2020). También es una especie idónea para el cultivo masivo por su rápido crecimiento y bajos requerimientos de nutrientes (Zafra-Trelles *et al.,* 2017).

reported that a high ash concentration produce reductions in fish growth and effects on digestibility and water quality in the culture, so their percentage is minimized in the preparation of feed (Satoh et al., 1987). According to the nutritional requirements for fish diets, ash percentages should be between 3 and 12 %, as well as from 2 to 10 % for shrimps. However, there are supplies that increase this proportion up to 20 % of the diet, e.g., fishmeal (Faidutti, 1992; Moreno-Álvarez et al., 2000; García et al., 2004; Cruz et al., 2012). According to the results, the required percentage for fish and shrimp would be exceeded by more than double for the genus Skeletonema and more than triple for the genus Chaetoceros. According to Bastos et al. (2022), the ash percentage of S. costatum and C. calcitrans increases with respect to the concentration of silicates in the culture medium, up to 53 and 50 %, respectively. On the other hand, Medina-Reyna and Cordero-Esquivel (1998) and Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra (2009) achieved maximum values of 54 and 40 % in a strain of C. muelleri, respectively. Other studies mention that the increase is due to the nature of the siliceous frustules that form the cells (Paasche, 1973; Parsons et al., 1984; Cordero-Esquivel et al., 1993).

Fatty acid composition

Given the demand for new sustainable sources of fatty acids, the use of marine microalgae was proposed, as they are natural sources with a high relative percentage of polyunsaturated fatty acids. Research conducted by Seiliez *et al.* (2003) and Izquierdo (2005) concluded that, for the optimal growth of the fish *Sparus aurata*, the diet must contain a DHA/EPA ratio of at least 1.3 and a maximum of 2.5. The highest DHA/EPA ratio in this research was 0.15 for the strain IMP-BG-465 of the species *S. costatum*. Although it does not reach the required DHA/EPA ratio, it can be used in combination with other strains of microalgae with a higher relative percentage of DHA or with fish oil.

Skeletonema costatum is a species used in the aquaculture industry given its high relative percentage of EPA, which is important in the diet of many cultivable aquatic organisms (such as crustaceans and fish larvae) for their good development and survival (Koven *et al.*, 2001; Pratiwy and Pratiwi, 2020). It is also an ideal species for mass cultivation due to its rapid growth and low nutrient requirements (Zafra-Trelles *et al.*, 2017).

EPA was the fatty acid with the highest relative percentage in the diatoms analyzed. In the case of *S. costatum*, reports range from 6 to 24 % (Guihéneuf *et al.*,

El EPA fue el ácido graso con mayor porcentaje relativo en las diatomeas analizadas. En el caso de *S. costatum*, los registros van de 6 a 24 % (Guihéneuf *et al.*, 2008; Lestari, *et al.*, 2014; Van Houcke *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2019; Bastos *et al.*, 2022). En el género *Chaetoceros*, se registran como valores máximos 19 % en *C. calcitrans* (Bastos *et al.*, 2022) y 17 % en *C. muelleri* (Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra, 2009), siendo menor a la cepa analizada *C. debilis* IMP-BG-056 (30.2 %).

Un aporte resaltante de la presente investigación se observó en el mapa de calor y fue la separación de los géneros *Skeletonema* y *Chaetoceros* en función de su composición de ácidos grasos. Reconociendo a alguno de ellos como posibles marcadores quimio-taxonómicos, resultado similar a Hernández-Acevedo *et al.* (2019). Uno de estos ácidos grasos, el C 16:3n-4, es utilizado por las diatomeas en la producción de aldehídos volátiles para la regulación trófica del zooplancton (d'Ippolito *et al.*, 2004).

Composición de aminoácidos

De acuerdo con los *scores* de aminoácidos, los aminoácidos limitantes fueron la lisina e histidina para peces planos y arginina e histidina para langostinos, que podrían afectar diversas funciones como las que se describen a continuación: en peces, por ejemplo, la lisina se relaciona al crecimiento, formación de tejido muscular (Pineda-Quiroga, 2010) y células reproductivas (Hamid *et al*, 2016). Por otro lado, la histidina funciona como antioxidante y regulador de pH en órganos de peces (Wade y Tucker, 1998; Munakata *et al.*, 2000). En langostinos, la arginina es precursora de hormonas de crecimiento (Wan *et al.*, 2006) y regenera el ATP en el músculo (Denis *et al.*, 1998).

Con respecto al EAAI, Okaichi (1974) registró los índices de las diatomeas *Cyclotella* sp., *Skeletonema costatum* y *Phaeodactylum tricornotum* en el rango de 0.66 a 0.76 para el pez *Seriola quinqueradiata* (jurel). Los valores reportados en nuestra investigación fueron superiores para peces planos y langostinos, sobre todo las cepas del género *Skeletonema*. No obstante, las comparaciones se limitan a las pocas referencias disponibles, a pesar que, en nuestros resultados, ambos géneros estudiados poseen una calidad buena y utilizable de proteínas. De otro lado, según Becker (2013), la composición de aminoácidos es similar entre especies de microalgas, sin embargo, en el mapa de calor se observó una separación de dos clústeres en función de las especies y que la cepa IMP-BG-366 del género *Skeletonema* tiene una composición de aminoácidos parecida al género *Chaetoceros*.

2008; Lestari, *et al.*, 2014; Van Houcke *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2019 and Bastos *et al.*, 2022). In the genus *Chaetoceros*, maximum values of 19 % were reported for *C. calcitrans* (Bastos *et al.*, 2022), as well as 17 % for *C. muelleri* (Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra, 2009), which is less than the analyzed strain, *i.e.*, *C. debilis* IMP-BG-056 (30.2 %).

A notable contribution of this research, as observed in the heat map, was the separation of the genera *Skeletonema* and *Chaetoceros* based on their fatty acid composition, recognizing some of them as possible chemotaxonomic markers, which is similar to that found by Hernández-Acevedo *et al.* (2019). One of these fatty acids, C 16:3n-4, is used by diatoms in the production of volatile aldehydes for the trophic regulation of zooplankton (d'Ippolito *et al.*, 2004).

Amino acid composition

According to the amino acid scores, the limiting amino acids were lysine and histidine for flatfish and arginine and histidine for shrimp, which could affect various functions. In fish, lysine is related to growth, muscle tissue formation (Pineda-Quiroga, 2010) and reproductive cells (Hamid *et al.*, 2016). On the other hand, histidine serves as an antioxidant and pH regulator in fish organs (Wade and Tucker, 1998; Munakata *et al.*, 2000). In shrimp, arginine is a precursor to growth hormones (Wan *et al.*, 2006) and regenerates ATP in muscles (Denis *et al.*, 1998).

Regarding the EAAI, Okaichi (1974) reported indices for the diatoms *Cyclotella* sp., *Skeletonema costatum*, and *Phaeodactylum tricornotum* in the range of 0.66 to 0.76 for the fish *Seriola quinqueradiata* (yellowtail). The values reported in our research were higher for flatfish and shrimp, especially regarding the strains of the genus *Skeletonema*. However, comparisons are limited by the few references available, despite the fact that, in our results, both studied genera possess good and usable protein quality. On the other hand, according to Becker (2013), the amino acid composition is similar among microalgae species. However, in the heat map, a separation of two clusters was observed as a function of the species. Moreover, the strain IMP-BG-366 of the genus *Skeletonema* has an amino acid composition similar to that of the genus *Chaetoceros*.

CONCLUSIONES

La evaluación del perfil nutricional de cepas de diatomeas peruanas mantenidas en el BGOA contribuyó a la elección de la cepa IMP-BG-466 del género *Skeletonema* como potencial ingrediente para la formulación de alimentos en la acuicultura. Esta cepa obtuvo el mayor porcentaje de proteína (30.4 %) y calidad buena y utilizable según su EAAI para peces planos y langostinos respectivamente, además el mayor porcentaje relativo de ácidos grasos omega 3 (31.0 %). Sin embargo, esta cepa se enfrenta al desafío de minimizar su alto contenido de cenizas (27.2 %), bajo porcentaje relativo de DHA (< 2 %) y aminoácidos esenciales limitantes como la arginina, histidina y lisina. Se recomienda evaluar esta microalga en ensayos de ingestión y digestibilidad, ensayos de inocuidad y formulación de dietas equilibradas con otras fuentes alimenticias que complementen sus deficiencias.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al PpR "Ordenamiento y Desarrollo de la Acuicultura" (DGIA Imarpe) por el financiamiento del presente proyecto de investigación. Asimismo, se agradece el valioso apoyo de los colegas del Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos (Imarpe) que ayudaron durante el proceso de obtención de las cepas y esterilización del material para los cultivos.

CONCLUSIONS

The assessment of the nutritional profile of Peruvian diatom strains kept in the BGOA contributed to selecting the strain IMP-BG-466 of the genus Skeletonema as a potential ingredient for formulating feeds in aquaculture. This strain reported the highest percentage of protein (30.4 %) and was classified as having good and usable protein quality according to its EAAI for flatfish and shrimp, respectively. This, in addition to reporting the highest relative percentage of omega-3 fatty acids (31.0 %). However, this strain needs to decrease its high ash content (27.2 %), as well as to increase its low relative percentage of DHA (< 2 %) and limiting essential amino acids such as arginine, histidine, and lysine to be a feed that meets all the nutritional requirements of the tested aquatic organisms. We recommend evaluating this microalgae in ingestion and digestibility trials, safety tests, and the formulation of balanced diets with other food sources that complement its deficiencies.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the PpR Management and Development of Aquaculture (DGIA Imarpe) for funding this research project. Likewise, we would like to thank the valuable support of colleagues from the Germplasm Bank of Aquatic Organisms (Imarpe) who assisted during strain collection and materials sterilization for the cultures.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Araújo, J., Candeias-Mendes, A., Monteiro, I., Teixeira, D., Soares, F. and Pousão-Ferreira, P. 2020. The use of diatom Skeletonema costatum on aquaculture produced purple sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larvae and post-larvae diet. Aquaculture, 51: 2545–2554. https://doi.org/10.1111/are.14597
- Arellana, C., Becerra, N., Jara, M., La Torre, M. I. y Yucra, H. 2006. Fitoplancton de la Playa Los Pescadores, Chorrillos, Lima, Perú, invierno 2005. Biologist (Lima), 4 (2): 9-11. http://dx.doi.org/10.24039/rtb200642563
- Baldisserotto, C., Sabia, A., Ferroni, L. y Pancaldi, S. 2019. Biological aspects and biotechnological potential of marine diatoms in relation to different light regimens. World J. Microbiol. Biotechnol., 1-9. https://doi.org/10.1007/s11274-019-2607-z
- Banerjee, S., Ee-Hew, W., Khatoon, H., Shariff, M. y Yusuf, F.M. 2011. Chaetoceros calcitrans and Nannochloropsis oculata cultured outdoors and under laboratory conditions. Afr. J. Biotechnol., 10: 1375–1383.
- Bastos, C. R.V., Maia, I. B, Pereira, H., Navalho, J. y Varela, J. C. S. 2022. Optimization of biomass production and nutritional value of two marine diatoms (Bacillariophyceae), *Skeletonema costatum* and *Chaetoceros calcitrans*. Biology, 11: 594. https://doi.org/10.3390/biology11040594
- Baylón, M., Advíncula, O., Loyola, O., Norabuena, A. y Hernández-Becerril, D. 2019. Variación espacial y temporal del fitoplancton con énfasis en las floraciones algales frente a La Playa de Pescadores Artesanales de Chorrillos, Lima, Perú. Ecol. Apl., 18 (2): 133-143. https://dx.doi.org/10.21704/rea.v18i2.1332
- Becker, E.W. (2013). Microalgae for Aquaculture: Nutritional Aspects. A. and Q. Hu (Eds). Handbook of microalgal culture. https://doi.org/10.1002/9781118567166. ch36
- Bhattacharjya, R., Marella, T. K., Tiwari, A., Saxena, A., Singh, P. K. y Mishra, B. 2020. Bioprospecting of marine diatoms *Thalassiosira*, *Skeletonema* and *Chaetoceros* for lipids and other value-added products. Bioresour. Technol., 1-9. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124073
- Bozart, A., Maier, U. G. y Zauner, S. 2009. Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. Appl. Microbiol. Biotechnol., 82: 195-201. https:// doi.org/10.1007/s00253-008-1804-8
- Brown, M. R. y Jeffrey, S. W. 1995. The amino acid and gross composition of marine diatoms potentially useful for mariculture. J. Appl. Phycol., 7: 521-527. https://doi.org/10.1007/BF00003938.
- Cordero-Esquivel, B., Voltolina, D. y Correa-Sandoval, F. 1993. The biochemical composition of two diatoms after different preservation techniques. Comp. Biochem. Physiol., 105B (2): 369-373.
- Cruz, N., Cruz, P. y Suárez, H. 2012. Characterization of the nutritional quality of the meat in some species of catfish: A review. Rev. Fac. Nal. Agr. 65(2): 6799-6709.
- Delgado, E., Sánchez, S., Chang, F., Bernales, A. y Jacobo, N. 2019. Cambios del fitoplancton en el mar peruano durante el verano 2017. Crucero 1703-04, BIC José Olaya y Luis Flores. ISSN 0458-7766. 34 (1): p. 61-79. https://revistas.imarpe.gob.pe
- Denis, E., Fresi, M.D., Lieberman, M.D., Thomas, J., Fahey III, M.D., John, M. y Daly, M.A.F., 1998. Immunonutrition: the role of arginine. Nutrition 14, 7-8.
- Díaz, A. H., Ramírez-Ayvar, A., Godínez-Siordia, D. y Gallo-García, C. 2006. Efecto del tamaño de las microalgas sobre la tasa de ingestión en larvas de *Artemia franciscana* (Kellog, 1906). Zootec. Trop., 24 (2): 193-203.
- d'Ippolito, G., Tucci, S., Cutignano, A., Romano, G., Cimino, G., Miralto, A. y Fontana, A. 2004. The role of complex lipids in the synthesis of bioactive aldehydes of the marine diatom *Skeletonema costatum*. Biochim. Biophys. Acta–Mol. Cell Biol. Lipids., 1686 (1-2): 100–107. https://doi.org/10.1016/j. bbalip.2004.09.002
- d'Ippolito, G., Sardo, A., Paris, D., Vella, F. M., Adelfi, M. G., Botte, P., Gallo, C. y Fontana, A. 2015. Potential of lipid metabolism in marine diatoms for biofuel production. Biotechnol. Biofuels., 8: 28. https://doi.org/10.1186/s13068-015-0212-4
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. y Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 350-356.
- Elyakoubi, M., Ouagajjou, Y., Benlahcen, R., Harzimi, M. B., Fal, S., Benhima, R., Idhalla, M., Errhif, A. y Elyakoubi, M. 2020. Isolation and characterization of potential microalgae strains from Moroccan coasts for their utilization as feed in shellfish hatcheries. AACL Bioflux. 13. 3754.
- Faidutti, P. 1992. Estado actual de la industria de alimentos balanceados para la acuicultura. En Calderón V., J. (Ed). Primer Congr. Ec. Acuic. FAO, Roma.
- Flores-Ramos, L., Ruiz-Soto, A., Oscanoa-Huaynate, A. I., y Cervantes-Gallegos, M. A. 2020. Extracción e identificación de lípidos polares de las microalgas *Nannochloropsis oceanica* y *Desmodesmus asymmetricus*. Rev. Colomb. Quim., 49 (2): 3–11.
- Gao, G., Wu, M., Fu, Q., Li, X. and Xu, J. A. 2019. Two-stage model with nitrogen and silicon limitation enhances lipid productivity and biodiesel features of the marine Bloom-forming diatom *Skeletonema costatum*. Bioresour. Technol., 289: 121717.

- García, J.A., Núñez, F.A., Chacón, O., Alfaro, R.H. y Espinosa, M.R. 2004. Calidad de canal y carne de trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss* Richardson, producida en el noroeste del Estado de Chihuahua. Hidrobiológica,14 (1): 19-26.
- Granum, E., S. Kirkvold and S. Myklestad. 2002. Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom Skeletonema costatum: Diel variations and effects of N depletion. Mar. Ecol. Progr. Ser., 242: 83-94.
- Guihéneuf, F., Mimouni, V., Ulmann, L. y Tremblin, G. 2008. Environmental factors affecting growth and omega 3 fatty acid composition in *Skeletonema* costatum. The influences of irradiance and carbon source. Diatom Res., 23: 93–103.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates: 26-60. In Smith, W.L. and M.H. Chanley M.H (Eds.) Culture of marine invertebrate animals. Plenum, New York.
- Hamid, S. N. I. N., Abdullah, M. F., Zakaria, Z., Yusof, S. J. H. M. y Abdullah, R. 2016. Formulation of fish feed with optimum protein-bound lysine for african catfish (*Clarias gariepinus*) Fingerlings, Proc. Engin., 148:361-369.
- Hernández, A. y Labbé, J. 2014. Microalgas, cultivos y beneficios. Rev. Biol. Mar. Oceanogr., 49 (2): 157-173. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001
- Hernández-Acevedo, H., Flores-Ramos, L. y Ruiz-Soto, A. 2019. Ácidos grasos en cepas de microalgas del Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos del Instituto del Mar del Perú (Imarpe). Rev. peru. Biol., 26 (3): 369-78. http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i3
- Hu, Q., Sommerfeld M., Jarvis E., Ghirardi M., Posewitz M., Seibert M. y Darzins A. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. Plant J., 54: 621–639.
- Ichihara, K., y Fukubayashi, Y. 2010. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. J. Lipid. Res. Mar, 51 (3): 635-40. http://dx.doi. org/10.1194/jlr.D001065. Epub 2009 Sep 16. PMID: 19759389; PMCID: PMC2817593.
- Imarpe, I. d. 2020. Manual para la producción de biomasa microalgal en condiciones de invernadero. Callao, Lima: Inf. Inst. Mar. Perú.
- Izquierdo, M. 2005. Essential fatty acid requirements in mediterranean fish species. Cah. Options Mediterr., 63: 91-102. 63.
- Kanazawa, A. 1983. Effects of dietary phospholipids on growth of the larval red sea bream and knife jaw. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., 32: 109-114.
- Kim, J. D. y Lall, S. 2000. Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquac., 187: 367-373. http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00322-7
- Kolar, K. 1992. Gravimetric Determination of moisture and ash in meat and meat products: NMKL Interlaboratory Study. J. AOAC Int., 1016-1022.
- Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Wiss, R., Harel, M., Behrens, P. y Tandler, A. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. Aquac., 193: 107-122. http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00479-8
- Leger, C., Gatesoupe, F.J., Metailler, R., Luquet, P. y Fremont, L. 1979. Effect of dietary fatty acids differing by chain lengths and omega-series on the growth and lipid composition of turbot *Scophthalmus maximus*. Comp. Biochem. Physiol., B64: 345–350.
- Lestari, D., Ekawati, A. y Maftuch, M. 2014. Dried *Skeletonema costatum* in feed formulation for the growth of vaname shrimp (*Litopenaeus vannamei*). J. Exp. Life Sci., 4: 45-49. http://dx.doi.org/10.21776/ub.jels.2014.004.02.04
- Lowry, O. H., Rosbrough, N. J., Farr, A. y Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 193: 256-275. http:// dx.doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6
- Maeda, H. 2015. Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy; a review. J. Oleo Sci., 64: 125-132. http://dx.doi.org/10.5650/jos.ess14226
- Martínez-Fernández E., Acosta-Salmón H. y Southgate P. 2006. The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*, L.) larvae. Aquaculture., 257: 491-503. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.022
- Medina-Reyna, C. y Cordero-Esquivel, B. 1998. Crecimiento y composición bioquímica de la diatomea *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, mantenida en cultivo estático con un medio comercial. Ciencia y Mar., II (6): 19-25. (ID: 5868).
- Moreno-Álvarez, M. J., Hernández, J. G., Rovero, R., Tablante, A. y Rangel, L. 2000. Alimentación de tilapia con raciones parciales de cáscara de naranja. Ciencia y Tecnología Alimentaria., 3 (1): 29-33.
- Munakata A, Aida K, Amano M, Ikuta K, Kitamura S, et al. 2000. Changes in histidine and anserine levels in hatchery-reared honmasu salmon part after release in a river. J. World Aquac. Soc. 31 (2): 274-278.

42 —

- Ochoa, N. y Tarazona, J. 2003. Variabilidad temporal de pequeña escala en el fitoplancton de la Bahía Independencia, Piso Perú. Rev. Peru. Biol., 10: 59-66. ISSN 1727-9933.
- Okaichi, T. 1974. Significance of amino acid composition of phytoplankton and suspensoid in marine biological production. Nippon Suisan Gakkaishi., 40 (5): 471–478. https://doi.org/10.2331/suisan.40.471
- Orozco, R., Quispe, A., Lorenzo, A. y Zamudio, M. 2017. Asociación de floraciones de algas nocivas de *Vibrio* spp. en áreas de pesca y acuicultura de bivalvos de moluscos en las bahías de Sechura y Pisco, Perú. Rev. peru. biol., 24 (1), 111-16. http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v24i1.13111
- Oser, B.L. 1959. An integrated essential amino acid index for predicting the biological value of proteins. In: Albanese AA (ed) Protein and Amino Acid Nutrition. Academic Press, Amsterdam, 281–295 p.
- Paasche, E. 1973. Silicon and the ecology of marine plankton diatoms. II. Silicate-uptake kinetics in five diatom species. Mar. Biol., 19: 262-269.
- Pacheco-Vega, J. M. y Sánchez-Saavedra, M. D. P. 2009. The biochemical composition of *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann Grown) with an agricultural fertilizer. JWAS, 40: 556-560. https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00276.x
- Parsons, T. R., Takahashi, M., y Hargrave, B. 1984. Biological Oceanographic Processes. 3a. Ed. Pergmon Press Ltd. Oxford, England, 330 pp.
- Pascual, F. P. 1984. Lecithin requirement of *Penaeus monodon* juveniles. Poster No.46; First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/ Shrimps, December 4–7, Iloilo, Philippines.
- Peñaflorida, V. D. 1989. An evaluation of indigenous protein sources as potential component in the diet formulation for tiger prawn, *Penaeus monodon*, using essential amino acid index (EAAI). Aquaculture, 83 (3-4): 319–330. https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90043-4
- Pineda-Quiroga, C. 2010. Determinación del requerimiento de lisina en la dieta de alevinos de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y su efecto en el desempeño productivo. Recuperado de: https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/450
- Pratiwy, F. M. y Pratiwi, D.Y. 2020. The potentiality of microalgae as a source of DHA and EPA for Aquaculture Feed: A Review. Int. J. Fish. Aquat. Stud., 8: 39–41.
- Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G. y Tredici, M.R. 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. Biotechnol. Bioeng., 102 (1): 100–112.
- Satoh, S., Izume, K. y Takuebi, T.1987. Availability to rainbow trout (Onchorhynchus masou) of zinc contained in various types of fish meals. Niooon Suisan Cakkaishi, 53: 1861-1866. ISSN: 0021-5392.
- Schmid, A. M. M., Borowitzka, M.A. y Volcani, B.E. 1981. Morphogenesis and biochemistry of diatom cell walls. In Cytomorphogenesis in Plants; Kiermayer, O., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. 63–97 p.
- Seiliez, I., Panserat, S., Corraze, G., Kaushik, S. y Bergot, P. 2003. Cloning and nutritional regulation of a 6-desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). Comp. Biochem. Physiol., 135: 449-460.
- Shearer, K., Maage, A., Opstvedt, J. y Mundheim, H. 1992. Effects of high-ash diets on growth, feed efficiency, and zinc status of juvenile Atlantic salmon (Salmo salar). Aquaculture. 106 (3–4):345-355. ISSN 0044-8486. https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90266-N
- Simpson, T.L. y Volcani, B.E. 1981. Genesis and biochemistry. En Simpson TL, Volcani BE (Eds.) Silicon and siliceous structures in biological systems. Springer. Nueva York, USA. 157-201 p.
- Tacón, A.G.J. 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp-A training manual. 1. The essential nutrients. FAO Field Doc., 117 p.
- Van Houcke, J., Medina, I., Maehre, H.K., Cornet, J., Cardinal, M., Linssen, J. y Luten, J. 2017. The effect of algae diets Skeletonema costatum and Rhodomonas baltica on the biochemical composition and sensory characteristics of Pacific cupped oysters Crassostrea gigas during land-based refinement. Food Res. Int., 100: 151–160.
- Vásquez-Suárez, A., Guevara, M., González, M., Lemus, N. y Arredondo-Vega, B. 2010. Crecimiento y composición bioquímica de Skeletonema costatum (Greville, 1866) Cleve, 1979 (Heterokontophyta-Bacillariophyceae) en función de la irradiancia y del medio en cultivo. SABER. Revi. Multidisc. Cons. Invest. Univ. Oriente, 22(2): 149-59. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739444006
- Velasco, L. A., Carrera, S. y Barros, J. 2016. Isolation, culture and evaluation of *Chaetoceros muelleri* from the Caribbean as food for the native scallops, *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. Lat. Am. J. Aquat. Res., 44(3): 557-568. http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718 560X2016000300014&lng=es&tlng=en

Wade, M. A. and H.N. Tucker. 1998. Antioxidant characteristics of L-histidine. J. Nutrit. Biochem., 9 (6): 308-315.

43

- Welladsen, H., Kent, M., Mangott, A. y Li, Y. 2014. Shelf-life assessment of microalgae concentrates: Effect of cold preservation on microalgal nutrition profiles. Aquaculture, 430: 241-24.
- Xie F, Zeng W, Zhou Q., Wang, H., Wang, T., Zheng, C. y Wang, Y. 2012. Dietary lysine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 358-359: 116–121. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.06.027
- Zafra-Trelles, A. M., Díaz -Barboza, M. E., Dávila-Gil, F. A., Bopp-Vidal, G. M., Vela-Alva, K. A., López-Espinoza, M. B., *et al.* 2017. Cultivo de microalgas marinas potenciales para la acuicultura del litoral entre Puerto Salaverry y Puerto Chicama, La Libertad, Perú. Arnaldoa, 24 (2): 567-82. http://dx.doi. org/10.22497/arnaldoa.242.24209

RECIBIDO / RECEIVED: 10/09/2022

ACEPTADO / ACCEPTED: 16/06/2023



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras Bulletin of Marine and Coastal Research 53 (1), 45-64

Diversidad de sifonóforos en Colombia (Cnidaria: Hydrozoa): lista actualizada

Diversity of siphonophores in Colombia (Cnidaria: Hydrozoa): updated checklist

Cristina Cedeño - Posso¹*, Fernando Dorado - Roncancio¹, Oscar Martínez - Ramírez² v Johanna Medellín - Mora^{2,3} D 0000 - 0001 - 8622 - 2947 D 0000 - 0002 - 0321 - 5416 D 0000 - 0000 - 0000 - 0000 D 0000 - 0003 - 4864 - 1694

1. Programa de Biodiversidad y Ecosistemas Marinos, Marine and Coastal Research Institute - Invemar. Calle 25 No. 2 - 55, Playa Salguero, Santa Marta D.T.C.H, Colombia. cristina.cedeno@invemar.org.co*, edgar.dorado@invemar.org.co

2. Ecoreef Ltda., Calle 174A No. 49B - 46, Bogotá, Colombia. osmaraz@gmail.com

3. Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales, Universidad de Valparaíso, Chile. johanna.medellin@uv.cl

* Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

na lista actualizada de las especies de sifonóforos de Colombia fue compilada a partir de registros en tesis publicadas e inéditas, e informes técnicos finales de proyectos del Invemar. El inventario más reciente publicado para las aguas marinas sudamericanas contiene algunos de los registros, pero deja fuera otros que se incluyen en este documento. Existe registro de 63 especies de sifonóforos en aguas marinas colombianas, 45 en el Mar Caribe y 46 en el Océano Pacífico oriental, de las familias Abylidae (9 especies), Diphyidae (30 especies), Hippopodiidae (5 especies), Prayidae (4 especies), Rhizophysidae (3 especies), Physaliidae (1 especie), Agalmatidae (9 especies), Apolemiidae (1 especie) y Physophoridae (1 especie).

PALABRAS CLAVE: Mar Caribe, Océano Pacifico, Calycophorae, Cystonectae, Physonectae

ABSTRACT

n updated list of Colombian siphonophore species was compiled from records in published and unpublished theses and final technical reports of Invemar projects. The most recent inventory published for South American marine waters contains some of the records, but leaves out others that are included in this document. There are records of 63 species of siphonophores in Colombian marine waters, 45 in the Caribbean Sea and 46 in the eastern Pacific Ocean, from the families Abylidae (9 species), Diphyidae (30 species), Hippopodiidae (5 species), Pravidae (4 species), Rhizophysidae (3 species), Physaliidae (1 species), Agalmatidae (9 species), Apolemiidae (1 species) and Physophoridae (1 species).

KEYWORDS: Caribbean Sea, Pacific Ocean, Calycophorae, Cystonectae, Physonectae.

INTRODUCCIÓN

Los sifonóforos son hidrozoos pelágicos, complejos coloniales y polimórficos que se componen actualmente de 190 especies válidas (Schuchert, 2022). Habitan principalmente las aguas oceánicas; unos pocos representantes neríticos han sido registrados, y solo la familia Rhodaliidae es epibentónica. Algunas especies pequeñas se limitan a las zonas epipelágicas y otras a las batipelágicas, lo cual las hace posibles indicadores de masas de agua (Pugh, 1999; Palma and Silva, 2006; Dunn *et al.*, 2005a; Mapstone, 2014).

Los sifonóforos son de gran importancia ecológica y contribuyen significativamente (~25 % de la masa pelágica total) a los enlaces tróficos en el mar profundo (Robison, 2004; Mapstone, 2014); su abundancia, así como la de otros cnidarios planctónicos, puede afectar las poblaciones de copépodos mediante depredación, reduciendo la cantidad de comida disponible para las especies de peces de importancia económica (Pugh, 1999; Pagès *et al.*, 2001).

Los cuerpos de los sifonóforos tienen tres partes: el neumatóforo (flotador), el nectosoma, que lleva los nectóforos de propulsión, y el sifosoma, que lleva los gonóforos, gastrozoides y palpos. El orden se subdivide en tres subórdenes, Cystonectae, Physonectae y Calycophorae, dependiendo de la presencia o ausencia de algunas de estas partes (Dunn et al., 2005a; Mapstone, 2014) (Fig. 1). Los sifonóforos son difíciles de recolectar; sus cuerpos son extremadamente frágiles y muchas especies solo se encuentran en el mar profundo (Dunn et al., 2005b; Haddock et al., 2005). Durante la recolección de plancton por arrastre, la red despedaza sus cuerpos alargados, por lo que la identificación de este grupo se basa principalmente en partes del cuerpo de la colonia poligástrica (nectóforos, brácteas o neumatóforos) o la etapa sexual de vida libre (eudoxia con gonóforos). Sin embargo, existen casos de malinterpretaciones debido a que se identifica cada parte del cuerpo como un organismo distinto.

La mayoría de los sifonóforos tienen distribuciones geográficas cosmopolitas. No obstante, hay especies que solo se han encontrado en una única localidad y otras que están limitadas a rangos latitudinales específicos (Alvariño, 1971; Mapstone, 2014). El estudio de los sifonóforos es bastante escaso en Colombia porque hay pocos investigadores trabajando en este grupo. Los registros de los sifonóforos están dispersos en literatura sin publicar y en algunas publicaciones que se enfocan en comunidades planctónicas

INTRODUCTION

Siphonophores are pelagic, complex colonial and polymorphic hydrozoans currently comprising 190 valid species (Schuchert, 2022). They mostly inhabit oceanic waters; few neritic representatives have been recorded and only the Family Rhodaliidae is epibenthic. Some small species are restricted to epipelagic zones, others to mesopelagic and bathypelagic areas, making them possible indicators of water masses (Pugh, 1999; Palma and Silva, 2006; Dunn *et al.*, 2005a; Mapstone, 2014).

Siphonophores have great ecological importance and make a significant contribution (~25 % of the total pelagic biomass) to the trophic links in the deep sea (Robison, 2004; Mapstone, 2014); their abundance, along with that of other planktonic enidarians, can affect copepod populations through predation, thus decreasing the amount of food available for economically important fish species (Pugh, 1999; Pagès *et al.*, 2001).

Siphonophore bodies have three parts: the pneumatophore (float), the nectosome which bears the propulsion nectophores and the siphosome, which bears the gonophores, gastrozooids and palpons; the order is subdivided into three sub - orders, Cystonecta, Physonectae and Calycophorae, depending on the presence or absence of some of these parts (Dunn et al., 2005a; Mapstone, 2014) (Fig. 1). They are difficult to collect; their bodies are extremely fragile and many are found only in the deep sea (Dunn et al., 2005b; Haddock et al., 2005). During a tow zooplankton collection, the net breaks the long - stemmed bodies of siphonophores into pieces, so the identification of this group is based mostly on body parts of the polygastric colony (nectophores, bracts or pneumatophores) or the free - living sexual stage (eudoxids with gonophores). However, there have been cases of misunderstanding due to the identification of each body part as a different organism.

Most siphonophores have cosmopolitan geographical distributions, however, there are species known only from a single locality and others that are restricted to specific latitudinal ranges (Alvariño, 1971; Mapstone, 2014). The study of the siphonophores is very limited in Colombia, because there are few researchers working with this group. Records of siphonophores are scattered in unpublished literature and in some publications focused on coastal planktonic communities (specifically zooplankton); they are overlooked or underestimated, identified only to order (Cepeda, 2007; Giraldo and Gutierrez, 2007; Martinez costeras (específicamente el zooplancton); son ignorados o subestimados, identificados únicamente a nivel de orden (Cepeda, 2007; Giraldo and Gutierrez, 2007; Martinez *et al.*, 2007; Giraldo *et al.*, 2014; Contreras - Vega *et al.*, 2021). Por tanto, poco se sabe sobre su taxonomía, distribución vertical y horizontal, hábitos alimentarios y abundancia. *et al.*, 2007; Giraldo *et al.*, 2014; Contreras - Vega *et al.*, 2021). Therefore, little is known about their taxonomy, horizontal and vertical distribution, feeding habits and abundance.



Figura 1. Fotografías de representantes de tres subórdenes de sifonóforos tomadas *in situ* y en el laboratorio. **(A)** Calycophorae, *Abylopsis tetragona*, dos nectóforos entrelazados en la etapa poligástrica (foto: Gil, L. 2022 - Océano Pacífico); vista frontal y lateral del nectóforo anterior y vista frontal y lateral de la fase eudoxia (fotos: Dorado - Roncancio, 2014 y 2015 - Mar Caribe). **(B)** Cystonectae, *Physalia physalis* (foto: Londoño, E. 2010 - Océano Pacífico); **(C)** Physonectae, *Agalma okenii* (foto: Andrés Rojas, 2019 - Mar Caribe). Etiquetas: go = gonóforo; gz = gastrozooide; ne = nectóforo (campana de natación); ant_ne = nectóforo anterior; post_ne = nectóforo posterior; pn - neumatóforo (flotador); t - tentáculo.

Figure 1. Photographs of representatives of the three sub - orders of siphonophores taken *in situ* and in the laboratory. (A) Calycophorae, *Abylopsis tetragona*, two nectophores locked together in the polygastric stage (Photo: Gil, L. 2022 - Pacific Ocean); anterior nectophore frontal and lateral view and eudoxia phase frontal and lateral view (Photos: Dorado - Roncancio. 2014 and 2015 - Caribbean Sea). (B) Cystonecta, *Physalia physalis* (Photo: Londoño, E. 2010 - Pacific Ocean); (C) Physonectae, *Agalma okenii* (Photo: Andres Rojas, 2019 - Caribbean Sea). Labels: go = gonophore; gz = gastrozooid; ne = nectophore (swimming bell); ant_ne = anterior nectophore; post_ne = posterior nectophore; pn - pneumatophore (float); t - tentacle.

A manera de contribución al inventario nacional de diversidad marina en Colombia, esta lista de especies de sifonóforos registradas en el Mar Caribe y el Océano Pacífico de Colombia se basa en información secundaria y en aquella proveniente de las campañas oceanográficas que se llevaron a cabo en el marco de los convenios entre el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andréis (Invemar) y la Agencia Nacional de Hidrocarburos (ANH). As a contribution to the national inventory of marine diversity in Colombia, the present list of siphonophore species recorded in the Colombian Caribbean Sea and Pacific Ocean is based on secondary information and from the oceanographic campaigns carried out in the framework of agreements between Marine and Coastal Research Institute "Jose Benito Vives de Andréis" (Invemar) and the National Hydrocarbons Agency (ANH).

ÁREA DE ESTUDIO

Colombia es el único país de Sudamérica que tiene costas en el Océano Pacífico y el Mar Caribe. Alrededor del 44.86 % de su territorio nacional se compone de áreas marítimas e insulares (Fig. 2). El Mar Caribe colombiano contiene las aguas oceánicas territoriales más allá de la plataforma continental y llega hasta la Zona Económica Exclusiva, donde las profundidades están entre 130 y 4200 m. Está rodeado por Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Honduras, Jamaica, Haití, República Dominicana y Venezuela, incluyendo las islas de San Andrés y Providencia y las islas cayo en el Mar Caribe occidental (Albuquerque, Cayo de Este, Roncador, Serrana, Quitasueño, Serranilla y Bajo Nuevo). El Pacífico colombiano incluye las aguas de la línea de la costa entre las fronteras marítimas de Costa Rica, Panamá y Ecuador y el límite exterior de la Zona Económica Exclusiva (ZEE), incluyendo las islas de Malpelo, Gorgona y Gorgonilla, con profundidades que alcanzan los 4000 m.

STUDY AREA

Colombia is the only country in South America with coasts on the Pacific Ocean and Caribbean sea; about 44.86 % of its national territory is composed of maritime and insular areas (Fig. 2). The Colombian Caribbean Sea comprises the territorial oceanic waters beyond the continental shelf and reaches the Exclusive Economic Zone, where depths range from 130 m to 4200 m; it is bordered by Panama, Costa Rica, Nicaragua, Honduras, Jamaica, Haiti, Dominican Republic and Venezuela, including San Andrés and Providencia Islands and the Key Islands located in the western Caribbean Sea (Albuquerque, Cayo de Este, Roncador, Serrana, Quitasueño, Serranilla and Bajo Nuevo). The Colombian Pacific includes the waters from the coastline between the maritime borders of Costa Rica, Panama and Ecuador; to the outer limit of the Exclusive Economic Zone (EEZ) including the islands of Malpelo, Gorgona and Gorgonilla, with depths reaching 4000m.



Figura 2. Mapa del espacio marítimo colombiano y ubicación de las estaciones y bloques de exploración donde se realizaron arrastres de plancton en el marco de los proyectos realizados por Invemar entre 2013 y 2022. Mapa elaborado por el laboratorio de sistemas de información LabSIS de Invemar.

Figure 2. Map of the Colombian maritime space and location of the stations and exploration blocks where plankton trawls were conducted in the framework of the projects carried out by Invemar between 2013 and 2022. Map elaborated by Invemar's LabSIS information systems laboratory.

MÉTODOS

Se realizó una revisión de los registros de géneros y especies de sifonóforos en el Mar Caribe colombiano y el Océano Pacífico oriental. Los registros previos de sifonóforos en aguas de Colombia, incluida la literatura gris, ya han sido inventariados en el trabajo de Oliveira *et al.* (2016), quienes incluyeron datos del Mar Caribe (Alvariño, 1968; Moncaleano and Niño, 1976; Domínguez, 2002); a los metadatos de Dominguez (2002), a los que se les puede acceder a través del Ocean Biodiversity Information System (OBIS) y la Global Biodiversity Information Facility (GBIF) (Montoya - Cadavid y Bohórquez, 2022); y del Océano Pacífico (Alvariño, 1971; Alvariño, 1976; Cely y Chiquillo, 1993) (Tabla 1).

Los nuevos datos del Mar Caribe que contribuyen a la lista provienen de las siguientes fuentes: Michel y Foyo, 1976; Renteria, 1977; Giraldo y Villalobos, 1983; López y Mesa, 1984; Lozano, 1991; Cañón et al., 2005; Montoya et al., 2008; Medellín - Mora y Martínez - Ramírez, 2010; Durán - Fuentes et al., 2018; Alarcón et al., 2020; Cedeño - Posso y Dorado - Roncancio, 2023. Teniendo en cuenta que los estudios son escasos, se incluyeron registros de siete tesis de pregrado y maestría como posibles observaciones de las especies en el área. Sin embargo, como son registros que no cuentan con un voucher en un museo para su confirmación, deben utilizarse con cautela (Del Real - Martínez, 1970; Serrano y Larrahondo, 1981; Uribe y Calero, 2006; Martínez - Barragán, 2007; Barón, 2007; Dorado - Roncancio, 2015; Hernández - Rivera, 2019). Los datos para el Océano Pacífico oriental son de Uribe - Palomino et al. (2018), donde se recolectaron muestras en 35 estaciones oceanográficas y biológicas ubicadas entre 77 - 84°W y 2 - 6°N, como parte del Estudio Regional del Fenómeno del Niño (EFREN - Colombia) entre 2001 y 2004 (Tabla 1). La lista se complementa con las ocurrencias de sifonóforos encontradas en OBIS y GBIF. Los siguientes conjuntos de datos están disponibles para el Caribe: Criales - Hernández et al. 2021; Benavides - Serrato, 2022; Caicedo - Herrera, 2022; iNaturalist, 2022. Para el Pacífico colombiano, está Johnson (2020).

La lista también incluye los resultados de 11 proyectos de investigación realizados por Invemar entre 2013 y 2022. Nueve proyectos estaban enmarcados en los convenios entre Invemar y la ANH en siete áreas de exploración de hidrocarburos: GUA OFF 3 [2013], COL 4 [2014], COL 5 [2014], COL 2 [2015], COL 1 [2016], COL 3 [2017], COL 10 [2018], GUA OFF 13 [2020] y CHO OFF 5 [2022] (Fig.2) (Garrido - Linares *et al.*, 2014a; Garrido - Linares *et al.*, 2014b; Vides y Alonso, 2016; Ayala *et al.*, 2017; Ayala *et al.*, 2018;

METHODS

A review was carried out of the records of genera and species of siphonophores in the Colombian Caribbean Sea and eastern Pacific Ocean. Previous records of Colombian siphonophores, including grey literature, are already inventoried in the work of Oliveira *et al.*, 2016, who included data from the Caribbean Sea (Alvariño, 1968; Moncaleano and Niño, 1976; Dominguez, 2002); metadata from Dominguez (2002) can also be accessed in the Ocean Biodiversity Information System (OBIS) and Global Biodiversity Information Facility (GBIF) (Montoya - Cadavid and Bohórquez. 2022), and from the Pacific Ocean (Alvariño, 1971; Alvariño, 1976; Cely and Chiquillo, 1993) (Table 1).

The new data from the Caribbean Sea that contribute to the list come from: Michel and Foyo, 1976; Renteria, 1977; Giraldo and Villalobos, 1983; López and Mesa, 1984; Lozano, 1991; Cañón et al., 2005; Montoya et al., 2008; Medellín - Mora and Martínez - Ramírez, 2010; Durán - Fuentes et al., 2018; Alarcón et al., 2020; Cedeño - Posso and Dorado - Roncancio, 2023. Considering that studies are scarce, records from seven undergraduate and master's theses were included as possible observations of the species in the area, however, as they are records that do not have a voucher in a museum to be confirmed, they should be used with caution. (Del Real - Martínez, 1970; Serrano and Larrahondo, 1981; Uribe and Calero, 2006; Martínez - Barragán, 2007; Barón, 2007; Dorado - Roncancio, 2015; Hernández - Rivera, 2019). Data for the eastern Pacific Ocean are from Uribe - Palomino et al., 2018. in which samples were collected at 35 oceanographic and biological stations, located within 77 - 84°W and 2 - 6°N, as part of the Regional Study of the El Niño Phenomenon (ERFEN - Colombia) between 2001 and 2004 (Table 1). The list is complemented with the occurrences of siphonophores found in OBIS and GBIF. The following datasets are available for the Caribbean: Criales - Hernández et al., (2021), Benavides - Serrato (2022), Caicedo - Herrera (2022), iNaturalist, 2022 and for the Colombian Pacific: Johnson (2020).

Also included in the list are the results of 11 research projects carried out by Invemar between the years 2013 and 2022. Nine projects were in the framework of the agreements between Invemar and the National Hydrocarbons Agency (ANH) in seven hydrocarbon exploration areas: GUA OFF 3 [2013], COL 4 [2014], COL 5 [2014], COL 2 [2015], COL 1 [2016], COL 3 [2017], COL 10 [2018], GUA OFF 13 [2020] and CHO OFF 5 [2022] (Fig.2) (Garrido - Linares *et al.*, 2014a; Garrido - Linares *et al.*, 2014b; Vides and Alonso,

Vides y Alonso, 2021; Ayala - Galván et al., 2022). Los otros dos proyectos con datos de sifonóforos fueron realizados en la Reserva de Biósfera Seaflower, como parte de las Expediciones Científicas Seaflower de 2016 y 2017 (Isla Cayo Serrana e Isla Cayo Serranilla, respectivamente) (Fig. 2; Tabla 1) organizadas por la Comisión Colombiana del Océano (Invemar, Coralina, UniAndes y UPB, 2017; Ricaurte - Villota et al., 2018). Estos proyectos emplearon arrastres verticales de plancton en aguas profundas (red Nansen de 200 µm, 0.6 m de diámetro de la boca, y flujómetro Hydrobios) a cuatro rangos de profundidad diferentes (0 - 60 m, 70 - 140 m, 170 - 340 m, 540 - 1000 m) utilizando un mecanismo de doble disparo GeneralOceanics. Las muestras se narcotizaron in situ con cloruro de magnesio al 10 %, fijadas con formaldehído y neutralizadas con tetraborato de sodio (borax), dejando la solución al 5 %. Los sifonóforos fueron separados, identificados (Totton, 1965; Pugh, 1999; Licandro et al., 2017) y depositados en el Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) de Invemar. Los metadatos están disponibles en el Sistema de Información de Biodiversidad Marina (SiBM - OBIS Colombia), OBIS y GBIF (Dorado - Roncancio, 2017; Diaz - Hernandez et al., 2021). 75 % de los registros fueron de muestras epipelágicas; solo el 25 % para los últimos ocho años se basan en muestras epi - y mesopelágicas de zooplancton. Esta información se utilizó para generar una lista taxonómica comparativa con el número de especies presentes en los mares colombianos, su distribución espacial y sus respectivas referencias.

Tabla 1. Lista de manuscritos revisados sobre zooplancton gelatinoso y
sifonóforos en las aguas colombianas del Caribe y el Pacífico, incluyendo
sus métodos y ubicación geográfica.

2016; Ayala et al., 2017; Ayala et al., 2018; Vides and Alonso, 2021; Avala - Galván et al., 2022). The other two projects with siphonophore data were done in the Seaflower Biosphere Reserve, as part of the Seaflower Scientific Expeditions 2016 and 2017 (Serrana Key Island and Serranilla Key Island, respectively) (Fig. 2; Table 1), organized by the Comisión Colombiana del Océano (Invemar, Coralina, UniAndes and UPB, 2017; Ricaurte - Villota et al., 2018). These projects performed vertical zooplankton deep - water trawls (Nansen net of 200 µm, 0.6 m mouth diameter and Hydrobios flowmeter) at four different depth ranges (0 - 60 m, 70 - 140 m, 170 - 340 m, 540 - 1000 m) using a GeneralOceanics double trip mechanism. Samples were narcotized in situ with 10 % magnesium chloride, fixed with formaldehyde and neutralized with sodium tetraborate (borax), leaving the solution at a concentration of 5 %. The siphonophores were separated, identified (Totton, 1965; Pugh, 1999; Licandro et al., 2017) and deposited in the Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) of Invemar; metadata are available in the Marine Biodiversity Information System (SiBM - OBIS Colombia), OBIS and GBIF (Dorado - Roncancio, 2017; Diaz - Hernandez et al., 2021). 75 % of the records were from epipelagic samples; only 25 % in the last 8 years have been based on epi - and mesopelagic samples of zooplankton. This information was used to generate a comparative taxonomic list with the number of species present in the Colombian seas, their spatial distribution and their respective references.

 Table 1. List of manuscripts reviewed on gelatinous zooplankton and siphonophores in Caribbean and Pacific Colombian waters, their methods and geographical location.

Referencias / References	Caribe / Caribbean	Pacífico / Pacífic	Método / Method	Área - Bloque de exploración / Area - Exploration block
Alarcón et al. (2020)	Х		Avistamiento / Sighting	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore
Ayala <i>et al.</i> (2017)	Х		Red Nansen / Nansen net (200 µm)	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore (COL 3)
Ayala <i>et al.</i> (2018)	Х		Red Nansen / Nansen net (200 $\mu m)$	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore (COL 10)
Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)		Х	Red Nansen / Nansen net (200 $\mu m)$	Océano Pacífico - mar adentro / Pacific Ocean - offshore (CHO OFF 5, Valle del Cauca)
Benavides - Serrato (2022)	Х		Dispositivo de recolección para zooplancton mesofótico / Collection device for mesophotic zooplankton	Mar Caribe - Parque Nacional Natural Corales de Profundidad / Caribbean Sea - Corales de Profundidad National Natural Park
Caicedo - Herrera (2022)	Х		Avistamiento / Sighting	Mar Caribe - Isla Cayo Serrana / Caribbean Sea - Serrana Key Island
Cañón <i>et al.</i> (2005)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net (200 μm)	Mar Caribe - Bahía de Cartagena / Caribbean Sea - Cartagena Bay

Referencias / References	Caribe / Caribbean	Pacífico / Pacífic	Método / Method	Área - Bloque de exploración / Area - Exploration block
Cedeño - Posso and Dorado - Roncancio (2023)	х		Red Nansen / Nansen net (200 µm)	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore (GUA OFF 3, COL 1, COL 2, COL 3, COL 4; COL 10)
Criales - Hernández <i>et al.</i> (2021)	Х		Dispositivo de recolección para zooplancton mesofótico / Collection device for mesophotic zooplankton	Mar Caribe - Parque Nacional Natural Corales de Profundidad / Caribbean Sea - Corales de Profundidad National Natural Park
Dorado - Roncancio (2015)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net (200 µm)	Mar Caribe - Bahía de Cartagena, Bolívar / Caribbean Sea - Cartagena Bay, Bolívar
Durán - Fuentes <i>et al.</i> (2018)	Х		Avistamiento / Sighting	Mar Caribe - Atlántico / Caribbean Sea - Atlántico
Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a)	Х		Red Nansen / Nansen net (200 μ m)	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore (GUA OFF 3)
Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014b)	Х		Red Nansen / Nansen net (200 $\mu m)$	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore (COL 4 y COL 5)
Giraldo and Villalobos (1983)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net	Mar Caribe - San Andrés y Providencia / Caribbean Sea - San Andrés and Providencia
Hernández - Rivera (2019)	Х		Red de plancton bongo / Bongo plankton net (200 μm)	Mar Caribe - Magdalena, La Guajira / Caribbean Sea - Magdalena, La Guajira -
iNaturalist (2022)	Х		Avistamiento / Sighting	Mar Caribe - Golfo de Urabá y Golfo de Morrosquillo / Caribbean Sea - Golfo de Urabá and Golfo de Morrosquillo
Invemar, Coralina, UniAndes and UPB (2017)	Х		Red Nansen / Nansen net (200 $\mu m)$	Mar Caribe - Isla Cayo Serrana / Caribbean Sea - Serrana Key Island
Johnson (2020)		Х	No hay datos / No data	Océano Pacífico - mar adentro / Pacific Ocean - offshore
Serrano and Larrahondo (1981)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net (335 µm)	Mar Caribe - Bahía de Cartagena, Bolívar / Caribbean Sea - Cartagena Bay, Bolívar
López and Mesa 1984)	Х		Red Neuston / Neuston net (500 μm)	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore
Lozano (1991)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net	Mar Caribe - Bahía de Gaira, Magdalena / Caribbean Sea - Gaira Bay, Magdalena
Martínez - Barragán (2007)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net (250 μm)	Mar Caribe - Islas Providencia y Santa Catalina / Caribbean Sea - Providencia and Santa Catalina Island
Michel and Foyo (1976)	Х		Red Discovery / Discovery net (100 $\mu m,$ 1.6 mm, 3.2 mm)	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore
Montoya et al. (2008)	Х		Botella Van Dorn - Agua de lastre / Van Dorn bottle - Ballast water	Santa Marta, Magdalena
Rentería (1977)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net	Mar Caribe - Ciénaga Grande de Santa Marta, Magdalena / Caribbean Sea - Ciénaga Grande de Santa Marta, Magdalena
Ricaurte - Villota <i>et al.</i> (2018)	Х		Red Nansen / Nansen net (200 µm)	Mar Caribe - Isla Cayo Serranilla / Caribbean Sea - Serranilla Key Island
Del Real - Martínez (1970)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net (1 mm)	Mar Caribe - entre Galerazamba y Santa Marta Caribbean Sea - Between Galerazamba and Santa Marta

Referencias / References	Caribe / Caribbean	Pacífico / Pacífic	Método / Method	Área - Bloque de exploración / Area - Exploration block
Uribe and Calero (2006)	Х		Botella Van Dorn - Agua de lastre / Van Dorn bottle - Ballast water	Mar Caribe - Santa Marta, Magdalena - Caribbean Sea - Santa Marta, Magdalena
Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)		Х	Red de plancton simple / Simple plankton net (200 µm)	Océano Pacífico - mar adentro / Pacific Ocean - offshore
Vides and Alonso (2016)	Х		Red Nansen / Nansen net (200 $\mu m)$	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore (COL 1 y COL 2)
Vides and Alonso (2021)	Х		Red Nansen / Nansen net (200 $\mu m)$	Mar Caribe - mar adentro, La Guajira / Caribbean Sea - offshore, La Guajira (GUA OFF 13)
Oliveira et al. (2016)		Los trabajos	de este artículo se listan más adelante	/ The works of this article are listed below
Alvariño (1968)	Х		No hay datos / No data	Mar Caribe - mar adentro / Caribbean Sea - offshore
Alvariño (1971)		Х	Red bongo, red Leavitt, red de media agua, red de arrastre de media agua Isaacs - Kidd / Bongo net, Leavitt net, mid - water net, Isaacs - Kidd midwater trawl	Océano Pacífico - mar adentro / Pacific Ocean - offshore
Alvariño (1976)		Х	No hay datos / No data	Océano Pacífico - mar adentro / Pacific Ocean - offshore
Moncaleano and Niño (1976)	Х		Redes de plancton simples / Simple plankton net (250 µm and 1250 µm)	Bahía de Cartagena, Bolívar / Cartagena Bay, Bolívar
Domínguez (2002)	Х		Red de plancton simple / Simple plankton net (300 µm)	Bahía de Gaira, Magdalena / Gaira Bay, Magdalena
Cely and Chiquillo (1993)		Х	Red de plancton simple / Simple plankton net	Océano Pacífico - mar adentro / Pacific Ocean - offshore

RESULTADOS

Se han registrado 63 especies de sifonóforos en las aguas marinas de Colombia, tal como se sintetiza en la Tabla 2. 50 se han identificado como especies únicas y 13 son morfotipos, para los cuales se asigna la identificación 'sp'. Esto incluye todos los registros previos, junto con aquellos provenientes de los proyectos de investigación aquí reportados. Los nombres que se utilizan en esta Tabla son los que actualmente se reconocen como válidos (Schuchert, 2022). Los sifonóforos están distribuidos en tres subórdenes principales, nueve familias y 26 géneros. El suborden Calycophorae presenta el mayor número de especies (48) (Fig. 3), y la familia Diphyidae tiene la mayor riqueza de géneros (7) y especies (30). El suborden Physonectae tiene 11 especies, y la familia Agalmatidae muestra la mayor riqueza de géneros (4) y especies (8). Por último, el suborden Cystonectae tiene cuatro especies, y la familia Rhizophysidae presenta la mayor riqueza de géneros (3) (Tabla 2).

RESULTS

There are 63 records of species of siphonophores in Colombian marine waters synthesized in Table 2; 50 are identified as unique species and 13 are morphotypes for which the identification is assigned as "sp.". They include all previous records together with those from the research projects reported here. The names used in this table are those currently recognized as valid (Schuchert, 2022). The siphonophores are arranged in the three main suborders, 9 families and 26 genera. Suborder Calycophorae presented the highest number of species (48) (Fig. 3); the family Diphyidae had the greatest richness of genera (seven) and species (30). Suborder Physonectae has 11 species; the family Agalmatidae showed the greatest richness of genera (four) and species (eight). Finally, Suborder Cystonectae has four species; the family Rhizophysidae had the greatest richness of genera (three) (Table 2).

Marine and Coastal Research Institute



A continuación, se presentan algunas anotaciones taxonómicas sobre las especies reportadas en la Tabla 2. Las especies registradas como morfotipos 'sp.' Para el Mar Caribe, tales como Bassia sp. y Enneagonum sp., reportadas por Del Real - Martinez (1970) v Serrano v Larrahondo (1981), se listan como Bassia bassensis y Enneagonum hyalinum, pues son géneros monotípicos. Es muy probable que Chelophyes sp., reportada por Del Real - Martinez (1970), sea Chelophyes appendiculata. La especie C. contorta, reportada para el Océano Pacífico, requiere confirmación porque probablemente sea una identificación errónea de C. appendiculata (Oliveira et al., 2016). Hay otro registro dudoso reportado por Domínguez (2002), Diphyes chamissonis, que requiere confirmación adicional (Oliveira et al., 2016). Cinco morfotipos de 'especies' del suborden Calycophorae, registradas únicamente en manuscritos sin publicar, requieren esfuerzos adicionales de identificación para llegar el nivel de especie (Abylopsis sp., Diphyes sp., Eudoxoides sp, Lensia sp., Muggiaea sp.). El fisonecto Halistemma sp., podría ser H. rubrum o H. striata según los registros, pero solo se recolectaron las brácteas, por lo que se requiere una revisión más profunda.

Aunque algunos de los registros se encontraban en bases de datos de acceso público como OBIS y GBIF, es necesario usar esta información con discreción, pues dichos registros no han sido identificados hasta el nivel más bajo (Criales - Hernandez *et al.*, 2021; Benavides - Serrato, 2022). Algunos casos, como lo es el del conjunto de datos publicados por el American Museum of Natural History (Johnson, 2020), tienen problemas como *country derived from coordinates* o *occurrence status inferred from individual count*'. Esta es información valiosa que requiere limpieza de datos e incluso ser revisada por pares y publicada como artículos de datos.

The following are some taxonomic annotations on the species reported in Table 2. Species reported for the Caribbean Sea as morphotype "sp.", like Bassia sp. and Enneagonum sp. reported by Del Real - Martinez (1970) and Serrano and Larrahondo (1981) were listed as Bassia bassensis and *Enneagonum hyalinum*, because they are monotypic genera. It is most probable that Chelophyes sp. reported by Del Real - Martinez (1970) is Chelophyes appendiculata; the species C. contorta reported for the Pacific Ocean needs confirmation, because it is probably a misidentification of C. appendiculata (Oliveira et al., 2016). There is another doubtful record reported by Domínguez (2002), Diphyes chamissonis; it is subject to further confirmation (Oliveira et al., 2016). Five morphotype 'species' from Suborder Calycophorae, recorded only in unpublished manuscripts, require further identification efforts to reach species level (Abylopsis sp., Diphyes sp., Eudoxoides sp, Lensia sp., *Muggiaea* sp.). The physonect *Halistemma* sp. could be *H*. rubrum or H. striata according to the records, but only the bracts were collected, so it needs more revision.

Although some of the records found were housed in public access databases such as OBIS and GBIF, it is necessary to use this information with discretion since they are not identified to the lowest level (Criales - Hernandez *et al.*, 2021; Benavides - Serrato, 2022); some cases, such as the dataset published by American Museum of Natural History (Johnson, 2020) has issues like: "Country derived from coordinates" or "Occurrence status inferred from individual count". It is valuable information that requires data cleaning and may also need to be peer reviewed and published like a data paper. La riqueza de especies varió entre el Mar Caribe y el Océano Pacífico oriental, si bien estas dos áreas comparten 24 especies. El Mar Caribe tiene 45 especies de sifonóforos, de las cuales 9 son exclusivas para este mar. Entretanto, el Océano Pacífico tiene 46 especies, de las cuales 18 son exclusivas. La distribución vertical de las especies muestra que 47 son epipelágicas, 11 son epi - mesopelágicas y cuatro son epi - batipelágicas (*Diphyes bojani, Vogtia serrata, Agalma okenii* y *Lychnagalma utricularia*). Adicionalmente, *Physalia physalis* es pleustónica. Species richness varied between the Caribbean Sea and the eastern Pacific Ocean, even though they share 24 species. The Caribbean Sea has 45 species of siphonophores; nine have only been collected there, while the Pacific Ocean has 46 species and 18 species have only been collected there. The vertical distribution of the species shows that 47 are epipelagic, 11 are epi - mesopelagic and four are epi - bathypelagic (*Diphyes bojani, Vogtia serrata, Agalma okenii* and *Lychnagalma utricularia*), and *Physalia physalis* that are pleustonic.

 Table 2. Lista taxonómica de especies de sifonóforos (Cnidaria: Hydrozoa)

 reportadas para las aguas marinas de Colombia con sus respectivas

 referencias. C: Mar Caribe; P: Océano Pacífico Oriental.

Table 2. Taxonomic list of the species of siphonophores (Cnidaria: Hydrozoa)reported for Colombian marine waters with their respective references. C:Caribbean Sea; P: Eastern Pacific Ocean.

Taxón / Taxon	C	Р	Publicado / Published	Sin publicar / Unpublished
Filo / Phylum Cnidaria Clase / Class Hydrozoa Subclase / Subclass Hydroidolina Orden / Order Siphonophorae				
Suborden / Suborder Calycophorae Leuckart, 1854				Ayala - Galván et al. (2022)
Familia / Family Abylidae L. Agassiz, 1862			Lozano (1991)	Hernández - Rivera (2019); Criales - Hernández <i>et al.</i> (2021)
Subfamilia / Subfamily Abylinae L. Agassiz, 1862				
Abyla Quoy and Gaimard, 1827				
<i>Abyla</i> sp.	х	х	Cañón <i>et al.</i> (2005)	Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a); Vides and Alonso (2016); Invemar, Coralina, UniAndes and UPB (2017); Ricaurte - Villota <i>et al.</i> (2018); Vides and Alonso (2021), Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)
Abyla haeckeli Lens and van Riemsdijk, 1908		Х	Oliveira et al. (2016)	
Ceratocymba Chun, 1888				
<i>Ceratocymba</i> sp.	Х		López and Mesa (1984); Lozano (1991)	Del Real - Martínez (1970)
Ceratocymba leuckartii (Huxley, 1859)	х	Х	Michel and Foyo (1976); López and Mesa (1984); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a); Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014b); Vides and Alonso (2021)
Subfamilia / Subfamily Abylopsinae Totton, 1954				
Abylopsis Chun, 1888				
<i>Abylopsis</i> sp.	Х			Del Real - Martínez (1970); Martínez - Barragán (2007); Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a); Vides and Alonso (2016); Criales - Hernández <i>et al.</i> (2021)
Abylopsis eschscholtzii (Huxley, 1859)	Х	Х	Michel and Foyo (1976); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Barón (2007); Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014b)

54

Taxón / Taxon	C	Р	Publicado / Published	Sin publicar / Unpublished
Abylopsis tetragona (Otto, 1823)	х	Х	Michel and Foyo (1976); Rentería (1977); Giraldo and Villalobos (1983); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016)	Barón (2007); Garrido - Linares et al. (2014a); Garrido - Linares et al. (2014b); Invemar, Coralina, UniAndes and UPB (2017); Ayala et al. (2017); Ricaurte - Villota et al. (2018); Ayala et al. (2018); Johnson (2020); Vides and Alonso (2021), Ayala - Galván et al. (2022)
Bassia L. Agassiz, 1862				
Bassia bassensis (Quoy and Gaimard, 1833)	Х	Х	Michel and Foyo (1976); Giraldo and Villalobos (1983); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Del Real - Martínez (1970); Serrano and Larrahondo (1981); Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014b); Invemar, Coralina, UniAndes and UPB (2017); Ricaurte - Villota <i>et al.</i> (2018)
Enneagonum Quoy and Gaimard, 1827				
Enneagonum hyalinum Quoy and Gaimard, 1827	Х	Х	Giraldo and Villalobos (1983); Oliveira <i>et al.</i> (2016)	Del Real - Martínez (1970)
Familia / Family Diphyidae Quoy and Gaimard 1827				Hernández - Rivera (2019); Criales - Hernández <i>et al.</i> (2021); Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)
Subfamilia / Subfamily Diphyinae Quoy and Gaimard	1827			
Chelophyes Totton, 1932				
Chelophyes appendiculata (Eschscholtz, 1829)	Х	Х	Michel and Foyo (1976); Giraldo and Villalobos (1983); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Del Real - Martínez (1970); Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a); Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014b); Invemar, Coralina, UniAndes and UPB (2017); Ayala <i>et al.</i> (2017); Ricaurte - Villota <i>et al.</i> (2018); Ayala <i>et al.</i> (2018); Vides and Alonso (2021)
Chelophyes contorta (Lens and van Riemsdijk, 1908)	х	Х	López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	
Dimophyes Moser, 1925				
Dimophyes arctica (Chun, 1897)	Х		López and Mesa (1984)	
Diphyes Cuvier, 1817				
Diphyes sp.	х			Del Real - Martínez (1970); Serrano and Larrahondo (1981); Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)
Diphyes bojani (Eschscholtz, 1825)	Х	Х	Michel and Foyo (1976); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Martínez - Barragán (2007); Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a); Invemar, Coralina, UniAndes and UPB (2017); Ricaurte - Villota <i>et al.</i> (2018); Ayala <i>et al.</i> (2018); Vides and Alonso (2021), Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)
Diphyes chamissonis Huxley 1859	Х		López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016)	
Diphyes dispar Chamisso and Eysenhardt, 1821	Х	X	Michel and Foyo (1976); Giraldo and Villalobos (1983); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Garrido - Linares <i>et a</i> l. (2014b); Ayala <i>et al.</i> (2018); Vides and Alonso (2021); Criales - Hernández <i>et al.</i> (2021)
Eudoxoides Huxley, 1859				
Eudoxoides sp.	Х	X		Del Real - Martínez (1970); Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)

Taxón / Taxon	C	Р	Publicado / Published	Sin publicar / Unpublished
Eudoxoides mitra (Huxley, 1859)	х	х	Michel and Foyo (1976); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Barón (2007); Garrido - Linares et al. (2014a); Garrido - Linares et al. (2014b); Invemar, Coralina, UniAndes and UPB (2017); Ayala et al. (2017); Ricaurte - Villota et al. (2018); Ayala et al. (2018); Vides and Alonso (2021), Ayala - Galván et al. (2022)
Eudoxoides spiralis (Bigelow, 1911)	Х	Х	Michel and Foyo (1976); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Invemar, Coralina, UniAndes and UPB (2017); Ayala <i>et al.</i> (2017); Ayala <i>et al.</i> (2018)
Lensia Totton, 1932				
<i>Lensia</i> sp.	X	X	López and Mesa (1984); Cañón <i>et al.</i> (2005);	Del Real - Martínez (1970); Serrano and Larrahondo (1981); Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014b); Dorado - Roncancio (2015); Vides and Alonso (2016); Ayala <i>et al.</i> (2017); Ayala <i>et al.</i> (2018); Vides and Alonso (2021), Criales - Hernández <i>et al.</i> (2021); Benavides Serrato (2022); Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)
Lensia campanella (Moser, 1917)	Х	х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	
Lensia conoidea (Keferstein and Ehlers, 1860)	Х		Giraldo and Villalobos (1983); Rentería (1977); Oliveira <i>et al.</i> (2016)	
Lensia subtilis (Chun, 1886)	Х	Х	Oliveira et al. (2016)	Criales - Hernández et al. (2021)
Lensia fowleri (Bigelow, 1911)	Х		Oliveira et al. (2016)	
Lensia multicristata (Moser, 1925)	Х	Х	Oliveira et al. (2016)	
Lensia challengeri Totton, 1954		Х	Oliveira et al. (2016)	
Lensia hardy Totton, 1941		Х	Oliveira et al. (2016)	
Lensia leloupi Totton, 1954		Х	Oliveira et al. (2016)	
Lensia subtiloides (Lens and van Riemsdijk, 1908)	Х	х	López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016)	
Lensia tottoni Daniel and Daniel, 1963	Х		López and Mesa (1984)	
Muggiaea Busch, 1851				
<i>Muggiaea</i> sp.	Х			Del Real - Martínez (1970); Serrano and Larrahondo (1981)
Muggiaea atlantica Cunningham, 1892	Х	х	Giraldo and Villalobos (1983); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	
Muggiaea kochii (Will, 1844)	Х		Giraldo and Villalobos (1983); López and Mesa (1984); Oliveira <i>et al.</i> (2016)	
Subfamilia / Subfamily Sulculeolariinae Totton, 1954				
Sulculeolaria Blainville, 1830				
Sulculeolaria sp.	Х	Х	Lozano (1991); Uribe - Palomino et al. (2018)	Del Real - Martínez (1970)
Sulculeolaria biloba (Sars, 1846)		Х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	
Sulculeolaria chuni (Lens and van Riemsdijk, 1908)		Х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> ,2018	

Taxón / Taxon	C	Р	Publicado / Published	Sin publicar / Unpublished
Sulculeolaria monoica (Chun, 1888)		Х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.,</i> (2018)	
Sulculeolaria quadrivalvis Blainville, 1830		Х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	Johnson (2020)
Sulculeolaria turgida (Gegenbaur, 1854)		Х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	
Familia / Family Hippopodiidae Kölliker, 1853				Garrido - Linares et al. (2014b)
Vogtia Kölliker, 1853				
<i>Vogtia</i> sp.	Х		Giraldo and Villalobos (1983); Rentería (1977)	
Vogtia pentacantha Kölliker, 1853	х	Х	López and Mesa (1984); Oliveira et al. (2016)	
Vogtia serrata (Moser, 1915)	Х		López and Mesa (1984)	
Vogtia spinosa Keferstein and Ehlers, 1861		Х	Oliveira et al. (2016)	
Hippopodius Quoy and Gaymard, 1827				
Hippopodius hippopus (Forsskål, 1776)	Х	X	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018); Cedeño - Posso and Dorado - Roncancio (2023)	Johnson (2020); Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)
Familia / Family Prayidae Kölliker, 1853				
Subfamilia / Subfamily Amphicaryoninae Chun, 1888				Criales - Hernández et al. (2021)
Amphicaryon Chun, 1888				
Amphicaryon sp.	Х		Montoya et al. (2008)	Uribe and Calero (2006)
Amphicaryon ernesti Totton, 1954	х	х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Cedeño - Posso and Dorado - Roncancio (2023)	
Subfamilia / Subfamily Prayinae Chun, 1897				
Praya Quoy and Gaimard in Blainville, 1834				
Praya reticulata (Bigelow, 1911)		Х	Oliveira et al. (2016)	
Rosacea Quoy and Gaimard, 1827				
Rosacea cymbiformis (Delle Chiaje, 1830)		Х	Oliveira et al. (2016)	
Suborden / Suborder Cystonectae Haeckel, 1887				Vides and Alonso (2016)
Familia / Family Rhizophysidae Brandt 1835				
Rhizophysa Perón and Lesueur 1807				
<i>Rhizophysa</i> sp.	Х		Oliveira et al. (2016)	
Rhizophysa eysenhardtii Gegenbaur, 1859		Х	Oliveira et al. (2016)	
Rhizophysa filiformis (Forsskål, 1775)		Х	Oliveira et al. (2016)	
Familia / Family Physaliidae Brandt, 1835				
Physalia Lamarck, 1801				
Physalia physalis (Linnaeus, 1758)	х	Х	Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018); Durán - Fuentes, <i>et al.</i> (2018); Alarcón <i>et al.</i> (2020)	Caicedo Herrera (2022); iNaturalist (2022)

Taxón / Taxon	С	Р	Publicado / Published	Sin publicar / Unpublished
Suborden / Suborder Physonectae Haeckel, 1888				Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a); Vides and Alonso (2016)
Familia / Family Agalmatidae Brandt, 1834				Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a); Vides and Alonso (2016); Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)
Agalma Eschscholtz, 1825				
<i>Agalma</i> sp.	Х	Х		Del Real - Martínez (1970); Ayala - Galván <i>et al.</i> (2022)
Agalma elegans (Sars, 1846)	Х	Х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018)	
Agalma okenii Eschscholtz, 1825	х	х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018); Cedeño - Posso and Dorado - Roncancio (2023)	
Athorybia Eschscholtz, 1829				
Athorybia rosacea (Forsskål, 1775)	Х		Cedeño - Posso and Dorado - Roncancio (2023)	
Halistemma Huxley, 1859				
Halistemma sp.	Х			Garrido - Linares <i>et al.</i> (2014a); Vides and Alonso (2016)
Halistemma striata Totton, 1965		Х	Oliveira et al. (2016)	
Nanomia A. Agassiz, 1865				
Nanomia bijuga (Delle Chiaje, 1844)	Х	Х	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Uribe - Palomino <i>et al.</i> (2018); Cedeño - Posso and Dorado - Roncancio (2023)	
Nanomia cara Agassiz, 1865		Х	Oliveira et al. (2016)	
Lychnagalma Haeckel, 1888				
Lychnagalma utricularia (Claus, 1879)		Х	Oliveira et al. (2016)	
Familia / Family Apolemiidae Huxley, 1859				
Apolemia Eschscholtz, 1829				
Apolemia uvaria (Lesueur, 1815)	Х		Oliveira et al. (2016)	
Familia / Family Physophoridae Eschscholtz, 1829				
Physophora Forsskål, 1775				
Physophora hydrostatica Forsskål, 1775		Х	Oliveira et al. (2016)	
Total	45	46		

DISCUSIÓN

Los sifonóforos de las aguas colombianas son mayoritariamente (66 %) especies neríticas y oceánicas, ampliamente distribuidas en aguas tropicales y subtropicales (Pugh y Gasca, 2009; Oliveira *et al.*, 2016). Tres subórdenes se hacen presentes: Calycophorae, Cystonectae y Physonectae. El orden Calycophorae es el más común y frecuente. Son fáciles de reconocer por su cuerpo (solo nectosoma y sifosoma, sin neumatóforos) (Fig. 2). Actualmente, se reconocen siete familias:

DISCUSSION

The Colombian siphonophores are mostly (66 %) neritic and oceanic species, widely distributed in tropical and subtropical waters (Pugh and Gasca, 2009; Oliveira *et al.*, 2016). Three suborders are present: Calycophorae, Cystonectae and Physonectae. Calycophores are the most common and frequent; they are easily recognizable by their body (only nectosoma and syphosome, without pneumatophores) (Fig. 2). Seven families are currently recognized: Abylidae,

Abylidae, Clausophyidae, Diphyidae, Hippopodiidae, Pravidae, Sphaeronectidae v Tottonophvidae (Schuchert, 2022). Solo cuatro de estas familias han sido registradas en Colombia: Abylidae, Diphyidae, Hippopodiidae y Prayidae. Algunos de estos registros, especialmente en la literatura sin publicar, las reportan para familias o géneros como Abvlopsis sp. y, para la familia Diphyidae, como Diphyes sp., Eudoxoides sp., Lensia sp. y Muggiaea sp., géneros comúnmente encontrados cerca de la superficie (Totton, 1965). El género Abylopsis solo tiene dos especies reconocidas: Abylopsis tetragona, uno de los sifonóforos más comunes y abundantes, y A. eschscholtzi (Schuchert, 2022). Un examen detallado de algunas características diagnósticas de cada especie, tales como los canales radiales laterales y la longitud del nectóforo posterior en un espécimen completo de la fase poligástrica de Abylopsis (Tottom, 1965), puede ayudar a brindar una identificación confiable de nuevas ocurrencias en Colombia. Deben realizarse esfuerzos similares de identificación para los géneros Diphyes (4 spp.), Eudoxoides (2 spp.) y Muggiaea (4 spp.). El caso de Lensia es más complejo, pues, a la fecha, se han reconocido 26 especies (Schuchert, 2022), 20 de las cuales se encuentran en Sudamérica (Oliveira et al., 2016). Por tanto, se requiere un estudio más detallado de este grupo. Puede que aumente el número de ocurrencias, pues, a la fecha, solo se han registrado 10 especies de Lensia en Colombia.

El orden Cystonectae difiere de los otros dos subórdenes porque no posee nectosoma (Fig. 2). En la actualidad se reconocen dos familias (Physaliidae y Rhizophysidae) y cinco especies (*Physalia physalis*, *Bathyphysa conifer*, *Bathyphysa sibogae*, *Rhizophysa eysenhardtii* y *Rhizophysa filiformis*) (Pugh, 2019; Schuchert, 2022). Tres de ellas han sido registradas en Colombia. *Physalia physalis*, también conocida como Carabela Portuguesa, es tal vez la más común. Se la identifica fácilmente por su neumatóforo púrpura, en forma de vela y con una altura máxima de 30 cm, que la mantiene a flote y a la deriva. Es frecuente durante los primeros meses del año, con un mayor número de avistamientos entre febrero y abril, cuando es arrastrada hacia la costa Caribe colombiana por la acción de los vientos alisios y las corrientes superficiales.

El orden Physonectae tiene un neumatóforo, un nectosoma y un sifosoma (Fig. 2). En la actualidad se reconocen diez familias (Agalmatidae, Apolemiidae, Cordagalmatidae, Erennidae, Forskaliidae, Physophoridae, Pyrostephidae, Resomiidae, Rhodaliidae y Stephanomiidae) (Schuchert, 2022), de las cuales solo tres se han registrado en aguas colombianas: Agalmatidae, Apolemiidae y Physophoridae.

Mar Caribe colombiano. El número total de especies aquí reportadas (45) es menor que el de las reportadas para el

Clausophyidae, Diphyidae, Hippopodiidae, Prayidae, Sphaeronectidae and Tottonophvidae) (Schuchert, 2022). Only four of these families have been recorded in Colombia: Abylidae, Diphyidae, Hippopodiidae and Prayidae. Some of the records, especially in the unpublished literature, report them only to family or genera such as Abylopsis sp., and Diphyidae family: Diphyes sp., Eudoxoides sp., Lensia sp. and Muggiaea sp., genera commonly found near the surface (Totton, 1965). The genus Abylopsis has only two recognized species; Abylopsis tetragona, one of the abundant and most common siphonophores, and A. eschscholtzi (Schuchert, 2022). Examining some diagnostic features of each species in detail, such as the lateral radial canals and length of the posterior nectophore in a complete specimen of the Abylopsis polygastric phase (Tottom, 1965), can help to provide reliable identification for new occurrences in Colombia. Similar identification efforts should be carried out for the genera Diphyes (four spp.), Eudoxoides (two spp.), and Muggiaea (four spp.). The case of *Lensia* is more complex, because to date 26 species have been recognized (Schuchert, 2022) and 20 species are found in South America (Oliveira et al., 2016), therefore a more detailed study of this group is needed. The number of occurrences may increase, because to date only 10 species of Lensia have been recorded for Colombia.

Cystonectes differ from the other two suborders because they do not possess a nectosome (Fig. 2). Currently two families (Physaliidae and Rhizophysidae) and 5 species are recognized (*Physalia physalis*, *Bathyphysa conifer*, *Bathyphysa sibogae*, *Rhizophysa eysenhardtii* and *Rhizophysa filiformis*) (Pugh, 2019; Schuchert, 2022). Three of them are recorded for Colombia; *Physalia physalis*, also known as the Portuguese Man o' War, is perhaps the most common. It is easily identified by its purple pneumatophore, sail - shaped and maximum 30 cm height, which keeps it floating and drifting. It is frequent during the first months of the year, with a greater number of sightings between February and April, when they are dragged towards the Colombian Caribbean coast by the action of the trade winds and the surface currents.

Physonectes have a pneumatophore, nectosoma and syphosome (Fig. 2). Currently ten families are recognized (Agalmatidae, Apolemiidae, Cordagalmatidae, Erennidae, Forskaliidae, Physophoridae, Pyrostephidae, Resomiidae, Rhodaliidae and Stephanomiidae) (Schuchert, 2022), only three reported for Colombian waters: Agalmatidae, Apolemiidae and Physophoridae.

Colombian Caribbean Sea. The total number of species reported here (45) is less than the number reported for

Caribe Occidental (56 especies), casi la mitad de las especies actualmente conocidas en el Golfo de México (82 especies). La diferencia se debe principalmente a la ausencia de muestras colombianas para algunas familias, tales como Erennidae, Forskaliidae, Pyrostephidae, Clausophyidae y Sphaeronectidae (Gasca, 2009; Pugh y Gasca, 2009).

Algunas especies reportadas para el Océano Pacífico colombiano también pueden encontrarse en el Mar Caribe colombiano debido a su distribución espacial en el Caribe y el Océano Atlántico (Gasca, 2002; Gasca, 2009; Pugh y Gasca, 2009; Varela, 2012; Oliveira *et al.*, 2016), *i.e.*, *Abyla haeckeli, Lensia leloupi, Lychnagalma utricularia, Sulculeolaria biloba, S. chuni, S. monoica, S. quadrivalvis, S. turgida, Rhizophysa eysenhardtii, R. filiformis y Physophora hydrostatica.*

Océano Pacífico colombiano. El número total de especies reportadas (46) también es bajo en comparación con los registros de las aguas del Pacífico de Ecuador, México y Costa Rica (73 especies) (Gasca y Suárez, 1992; Gasca, 2002, Andrade, 2012; Andrade, 2014), lo cual se debe principalmente a la ausencia de muestras colombianas de algunas familias, tales como Erennidae, Pyrostephidae, Clausophyidae y Sphaeronectidae, así como de algunos géneros (*Epibulia, Frillagalma, Gilia, Melophysa y Nectopyramis*) (Gasca, 2009; Pugh y Gasca, 2009).

Los estudios futuros que se realicen en el Océano Pacífico colombiano podrían encontrar especies reportadas para el Caribe colombiano, tales como Dimophyes arctica, Lensia conoidea, L. fowleri, Muggiaea kochi y Vogtia serrata, previamente reportadas para las aguas del Pacífico en México y Costa Rica (Gasca y Suárez, 1992; Gasca, 2002; Fernández - Álamo y Ramírez - Arriaga, 2020), Ecuador (Andrade, 2012; Andrade, 2014; Andrade, 2019; Castillo et al., 2019) y desde Perú hasta Chile (Oliveira et al., 2016). El caso de Apolemia uvaria es interesante porque es la única especie reportada para el Océano Atlántico (Oliveira et al., 2016), pero también puede que tenga ocurrencia en el Pacífico, pues Gasca (2002) la reportó en aguas del Pacífico mexicano. En conclusión, las especies que podrían se exclusivas para el Océano Pacífico colombiano son Prava reticulata, Rosacea cymbiformis y Nanomia cara, si bien aún deben confirmarse (Purcell, 1984; Gasca y Suárez, 1992; Gasca, 2002; Gasca, 2009; Oliveira et al., 2016).

CONCLUSIONES

Con base en una revisión de manuscritos publicados y sin publicar, se consolidó una lista de 63 especies de sifonóforos en Colombia, 46 en el Mar Caribe y 46 en el Océano Pacífico Oriental. La principal diferencia en los números de especies the Western Caribbean (56 species); almost half of the species known presently for the Gulf of Mexico (82 species). The difference is mostly due to the absence of Colombian samples for some families like Erennidae, Forskaliidae, Pyrostephidae, Clausophyidae and Sphaeronectidae (Gasca, 2009; Pugh and Gasca, 2009).

Some species reported for the Colombian Pacific Ocean could also be found in the Colombian Caribbean Sea, due to their spatial distribution in the Caribbean and Atlantic Ocean (Gasca, 2002; Gasca, 2009; Pugh and Gasca, 2009; Varela, 2012; Oliveira *et al.*, 2016) i.e. *Abyla haeckeli, Lensia leloupi, Lychnagalma utricularia, Sulculeolaria biloba, S. chuni, S. monoica, S. quadrivalvis, S. turgida, Rhizophysa eysenhardtii, R. filiformis* and *Physophora hydrostatica.*

Colombian Pacific Ocean. The total number of species reported (46 species) is also low compared to records in the Pacific waters of Ecuador, Mexico and Costa Rica (73 species). (Gasca and Suárez, 1992; Gasca, 2002, Andrade, 2012; Andrade, 2014), mostly due to the absence of Colombian samples from some families like Erennidae, Pyrostephidae, Clausophyidae and Sphaeronectidae, and also some genera, *Epibulia, Frillagalma, Gilia, Melophysa* and *Nectopyramis* (Gasca, 2009, Pugh and Gasca, 2009).

Future studies in the Pacific Colombian Ocean could find species reported for the Colombian Caribbean, such as Dimophyes arctica, Lensia conoidea, L. fowleri, Muggiaea kochi and Vogtia serrata previously reported for Pacific waters of Mexico and Costa Rica (Gasca and Suárez, 1992; Gasca, 2002; Fernández - Álamo and Ramírez - Arriaga, 2020), from Ecuador (Andrade, 2012; Andrade, 2014; Andrade, 2019; Castillo et al., 2019) and from Peru to Chile (Oliveira et al., 2016). The case of Apolemia uvaria is interesting because it is only species reported for the Atlantic Ocean (Oliveira et al., 2016), but may also occur in the Pacific, because Gasca (2002) reported it for Mexican Pacific waters. In conclusion, the species that could be exclusive to the Colombian Pacific Ocean could be Praya reticulata, Rosacea cymbiformis, and Nanomia cara, although they are subject to confirmation (Purcell, 1984; Gasca and Suárez, 1992; Gasca, 2002; Gasca, 2009; Oliveira et al., 2016).

CONCLUSIONS

From the review of published and unpublished manuscripts, a list of 63 species of siphonophores in Colombia is consolidated, 45 in the Caribbean Sea and 46 in eastern Pacific Ocean. The main difference in species numbers in en estas dos áreas, en contraste con otras regiones cercanas, se debe a los métodos tradicionales de recolección de zooplancton. En Colombia el uso de redes de zooplancton de tipo simple cónico o bongo ha permitido recolectar algunos sifonóforos, pero muchas especies, más que todo de los subórdenes Cystonectae y Physonectae, son organismos muy largos (Gasca, 2002) que pueden recolectarse de mejor manera si se utilizan otros tipos de redes, como las redes mesopelágicas Tucker, Mocness o CalCOFI (Gasca, 2009). 76 % de las especies listadas para Colombia son epipelágicas, por lo que es posible recolectar más especies de aguas profundas con estas otras redes o con el uso de sumergibles (Dunn *et al.*, 2005; Mapstone, 2014), con los cuales se han descrito nuevas especies en los últimos años (Pugh, 1998; Pugh, 2005; Dunn *et al.*, 2005; Haddock *et al.*, 2005; Siebert *et al.*,2013).

El número de especies registradas en aguas marinas de Colombia podría aumentar cuando exista disponibilidad de muestras de aguas meso - y batipelágicas y cuando inicie el análisis de los sifonóforos recolectados con redes de ictioplancton (500 μ m). Esta lista de sifonóforos es importante porque integra todos los estudios realizados en Colombia y contribuye al catálogo de biodiversidad del país. Los estudios futuros deberían revisar especímenes narcotizados *in situ* para generar una mejor lista, así como hacer énfasis en su distribución espacial y estacional, especialmente su distribución vertical en la columna de agua, dado que muchos de ellos son indicadores de masas de agua.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Agencia Nacional de Hidrocarburos (ANH) y al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar) por el cofinanciamiento y el apoyo logístico (convenios: 008 - 2008; 171 - 2013, 188 - 2014; 290 - 2015; 167 - 2016; 379 - 2017; 340 - 2018; 265 - 2021 y 233 - 2022) y a la Comisión Colombiana del Océano (CCO) por organizar las Expediciones Científicas Seaflower de 2016 y 2017. Agradecemos a Janneth Andrea Beltrán del Laboratorio Servicios de Información (LABSIS, GEZ) por la elaboración del mapa y al Grupo de Investigación en Taxonomía, Sistemática y Ecología Marina (GTSEM) de Invemar por su colaboración y buena amistad. Gracias a Laura Gil, Edgardo Londoño y Andrés Rojas, quienes enviaron voluntariamente sus fotografías en calidad de científicos ciudadanos para suministrar información sobre organismos gelatinosos en Colombia mediante el Proyecto de Investigación de Animales Gelatinosos: Medusozoa (PIAG Medusozoa). Contribución No. 1360 del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar). También agradecemos a los revisores por sus útiles comentarios y sugerencias.

the Colombian Caribbean Sea and Pacific Ocean, compared to other regions nearby, is due to the traditional methods for zooplankton collection. The use of simple conical or bongo zooplankton nets allows collecting some siphonophores in Colombia, but a lot of species, mostly of the suborders Cystonectae and Physonectae, are very long organisms (Gasca, 2002) that can be collected better using other kinds of nets such as mesopelagic Tucker, Mocness or CalCOFI nets (Gasca, 2009). 76 % of the species listed for Colombia are epipelagic, so it is possible to collect more deep - sea species with these other nets or with the use of submersibles (Dunn *et al.*, 2005a; Mapstone, 2014), through which new species have been described in recent years (Pugh, 1998; Pugh, 2005; Dunn *et al.*, 2005b; Haddock *et al.*, 2005; Siebert *et al.*, 2013).

The number of species recorded in Colombian marine waters could increase when samples from meso - and bathypelagic waters are available and when the siphonophores collected with the ichthyoplankton nets (500 μ m) begin to be analysed. This siphonophore checklist is important because it integrates all the studies done in Colombia and contributes to the country's biodiversity catalogue. Future studies should review narcotized specimens *in situ* to produce a better checklist, and focus on their seasonal and spatial distribution, especially their vertical distribution in the water column, because many of them are indicators of water masses.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks for the co - financing and logistical support to National Hydrocarbons Agency (ANH) and to the Institute of Marine and Coastal Research - Invemar (Agreements: 008 - 2008; 171 - 2013, 188 - 2014; 290 - 2015; 167 - 2016; 379 - 2017; 340 - 2018; 265 - 2021 and 233 - 2022). To Comisión Colombiana del Oceano (CCO) for the organization of the Seaflower Scientific Expeditions 2016 and 2017. We thank Janneth Andrea Beltrán from the Laboratorio Servicios de Información - LABSIS (GEZ) for the map elaboration, GTSEM Taxonomy, Systematics and Marine Ecology Research Group of Invemar for their collaboration and good friendship. Thank you to Laura Gil, Edgardo Londoño and Andres Rojas who voluntarily sent their photographs as citizen scientists to provide information about gelatinous organisms in Colombia through the project "Proyecto de Investigación de Animales Gelatinosos: Medusozoa (PIAG Medusozoa)". Contribution No. 1360 of the Marine and Coastal Research Institute - Invemar. We also thank the reviewers for their helpful comments and suggestions.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Alarcón, J., N. Farías Curtidor, P. López, C.J. Polo, A. Jauregui, M. Mutis; V. Puentes. 2020. Otros organismos avistados costa afuera en el Caribe colombiano. 98 - 114 pp. In: Puentes V, León J. (Eds.). 2020. Guía Visual de Aves, Mamíferos Marinos y Otros Organismos Avistados Costa Afuera del Caribe Colombiano. Anadarko Colombia Company.
- Alvariño, A. 1968. Los quetognatos, sifonóforos y medusas en la región del Atlántico ecuatorial bajo la influencia del Amazonas. Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, 1, 41 - 76.
- Alvariño, A. 1971. Siphonophores of the Pacific with a review of the world distribution. Bull. Scripps Inst. Oceanogr., 16, 1 432.
- Alvariño, A. 1976. El zooplancton del océano Pacífico colombiano y las pesquerías. In: Vegas, M. y Rojas, R. (Eds.), Memorias del primer Seminario sobre el Océano Pacífico Sudamericano, Cali. Univalle - Colciencias, septiembre 1 a 5 de 1976, Santiago de Cali, pp. 206 - 271.
- Andrade, C. 2012. Sifonoforos (Cnidaria, Hydrozoa) de aguas superficiales alrededor de la isla Santa Clara, durante septiembre y noviembre del 2007. Acta Oceanogr. Pac. Inst. Oceanogr. Ant. Arm. Ec., 17(1).
- Andrade, C. 2014. Variación estacional de las medusas y sifonóforos en las estaciones fijas 10 millas costa afuera de la Libertad y Manta durante el 2013. Acta Oceanográfica del Pacífico. Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada, Ecuador. vol. 19, no. 2.
- Andrade, C. 2019. Medusas y sifonóforos del estuario del río Mataje Bahía Ancón de Sardinas. Acta Oceanográfica del Pacífico. Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada, Ecuador. vol. 1, no. 2.
- Ayala, K., E.F. Dorado Roncancio, E. Escarria, J.M. Gutiérrez, K. Contreras, A. Cárdenas, C. Benítez, E. Barrios, I. Caicedo, M. Mutis, L. Fernández, S. Pareja, S. Guzmán, J. Cortes, E. Montoya Cadavid, L. Londoño, M. Garrido, C. Cedeño and C. Arteaga. 2017. III Caracterización De Comunidades Biológicas. 98 261 pp. *In:* Vides M., M. Santos Acevedo and D. Alonso (Eds.). 2017. Estudio técnico ambiental de línea base en el área de evaluación COL 3 sobre la cuenca sedimentaria del Caribe Colombiano. Inf. Técn. Final. Convenio 139 17. ANH Invemar, Santa Marta. 376 p.
- Ayala K., E.F. Dorado Roncancio and E. Escarria. 2018. III Caracterización De Comunidades Biológicas, A. Plancton. 103 173. In: Vides M. y D. Alonso (Eds.). (2018). Estudio técnico ambiental de línea base en el área de evaluación COL 10, extremo norte del Caribe colombiano. Informe Técnico Final. Convenio 340 - 18. ANH - Invemar. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andréis, Santa Marta, 416p.
- Ayala Galván, K., F. Dorado Roncancio, M. P. Martínez Barragán, L. Espinosa Leal, M. Bermúdez Jaimes and E. Escarria Gómez. 2022. Capítulo 5. Componente biológico: Plancton. 163 - 274 pp. In: Vides M. y D. Alonso (Eds.). 2022. Levantamiento De Información De Línea Base Ambiental En Áreas De Interés Del Pacífico Colombiano Como Apoyo Al Crecimiento Sostenible Del Sector De Hidrocarburos Costa Afuera. Inf. Técn. Final. Convenio 233 - 2022. ANH - Invemar. Santa Marta. 420 p. + Anexos
- Barón, C. 2007. Caracterización de mesozooplancton superficial de las islas de Providencia y Santa Catalina, Caribe Colombiano, para el mes de abril de 2005. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano Santa Marta. 89 p.
- Benavides Serrato, M. 2022. Monitoreo de plancton mesofótico en el Parque Nacional Natural Corales de Profundidad en 2017 y 2018. Parques Nacionales Naturales de Colombia. Occurrence dataset https://doi.org/10.15472/7gsafh
- Caicedo Herrera D. 2022. Mamíferos, aves y peces de la Isla Cayo Serrana durante la Expedición Seaflower 2016 Proyecto Colombia BIO. Version 2.6. Fundación Omacha. Occurrence dataset https://doi.org/10.15472/8r4rkx
- Cañón, M., T. Vanegas, M. Gavilán and L. Morris. 2005. Dinámica planctónica, microbiológica y fisicoquímica en cuatro muelles de la bahía de Cartagena y buques de tráfico internacional. Bol. Cient. CIOH, 23: 46 59.
- Castillo, P., G. Vergara and J. Cajas. 2019. Estructura poblacional del zooplancton gelatinoso en el mar ecuatoriano. Rev. Cient. Cien. Nat. Ambien. 13(1):39 49.
- Cedeño Posso, C. and E.F. Dorado Roncancio. 2023. New records of mesopelagic siphonophores (Cnidaria, Hydrozoa) from the Colombian Caribbean collected during offshore exploration cruises. Check List 19 (2): 163 168. https://doi.org/10.15560/19.2.163
- Cely, H.A. and J.E. Chiquillo. 1993. Quetognatos, sifonóforos e hidromedusas de la región costera del Pacífico colombiano. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta, 120 pp.
- Cepeda, A. 2007. Comunidad zooplanctónica en el sistema de surgencia de la ensenada de Gaira, Santa Marta, Caribe colombiano. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 82 pp.
- Contreras Vega, L., A. Henao Castro and G.R Navas S. 2021. Zooplankton distribution in a mesophotic corals reef habitat at Bajo Frijol seamount, Colombian Caribbean, Univ Sci (Bogota), 26(3): 281 - 300. https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC26 - 3.zdia
- Criales Hernández, M.I., M. Benavides Serrato and M. Jerez Guerrero. 2021. Estudio de la comunidad zooplanctónica y fitoplanctónica en los ecosistemas de arrecifes coralinos mesofóticos del Parque Nacional Corales de Profundidad. Version 1.1. Universidad Industrial de Santander. Sampling event dataset https://doi.org/10.15472/p70rj0
- Del Real Martínez, E. 1970. Contribución al conocimiento y estudio del zooplancton del Caribe colombiano. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 75 p.
- Díaz Hernández, P., J M. Gutiérrez Salcedo and E. Montoya Cadavid. 2021. Colección de Plancton Mixto Sección Zooplancton del Museo de Historia Natural Marina de Colombia - Makuriwa (Invemar). v1.1. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - Invemar. Dataset/Occurrence. https://doi. org/10.15472/arqxyv

- Domínguez H. 2002. Hidromedusas y sifonóforos (Cnidaria: Hydrozoa) de las aguas superficiales de la Bahía de Gaira, Caribe colombiano: Taxonomía, abundancia y relación con la oferta alimenticia. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 240 p.
- Dorado Roncancio, E.F. 2015. Estructura del zooplancton en la Bahía de Cartagena (Caribe colombiano) en las tres épocas climáticas de 2010. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 89 p.
- Dorado Roncancio, E.F. 2017. Composición y abundancia de la comunidad zooplanctónica presente en la Isla Cayos de Serrana. v2.1. ANH Invemar. Dataset/Samplingevent. http://doi.org/10.15472/ndt8or
- Dunn, C., P. Pugh and S. Haddock. 2005a. Molecular Phylogenetics of the Siphonophora (Cnidaria), with Implications for the Evolution of Functional Specialization. Syst. Biol, 54(6):916 - 935, 2005
- Dunn, C., P. Pugh and S. Haddock. 2005b. Marrus claudanielis, A new species of deep sea Physonect Siphonophore (Siphonophora, Physonectae). Bull. Mar. Sci., 76(3): 699 - 714.
- Durán Fuentes, J., C. A. Gracia, M. C. Osorio and C. Cedeño Posso. 2018. Aporte al conocimiento de las medusas (Cnidaria: Medusozoa) en el departamento del Atlántico, Colombia. Revista Acad. Colomb. Ci. Exact., 42(162):49 - 57. https://doi.org/10.18257/raccefyn.520
- Fernández Álamo, M.A. and L. Ramírez Arriaga. 2020. Composición, abundancia y distribución de los sifonóforos (Cnidaria: Hydrozoa) en el Domo de Costa Rica, en febrero y marzo de 1979. Rev. Biol. Trop., 68(Supl. 1), S225 - S237.
- Gasca, R. and E. Suárez. 1992. Sifonóforos (Cnidaria: Siphonophora) del Domo de Costa Rica. Rev. Biol. Trop., 40 (1): 125 130.
- Gasca, R. 2002. Lista faunística y bibliografía comentadas de los sifonóforos (Cnidaria: Hydrozoa) de México. Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Serie Zoología 73(2): 123 - 143.
- Gasca, R. 2009. Diversity of Siphonophora (Cnidaria: Hydrozoa) in the Western Caribbean Sea: new records from deep water trawls. Zootaxa, 2095: 60 68.
- Garrido Linares, M., D. Alonso Carvajal, J.M. Gutiérrez Salcedo, E. Montoya Cadavid, A. Rodríguez, M. Bastidas, N. Rangel, A. Jiménez *et al.*, 2014a. Línea base ambiental preliminar del bloque de exploración de hidrocarburos Guajira offshore 3 en el Caribe colombiano. Inf. Técn. Final. Invemar ANH, Santa Marta, 342. p. +Adjuntos + Anexos
- Garrido Linares, M., D. Alonso Carvajal, M. Rueda, C. Ricaurte, A. Polanco, A, Cárdenas, C. Cedeño, E. Montoya, E. Escarria, F. Dorado Roncancio, J.M. Gutiérrez, K. Ayala, L. Tavera, M.A. Mutis, M.I. Aguilar, M. Vides - Casado, O. Rodríguez, V. Yepes - Narváez, J. Pizarro, F. Valencia, A. Rodríguez - Jiménez, M. Murcia, C. Peña, M. Bastidas - Villegas and D. Giraldo M. 2014b. Informe técnico Final "Línea base ambiental preliminar de los bloques de exploración de hidrocarburos Caribe colombiano: fase Col 4 y Col 5. Invemar - ANH, Santa Marta, 284+anexos. p.
- Giraldo, R. and S. Villalobos. 1983. Anotaciones sobre la distribución de zooplancton superficial de San Andrés y Providencia. Boletín Facultad de Biología Marina, 1: 6.
- Giraldo, A. and E. Gutiérrez. 2007. Composición taxonómica del zooplancton superficial en el Pacífico colombiano (septiembre 2003). Investigaciones Marinas. Valparaíso, 35(1): 117 - 122.
- Giraldo, A., B. Valencia, J. Acevedo and M. Rivera. 2014. Fitoplancton y zooplancton en el área marina protegida de Isla Gorgona, Colombia, y su relación con variables oceanográficas en estaciones lluviosa y seca. Rev. Biol. Trop., 62 (Suppl. 1): 117 132,
- Haddock S., C. Dunn and P. Pugh. 2005. A re examination of siphonophore terminology and morphology, applied to the description of two new prayine species with remarkable bio optical properties. J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 85, 695 707.
- Hernández Rivera, L.J. 2019. Estructura del zooplancton y su relación con las condiciones marinas en el Caribe norte colombiano. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 38 p.
- iNaturalist contributors, iNaturalist. 2022. iNaturalist Research grade Observations. iNaturalist.org. Occurrence dataset https://doi.org/10.15468/ab3s5x
- Invemar, Coralina, UniAndes and UPB. 2017. "Evaluación Física Y Biológica De Los Ambientes Profundos De La Isla Cayos De Serrana En La Reserva De Biósfera Seaflower". Informe Técnico Final ITF. Isla Cayo Serrana, Expedición Científica Seaflower 2016. 2017. 151p.
- Johnson, C. 2020. Cnidaria. Version 1.9. American Museum of Natural History. Occurrence dataset https://doi.org/10.15468/ipinim
- Licandro, P., C. Carré and D. Lindsay. 2017. Cnidaria: colonial Hydrozoa (Siphonophorae). 232 249. In: Castellani, C. y M. Edwards. (Ed.). Marine Plankton A Practical Guide to Ecology, Methodology and Taxonomy. Oxford. 678 p.
- López, M.L. and D.N. Mesa. 1984. Distribución y abundancia del zooneuston en el Caribe Colombiano Crucero Océano V. Área II y III. ARC. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Bogotá. 110 p.
- Lozano, F. 1991. Contribución al conocimiento de la comunidad zooplanctónica nerítica de la Bahía de Santa Marta, Colombia. Trianea. Acta Científica y Tecnológica INDERENA, 4: 459 470.
- Mapstone, G.M. 2014. Global Diversity and Review of Siphonophorae (Cnidaria: Hydrozoa). PLoS ONE 9(2): e87737. https://doi.org/10.1371/journal. pone.0087737
- Martínez, T., A. Giraldo and E. Rodríguez. 2007. Zooplancton En La Corriente De Colombia, Pacífico Colombiano, Durante Marzo de 2006. Boletín Científico CCCP, No. 14: 69 82.
- Martínez Barragán, M. 2007. Composición y abundancia del zooplancton de las islas de Providencia y Santa Catalina (Caribe Colombiano), durante la época climática lluviosa (octubre - noviembre) de 2005. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta.119 p.

- Medellín Mora, J. and O. Martínez Ramírez. 2010. Distribución del mesozooplancton en aguas oceánicas del Mar Caribe Colombiano durante mayo y junio de 2008. 121 136 Pp. In: Invemar (Eds.). 2010. Biodiversidad del margen continental del Caribe colombiano. Ser. Publ. Espec., Invemar No. 20 p. 4588.
- Michel, H. and M. Foyo M. 1976. Caribbean zooplankton. Part I. Siphonophora, heteropoda, Copepoda, Euphausiacea, chaetognata and salpida. Contribution from the Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science. University of Miami. Florida. 712 p.
- Moncaleano, A. and L. Niño. 1976. Celenterados planctónicos de la Bahía de Cartagena descripción, distribución y notas ecológicas. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 236p.
- Montoya Aguirre M., M. Calero Navarro and C. Uribe Acosta. 2008. Caracterización del zooplancton en el agua de lastre de los buques internacionales que arriban al puerto de Santa Marta (Caribe colombiano) Boletín Científico CIOH, 26, 164 178 (2008).
- Montoya Cadavid E and J. Bohórquez. 2022. Colección de Cnidarios del Museo de Historia Natural Marina de Colombia Makuriwa. v3.2. ANH Invemar. Dataset/Occurrence. https://doi.org/10.15472/wesirx
- Oliveira, O.M.P., E.M. Araújo, P. Ayon *et al.*, 2016. Census of Cnidaria (Medusozoa) and Ctenophora from South American marine waters. Zootaxa, 2016; 4194:1–256.
- Pagès, F., H. González, M. Ramón, M. Sobarzo and J.M. Gili. 2001. Gelatinous zooplankton assemblages associated with water masses in the Humboldt Current System, and potential predatory impact by *Bassia bassensis* (Siphonophora: Calycophorae). Mar. Ecol.: Prog. Ser., 210: 13 24.
- Palma, S. and N. Silva N. 2006. Epipelagic siphonophore assemblages associated with water masses along a transect between Chile and Easter Island (eastern South Pacific Ocean). J. Plankton Res., 28, 1143 1151
- Purcell, J. 1984. The Functions of Nematocysts in Prey Capture By Epipelagic Siphonophores (Coelenterata, Hydrozoa). Biol. Bull, 166: 310 327.
- Pugh, P.R. 1998. A re description of Frillagalma vityazi Daniel 1966 (Siphonophorae, Agalmatidae).
- Sci. Mar, 62(3), 233 245. https://doi.org/10.3989/scimar.1998.62n3233
- Pugh, P.R. 1999. Siphonophorae. 467 511. In: Boltovskoy, D. (Ed.). South Atlantic Zooplankton. Backhuys Publishers. 1496 p.
- Pugh, P.R. 2005. A re description of Frillagalma vityazi Daniel 1966 (Siphonophorae, Agalmatidae).
- Sci. Mar, 62 (3): 233 245
- Pugh, P.R. and R. Gasca. 2009. Siphonophorae (Cnidaria) of the Gulf of México, Pp. 395 402. In: Felder, D.L. and D.K. Camp (eds.), Gulf of México Origins, Waters, and Biota. Biodiversity. Texas A and M University Press, College Station, Texas.
- Pugh, P.R. 2019. A history of the sub order Cystonectae (Hydrozoa: Siphonophorae). Zootaxa. Sep 13;4669(1): zootaxa.4669.1.1.
- Rentería, B. 1977. Fauna planctónica de la CGSM y su relación con el medio. Ministerio de Agricultura, Divulgación Pesquera, 10 (4, 5). 15 p.
- Ricaurte Villota, C., M. Murcia Riaño, K. Ayala, E.F. Dorado Roncancio, E. Escarria and D. Alonso. 2018. Evaluación física y biológica de los ambientes profundos de la Isla Cayo de Serranilla en la Reserva de la Biósfera Seaflower. Expedición Científica Seaflower 2017 Isla Cayo Serranilla. ANH Invemar. Inf. Técn. Final para CCO. Santa Marta, D.T.C.H. 74 p.
- Robison, BH. 2004. Deep pelagic biology. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 300: 253 272.
- Serrano, R and M. Larrahondo. 1981. Composición de la fauna planctónica de la bahía Cartagena y algunas consideraciones ecológicas e hidrográficas. Tesis Biol. Mar., Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 71 p.
- Schuchert, P. 2022. World Hydrozoa Database. Siphonophorae. Accessed through: World Register of Marine Species at: https://www.marinespecies.org/ aphia.php?p=taxdetailsandid=1371
- Siebert, S., P. Pugh, S. Haddock and C. Dunn. 2013. Re evaluation of characters in Apolemiidae (Siphonophora), with description of two new species from Monterey Bay, California. Zootaxa, 3702 (3): 201 - 232.
- Totton, A. 1965. A Synopsis of the Siphonophora. London, Trustees of the British Museum (Natural History). 230 p.
- Uribe, C. y M. Calero. 2006. Evaluación de la composición zooplanctónica y variables fisicoquímicas en el agua de lastre de buques internacionales que arriban al puerto de Santa Marta. Caribe colombiano. Tesis Biol. Universidad del Magdalena, Santa Marta. 90 p.
- Uribe Palomino, J., R. Lopez, M. Gibbons, F. Gusmäo and A. Richardson. 2018. Siphonophores from surface waters of the Colombian Pacific Ocean. J. Mar. Biol. Assoc. U. K., page 1 of 14
- Varela, C. 2012. Registros nuevos de hidrozoos (Cnidaria: Hydroidomedusae) para Cuba, con la descripción de una especie nueva. Solenodon, 10: 1 7, 1
- Vides, M. and D. Alonso. 2016. (Eds.). Línea base ambiental de los bloques COL1 y COL2 en la cuenca sedimentaria del Caribe colombiano. Informe Técnico Final - Temática 1. 329 p. In: Vides *et al.*, 2016. Levantamiento de información ambiental de sistemas marinos y costeros sobre el Caribe colombiano Fase II. Convenio 167 ANH - Invemar. Inf. Técn. Final. Santa Marta. 603 p.
- Vides, M. and D. Alonso (Eds.).2021. Estudio Técnico Ambiental En Áreas De Interés Del Caribe Y Pacífico Colombiano Como Apoyo Al Crecimiento Sostenible Del Sector De Hidrocarburos Costa Afuera - FASE 2021.Inf. Técn. Final. Convenio 265 - 2021. ANH - Invemar. Santa Marta.403 p. + Anexos

ACEPTADO / ACCEPTED: 26/06/2023

64



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Influencia de las condiciones ambientales sobre la distribución y tipos de microplásticos en aguas superficiales en la bahía de Tumaco, Pacífico colombiano

Influence of environmental conditions on distribution and types of microplastics in surface waters of Tumaco Bay, Colombian Pacific

Ingrid Arboleda, Andrés Molina y Guillermo Duque* D 0000-0002-5569-9686 D 0000-0003-1954-4393 D 0000-0002-2468-529X

Grupo de Investigación en Ecología y Contaminación Acuática, Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, Carrera 32 Chapinero, vía Candelaria, Palmira, Colombia. ijarboledam@unal.edu.co, aemolinas@unal.edu.co, gduquen@unal.edu.co * Autor de correspondencia / Corresponding Author

RESUMEN

os microplásticos (MP) suponen una gran problemática ambiental para las zonas estuarinas, al estar expuestas a múltiples fuentes de desechos plásticos. En este estudio, se evaluó la influencia espacio-temporal de variables ambientales sobre la abundancia, distribución y tipos de MP en la bahía de Tumaco. Las muestras se recolectaron en épocas de lluvia y seca de 2020, en el estuario interno y externo, y se procesaron mediante separación por densidad. La abundancia de MP fue mayor en época seca (11.40 ± 2.60 ítems/m³) y en el estuario interno (8.42 ± 4.91 ítems/m³). Las fibras fueron el tipo de MP más abundante (53.89 %). Se correlacionaron significativamente la salinidad y solidos totales disueltos (TDS) con fibras, y la precipitación con fragmentos, láminas y MP totales. Estos resultados demuestran alta contaminación (8.13 ítems/m³) y un aumento de la concentración de MP en la bahía. Esto podría estar relacionado con la exposición a los residuos transportados por los ríos. Por otra parte, la mayor abundancia de MP en la época seca podría deberse a una disminución en la dispersión por una menor entrada de agua al sistema, y al aumento de la densidad del agua, relacionado con el incremento en la salinidad, que favorece la flotabilidad de MP.

PALABRAS CLAVE: bahía de Tumaco, estuario, microplásticos, contaminación, épocas climáticas.

ABSTRACT

icroplastics (MP) pose a major environmental problem for estuaries areas, as they are exposed to multiple sources of plastic waste. In this study, the spatiotemporal influence of environmental variables on the abundance, distribution and types of MP in surface waters of Tumaco Bay were assessed. The samples were collected in the rainy and dry seasons of 2020, in the inner and outer estuary, and were processed by density separation. MP abundance was higher in dry season $(11.40 \pm 2.60 \text{ items/m}^3)$ and in the inner estuary $(8.42 \pm 4.91 \text{ items/m}^3)$. Fibers were the most abundant type of MP (53.89 %). Salinity and TDS were significantly correlated with fibers, and precipitation with fragments, films and total MP. These results demonstrate high contamination (8.13 items/m³) and an increase in MP concentration in Bay. This could be related to the exposure of waste carried by the rivers. On the other hand, the higher abundance of MP in the dry season could be due to a decrease in dispersion for an entrance fewer of water to system and an increase in density of water, related to the increase in salinity, which favors the buoyancy of MP.

KEY WORDS: Tumaco Bay, estuary, microplastics, contamination, climate seasons.

DOI: https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2024.53.1.1268 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 océanos proporcionan energía, alimentos, recreación y turismo (Avendaño *et al.*, 2019; Usman *et al.*, 2020); no obstante, existe una gran preocupación debido a la contaminación causada por plásticos que generan un impacto potencial en la vida marina, las redes tróficas y los servicios ecosistémicos que proveen estos ambientes (Hitchcock, 2020; Haddout *et al.*, 2021). Desde la creación del plástico por Leo Baekeland en 1907, este material se ha convertido en el tercer producto más fabricado en el mundo después del acero y el cemento (Coe y Rogers, 1997; Williams y Rangel-Buitrago, 2019; Rangel-Buitrago *et al.*, 2021), aumentando su producción de 1.7 millones de toneladas a aproximadamente 360 millones de toneladas por año, desde la década de 1950 hasta 2019 (Campos da Rocha *et al.*, 2021).

En la actualidad, el plástico representa de 60 a 80 % de la basura marina y 90 % de las partículas flotantes en la superficie de los mares (Daoud-Taha *et al.*, 2021). Este material se distribuye local y globalmente por la influencia de las dinámicas oceanográficas, la difusión y las características física de los polímeros, incluido el tamaño, densidad y forma, entre otros, logrando viajar miles de kilómetros. A partir de esto, se acumulan en los giros oceánicos, el lecho marino, los ecosistemas costeros y en áreas remotas, aumentando los niveles de contaminación (Anderson *et al.*, 2018; Acosta-Coley *et al.*, 2019; Garcés-Ordóñez *et al.*, 2020, 2021; Chen *et al.*, 2021; Haddout *et al.*, 2021; Simantiris y Avlonitis, 2022).

Se reconoce que en el ambiente marino están presentes partículas de plástico de tamaño < 5 mm de diámetro, denominadas microplásticos (MP) (Jones *et al.*, 2020; Xia *et al.*, 2020), las cuales se clasifican según su origen, en primario y secundario. Los MP primarios son fabricados directamente por la industria para ser utilizados como materia prima de otros productos. Los MP secundarios provienen de la fragmentación de artículos plásticos de mayor tamaño, debido a la acción de factores ambientales como la radiación solar, oxidación y biodegradación (Garcés-Ordóñez *et al.*, 2021; Rostami *et al.*, 2021). Las principales fuentes de estos MP son las escorrentías de áreas urbanas y las aguas residuales domésticas e industriales (Hitchcock, 2020).

De hecho, debido a que la gran mayoría del plástico es fabricado a partir de monómeros derivados de hidrocarburos fósiles no biodegradables (Solís, 2022),

INTRODUCTION

The oceans provide energy, food, recreation, and tourism (Avendaño *et al.*, 2019; Usman *et al.*, 2020). However, there is significant concern about the pollution caused by plastics that potentially impact marine life, trophic networks, and the ecosystem services provided by these environments (Hitchcock, 2020; Haddout *et al.*, 2021). Since the creation of plastic by Leo Baekeland in 1907, this material has become the third most manufactured product in the world after steel and cement (Coe and Rogers, 1997; Williams and Rangel-Buitrago, 2019; Rangel-Buitrago *et al.*, 2021), with an increase in production from 1.7 million tons to approximately 360 million tons per year from the 1950s to 2019 (Campos da Rocha *et al.*, 2021).

Currently, plastic accounts for 60 to 80 % of marine debris and 90 % of floating particles on the surface of the seas (Daoud-Taha *et al.*, 2021). This material is distributed locally and globally due to the influence of oceanographic dynamics, diffusion, and the physical characteristics of the polymers, including size, density, and shape, among others, enabling it to travel thousands of kilometers. Therefore, they accumulate in ocean gyres, on the seabed, in coastal ecosystems, and in remote areas, increasing pollution levels (Anderson *et al.*, 2018; Acosta-Coley *et al.*, 2019; Garcés-Ordóñez *et al.*, 2020, 2021; Chen *et al.*, 2021; Haddout *et al.*, 2021; Simantiris and Avlonitis, 2022).

It has been recognized that, in marine environments, there are plastic particles <5 mm in diameter, known as *microplastics* (MPs) (Jones *et al.*, 2020; Xia *et al.*, 2020), classified according to their origin into primary and secondary categories. Primary MPs are manufactured directly by the industry to be used as raw material for other products. Secondary MPs originate from the fragmentation of larger plastic items, due to the action of environmental factors such as solar radiation, oxidation, and biodegradation (Garcés-Ordóñez *et al.*, 2021; Rostami *et al.*, 2021). The main sources of these MPs are urban runoff and domestic and industrial wastewater (Hitchcock, 2020).

Indeed, since most plastics are manufactured from non-biodegradable monomers derived from fossil hydrocarbons (Solís, 2022), they can remain for thousands of years (Xia *et al.*, 2020; Issac and Kandasubramanian, 2021), increasing pollution levels. These MPs can also adsorb and transport heavy metals and other persistent organic pollutants (Chen *et al.*, 2021; Galgani and Loiselle, 2021; Senathirajah *et al.*, 2021), in addition to providing a pueden permanecer durante miles de años (Xia *et al.*, 2020; Issac y Kandasubramanian, 2021) aumentando los niveles de contaminación. Estos MP también pueden adsorber y transportar metales pesados y otros contaminantes orgánicos persistentes (Chen *et al.*, 2021; Galgani y Loiselle, 2021; Senathirajah *et al.*, 2021), así como proporcionar un nuevo sustrato para que prosperen las comunidades microbianas (Galgani y Loiselle, 2021; Lobelle *et al.*, 2021).

En los organismos marinos cuando los MP son ingeridos puede provocar obstrucciones en el tracto digestivo, desnutrición o bioacumulación (Wright et al., 2013; Chen et al., 2021). Este riesgo también puede afectar negativamente a los humanos (Issac y Kandasubramanian, 2021), ya que son los consumidores finales de alimentos de origen marino (Saha et al., 2021). En efecto, se sugiere que los humanos pueden estar ingiriendo hasta 5 g de MP por semana (Chen et al., 2021; Senathirajah et al., 2021) y diversos estudios han evidenciado la presencia de MP en el agua potable, agua embotellada y la sal del mar (Issac y Kandasubramanian, 2021; Ragusa et al., 2021; Rostami et al., 2021; Shen et al., 2021; Zhang et al., 2021). De este modo, los MP juegan un papel importante como vectores de contaminantes biológicos y químicos dentro de las redes tróficas, incluyendo al hombre (Carbery et al., 2018; Caruso, 2019; Vidal et al., 2021).

Teniendo en cuenta lo anterior, la bahía de Tumaco es un estuario susceptible a este tipo de contaminación, presentando abundancias considerables de MP en las aguas superficiales costeras (Garcés-Ordóñez et al., 2021), de manera similar a la bahía de Buenaventura (Vásquez-Molano et al., 2021; Vidal et al., 2021). En ambas regiones se ubican las mayores poblaciones humanas del Pacífico, con una importante producción de aguas residuales y residuos sólidos que podrían afectar las comunidades de bentos, macroinvertebrados y peces debido a la ingestión de MP (Gallego, 2018; Tafurt et al., 2020; Vásquez-Molano et al., 2021). En virtud a lo expuesto, los estuarios son de interés para el estudio de MP dado a que funcionan como un medio de ingreso de este material contaminante a los ambientes marinos desde las aguas continentales (Vidal et al., 2021). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la influencia espaciotemporal de variables ambientales y la distancia a fuentes de contaminación sobre la distribución, acumulación y tipo de MP en la bahía de Tumaco, Pacífico colombiano. Estos resultados son relevantes para la evaluación de los impactos y los efectos ambientales en el ecosistema y para diseñar estrategias de mitigación.

new substrate for microbial communities to thrive (Galgani and Loiselle, 2021; Lobelle *et al.*, 2021).

In marine organisms, when MPs are ingested, they can cause obstructions in the digestive tract, malnutrition, or bioaccumulation (Wright et al., 2013; Chen et al., 2021). This risk can also negatively affect humans (Issac and Kandasubramanian, 2021), as they are the end consumers of marine-derived foods (Saha et al., 2021). Indeed, it is suggested that humans may be ingesting up to 5 g of MPs per week (Chen et al., 2021; Senathirajah et al., 2021), and various studies have evidenced the presence of MPs in drinking water, bottled water, and sea salt (Issac and Kandasubramanian, 2021; Ragusa et al., 2021; Rostami et al., 2021; Shen et al., 2021; Zhang et al., 2021). Thus, MPs play a significant role as vectors of biological and chemical pollutants within trophic networks, including humans (Carbery et al., 2018; Caruso, 2019; Vidal et al., 2021).

Tumaco Bay is an estuary susceptible to this type of pollution, showing considerable abundances of MPs in its coastal surface waters (Garcés-Ordóñez et al., 2021), similarly to Buenaventura Bay (Vásquez-Molano et al., 2021; Vidal et al., 2021). Both regions host the largest human populations on the Pacific coast, and there is a significant production of wastewater and solid waste that could affect benthic communities, macroinvertebrates, and fish due to the ingestion of MPs (Gallego, 2018; Tafurt et al., 2020; Vásquez-Molano et al., 2021). In light of this, estuaries are of interest for the study of MPs as they act as a means for this contaminant material to enter marine environments from continental waters (Vidal et al., 2021). Therefore, the aim of this study was to determine the spatial-temporal influence of environmental variables and the distance from pollution sources on the distribution, accumulation, and type of MPs in Tumaco Bay (Colombian Pacific). These results are relevant for assessing the impacts and environmental effects on the ecosystem and for designing mitigation strategies.

67

METODOLOGÍA

Área de estudio

La presente investigación se realizó en la bahía de Tumaco, ubicada en el extremo sur del litoral Pacífico colombiano (1°45' N – 2°00',N, 78° – 78°45' W), comprendiendo un área aproximada de 350 km² y profundidades de entre 0 y 50 m. Esta bahía (Figura 1), presenta un régimen mareal semidiurno con una amplitud máxima de 4 m y está conformada por una red hidrográfica de importantes tributarios de la cuenca del Pacífico, entre los que se destacan los ríos Rosario, Mira y Patía. Este hecho hace intrincada la hidrografía de la bahía e importantes los aportes sedimentarios que recibe (Morales, 2003; Tejada, 2003; Salgado y Peña, 2016).

La bahía de Tumaco se caracteriza por tener un clima húmedo tropical con abundantes lluvias, determinado principalmente por la influencia de la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT). Las precipitaciones comienzan a principios de año, continuando hasta mayo. Entre junio y julio el área se somete a una época de transición de húmeda a seca, en la que las lluvias disminuyen paulatinamente con rangos que oscilan entre 150 y 200 mm/mes. La época seca se ubica entre agosto y noviembre, con promedios entre 50 y 100 mm/mes. Diciembre-enero es una época de transición de seco a húmedo, en esta, las lluvias aumentan considerablemente (Morales, 2003; Tejada-Vélez *et al.*, 2003; García, 2009).

Fase de campo

Los muestreos de agua superficial en la bahía de Tumaco se realizaron en febrero 2020 (época de lluvia), con un caudal promedio de 950 m³/s y precipitación media de 270.64 mm, y en octubre de 2020 (época seca), con un caudal promedio de 630 m³/s y precipitación media de 132.42 mm (IDEAM, 2020). Los sitios de muestro fueron escogidos de acuerdo con el gradiente ambiental, generado por la desembocadura de los ríos y por la cercanía a posibles fuentes de contaminación, como los centros poblados. Se definieron dos sitios dentro de la bahía: el Estuario Interno (EI) (1°50'34" N - 78°33'24.2" W), el cual posee la mayor presión antrópica, ya que se encuentra cerca a la desembocadura de ríos y esteros, al igual que de corregimientos municipales y el Estuario Externo (EE) (1°57'53.9" N-78°39'27.9" W), el cual presenta una mayor influencia marina (Figura 1).

METHODOLOGY

Study area

This research was conducted in Tumaco Bay, located at the southern end of the Colombian Pacific coast (1° 45' N – 2° 00' N, 78° – 78° 45' W), covering an approximate area of 350 km² and depths ranging from 0 to 50 m. This bay (Figure 1) exhibits a semidiurnal tidal regime with a maximum amplitude of 4 m and is made up by a hydrographic network of important tributaries from the Pacific basin, among which the Rosario, Mira, and Patía rivers stand out. This fact makes the bay's hydrography intricate and the sedimentary contributions it receives significant (Morales, 2003; Tejada, 2003; Salgado and Peña, 2016).

Tumaco Bay is characterized by a humid tropical climate with abundant rainfall, primarily influenced by the Intertropical Convergence Zone (ITCZ). Precipitation begins at the start of the year, continuing until May. Between June and July, the area undergoes a transition from a wet to a dry season, during which rainfall gradually decreases, which ranges oscillating between 150 and 200 mm/month. The dry season is from August to November, with averages between 50 and 100 mm/month. December-January is a transition period (from dry to wet), during which rainfall significantly increases (Morales, 2003; Tejada-Vélez *et al.*, 2003; García, 2009).

Field phase

Surface water sampling in Tumaco Bay was carried out in February 2020 (rainy season), with an average flow of 950 m³/s and an average precipitation of 270.64 mm, and in October 2020 (dry season), with an average flow of 630 m³/s and an average precipitation of 132.42 mm (IDEAM, 2020). The sampling sites were selected according to the environmental gradient generated by the river mouths and their proximity to potential pollution sources, such as populated centers. Two sites within the bay were defined: the Internal Estuary (IE) (1°50'34" N – 78°33'24.2" W), which experiences the highest anthropogenic pressure, as it is located near the mouth of rivers and estuaries as well as municipal districts, and the External Estuary (EE) (1°57'53.9" N–78°39'27.9" W), which has a greater marine influence (Figure 1). Iniciando con el muestreo en EI y finalizando en EE, se colectó agua superficial en cuatro estaciones para cada época, una por cada sitio definido, compuestas por tres réplicas, para un total de 24 muestras colectadas. Para esto, se utilizó una red de arrastre horizontal de 250 μ m, con un diámetro de abertura de 29.5 cm.

Teniendo en cuenta algunas metodologías, los arrastres se hicieron paralelos, a una distancia de 490.7 ± 128.1 m, con una duración de 10 min, a una velocidad constante de 4 km/h y tiempo de espera de 30 min entre puntos de muestreo (Reisser *et al.*, 2019; Kerubo *et al.*, 2020; Schöneich-Argent *et al.*, 2020). Después de cada arrastre se verificó la colmatación; sin embargo, nunca se presentó, debido al escaso material en suspensión. Luego se enjuagó la red con agua marina filtrada y el material retenido se transfirió a recipientes de vidrio limpios de 500 ml y se refrigeraron a una temperatura de 4 °C. Starting with sampling at IE and concluding at EE, surface water was collected at four stations for each season, one for each defined site, composed of three replicates, for a total of 24 samples collected. To this effect, a 250 μ m horizontal trawl net with an opening diameter of 29.5 cm was used.

Considering some methodologies, the trawls were conducted parallel to each other, at a distance of 490.7 ± 128.1 m, with a duration of 10 min, at a constant speed of 4 km/h, and a waiting time of 30 min between sampling points (Reisser *et al.*, 2019; Kerubo *et al.*, 2020; Schöneich-Argent *et al.*, 2020). After each trawl, the net was checked for clogging, which never occurred as there was minimal suspended material. The net was then rinsed with filtered sea water, and the retained material was transferred to clean 500 ml glass containers and refrigerated at a temperature of 4 °C.



Figura 1. Bahía de Tumaco, departamento de Nariño, Pacífico colombiano. Sitios de muestreo, EI: Estuario interno (puntos de muestreo T1 y T2), EE: Estuario externo (puntos de muestreo T3 y T4). Centros poblados \circ y ríos tributarios \sim .

Figure 1. Tumaco Bay, department of Nariño, Colombian Pacific. Sampling sites, EI: Internal Estuary (sampling points T1 and T2), EE: External Estuary (sampling points T3 and T4). Populated centers \circ and tributary rivers \sim .

Al mismo tiempo, las variables ambientales salinidad, TDS y transparencia se midieron en el agua a una profundidad de 50 cm usando una sonda multiparamétrica YSI 556 MPS (Duque *et al.*, 2020; Molina, 2020). El registro diario de precipitación y el registro mensual de caudal fueron proporcionados y tomados de las estaciones meteorológicas "Granja El Mira" y "San Juan Mira", respectivamente, cercanas al sitio de muestreo (IDEAM, 2020). Durante los muestreos se presentaron condiciones climáticas favorables (parcialmente soleado), sin condiciones de oleaje atípicas siendo uniformes durante todo el proceso.

Fase de laboratorio

Para el tratamiento de las muestras de MP, se tuvieron en cuenta las metodologías propuestas por Masura *et al.* (2015), Invemar (2017) y Vidal *et al.* (2021). Primero, se realizó un tamizado en dos filtros de acero inoxidable de 5 mm y 0.125 mm de diámetro para la separación de las partículas, conservando únicamente aquellas retenidas en el filtro de 0.125 mm. Luego, se transfirió el material de cada muestra en vasos precipitados con agua destilada y se secaron a 60 °C durante 24 h o hasta completar su secado.

Posteriormente, se añadieron de 30 a 50 ml de hipoclorito de sodio al 10 %, con el fin de oxidar la materia orgánica, dejando reposar de 24 a 48 h. En cuanto terminó el tiempo de oxidación y la materia orgánica ya no era visible, se procedió a retirar el hipoclorito con agua destilada.

Una vez preparada la solución con sal marina al 5M (6 g de sal por cada 20 ml de muestra), se transfirió el material junto con la solución salina a un separador de densidad, reposando durante una hora. Separados los sólidos, se drenaron aquellos que sedimentaron verificando que no existiera presencia de MP. En cuanto a los sólidos flotantes y suspendidos, se dejaron en agua destilada durante 30 minutos con el fin de disminuir la concentración de sal en las muestras. Finalmente, se transfirió el material limpio en cajas de Petri utilizando agua destilada y se introdujo en el horno a 60 °C durante 24 h o hasta completar su secado.

Para la identificación de los MP se tuvo en cuenta la metodología propuesta por Lusher *et al.* (2017). Se inspeccionó el material previamente secado mediante un estereoscopio Motic SMZ – 168 Series 5X y se evaluó la resistencia al calor, acercando una aguja caliente hacia el material y observando las deformaciones, marcas o perforaciones provocadas, ya que las piezas plásticas en efecto se derriten o se deforman. De acuerdo con la clasificación propuesta por Viršek *et al.* (2016), los tipos de MP se catalogaron como fibras, láminas,

At the same time, environmental variables such as salinity, TDS, and transparency were measured in the water at a depth of 50 cm using a YSI 556 MPS multiparameter probe (Duque *et al.*, 2020; Molina, 2020). Daily precipitation records and monthly flow data were provided and obtained from the Granja El Mira and San Juan Mira meteorological stations, respectively, which are located near the sampling site (IDEAM, 2020). There were favorable weather conditions (partially sunny) during sampling, with no atypical wave conditions, which remained uniform throughout the process.

Laboratory phase

To treat the MP samples, the methodologies proposed by Masura *et al.* (2015), Invemar (2017), and Vidal *et al.* (2021) were considered. First, sieving was conducted using two stainless steel filters with diameters of 5 mm and 0.125 mm in order to separate the particles, retaining only those caught in the 0.125 mm filter. Then, the material from each sample was transferred into beakers with distilled water and dried at 60 °C for 24 h or until complete drying.

Subsequently, 30 to 50 ml of 10 % sodium hypochlorite were added to oxidize the organic matter, allowing it to sit for 24 to 48 h. Once the oxidation time was complete and the organic matter was no longer visible, the sodium hypochlorite was removed with distilled water.

Once the 5M sea salt solution had been prepared (6 g of salt for every 20 ml of sample), the material and the saline solution were transferred to a density separator and left to rest for an hour. With the solids separated, those that settled were drained, ensuring that no MPs were present. As for the floating and suspended solids, they were left in distilled water for 30 minutes to reduce the salt concentration in the samples. Finally, the clean material was transferred to Petri dishes using distilled water and placed in an oven at 60 °C for 24 h or until complete drying.

As for the identification of MPs, the methodology proposed by Lusher *et al.* (2017) was followed. The previously dried material was inspected using a Motic SMZ – 168 Series 5X stereoscope, and heat resistance was evaluated by bringing a hot needle close to the material and observing any deformations, marks, or perforations, as plastic pieces melt or deform. According to the classification proposed by Viršek *et al.* (2016), the types of MPs were categorized as fibers, films, fragments, and foams. Their sizes were classified between 250 and 5000 μ m, as measured with a ZEISS AxioCam microscope, and the color characteristics fragmentos y espumas; los tamaños se clasificaron entre 250 y 5000 µm medidos con un microscopio ZEISS AxioCam, y las características del color se clasificaron según lo observado.

Control de calidad

Para evitar la contaminación de las muestras se implementaron medidas preventivas durante el análisis. El área de la superficie de trabajo se limpió a fondo con etanol al 70 % antes de comenzar los procesamientos de las muestras, se usaron instrumentos de vidrio y acero inoxidable durante todo el trabajo, se cubrió cada vaso precipitado con aluminio, se utilizaron batas de algodón y guantes de nitrilo. De igual manera, los equipos de muestreo, dispositivos de filtración y herramientas se lavaron con agua destilada. Finalmente, se instalaron tres blancos (cajas de Petri con agua destilada) en el área de trabajo, en los cuales no se evidencio la presencia de MP (Prata *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021).

Análisis estadístico

Se evaluaron diferencias en los grupos de datos mediante un Análisis de Varianza Multivariado Permutacional (Permanova) y pruebas pos hoc, Permanova pair-wise test, con distancias euclidianas y datos transformados con $(\ln [x + 1])$. Se calcularon los valores de significancia p(PERM), (MC) a partir de 9 999 permutaciones, tomando $\alpha < 0.05$ como diferencias estadísticamente significativas. Además, se utilizó el porcentaje de similitud (Simper) a dos vías con distancias euclidianas y datos transformados con $(\ln [x + 1])$, con el fin de evaluar la similaridad en la abundancia de los tipos de MP, entre las épocas climáticas y los sitios de estudio, para identificar la dinámica espacio-temporal de los MP, usando Primer 7 (Anderson, 2017). Finalmente, el análisis GAM univariado (Modelos Aditivos Generalizados) se realizó como método para explorar la influencia de algunas variables ambientales sobre la abundancia de MP, utilizando RStudio (R Core Team, 2013).

RESULTADOS

Abundancia y distribución de microplásticos

Los tipos de MP encontrados en la bahía de Tumaco correspondieron a fibras, fragmentos, espumas y láminas (Figura 2). La abundancia promedio de MP en la bahía fue de 8.13 ± 4.01 ítems/m³ (promedio \pm desviación estándar) (rango: 3.37-11.66 ítems/m³), siendo las fibras las de mayor abundancia 4.20 ± 2.14 ítems/m³ (53.8 %), seguidas de espumas con 1.70 ± 1.18 ítems/m³ (19.2 %), fragmentos con 1.19 ± 0.75 ítems/m³ (14.4 %) y láminas con 1.04 ± 1.02 ítems/m³ (12.3 %). were classified via observation.

Quality control

To avoid contaminating the samples, preventive measures were implemented during the analysis. The work surface area was thoroughly cleaned with 70 % ethanol before starting sample processing, glass and stainless-steel instruments were used throughout the work, each beaker was covered with aluminum, and cotton lab coats and nitrile gloves were worn. Similarly, the sampling equipment, filtration devices, and tools used were washed with distilled water. Finally, three blanks (Petri dishes with distilled water) were placed in the work area, in which the presence of MPs was not observed (Prata *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021).

Statistical analysis

The differences between data groups were evaluated using Permutational Multivariate Analysis of Variance and post hoc tests, the Permanova pair-wise test, with Euclidean distances and data transformed with $(\ln [x + 1])$. The p(PERM) and (MC) significance values were calculated from 9,999 permutations, taking $\alpha < 0.05$ as a statistically significant difference. Additionally, a two-way similarity percentages (Simper) analysis with Euclidean distances and data transformed with $(\ln [x + 1])$ was used to assess the similarity in the abundance of MP types between climatic seasons and study sites, in order to identify the spatialtemporal dynamics of MPs. This was done using Primer 7 (Anderson, 2017). Finally, a univariate GAM (Generalized Additive Models) analysis was performed using RStudio (R Core Team, 2013), as a method to explore the influence of some environmental variables on the abundance of MPs.

RESULTS

Abundance and distribution of microplastics

The types of MPs found in Tumaco Bay corresponded to fibers, fragments, foams, and films (Figure 2). The average abundance of MPs in the bay was 8.13 ± 4.01 items/m³ (average \pm standard deviation) (range: 3.37 - 11.66 items/m³), with fibers being the most abundant at 4.20 ± 2.14 items/m³ (53.8 %), followed by foams with 1.70 ± 1.18 items/m³ (19.2 %), fragments with 1.19 ± 0.75 items/m³ (14.4 %), and films with 1.04 ± 1.02 items/m³ (12.3 %).



Figura 2. Tipos de microplásticos encontrados en las muestras de agua superficial de Tumaco. **a)** Fibra y Fragmentos, **b)** Fragmento, **c)** Espuma y **d)** Lámina.

Figure 2. Types of microplastics found in surface water samples from Tumaco: a) fiber and fragments, b) fragment, c) foam, and d) film.

La abundancia de MP fue significativamente diferente entre épocas climáticas [p(PERM) = 0.002], en general para toda la bahía, evidenciándose una mayor abundancia en época seca $(11.40 \pm 2.59 \text{ items/} \text{m}^3)$ en comparación con la de lluvias $(4.86 \pm 1.49 \text{ items/} \text{m}^3)$. Cabe resaltar que las fibras fueron el grupo de MP predominante en ambas épocas, con 54.1 % en época seca $(5.95 \pm 1.03 \text{ items/m}^3)$ y 53.5 % en lluvias $(2.44 \pm 1.17 \text{ items/} \text{m}^3)$. Por otro lado, el análisis Simper sugirió que el tipo de MP que aportó la mayor contribución para que se presentaran diferencias en la distribución entre las épocas climáticas fueron las láminas (56.77 %).

Adicionalmente, se observó una mayor abundancia de MP en el EI $(8.42 \pm 4.91 \text{ (tems/m}^3) \text{ en comparación})$

In general, the abundance of MPs was significantly different between climatic seasons [p(PERM) = 0.002] across the bay, evidencing a higher abundance during the dry season $(11.40 \pm 2.59 \text{ items/m}^3)$ compared to the rainy season $(4.86 \pm 1.49 \text{ items/m}^3)$. It is worth noting that fibers were the predominant MP group in both seasons, accounting for 54.1 % in the dry season $(5.95 \pm 1.03 \text{ items/m}^3)$ and 53.5 % in the rainy season $(2.44 \pm 1.17 \text{ items/m}^3)$. On the other hand, the Simper analysis suggested that films were the MP type that contributed the most to the differences in the distribution between climatic seasons (56.77 %).

Additionally, a higher abundance of MPs was observed in the IE $(8.42 \pm 4.91 \text{ items/m}^3)$ compared to the EE $(7.85 \pm 3.63 \text{ items/m}^3)$, with no significant differences
al EE (7.85 \pm 3.63 (tems/m³) sin presentar diferencias significativas [p(PERM) = 0.34] (Tabla 1). Al igual que en las épocas climáticas, las fibras fueron el grupo de MP predominante en los dos sitios del estuario con 47.9 % en EI (3.86 \pm 2.59 (tems/m³) y 59.8 % en EE (4.53 \pm 1.90 (tems/m³). La mayor contribución para que se presentaran diferencias en la distribución entre los sitios del estuario según el análisis Simper fue representada por las láminas (41.51 %).

La interacción entre las épocas climáticas y los sitios del estuario fue significativa [p(PERM) = 0.02]; de hecho, se observó una variación en la cantidad de MP de acuerdo con esta interacción (Tabla 1), en temporada de lluvia la abundancia de MP fue mayor en la porción externa (56.8 %), mientras que en la época seca la abundancia fue mayor en la interna (52.7 %). Finalmente, las fibras presentaron diferencias significativas entre épocas y la interacción épocasitio; las láminas, entre épocas, sitios y la interacción épocasitio; los fragmentos por su parte, entre épocas. [p(PERM) = 0.34] (Table 1). As with the climatic seasons, fibers were the predominant MP group in both estuary sites, with 47.9 % in IE (3.86 ± 2.59 items/m³) and 59.8 % in EE (4.53 ± 1.90 items/m³). Films reported the greatest contribution (41.51 %) to the differences in distribution between the estuary sites according to the Simper analysis.

The interaction between climatic seasons and estuary sites was significant [p(PERM) = 0.02]. In fact, a variation in the quantity of MPs was observed according to this interaction (Table 1). In the rainy season, the abundance of MPs was higher in the outer portion (56.8 %), whereas, during the dry season, the abundance was higher in the inner portion (52.7 %). Finally, fibers showed significant differences between seasons and regarding the season-site interaction; films did so between seasons, sites, and the season-site interaction; and fragments showed differences between seasons.

Tabla 1. Abundancia promedio de microplásticos por sitios, estuario externo (EE) y estuario interno (EI), y épocas climáticas para 2020 en ítems/m³ (promedios \pm error estándar). Los resultados de las pruebas pos hoc, permanova pair-wise test, se representan con letras [p(MC) < 0.05].

Table 1. Average abundance of microplastics by sites, External Estuary (EE) and Internal Estuary (IE), and climatic seasons for 2020 in items/m³ (averages \pm standard error). The results of the *post hoc* tests, *i.e.*, the Permanova pair-wise test, are represented with letters [p(MC) < 0.05].

Épocas climáticas - Sitios del estuario / Climatic seasons - Estuary sites		Total	Fibra / Fiber	Lámina / Film	Fragmento / Fragment	Espuma / Foam
Época / Season	Lluvia / Rainy	$4.86\pm1.49~b$	2.44 ± 1.17 b	0.28 ± 0.22 b	$0.59\pm0.46~b$	1.55 ± 1.24
	Seca / Dry	11.40 ± 2.60 a	5.95 ± 1.03 a	1.81 ± 0.91 a	1.80 ± 0.36 a	1.84 ± 1.27
Sitios / Sites	EE	7.85 ± 3.63	4.53 ± 1.90	$0.82\pm0.54~b$	1.23 ± 0.99	1.27 ± 0.52
	EI	8.42 ± 4.91	3.86 ± 2.60	1.27 ± 1.42 a	1.16 ± 0.56	2.12 ± 1.57
EE	Lluvia / Rainy	$4.85 \pm 1.48 \text{ b}$	$3.49\pm1.48~b$	$0.55\pm0.38~b$	0.91 ± 0.45	1.41 ± 0.20
	Seca / Dry	10.85 ± 1.16 a	$5.24 \pm 1.00 \text{ b}$	$1.31 \pm 0.70 \text{ b}$	1.51 ± 0.40	1.56 ± 0.41
EI	Lluvia / Rainy	4.87 ± 2.11 b	3.15 ± 1.00 a	0.77 ± 0.70	0.88 ± 0.40	1.83 ± 0.41
	Seca / Dry	11.96 ± 4.21 a	4.91 ± 1.48 b	1.54 ± 0.38 a	1.48 ± 0.45	1.98 ± 0.20
Total	General	$\textbf{8.13} \pm \textbf{4.01}$	$\textbf{4.2} \pm \textbf{2.14}$	1.04 ± 1.02	1.19 ± 0.75	$\boldsymbol{1.70 \pm 1.18}$

Variables Ambientales

Los datos promedios obtenidos para la variable de precipitación (Figura 3a) no mostraron diferencias estadísticas. La salinidad (Figura 3b) y los TDS (Figura 3c) presentaron relaciones lineales y diferencias significativas entre los sitios (EE y EI).

No se registraron relaciones significativas entre abundancia de MP y la transparencia para el estuario. Los análisis GAM revelaron que las concentraciones de MP tipo

Environmental variables

The average data obtained for the precipitation variable (Figure 3a) showed no statistical differences. Salinity (Figure 3b) and TDS (Figure 3c) showed linear relationships and significant differences between sites (EE and IE).

No significant relationships between MP abundance and transparency were recorded in the estuary. GAM analyses revealed that the concentrations of films and fragments were directly and significantly correlated with precipitation, as de Tumaco en 2020. a) Precipitación media anual. b) Salinidad promedio. c) Solidos totales disueltos (TDS) promedio.

lámina y fragmento se correlacionaron de manera directa y significativamente con la precipitación, al igual que con

los MP totales (Tabla 2). Asimismo, las concentraciones de

MP tipo fibra se correlacionaron directamente tanto con la

salinidad, como con los sólidos totales disueltos TDS (Tabla

2). Vale la pena señalar que algunas de las concentraciones

well as with the total MPs (Table 2). Additionally, the concentrations of fibers were directly correlated with both salinity and total dissolved solids (TDS) (Table 2). It is worth noting that some of the highest MP concentrations were recorded in association with high salinities.

Tabla 2. Correlaciones univariadas de las variables ambientales con los tipos y la abundancia de microplásticos encontrados en las muestras de agua superficial, usando análisis GAM univariados.

Table 2. Univariate correlations of environmental variables with the types and abundance of microplastics found in surface water samples (obtained using univariate GAM analyses).

		edf	R² ajustado / Adjusted R²	Variación explicada / Explained variance	P valor / P-value
Fibra / Fiber	Salinidad /Salinity	1	0.41	49.5 %	0.051
	TDS	1	0.40	48.3 %	0.055
Lámina / Film	Precipitación / Precipitation	1	0.63	68.0 %	0.012
Fragmento / Fragment	Precipitación / Precipitation	1	0.54	60.8 %	0.023
Total MP	Precipitación / Precipitation	1	0.53	59.9 %	0.024

más altas de MP se registraron asociadas a salinidades altas.

Figure 2. Data from the Granja El Mira meteorological station in Tumaco Bay (2020). a) Average annual precipitation. b) Average salinity. c) Average total dissolved solids (TDS).

UPS





⁷⁴

Tamaño y color

En general, el tamaño promedio de los MP encontrados fue de 1 001 µm, específicamente para fibras (1 417.78 ± 251.2 µm), espumas (625.83 ± 257.9 µm), fragmentos (915.38 ± 254.8 µm) y láminas (1 045.21 ± 454.6 µm). Más de 50 % de los MP se registraron dentro de un rango de tamaño de 250 a 1 000 µm (Figura 4a). Por otra parte, se hallaron tres colores predominantes, blanco (48.6 %), transparente (27.2 %) y azul (13.1 %), seguidos de beige (4.9 %), gris (4.1 %), amarillo (0.96 %), negro (0.72 %) y rojo (0.43 %) (Figura 4b). Es importante resaltar que en la época de lluvia se presentó una mayor variedad de colores en los MP identificados, a diferencia de la época seca.

Color and size

In general, the average size of the MPs found was 1,001 μ m, specifically for fibers (1,417.78 ± 251.2 μ m), foams (625.83 ± 257.9 μ m), fragments (915.38 ± 254.8 μ m), and films (1,045.21 ± 454.6 μ m). More than 50 % of the MPs were recorded within a size range of 250 to 1,000 μ m (Figure 4a). On the other hand, three predominant colors were found: white (48.6 %), transparent (27.2 %), and blue (13.1 %), followed by beige (4.9 %), gray (4.1 %), yellow (0.96 %), black (0.72 %), and red (0.43 %) (Figure 4b). It is important to note that, during the rainy season, a greater variety of colors appeared in the identified MPs, unlike in the dry season.



Figura 4. a) Proporción de tamaño de los microplásticos. b) Proporción de colores de los microplásticos.

Figure 4. a) Size proportion of microplastics. b) Color proportion of microplastics.

DISCUSIÓN

Los sistemas estuarinos por su dinámica acumulan una mayor cantidad MP en comparación con los océanos, por lo cual se han documentado como puntos calientes de contaminación plástica y fuente de MP para el medio marino (Alfonso *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2022; Wei *et al.*, 2023). En este caso, la concentración promedio de MP en la bahía de Tumaco (8.13 ítems/m³), se encuentra dentro de un rango similar a otros ambientes caracterizados por fuertes actividades antropogénicas y entradas de plástico, como es el caso del estuario del río Chao Phraya en Tailandia, donde se registraron concentraciones medias de 5.16 ítems/m³ de MP (Oo *et al.*, 2021) y el Golfo de México, un mar semicerrado que recibe descargas del Mississippi, donde encontraron variaciones entre 5.0-18.4 ítems/m³ de MP (Mauro *et al.*, 2017).

A nivel local, las concentraciones estuvieron por encima de las registradas en Buenaventura con 2.80 ítems/m³ (Vidal *et al.*, 2021) y Tumaco 0.06 - 2.99 ítems/m³ de MP (Garcés-Ordóñez *et al.*, 2021) en época de transición para 2017, lo que sugiere un alto nivel de contaminación y un aumento en la concentración de MP dentro del estuario. Adicionalmente, se compararon los resultados con métodos similares de muestreo (Tabla 3), teniendo en cuenta que investigaciones recientes coinciden en que el tamaño de la malla controla la cantidad y el tamaño de los microplásticos recolectados (Lindeque *et al.*, 2020; Skalska *et al.*, 2020; Aigars *et al.*, 2021; Zheng *et al.*, 2021).

La gran abundancia de MP en época seca podría estar relacionada con la variación en el régimen de flujo, debido a una disminución en la cantidad de agua que ingresa a la bahía, como indican los registros de caudal del río Mira (principal afluente del estuario), la baja velocidad de la corriente y la poca profundidad puede alargar el tiempo de residencia de los MP, lo que conlleva a su mayor acumulación en el área del estuario (Wicaksono *et al.*, 2021).

De igual manera, los eventos de resuspensión facilitan la transferencia de MP del sedimento a la columna de agua, dado que en la bahía la dinámica de sus aguas está fuertemente influenciada por las mareas (Díaz-Merlano *et al.*, 2007), lo que conduce a un aumento de la concentración en las aguas superficiales en la época seca. Además, debido a su baja densidad, los polímeros sintéticos como el polietileno y el polipropileno, que se utilizan con mayor frecuencia en la producción de plásticos sin fibra, se concentran en la columna de agua, resultando en su aglomeración (Preciado y Zapata, 2020; Li *et al.*, 2021).

DISCUSSION

Due to their dynamics, estuarine systems accumulate a greater number of MPs in comparison with oceans, which is why they have been documented as hotspots of plastic pollution and as sources of MPs for marine environments (Alfonso *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2022; Wei *et al.*, 2023). In this case, the average concentration of MPs in Tumaco Bay (8.13 items/m³) falls within a range similar to other environments characterized by strong anthropogenic activities and plastic inputs, as is the case of the estuary of the Chao Phraya River in Thailand, where average MP concentrations of 5.16 items/m³ were recorded (Oo *et al.*, 2021), and the Gulf of Mexico, a semi-enclosed sea receiving discharges from the Mississippi, where variations between 5.0 - 18.4 items/m³ of MPs were found (Mauro *et al.*, 2017).

At a local level, the concentrations were above those recorded in Buenaventura, with 2.80 items/m³ (Vidal *et al.*, 2021), and Tumaco, with 0.06 - 2.99 items/m³ of MPs (Garcés-Ordóñez *et al.*, 2021), during the transition period of 2017, suggesting a high level of pollution and an increased MP concentration within the estuary. Additionally, the results were compared against those of similar sampling methods (Table 3), considering that recent research agrees that the size of the mesh controls both the quantity and size of the collected microplastics (Lindeque *et al.*, 2020; Skalska *et al.*, 2020; Aigars *et al.*, 2021; Zheng *et al.*, 2021).

The high abundance of MPs during the dry season could be related to variations in the flow regime, due to a decrease in the amount of water entering the bay, as indicated by the flow records of the Mira River (the main tributary of the estuary). The low current speed and shallow depth can extend the residence time of MPs, leading to a greater accumulation in the estuary area (Wicaksono *et al.*, 2021).

Similarly, resuspension events facilitate the transfer of MPs from the sediments to the water column, as the water dynamics in the bay are strongly influenced by tides (Díaz-Merlano *et al.*, 2007), leading to an increased concentration in surface waters during the dry season. Moreover, due to their low density, synthetic polymers such as polyethylene and polypropylene, which are more frequently used in the production of non-fiber plastics, concentrate in the water column, resulting in their agglomeration (Preciado and Zapata, 2020; Li *et al.*, 2021).

76

	Localización / Location	Abundancia / Abundance (ítems/m³)	Metodología / Methodology	Referencia / Reference
	Bahía de Tumaco / Tumaco Bay	8.13 ± 4.01 (11.66) 3.37 - 11.66 (rango / range)	Red / Mesh (250 μm)	Este estudio / This study
bia	Cartagena	0.10 - 9.00 (rango)	Red / Mesh (500 $\mu m)$	Garcés-Ordóñez et al. (2021)
Colom	Tumaco	0.06 - 2.99 (rango)	Red / Mesh (500 $\mu m)$	Garcés-Ordóñez et al. (2021)
	Buenaventura	2.80 ± 1.90	Red / Mesh (250 µm)	Vidal et al. (2021)
	Buenaventura	0.06 – 0.99 (rango)	Red / Mesh (500 µm)	Garcés-Ordóñez et al. (2021)
ul / International	Golfo de México / Gulf of México	11.1 ± 2.8 (18.4)	Manta / Manta net (335 $\mu m)$	Mauro et al. (2017)
	Durban, Sudáfrica / Durban, South Africa	7.03 ± 11.93 (15.82)	Red / Mesh (300 µm)	Naidoo et al. (2015)
	Estuario Chao Phraya, Tailandia / Estuary Chao Phraya, Thailand	3.11 -5.16 (rango)	Manta / Manta net (335 $\mu m)$	Oo et al. (2021)
	Svalbard, Noruega / Svalbard, Norway	2.68 ± 2.95 (11.5)	Bomba con malla / Pump with mesh (250 μ m)	Lusher et al. (2015)
nacion	Mar Negro / Black Sea	2.04 ± 1.05 (7.62)	Red / Mesh (200 μm	Aytan et al. (2022)
Interi	Océano Atlántico / Atlantic Ocean	1.15 ± 1.45 (8.5)	Bomba con malla / Pump with mesh (250 $\mu m)$	Kanhai et al. (2017)
	Mar Mediterráneo / Mediterranean Sea	1.00 ± 1.84 (11.30)	Red / Mesh (200 µm)	Suaria <i>et al.</i> (2016)
	Mar Báltico / Baltic Sea	0.63 ± 0.73 (4.43)	Red / Mesh (300 $\mu m)$	Aigars et al. (2021)

Tabla 3. Abundancia de microplásticos presentes en aguas marinas en diferentes partes del mundo, promedios \pm desviación estándar (máximos).

Table 3. Abundance of microplastics present in marine waters in different parts of the world, averages \pm standard deviation (maximums).

Así mismo, en la época seca disminuye la fuerza de arrastre del agua que ingresa por los ríos, lo que conlleva a una menor dispersión de los MP. De hecho, se ha demostrado que las ráfagas turbulentas pueden desencadenar el arrastre transitorio de partículas, especialmente las de tamaño inferior, ya que son lo suficientemente pequeñas como para ser más susceptibles a las alteraciones de los procesos hidrodinámicos, transfiriéndose fácilmente a la columna de agua (Zhang, 2017; Xia et al., 2021). Esto aclara que más de 50 % de los MP se encontraran en rangos de tamaño < 1000 µm. Así mismo, estas variaciones hidroclimáticas pueden explicar que en la época de lluvia se observara una mayor acumulación de MP en la porción externa y en la época seca en la interna de la bahía. Estas diferencias en la acumulación y movilización de los MP son de especial interés debido a que los "MP viejos" se reactivan y a menudo pueden contener sustancias químicas más tóxicas que los "MP frescos" (Xia et al., 2021).

Likewise, during the dry season, the drag force of water entering from the rivers decreases, leading to a lower dispersion of MPs. In fact, it has been demonstrated that turbulent bursts can trigger the transient drag of particles, especially smaller ones, as they are small enough to be more susceptible to alterations in hydrodynamic processes, easily transferring to the water column (Zhang, 2017; Xia et al., 2021). This explains why more than 50 % of the MPs are found in size ranges <1000 µm. Furthermore, these hydroclimatic variations might explain why a greater accumulation of MPs was observed in the outer portion during the rainy season and in the inner portion during the dry season in the bay. These differences in the accumulation and movement of MPs are of special interest because 'old MPs' can be reactivated and often contain more toxic substances than 'fresh' ones (Xia et al., 2021).

77

Por otro lado, la mayor abundancia de MP en la porción interna (EI) del estuario podría explicarse por la exposición a la desembocadura de los ríos y esteros, al igual que de los corregimientos municipales como Punto Tibio, Robles, El Retoño, Rosario, Gualajo, Bernardino Ortiz y Las Sirenas. Esas áreas rurales alcanzan más de 93 mil habitantes, presentando un crecimiento poblacional desordenado y acelerado que ha traído consigo problemas de contaminación (Tejada-Vélez *et al.*, 2003; Alcaldia de Tumaco, 2019; Hitchcock y Mitrovic, 2019; Defontaine *et al.*, 2020).

A su vez, la bahía presenta una fuerte intervención antrópica con el desarrollo de actividades de carácter industrial, doméstico y portuario; además del inadecuado manejo y disposición final de los residuos sólidos domiciliarios y aguas residuales (Tejada-Vélez et al., 2003; Correa et al., 2016), ya que de 35 % a 40 % de los residuos sólidos y 50 % de los líquidos generados son vertidos directamente al mar, ocasionando ingresos significativos de residuos como redes, nylon, plásticos, entre otros (CCO, 2008). Teniendo en cuenta que los habitantes de Tumaco basan su economía en labores extractivas como la pesca, la cual se desarrolla en sitios cercanos al hábitat de las comunidades, y que los pescadores artesanales son los principales abastecedores de la industria procesadora de pescado con 22 asociaciones que integran cerca de mil pescadores artesanales (Sánchez-Gutiérrez, 2012), la población local al igual que los ecosistemas estuarinos son vulnerables a la problemática ambiental generada por los MP.

La distribución espacio-temporal de los MP en el medio marino es un tema complejo que se correlaciona con varios factores, incluida la oceanografía, el clima, las propiedades físicas y químicas de los MP, así como los procesos biológicos (Jiang *et al.*, 2020). En este estudio se relacionó la abundancia de MP con la salinidad, precipitación y TDS. Se observó una correlación positiva entre la abundancia de fibras y la salinidad, lo que podría indicar que la salinidad, al aumentar la densidad del agua, juega un papel importante en la distribución de MP.

Los materiales plásticos tienen diferentes densidades que suelen oscilar entre 0.04 y 1.58 g/cm³, es decir que una salinidad más alta da como resultado una mayor fuerza de flotabilidad y, por lo tanto, mayor acumulación de MP en las aguas superficiales (Jiang *et al.*, 2020). Esto puede afectar principalmente a las fibras, las cuales poseen relaciones de superficie/volumen más altas, lo que les confiere una mayor flotabilidad, lo que sumado a altas concentraciones de salinidad aumentaría las fuerzas de arrastre y el tiempo sobre el agua superficial y reduciría las velocidades de On the other hand, the higher abundance of MPs in the inner portion (IE) of the estuary could be explained by its exposure to the river and stream mouths, as well as to municipal rural subdivisions like Punto Tibio, Robles, El Retoño, Rosario, Gualajo, Bernardino Ortiz, and Las Sirenas. These rural areas amount to more than 93 thousand inhabitants, showing rapid and disorganized population growth that has brought about pollution issues (Tejada-Vélez *et al.*, 2003; Alcaldia de Tumaco, 2019; Hitchcock and Mitrovic, 2019; Defontaine *et al.*, 2020).

In turn, the bay is subject to strong anthropogenic intervention, in the form of industrial, domestic, and port activities, in addition to the improper management and disposal of household solid waste and wastewater (Tejada-Vélez et al., 2003; Correa et al., 2016), given that that 35 % to 40 % of the solid waste and 50 % of the liquid waste generated are directly dumped into the sea, leading to significant inputs of debris such as nets, nylon, and plastics, among others (CCO, 2008). Considering that the inhabitants of Tumaco base their economy on extraction activities such as fishing, which takes place in areas close to the communities' habitat, and that artisanal fishermen are the main suppliers of the fish processing industry, with 22 associations comprising about a thousand artisanal fishermen (Sánchez-Gutiérrez, 2012), the local population and the estuarine ecosystems are vulnerable to the environmental issues generated by MPs.

The spatial-temporal distribution of MPs in the marine environment is a complex issue correlated with several factors, including oceanography, climate, the physical and chemical properties of the MPs, and biological processes (Jiang *et al.*, 2020). In this study, the abundance of MPs was related to salinity, precipitation, and TDS. A positive correlation was observed between the abundance of fibers and salinity, suggesting that salinity, by increasing water density, plays a significant role in the distribution of MPs.

Plastic materials have varying densities, typically ranging from 0.04 to 1.58 g/cm³, which is to say that a higher salinity results in a greater buoyancy force, and therefore in an increased accumulation of MPs in surface waters (Jiang *et al.*, 2020). This can particularly affect fibers, which have higher surface-to-volume ratios, giving them greater buoyancy. In combination with high salinity concentrations, this would increase drag forces and the time on the water's surface, in addition to reducing the settling speeds in the sediment. This could also explain why fibers asentamiento en el sedimento. Esto también podría explicar porque las fibras tuvieron una distribución proporcional en todo el estuario y fueron el tipo de MP más abundante, además de otros factores como la descarga de aguas residuales domesticas que contienen fibras, las actividades de transporte marítimo, las actividades de pesca y la escorrentía superficial (Alfonso *et al.*, 2021).

En este estudio, también se encontró una relación directa entre las fibras y los TDS, así como en otras investigaciones similares que han evidenciado correlaciones entre la abundancia de MP y TDS (Ibeto *et al.*, 2021; Sari *et al.*, 2021). Esta asociación podría deberse a la interacción sedimentación-resuspensión, aumentando las concentraciones de MP en sedimentos en época de lluvia (Dhineka *et al.*, 2022; Jeyasanta *et al.*, 2023; Martínez, 2023), debido a la adherencia de los TDS a los MP, lo cual aumenta el tamaño y la densidad de los MP mejorando su tasa de sedimentación (Barros, 2021; Buwono *et al.*, 2021; Gupta *et al.*, 2021).

Por otra parte, en época seca los MP inmovilizados en el sedimento pueden reactivarse por la perturbación en la interfaz agua - sedimento, acumulándose en el agua superficial y disminuyendo la cantidad de MP en los sedimentos (Lafabrie et al., 2013; Zhang et al., 2020; Martínez, 2023), ya que, como afirman Xia et al. (2021), las partículas de menor tamaño y densidad, como los MP, presentan más eventos de resuspensión en comparación con las de mayor tamaño, facilitando la transferencia de microplásticos del sedimento al agua. Adicional a esto, la flotabilidad se ve reducida con las precipitaciones puesto que se reduce la salinidad de la columna de agua, por lo tanto, la tasa de hundimiento aumenta y posiblemente permita que más partículas lleguen al fondo. Contrario a esto, durante la época seca, las aguas estuarinas se caracterizan por una mayor salinidad, eso podría reducir la tasas de sedimentación de las partículas y causar una menor concentración de MP en el sedimento (Gupta et al., 2021), de modo que los sedimentos podrían estar actuando como un sumidero y una fuente de MP (Dalu et al., 2021).

En cuanto a la relación directa entre la precipitación y las láminas, fragmentos y MP totales puede deberse a que las aguas pluviales transportan desechos provenientes del suelo a través de la escorrentía, lo que contribuiría a la entrada de estos MP en el estuario (Bailey *et al.*, 2021; Werbowski *et al.*, 2021). Igualmente, se ha evidenciado que las altas precipitaciones aumentan la deposición de MP atmosféricos por la unión de MP atmosféricos a las partículas de agua de lluvia, es decir, cuanto mayor es la precipitación, más MP se depositan (Ferrero *et al.*, 2022; Purwiyanto *et al.*, 2022). had a proportional distribution throughout the estuary and were the most abundant type of MP, besides other factors such as the discharge of domestic wastewater containing fibers, maritime transport activities, fishing activities, and surface runoff (Alfonso *et al.*, 2021).

This study also found a direct relationship between fibers and TDS. Similar research works have shown correlations between the abundance of MPs and TDS (Ibeto *et al.*, 2021; Sari *et al.*, 2021). This association could be due to the sedimentation-resuspension interaction, increasing MP concentrations in sediments during the rainy season (Dhineka *et al.*, 2022; Jeyasanta *et al.*, 2023; Martínez, 2023) due to the adherence of TDS to MPs, which increases the MPs size and density and improves their sedimentation rate (Barros, 2021; Buwono *et al.*, 2021; Gupta *et al.*, 2021).

On the other hand, during the dry season, the MPs immobilized in the sediment can be reactivated by disturbances at the water-sediment interface, accumulating in surface water and decreasing the number of MPs in the sediments (Lafabrie et al., 2013; Zhang et al., 2020; Martínez, 2023), given that, as argued by Xia et al. (2021), smaller and less dense particles like MPs show more resuspension events when compared to larger ones, facilitating the transfer of microplastics from sediment to water. In addition, buoyancy is reduced by precipitation because the salinity of the water column decreases, thus increasing the sinking rate and possibly allowing more particles to reach the bottom. Conversely, during the dry season, estuarine waters are characterized by higher salinity, which could reduce the sedimentation rates of the particles and cause a lower MP concentration in the sediment (Gupta et al., 2021). Therefore, sediments could be acting as both a sink and a source of MPs (Dalu et al., 2021).

The direct relationship between precipitation and films, fragments, and total MPs could be because rainwater carries waste from the ground through runoff, which would contribute to the entry of these MPs into the estuary (Bailey *et al.*, 2021; Werbowski *et al.*, 2021). Similarly, it has been shown that a high precipitation increases the deposition of atmospheric MPs due to the binding of atmospheric MPs to rainwater particles, which is to say that the greater the precipitation, the more MPs are deposited (Ferrero *et al.*, 2022; Purwiyanto *et al.*, 2022).

La mayoría de los MP encontrados se registraron dentro de un rango de tamaño de 250 a 1000 μ m; esto podría deberse a que los MP pequeños son fáciles de transportar y tienden a mezclarse con el agua y a distribuirse uniformemente en sus diferentes capas; los MP grandes, por su parte, flotan principalmente en la superfície del agua. Esto disminuye los efectos de acumulación de las partículas de tamaño pequeño en comparación con las grandes (He *et al.*, 2021).

En cuanto a los colores encontrados en las muestras de agua superficial predominaron blanco, transparente y azul. El color blanco generalmente es un indicativo de que el tipo de polímero fuente podría haber sido polietileno; asimismo, tal color señala indirectamente el proceso de degradación que se lleva a cabo en el sitio durante un largo período, que transforma otros contenidos de color en blanco indigerido por la biota acuática (Kosore *et al.*, 2018; Bharath *et al.*, 2021). El color amarillento de los MP también puede indicar el proceso de fotooxidación y meteorización de los mismos (Choong *et al.*, 2021; He *et al.*, 2021; Wicaksono *et al.*, 2021).

Los MP transparentes generalmente se asocian con polipropileno, comúnmente utilizado como material de empaque de alimentos, mientras que el azul se relaciona con materiales y actividades de pesca o textiles. Finalmente, el color de los microplásticos es importante ya que puede proporcionar información para predecir la fuente y el proceso de meteorización de los MP (Choong *et al.*, 2021; He *et al.*, 2021; Wicaksono *et al.*, 2021).

Los resultados encontrados además de demostrar un alto nivel de contaminación en la bahía de Tumaco contrastan con la variación espacio-temporal registrada en estudios similares en Buenaventura, donde hubo una mayor concentración de MP en la época de lluvia y en la zona externa del estuario, evidenciando como las distintas dinámicas dentro de estos ambientes, al igual que las fuentes de contaminación, condicionan las concentraciones de MP en la superficie del agua de manera específica para cada bahía. Es oportuno considerar que las metodologías para el procesamiento de los MP varían respecto a cada investigación, lo que limita las comparaciones en cuanto al rango de tamaño y la cantidad de MP que podrían encontrarse.

CONCLUSIONES

En general, la bahía de Tumaco presenta altos niveles de contaminación y un aumento en la concentración de MP dentro del estuario. En la época de lluvia se observa una mayor abundancia en la parte externa, mientras que en Most of the MPs found were within a size range of 250 to 1000 μ m. This could be due to the fact that smaller MPs are easily transported and tend to mix with the water and distribute evenly across its different layers. On the other hand, larger MPs primarily float on the water's surface. This reduces the accumulation effects of small particles when compared to larger ones (He *et al.*, 2021).

Regarding the colors found in the surface water samples, white, transparent, and blue were predominant. White is generally an indication that the source polymer type might have been polyethylene. Likewise, this color indirectly signals the degradation process taking place at the site over a long period, transforming other colored contents into white, indigestible by aquatic biota (Kosore *et al.*, 2018; Bharath *et al.*, 2021). The yellowish color of the MPs can also indicate the process of photooxidation and weathering of these particles (Choong *et al.*, 2021; He *et al.*, 2021; Wicaksono *et al.*, 2021).

Transparent MPs are generally associated with polypropylene, which is commonly used in food packaging materials, while blue is linked to materials and activities related to fishing or textiles. The color of microplastics is important, as it can provide insights to predict the source and the weathering process of MPs (Choong *et al.*, 2021; He *et al.*, 2021; Wicaksono *et al.*, 2021).

The results found in this study, in addition to demonstrating a high level of pollution in Tumaco Bay, contrast with the spatial-temporal variation recorded in similar studies in Buenaventura, where there was a higher concentration of MPs during the rainy season and in the outer area of the estuary. This evidences how the different dynamics within these environments, as well as the sources of contamination, specifically condition MP concentrations on the superficial water of each bay. It is worth considering that the methodologies for processing MPs vary between studies, which limits comparisons regarding the size range and the quantity of MPs found.

CONCLUSIONS

In general, Tumaco Bay exhibits high levels of pollution and an increased MP concentration within the estuary. During the rainy season, a greater abundance is observed in the outer part, whereas, in the dry season, a higher abundance is evident in the inner portion due to the reduction in the amount of water entering the bay. la época seca se evidencia mayor abundancia en la porción interna, debido a la disminución de la cantidad de agua que ingresa a la bahía.

Las fibras fueron los MP más abundantes (53.89 %), probablemente porque se caracterizan por poseer una mayor flotabilidad. Se logró relacionar la concentración y tipo de MP con las variables ambientales, demostrando la influencia en la abundancia y/o acumulación de los MP por la salinidad, TDS y precipitación. Esto debido a que las dinámicas de las épocas climáticas provocan aumentos de la densidad del agua en época seca y una disminución en época de lluvia, lo que probablemente produce, junto al tamaño de los MP, movilizaciones y asentamientos en las aguas superficiales, además de los depósitos atmosféricos y la escorrentía, factores externos que conllevan a un incremento de los MP.

La mayoría de los MP se encontraron en un rango de tamaño 250 a 1000 µm mientras que el blanco, azul y transparente fueron los colores predominantes aportando información relevante para la determinación de la fuente y el proceso de meteorización.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia por el apoyo institucional, al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación por la financiación del proyecto: "Evaluación de la biodiversidad y la dinámica ecosistémica para determinar prioridades de conservación y sustentabilidad de la pesca artesanal en la Bahía de Tumaco, Nariño", (Codigo 65500), del cual se deriva este estudio; y al grupo de investigación en Ecología y Contaminación Acuática por el apoyo en campo y laboratorio. Fibers were the most abundant type of MPs (53.89 %), probably because they are characterized by a greater buoyancy. It was determined that the MP density and type of MP were related to the environmental variables, demonstrating that salinity, TDS, and precipitation influenced MP abundance and/or accumulation. This is due to the fact that the dynamics of the climatic seasons cause increases in water density during the dry season and a decrease during the rainy season, which probably produces, along with the MP size, mobilization and settlement in surface waters. This, in addition to atmospheric deposits and runoff, external factors that contribute to an increase in MPs.

Most MPs were found in the size range of 250 to 1000 μ m, and white, blue, and transparent were the predominant colors, providing relevant information for determining the source and the weathering process.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Universidad Nacional de Colombia for the institutional support, the Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación for the financing of the project: "Evaluación de la biodiversidad y la dinámica ecosistémica para determinar prioridades de conservación y sustentabilidad de la pesca artesanal en la Bahía de Tumaco, Nariño", (Code 65500), from which this study is derived; and to the Ecología y Contaminación Acuática research group for the support in the field and laboratory.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Acosta-Coley, I., M. Duran-Izquierdo, E. Rodriguez-Cavallo, J. Mercado-Camargo, D. Mendez-Cuadro and J. Olivero-Verbel. 2019. Quantification of microplastics along the Caribbean Coastline of Colombia: Pollution profile and biological effects on *Caenorhabditis elegans*. Mar Pollut Bull, 146: 574–583. https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2019.06.084
- Aigars, J., M. Barone, N. Suhareva, I. Putna-Nimane and I. Deimantovica-Dimante. 2021. Occurrence and spatial distribution of microplastics in the surface waters of the Baltic Sea and the Gulf of Riga. Mar Pollut Bull, 172, 13 p. https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2021.112860
- Alcaldia de Tumaco. 2019. Análisis de la Situación de Salud con el Modelo de los Determinantes Sociales ASIS. https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/ BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-distrital-tumaco-2019.pdf 01/02/2022.
- Alfonso, M.B., A.H. Arias, A.C. Ronda and M.C. Piccolo. 2021. Continental microplastics: Presence, features, and environmental transport pathways. Sci. Total Environ., 799, 15 p. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149447
- Anderson, M.J. 2017. Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). Wiley StatsRef: Statistics Reference Online, 23 p. https://doi. org/10.1002/9781118445112.STAT07841
- Anderson, Z.T., A.B. Cundy, I.W. Croudace, P.E. Warwick, O. Celis-Hernández and J.L. Stead. 2018. A rapid method for assessing the accumulation of microplastics in the sea surface microlayer (SML) of estuarine systems. Scient. Rep., 8, 11 p. https://doi.org/10.1038/s41598-018-27612-w
- Avendaño, J., A. Rodríguez Rodríguez y D.I. Gómez López. 2019. Servicios ecosistémicos marinos y costeros de Colombia: Énfasis en manglares y pastos marinos. Invemar, Santa Marta. 30 p.
- Aytan, U., F.B. Esensoy and Y. Senturk. 2022. Microplastic ingestion and egestion by copepods in the Black Sea. Sci. Total Environ., 806, 10 p. https://doi. org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.150921
- Bailey, K., K. Sipps, G.K. Saba, G. Arbuckle-keil, R.J. Chant and N.L. Fahrenfeld. 2021. Quantification and composition of microplastics in the Raritan Hudson Estuary : Comparison to pathways of entry and implications for fate. Chemosphere, 272, 11 p. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129886
- Barros, W. 2021. Separación de microplásticos mediante procesos fisicoquímicos en aguas residuales en la ciudad de Riobamba. Tesis ing. Civil, Univ. Nal. Chimborazo, Riobamba. 42 p. http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/7646/1/06678.pdf
- Bharath, M.K., U. Natesan, R. Vaikunth, P. Kumar, R. Ruthra and S. Srinivasalu. 2021. Spatial distribution of microplastic concentration around landfill sites and its potential risk on groundwater. Chemosphere, 277, 6 p. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130263
- Buwono, N.R., Y. Risjani and A. Soegianto. 2021. Distribution of microplastic in relation to water quality parameters in the Brantas River, East Java, Indonesia. Environ. Tech. Innov., 24, 13 p. https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101915
- Campos da Rocha, F.O., S.T. Martínez, V.P. Campos, G.O. da Rocha and J.B. de Andrade. 2021. Microplastic pollution in southern Atlantic marine waters: Review of current trends, sources, and perspectives. Sci. Total Environ., 782, 15 p. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146541
- Carbery, M., W. O'Connor and P. Thavamani. 2018. Trophic transfer of microplastics and mixed contaminants in the marine food web and implications for human health. Environ. Int., 115: 400–409. https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.007
- Caruso, G. 2019. Microplastics as vectors of contaminants. Mar. Pollut. Bull., 146: 921-924. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.052
- Comisión Colombiana del Océano. 2008. Efectos adversos generados por la basura marina y conformación del grupo de trabajo para reducir su ingreso al medio marino. Inf. Final, CCO, Bogotá. 48 p.
- Chen, H. L., S. B. Selvam, K. N. Ting and C. N. Gibbins. 2021. Microplastic pollution in freshwater systems in southeast Asia: contamination levels, sources, and ecological impacts. Environ. Sci. Pollut. Res., 28: 54222–54237. https://doi.org/10.1007/S11356-021-15826-X
- Choong, W.S., T. Hadibarata, A. Yuniarto, K. Ho, D. Tang, F. Abdullah, M. Syafrudin, D.A. Al Farraj and A.M. Al-Mohaimeed. 2021. Characterization of microplastics in the water and sediment of Baram River estuary, Borneo Island. Mar. Pollut. Bull., 172, 8 p. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112880
- Coe, J. and D. Rogers. 1997. Marine debris: Sources, impacts, and solutions. Springer, New York. 415 p.
- Correa, J.A., D. Escrucería, A. Jiménez y J.V. Torres. 2016. Acuerdo No. 008 de Mayo 22 de 2016 "Por el cual se adopta el plan de desarrollo del municipio de Tumaco 2016 2019 Tumaco nuestra PAZion." https://cpd.blob.core.windows.net/test1/52835planDesarrollo.pdf 15/01/2022.
- Dalu, T., T. Banda, T. Mutshekwa, L. F. Munyai and R.N. Cuthbert. 2021. Effects of urbanisation and a wastewater treatment plant on microplastic densities along a subtropical river system. Environ. Sci. Pollut. Res., 28: 36102–36111. https://doi.org/10.1007/s11356-021-13185-1
- Daoud-Taha, Z., R.M. Amin, S. Tuan Anuar, A. Arif, A. Nasser and S. Sohaimi. 2021. Microplastics in seawater and zooplankton: A case study from Terengganu estuary and offshore waters, Malaysia. Sci. Total Environ., 786, 12 p. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147466

- Defontaine, S., D. Sous, J. Tesan, M. Monperrus, V. Lenoble and L. Lanceleur. 2020. Microplastics in a salt-wedge estuary: Vertical structure and tidal dynamics. Mar. Pollut. Bull., 160, 14 p. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111688
- Díaz Merlano, J.M., J.M. Renjifo y S. Montes Veira. 2007. Deltas y estuarios de Colombia. Colección Ecológica, Banco de Occidente, Cali. 191 p.
- Dhineka, K., M. Sambandam, S. Sivadas, T. Kaviarasan, U. Pradhan, M. Begum, P. Mishra and M. Ramana. 2022. Characterization and seasonal distribution of microplastics in the nearshore sediments of the south-east coast of India, Bay of Bengal. Front. Environ. Sci. Eng., 16: 1–11. https://doi.org/10.1007/ s11783-021-1444-0
- Duque, G., D.E. Gamboa-García, A. Molina and P. Cogua. 2020. Effect of water quality variation on fish assemblages in an anthropogenically impacted tropical estuary, Colombian Pacific. Environ. Sci. Pollut. Res., 27: 25740–25753. https://doi.org/10.1007/S11356-020-08971-2
- Ferrero, L., L. Scibetta, P. Markuszewski, M. Mazurkiewicz, V. Drozdowska, P. Makuch, P. Jutrzenka-Trzebiatowska, A. Zaleska-Medynska, S. Andò, F. Saliu, D.E. Nilsson and E. Bolzacchini. 2022. Airborne and marine microplastics from an oceanographic survey at the Baltic Sea: An emerging role of air-sea interaction? Sci. Total Environ., 824, 16 p. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.153709
- Frias, J. P. G. L. and R. Nash. 2019. Microplastics: Finding a consensus on the definition. Mar. Pollut. Bull., 138: 145–147. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2018.11.022
- Galgani, L. and S.A. Loiselle. 2021. Plastic pollution impacts on marine carbon biogeochemistry *. Environ. Pollut., 268, 10 p. https://doi.org/10.1016/j. envpol.2020.115598
- Garcés-Ordóñez, O., L.F. Espinosa, R.P. Cardoso, B.B. Issa Cardozo and R. Meigikos dos Anjos. 2020. Plastic litter pollution along sandy beaches in the Caribbean and Pacific coast of Colombia. Environ. Pollut., 267, 13 p. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115495
- Garcés-Ordóñez, O., L.F. Espinosa, M. Costa Muniz, L.B. Salles Pereira and R. Meigikos dos Anjos. 2021. Abundance, distribution, and characteristics of microplastics in coastal surface waters of the Colombian Caribbean and Pacific. Environ. Sci. Pollut. Res., 12 p. https://doi.org/10.1007/s11356-021-13723-x
- García, I. 2009. The effects of climate variability on the structure of the phytoplankton community in Tumaco Bay, Colombia. Tesis Doc. Philosophy, The University of Southern Mississippi, Mississippi. 269 p.
- Gupta, P., M. Saha, C. Rathore, V. Suneel, D. Ray, A. Naik, K. Unnikrishnan, M. Dhivya and K. Daga. 2021. Spatial and seasonal variation of microplastics and possible sources in the estuarine system from central west coast of India. Environ. Pollut, 288, 14 p. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117665
- Haddout, S., G.T. Gimiliani, K.L. Priya, A.M. Hoguane, J.C.C. Casila and I. Ljubenkov. 2021. Microplastics in surface waters and sediments in the Sebou Estuary and Atlantic coast, Morocco. Anal. Lett., 14 p. https://doi.org/10.1080/00032719.2021.1924767
- He, D., X. Chen, W. Zhao, Z. Zhu, X. Qi, L. Zhou, W. Chen, C. Wan, D. Li, X. Zou and N. Wu. 2021. Microplastics contamination in the surface water of the Yangtze River from upstream to estuary based on different sampling methods. Environ. Res., 196, 9 p. https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110908
- Hitchcock, J.N. 2020. Storm events as key moments of microplastic contamination in aquatic ecosystems. Sci. Total Environ., 734, 6 p. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2020.139436
- Hitchcock, J.N. and S.M. Mitrovic. 2019. Microplastic pollution in estuaries across a gradient of human impact. Environ. Pollut., 247, 10 p. https://doi. org/10.1016/j.envpol.2019.01.069
- Ibeto, C.N., C.E. Enyoh, A.C. Ofomatah, L.A. Oguejiofor and T. Okafocha. 2021. Microplastics pollution indices of bottled water from south eastern Nigeria. Int. J. Environ. Anal. Chem., 00, 21 p. https://doi.org/10.1080/03067319.2021.1982926
- IDEAM. 2020. Consulta y Descarga de Datos Hidrometeorológicos. http://dhime.ideam.gov.co/atencionciudadano/ 10/12/2021.
- Invemar. 2017. Resolución No. 646 de 2017. Formulación de lineamientos, medidas de conservación, manejo y uso de ecosistemas marinos y costeros, con la intención de apoyar acciones de fortalecimiento en la gestión ambiental de las zonas costeras de Colombia. https://alfresco.invemar.org.co/share/s/ DDX0 eRcTH2 dbTSIPLyVw 1/02/2022.
- Issac, M.N. and B. Kandasubramanian. 2021. Effect of microplastics in water and aquatic systems. Environ. Sci. Pollut. Res., 28: 19544–19562. https://doi. org/10.1007/S11356-021-13184-2
- Jeyasanta, K., M. Jayanthi, R. Laju, J. Patterson, D. Bilgi, N. Sathish and J. Patterson. 2023. Seasonal and spatial variations in the distribution pattern, sources and impacts of microplastics along different coastal zones of Tamil Nadu, India. Mar. Pollut. Bull., 192, 18 p. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115114
- Jiang, Y., Y. Zhao, X. Wang, F. Yang, M. Chen and J. Wang. 2020. Characterization of microplastics in the surface seawater of the South Yellow Sea as affected by season. Sci. Total Environ., 724, 8 p. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138375
- Jones, J.I., A. Vdovchenko, D. Cooling, J.F. Murphy, A. Arnold, J.L. Pretty, K.L. Spencer, A.A. Markus, A.D. Vethaak and M. Resmini. 2020. Systematic analysis of the relative abundance of polymers occurring as microplastics in freshwaters and estuaries. Int. J. Environ. Res. Public Health, 17, 12 p. https://doi.org/10.3390/ijerph17249304

- Kanhai, L.D.K., R. Officer, O. Lyashevska, R.C. Thompson and I. O'Connor. 2017. Microplastic abundance, distribution and composition along a latitudinal gradient in the Atlantic Ocean. Mar. Pollut. Bull., 115: 307–314. https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2016.12.025
- Kerubo, J., A. Muthumbi, J. Onyari, E. Kimani and D. Robertson-Andersson. 2020. Microplastic pollution in the surface waters of creeks along the Kenyan coast, Western Indian Ocean (WIO). Mar. Sci., 19: 75–88. https://doi.org/10.1038/278097a0
- Kosore, C., L. Ojwang, J. Maghanga, J. Kamau, A. Kimeli, J. Omukoto, N. Ngisiag, H. Ong, C. Magori and E. Ndirui. 2018. Occurrence and ingestion of microplastics by zooplankton in Kenya's marine environment : first documented evidence. Afr. J. Mar. Sci., 40: 225–234. https://doi.org/10.2989/181 4232X.2018.1492969
- Lafabrie, C., M. Garrido, C. Leboulanger, P. Cecchi, G. Grégori, V. Pasqualini and O. Pringault. 2013. Impact of contaminated-sediment resuspension on phytoplankton in the Biguglia lagoon (Corsica, Mediterranean Sea). Estuar. Coast. Shelf Sci., 130: 70–80. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.06.025
- Li, C., X. Wang, K. Liu, L. Zhu, N. Wei, C. Zong and D. Li. 2021. Pelagic microplastics in surface water of the Eastern Indian Ocean during monsoon transition period: Abundance, distribution, and characteristics. Sci. Total Environ., 755, 11 p. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.142629
- Lindeque, P.K., M. Cole, R.L. Coppock, C.N. Lewis, R.Z. Miller, A.J.R. Watts, A. Wilson-McNeal, S.L. Wright and T.S. Galloway. 2020. Are we underestimating microplastic abundance in the marine environment? A comparison of microplastic capture with nets of different mesh-size. Environ. Pollut., 265, 12 p. https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2020.114721
- Lobelle, D., M. Kooi, A.A. Koelmans, C. Laufkötter, C.E. Jongedijk, C. Kehl and E. Sebille. 2021. Global modeled sinking characteristics of biofouled microplastic. J. Geophys. Res. Oc., 126, 15 p. https://doi.org/10.1029/2020JC017098
- Lusher, A.L., V. Tirelli, I. O'Connor and R. Officer. 2015. Microplastics in Arctic polar waters: the first reported values of particles in surface and sub-surface samples. Sci. Rep., 5, 9 p. https://doi.org/10.1038/srep14947
- Lusher, A.L., N.A. Welden, P. Sobral and M. Cole. 2017. Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. Anal. Met., 9: 1346–1360. https://doi.org/10.1039/c6ay02415g
- Martínez, S. 2023. Dinámica espacio-temporal de la contaminación por microplásticos en sedimentos marinos de la bahía de Tumaco, Nariño. Tesis Ing. Ambiental, Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira.
- Masura, J., J. Baker, G. Foster, C. Arthur and C. Herring. 2015. Laboratory methods for the analysis of microplastics in the marine environment: Recommendations for quantifying synthetic particles in waters and sediments. NOAA Techn. Mem., 39 p.
- Mauro, R.Di., M.J. Kupchik and M.C. Ben. 2017. Abundant plankton-sized microplastic particles in shelf waters of the northern Gulf of Mexico. Environ. Pollut., 230: 798–809. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.030
- Molina Sandoval, A.E. 2020. Influencia de los ensamblajes de peces bentónicos en la dinámica del mercurio en un estuario tropical. Tesis Doc. Ciencias-Biología, Univ. Nal Col., Caribe, Santa Marta, 139 p.
- Morales, A.D. 2003. Análisis de las condiciones oceanográficas y meteorológicas de la bahía de Tumaco y su relación con eventos de escala global. Bol. Cient. CCCP, 9, 21 p. https://ojs.dimar.mil.co/index.php/CCCP/article/view/351
- Naidoo, T., D. Glassom and A.J. Smit. 2015. Plastic pollution in five urban estuaries of KwaZulu-Natal, South Africa. Mar. Pollut. Bull., 101: 473–480. https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2015.09.044
- Oo, P.Z., S. K. Boontanon, N. Boontanon, S. Tanaka and S. Fujii. 2021. Horizontal variation of microplastics with tidal fluctuation in the Chao Phraya River Estuary, Thailand. Mar. Pollut. Bull., 173, 7 p. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112933
- Prata, J.C., V. Reis, J.P. da Costa, C. Mouneyrac, A.C. Duarte and T. Rocha-Santos. 2021. Contamination issues as a challenge in quality control and quality assurance in microplastics analytics. J. Haz. Mat., 403, 8 p. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123660
- Preciado, D. y A. Zapata. 2020. Contaminación por basura marina y microplástico en puntos priorizados de suelos de manglar del municipio de San Andrés de Tumaco- Nariño. Tesis Ing. Amb. Sanit., Corp. Univ. Autón. Cauca, Popayán. 105 p.
- Purwiyanto, A.I.S., T. Prartono, E. Riani, Y. Naulita, M.R. Cordova and A.F. Koropitan. 2022. The deposition of atmospheric microplastics in Jakarta-Indonesia: The coastal urban area. Mar. Pollut. Bull., 174, 10 p. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113195
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. http://www.r-project.org/1/02/2022.
- Ragusa, A., A. Svelato, C. Santacroce, P. Catalano, V. Notarstefano, O. Carnevali, F. Papa, M.C.A. Rongioletti, F. Baiocco, S. Draghi, E. D'Amore, D. Rinaldo, M. Matta and E. Giorgini. 2021. Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. Environ. Int., 146, 8 p. https://doi.org/10.1016/J. ENVINT.2020.106274
- Rangel-Buitrago, N., A.V. Mendoza, E. Mantilla-Barbosa, H. Arroyo-Olarte, V.A. Arana, J. Trilleras, C.A. Gracia, W.J. Neal and A.T. Williams. 2021. Plastic pollution on the Colombian central Caribbean beaches. Mar. Pollut. Bull., 162, 11 p. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111837

- Reisser, J., M.F. Costa, R. Riera, E.S. Germanov, A.D. Marshall, I.G. Hendrawan, R. Admiraal, C.A. Rohner, J. Argeswara, R. Wulandari, M.R. Himawan and N.R. Loneragan. 2019. Microplastics on the menu: Plastics pollute Indonesian manta ray and whale shark feeding grounds. Front. Mar. Sci., 6, 21 p. https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00679
- Rostami, S., M.R. Talaie, A. Talaiekhozani and M. Sillanpää. 2021. Evaluation of the available strategies to control the emission of microplastics into the aquatic environment. Environ. Sci. Pollut. Res., 28: 18908–18917. https://doi.org/10.1007/S11356-021-12888-9
- Saha, M., A. Naik, A. Desai, M. Nanajkar, C. Rathore, M. Kumar and P. Gupta. 2021. Microplastics in seafood as an emerging threat to marine environment: A case study in Goa, west coast of India. Chemosphere, 270, 17 p. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.129359
- Salgado, H.M. and E.J. Peña. 2016. Seaweed checklist of Tumaco's bay, Colombian Pacific. Hidrobiológica, 26: 299–309. https://doi.org/10.24275/uam/ izt/dcbs/hidro/2016v26n2/marin
- Sánchez Gutiérrez, J. 2012. Caracterización y diagnóstico socioeconómico y ambiental de la costa pacífica en el departamento de Nariño. Convenio SENA-Tropenbos, 118 p. https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/2594/Caracterizaci%c3%b3n_y_diagn%c3%b3stico_socioecon%c3%b3mico_y_ ambiental.pdf?sequence=1&isAllowed=y 12/01/2022.
- Sari, H., N. Bakaraki, M. Albay and G. Onkal. 2021. A preliminary study on the distribution and morphology of microplastics in the coastal areas of Istanbul, the metropolitan city of Turkey: The effect of location differences. J. Clean Prod., 307, 12 p. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127320
- Schöneich-Argent, R.I., K. Dau and H. Freund. 2020. Wasting the North Sea? A field-based assessment of anthropogenic macrolitter loads and emission rates of three German tributaries. Environ. Pollut., 263, 13 p. https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2020.114367
- Senathirajah, K., S. Attwood, G. Bhagwat, M. Carbery, S. Wilson and T. Palanisami. 2021. Estimation of the mass of microplastics ingested-A pivotal first step towards human health risk assessment. J. Hazard. Mat., 404: 304–3894. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124004
- Shen, M., Z. Zeng, X. Wen, X. Ren, G. Zeng, Y. Zhang and R. Xiao. 2021. Presence of microplastics in drinking water from freshwater sources: the investigation in Changsha, China. Environ. Sci. Pollut. Res., 12 p. https://doi.org/10.1007/S11356-021-13769-X
- Shi, H., D. Yu, L. Yin, Y. Sui, Y. Liu, S. Qiao, W. Wang, W. Zheng and D. Ding. 2022. Source-sink process of microplastics in watershed-estuary-offshore system. J. Clean Prod., 338, 10 p. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.130612
- Skalska, K., A. Ockelford, J.E. Ebdon and A.B. Cundy. 2020. Riverine microplastics: Behaviour, spatio-temporal variability, and recommendations for standardised sampling and monitoring. J. Wat. Proc. Eng., 38, 21 p. https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2020.101600
- Simantiris, N. and M. Avlonitis. 2022. Simulation of the transport of marine microplastic particles in the Ionian Archipelago (NE Ionian Sea) using a Lagrangian model and the control mechanisms affecting their transport. J. Hazard. Mater., 437, 11 p. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129349
- Solís, M.S. 2022. Analisis ecotoxicologicos para evaluar la bioacumulacion de toxinas asociadas a la ingesta de microplastico en manta rayas oceanicas (Mobula birostris) de Isla de la Plata, Ecuador. Tesis Maes. Biod. Cambio Clim., Univ. Tecnol. Indoam., Quito. 77 p. http://repositorio.uti.edu.ec/ bitstream/123456789/2711/1/STACEY SOLÍS MICAELA.pdf
- Suaria, G., C.G. Avio, A. Mineo, G.L. Lattin, M.G. Magaldi, G. Belmonte, C.J. Moore, F. Regoli and S. Aliani. 2016. The Mediterranean plastic soup: Synthetic polymers in Mediterranean surface waters. Sci. Rep., 6, 10 p. https://doi.org/10.1038/srep37551
- Tafurt, D., A. Molina y G. Duque 2020. Influencia de las condiciones ambientales en la ecología trófica y presencia de microplásticos en tres especies de lenguados (Pleuronectiformes: Achiridae) en la bahía de Buenaventura, Pacífico colombiano. Rev. Biol. Trop., 69: 1055-1068.
- Tejada, C.E. 2003. Clima marítimo y dinámica litoral de la bahía de Tumaco, datos básicos para la evaluación de riesgos ambientales marinos. Bol. Cient. CCCP, 10: 67–76. https://ojs.dimar.mil.co/index.php/CCCP/article/view/362
- Tejada Vélez, C.E., L.J. Otero Díaz, L.Á. Castro Suárez y F. Afanador Franco. 2003. Aportes al entendimiento de la bahía de Tumaco. Entorno oceanográfico, costero y de riesgos. Bol. Cient. CCCP, 2, 168 p. https://doi.org/10.26640/9583352225.2003
- Usman, S., A.F.A. Razis, K. Shaari, M.N.A. Amal, M.Z. Saad, N.M. Isa, M.F. Nazarudin, S.Z. Zulkifli, J. Sutra and M.A. Ibrahim. 2020. Microplastics pollution as an invisible potential threat to food safety and security, policy challenges and the way forward. Int. J. Environ. Res. Public Health, 17, 24 p. https://doi.org/10.3390/ijerph17249591
- Vásquez-Molano, D., A. Molina y G. Duque. 2021. Distribución espacial y aumento a través del tiempo de microplásticos en sedimentos de la bahía de Buenaventura, Pacifico colombiano. Bol. Invest. Mar. Cost., 50: 27-42.
- Vidal, L., A.E. Molina Sandoval y G. Duque. 2021. Incremento de la contaminación por microplásticos en aguas superficiales de la bahía de Buenaventura, Pacífico colombiano. Bol. Invest. Mar. Cost., 50: 113–132. https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2021.50.2.1032
- Viršek, M., A. Palatinus, Š. Koren, M. Peterlin, P. Horvat and A. Kržan. 2016. Protocol for microplastics sampling on the sea surface and sample analysis. J. Vis. Exp., 118: 1–9. https://doi.org/10.3791/55161

- Wang, S., N. Xue, W. Li, D. Zhang, X. Pan and Y. Luo. 2020. Selectively enrichment of antibiotics and ARGs by microplastics in river, estuary and marine waters. Sci. Total Environ., 708, 11 p. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134594
- Wei, N., M. Bai, Y. Wang, J. Wang, K. Liu, L. Zhu, F. Zhang, X. Wang, T. Wu, Z. Zhang, C. Li, H. Wu, Z. Song, P. Jiang and D. Li. 2023. Dynamic signatures of microplastic distribution across the water column of Yangtze River Estuary: Complicated implication of tidal effects. Mar. Environ. Res., 188, 9 p. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.106005
- Werbowski, L.M., A.N. Gilbreath, K. Munno, X. Zhu, J. Grbic, T. Wu, R. Sutton, M.D. Sedlak, A.D. Deshpande and C.M. Rochman. 2021. Urban stormwater runoff: A major pathway for anthropogenic particles, black rubbery fragments, and other types of microplastics to urban receiving waters. Water, 1: 1420-1428. https://doi.org/10.1021/acsestwater.1c00017
- Wicaksono, E.A., S. Werorilangi, T.S. Galloway and A. Tahir. 2021. Distribution and seasonal variation of microplastics in Tallo River, Makassar, Eastern Indonesia. Toxics, 9, 129 p. https://doi.org/10.3390/TOXICS9060129
- Williams, A.T. and N. Rangel-Buitrago. 2019. Marine litter: Solutions for a major environmental problem. J. Coast. Res., 35: 648–663. https://doi.org/10.2112/ JCOASTRES-D-18-00096.1
- Wright, S.L., R.C. Thompson and T.S. Galloway. 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. Environ. Pollut., 178: 483–492. https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2013.02.031
- Xia, F., Q. Yao, J. Zhang and D. Wang. 2021. Effects of seasonal variation and resuspension on microplastics in river sediments. Environ. Pollut., 178: 483-492. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117403
- Xia, W., Q. Rao, X. Deng, J. Chen and P. Xie. 2020. Rainfall is a significant environmental factor of microplastic pollution in inland waters. Sci. Total Environ., 732, 7 p. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139065
- Zhang, F., J. Xu, X. Wang, K. Jabeen and D. Li. 2021. Microplastic contamination of fish gills and the assessment of both quality assurance and quality control during laboratory analyses. Mar. Pollut. Bull., 173, 8 p. https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2021.113051
- Zhang, H. 2017. Transport of microplastics in coastal seas. Estuar. Coast. Shelf Sci., 199, 13 p. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.09.032
- Zhang, N., Y.B. Li, H.R. He, J.F. Zhang and G.S. Ma. 2021. You are what you eat: Microplastics in the feces of young men living in Beijing. Sci. Total Environ., 767, 7 p. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.144345
- Zhang, Y., J. Liang, G. Zeng, W. Tang, Y. Lu, Y. Luo, W. Xing, N. Tang, S. Ye, X. Li and W. Huang. 2020. How climate change and eutrophication interact with microplastic pollution and sediment resuspension in shallow lakes: A review. Sci. Total Environ., 705, 8 p. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135979
- Zheng, Y., J. Li, C. Sun, W. Cao, M. Wang, F. Jiang and P. Ju. 2021. Comparative study of three sampling methods for microplastics analysis in seawater. Sci. Total Environ., 765, 8 p. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.144495

RECIBIDO / RECEIVED: 12/01/2023

ACEPTADO / ACCEPTED: 09/08/2023



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras Bulletin of Marine and Coastal Research 53 (1), 87-116

Esponjas de la plataforma continental (73 – 210 m) del área suroccidental de isla Fuerte y alta Guajira, con la descripción de nuevos registros para el Caribe colombiano

Sponges in the continental shelf (73 - 210 m) of the southwestern area of Isla Fuerte and Alta Guajira, with the description of new records for the Colombian Caribbean

> Nicoll Lizarazo¹ y Sven Zea²* D 0000-0001-6163-7185 D 0000-0002-5657-4877

1. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras – Invemar, Santa Marta – Colombia, nicoll.lizarazo@invemar.org.co

2. Universidad Nacional de Colombia - Sede Caribe - Instituto de Estudios en Ciencias del Mar - Cecimar, Santa Marta - Colombia.

* Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

a biodiversidad de esponjas en ambientes más allá de los 50 m es poco conocida, ya que el acceso a ellos es difícil si no se cuenta con tecnología especializada. Este estudio pretende conocer la biodiversidad del grupo presente sobre la plataforma continental del área suroccidental de isla Fuerte y alta Guajira. Se recolectaron muestras de esponjas mediante redes de arrastre durante jornadas de exploración de bloques de hidrocarburos entre 73 y 210 m, las cuales fueron fijadas y llevadas a la colección de esponjas del Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) en 2012. Luego, en 2022, estas se procesaron e identificaron en laboratorio empleando métodos estándar. Se presenta un listado taxonómico con 89 taxa pertenecientes a las clases Demospongiae y Homoscleromorpha, agrupados en 16 órdenes, 33 familias, 51 géneros y 45 especies, de las cuales 10 son nuevos registros para el Caribe colombiano. Se identificó una sola especie para la alta Guajira, lo que podría atribuirse a una diferencia en la composición de sustrato y a que, en el sector de isla Fuerte, por eventos de diapirísmo y emanación de gases de la plataforma continental, hay una mayor disponibilidad de alimento, lo que puede solventar la composición de organismos bentónicos sésiles como las esponjas.

PALABRAS CLAVE: colecciónes biológicas, biodiversidad de esponjas, Museo de Historia Natural Marina de Colombia, plataforma continental, Caribe colombiano

ABSTRACT

The biodiversity of sponges in environments beyond 50 m is poorly known, as access to this type of environment without specialized technology is difficult. This study aims to understand the biodiversity of the group present on the continental shelf of the southwestern area of Isla Fuerte and Alta Guajira. Sponge samples were collected via trawls during exploration sessions in hydrocarbon blocks between 73 and 210 m, which were fixed and taken to the sponge collection of the Museum of Marine Natural History of Colombia (MHNMC) in 2012. Then, in 2022, these samples were processed and identified in the laboratory using standard methods. A taxonomic list is presented, with 89 taxa belonging to the classes Demospongiae and Homoscleromorpha, which are grouped in 16 orders, 33 families, 51 genera, and 45 species, out of which 10 are new records for the Colombian Caribbean. Only one species was identified for Alta Guajira, which could be attributed to a difference in substrate composition and to the fact that, in the Isla Fuerte sector, due to diapirism and gas emanation events in the continental shelf, there is a greater availability of food, which can support the composition of sessile benthic organisms such as sponges.

KEYWORDS: biological collections, sponge biodiversity, Museum of Marine Natural History of Colombia, continental shelf, Colombian Caribbean

DOI: https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2024.53.1.1266 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

sezeas@unal.edu.co*.

INTRODUCCIÓN

Hay poco conocimiento sobre la biodiversidad de esponjas (phylum Porifera) que habitan las zonas mesofóticas (30-150 m) en el Caribe colombiano, dado que, además del acceso limitado a estos ambientes, su identificación es una tarea compleja. Esto debido a la ambigüedad de sus características morfológicas y a que la literatura es aún dispersa (Hooper y van Soest, 2002). No obstante, estas limitaciones han empezado a disiparse gracias a la fotografía submarina, el auge de la taxonomía integrativa (mediante la incorporación de técnicas moleculares en el análisis morfológico), observaciones de campo más detalladas y un aumento en el número de exploraciones y estudios enfocados en la caracterización de la fauna asociada a la plataforma continental (Zea y Weil, 2003; Díaz y Zea, 2008; Xavier *et al.*, 2010; Zea *et al.*, 2014; Zea y Pulido, 2016; Silva y Zea, 2017).

Sobre los fondos blandos las comunidades de esponjas son menos diversas que aquellas que habitan sustratos someros duros en ecosistemas litorales, lo cual se debe en parte al relieve homogéneo, la inestabilidad del sedimento y la baja disponibilidad de un sustrato firme que las soporte (Pansini y Musso, 1991; Ilan y Abelson, 1995, Valderrama y Zea, 2013). Se considera que hay dos componentes del sustrato que permiten el asentamiento de esponjas: la arena y el lodo para las especies con hábitos de anclaje; y el cascajo, las conchas de moluscos y los exoesqueletos de crustáceos para aquellas que requieren un medio para adherirse al sustrato (van Soest, 1993; Rützler 1997). Esto, a diferencia de los fondos rocosos con relieve heterogéneo y mayor estabilidad del sustrato, limita la presencia de un gran número de especies de esponjas (Parra-Velandia y Zea, 2003).

En Colombia, el estudio de esponjas se ha enfocado en la clase Demospongiae, lo cual se debe en parte a que esta representa cerca del 90 % del total de especies conocidas, con un estimado de 350 especies entre 0 y 50 m de profundidad (Zea, 1998; Silva y Zea, 2017). Sin embargo, también hay algunos registros de tres especies y de un complejo de especies de la clase Homoscleromorpha a 50 m (Wintermann-Kilian y Kilian, 1984; Zea, 1987; Valderrama, 2001; Díaz y Zea, 2008; Zea y Díaz-Sánchez, 2011; Valderrama y Zea, 2013). En general, las investigaciones sobre este phylum se han enfocado en identificar las especies presentes en litorales rocosos y arrecifes coralinos, lo cual se ha hecho principalmente en las siguientes áreas: Santa Marta, Urabá y San Andrés y Providencia (Zea y Rützler, 1983; Zea, 1987, 2001); Urabá-Capurganá (Valderrama y Zea, 2003, 2013); Cartagena y el Archipiélago Islas del Rosario y San Bernardo (Zea y Díaz-Sánchez, 2011; Díaz-

INTRODUCTION

There is little knowledge of the biodiversity of sponges (phylum Porifera) inhabiting mesophotic areas (30 to 150 m) in the Colombian Caribbean, given that, in addition to the limited access to these environments, their identification is a complex task due to the ambiguity of their morphological features, as the literature is still disperse (Hooper and van Soest, 2002). However, these limitations have begun to dissipate thanks to submarine photography, the rise of integrative taxonomy (by means of incorporating molecular techniques into morphological analyses), more detailed field observations, and the increase in explorations and studies focused on characterizing the fauna associated with the continental shelf (Zea and Weil, 2003; Díaz and Zea, 2008; Xavier *et al.*, 2010; Zea *et al.*, 2014; Zea and Pulido, 2016; Silva and Zea, 2017).

On soft bottom areas, sponge communities are less diverse than those inhabiting shallow, hard substrates in littoral ecosystems, which is partially due to homogenous relief, sediment instability, and the low availability of a firm substrate to support them (Pansini and Musso, 1991; Ilan and Abelson, 1995, Valderrama and Zea, 2013). It is believed that there are two substrate components that allow for sponge settlement: sand and mud for species with anchoring habits; and gravel, mollusk shells, and crustacean exoskeletons for those that require a means of adhering to the substrate (van Soest, 1993; Rützler 1997). This, unlike rocky bottoms with heterogenous relief and more substrate stability, limits the presence of a large number of sponge species (Parra-Velandia and Zea, 2003).

In Colombia, sponge studies have focused on the class Demospongiae, which is partially due to the fact that it represents nearly 90 % of the total species known, with an estimated 350 species between 0 and 50 m deep (Zea, 1998; Silva and Zea, 2017). However, there are also a few reports of three species and a complex of species of the Homoscleromorpha class down to 50 m (Wintermann-Kilian and Kilian, 1984; Zea, 1987; Valderrama, 2001; Díaz and Zea, 2008; Zea and Díaz-Sánchez, 2011; Valderrama and Zea, 2013). In general, research on this phylum have focused on identifying the species present in rocky littorals and coral reefs, which has been conducted mainly in the following areas: Santa Marta, Urabá, and San Andrés and Providencia (Zea and Rützler, 1983; Zea, 1987, 2001); Urabá-Capurganá (Valderrama and Zea, 2003, 2013); Cartagena, Rosario and San Bernardo Archipelago (Zea and Díaz-Sánchez, 2011; Díaz-Sánchez and Zea, 2016); La Guajira (Díaz and Zea, Sánchez y Zea, 2016); La Guajira (Díaz y Zea, 2008, 2014; García et al., 2013); y la Reserva de Biosfera Seaflower (Abril-Howart et al., 2011; Díaz-Sánchez et al., 2013). Esto evidencia la necesidad de estudios enfocados en ecosistemas mesofóticos. La colección de esponjas del Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) fue creada en 1982 y actualmente tiene 2.498 lotes. Solo 38 % del material ha sido identificado a nivel de especie, con ejemplares colectados tanto en el Caribe como en el Pacífico colombiano. Es una de las pocas colecciones en el país que cuenta con especímenes de esponjas, por lo cual, además de la gran importancia de este grupo en términos taxonómicos, ecológicos, médicos, comerciales y farmacéuticos, es importante llevar a cabo estudios sistemáticos con base en datos y material biológico ya existentes, no solo para fortalecer el conocimiento acerca del grupo, sino también para visibilizar este tipo de colecciones y su importancia, así como para promover su uso y estudio.

En este contexto, esta investigación busca incrementar el conocimiento de las esponjas presentes en la plataforma continental del área suroccidental de Isla Fuerte y la Alta Guajira en un listado sistemático de especies que recolecte información sin procesar del MHNMC mediante la curaduría, la actualización, la identificación taxonómica y la generación de nuevo conocimiento sobre las esponjas en el Caribe colombiano.

ÁREA DE ESTUDIO

Este estudio se llevó a cabo en dos áreas de exploración de hidrocarburos del Caribe colombiano. La primera está ubicada en la región nororiental de la Península de la Guajira y se extiende desde Manaure hasta los alrededores de Punta Espada. Esta área experimenta afloramiento la mayor parte del año, lo cual resulta en aguas oxigenadas y más frías, saladas y ricas en nutrientes en comparación con otros sectores del Caribe (Corredor, 1979; Fajardo, 1979; Álvarez-León *et al.*, 1995; Andrade y Barton, 2005). El lecho marino de este lugar consiste en fondos lodosos y de arenas gruesas, con formaciones geológicas asociadas a los procesos de sedimentación del delta del Río Magdalena (Shepard *et al.*, 1968, 1973; Invemar-ANH, 2008).

La segunda área está ubicada en la región suroccidental y abarca desde la ensenada de Puerto Rey en el departamento de Antioquia hasta el frente del corregimiento de los Morros al norte de la ciudad de Cartagena, en el departamento de Bolívar (Figura 1). Esta área se ve influenciada por la descarga de los ríos Sinú y San Jorge, y tiene un fondo plano y homogéneo de sedimentos lodosos y arcillosos (Invemar-ANH, 2008).

2008, 2014; García et al., 2013); and the Seaflower Biosphere Reserve (Abril-Howart et al., 2011; Díaz-Sánchez et al., 2013). This highlights the necessity of conducting research that focuses on mesophotic ecosystems. The sponge collection of the Museum of Marine Natural History of Colombia (MHNMC) was created in 1982 and currently has 2.498 lots. Only 38 % of the material has been identified at the species level, with specimens collected both in the Caribbean and the Colombian Pacific. It is one of the few collections in the country that keeps sponge specimens, which is why, in addition to the great relevance of the group in taxonomic, ecological, medical, commercial, and pharmaceutical terms, it is important to conduct systematic studies based on already existing data and biological material, in order to not only strengthen the knowledge about the group, but also to make this type of biological collections and their importance known, as well as to promote their use and research.

In this context, this study aims to increase the knowledge of the sponges present in the continental shelf of the south-western area of Isla Fuerte and Alta Guajira in the form of a systematic list of species that collects unprocessed information of the MHNMC, via the curation, updating, taxonomic identification, and generation of new knowledge regarding sponges in the Colombian Caribbean.

STUDY AREA

This study was carried out in two hydrocarbon exploration areas located in the Colombian Caribbean. The first zone is located in the northeastern region of the Guajira Peninsula, stretching from Manaure to the vicinity of Punta Espada. This area experiences upwelling for most of the year, resulting in oxygenated, colder, saltier, and nutrientricher waters as compared to other sectors of the Caribbean (Corredor, 1979; Fajardo, 1979; Álvarez-León *et al.*, 1995; Andrade and Barton, 2005). The seabed here consists of muddy and coarse sand bottoms, with geological formations associated with the sedimentation processes of the Magdalena River delta (Shepard *et al.*, 1968, 1973; Invemar-ANH, 2008).

The second area is located in the southwestern region, spanning from Puerto Rey cove in the Antioquia department to the front of Los Morros township in the north of the city of Cartagena, in the Bolívar department (Figure 1). This area is influenced by the runoff from the Sinú and San Jorge Rivers and has a flat and homogenous bottom with muddy and clayey sediments (Invemar-ANH, 2008).

89



e Isla Fuerte.

Figure 1. Spatial location of the sampling areas in Alta Guajira and Isla Fuerte.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre el 23 de noviembre de 2011 y el 6 de agosto de 2012 investigadores del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andréis (Invemar) evaluaron la distribución y la composición de los organismos asociados a corales de mar profundo. Dichos investigadores llevaron a cabo tres campañas en bloques de hidrocarburos que habían sido analizados bajo parámetros previamente establecidos, como la probabilidad de presencia de corales, las geoformas del lecho marino, la profundidad y la evidencia previa de estaciones donde habían aparecido especies de coral, logrando establecer 16 estaciones, de las cuales solo se tomaron 11 por presencia de esponjas (Tabla 1).

MATERIALS AND METHODS

Between November 23, 2011, and August 6, 2012, researchers of the José Benito Vives de Andréis Institute for Marine and Coastal Research (Invemar) evaluated the distribution and composition of the organisms associated with deep sea corals. They carried out three campaigns in hydrocarbon blocks that had been analyzed under previously established parameters, such as the probability of coral presence, the geoforms of the seabed, depth, and previous evidence of stations where structuring coral species had appeared, managing to establish 16 stations, out of which only 11 were taken (Table 1) due to the presence of sponges.

Zona / Area	Estación / Station	Latitud inicial / Starting latitude (°N)	Longitud inicial / Starting longitude (°W)	Latitud final / Final latitude (°N)	Longitud final / Final longitude (°W)	Profundidad / Depth (m)
Alta Guajira	320A	12.23388	-72.52453	12.23043	-72.53516	210
Isla Fuerte	322A	9.29355	-76.4297	9.31408	-76.4137	82
Isla Fuerte	322B	9.31868	-76.41641	9.29776	-76.4272	78
Isla Fuerte	323A	9.24938	-76.4505	9.27108	-76.4355	78
Isla Fuerte	323B	9.26765	-76.4408	9.24876	-76.45135	78
Isla Fuerte	327A	9.63828	-76.27246	9.611466	-76.28281	95
Isla Fuerte	327B	9.6375	-76.27411	9.6179	-76.27816	98
Isla Fuerte	328A	9.91736	-76.1685	9.92735	-76.14028	124
Isla Fuerte	328B	9.9268	-76.13995	9.915983	-76.1654	125
Isla Fuerte	329A	9.96075	-76.11203	9.9353	-76.1271	128
Isla Fuerte	329B	9.93725	-76.1241	9.9637	-76.115	126

 Tabla 1. Estaciones de muestreo en la plataforma continental de Isla Fuerte

 y Alta Guajira, Caribe colombiano.

 Table 1. Sampling stations in the continental shelf of Isla Fuerte and Alta Guajira, Colombian Caribbean.

Con base en el reconocimiento previamente realizado, los investigadores utilizaron arrastres lineales de 1 km con redes semi-balón por 10 minutos y filtraron, lavaron y separaron las muestras según el grupo taxonómico. Las esponjas fueron fijadas en formol al 4 % y separadas por morfotipos para luego rotularlas y depositarlas en el Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) (Figura 2). Based on the previously conducted reconnaissance, the researchers used linear 1 km trawls with semi-balloon nets for 10 minutes. They filtered, washed, and separated the samples depending on the taxonomic group, where the sponges were fixed in formol at 4 % and separated by morphotypes for later labeling and storage in the Museum of Marine Natural History of Colombia (MHNMC) (Figure 2).



Figura 2. Organismos obtenidos mediante la metodología de arrastre.

Figure 2. Organisms obtained via the trawling methodology.

En la colección de esponjas del MHNMC se realizaron actividades de diagnóstico, recolección de información histórica, curaduría general y separación de 224 lotes. Para el último punto, se realizaron montajes permanentes de espículas limpias y esqueletos, como se describe en Zea (1987), que fueron observados y fotografiados con un microscopio óptico (Zeiss, Axio Lab. A1). Se midieron hasta 25 espículas de cada clase, así como las estructuras esqueléticas más relevantes de los especímenes identificados como nuevos registros para el Caribe colombiano. Las medidas se presentan como mínimopromedio-máximo de largo por ancho en µm. La identificación se llevó a cabo consultando las claves del Systema Porifera (Hooper y van Soest, 2002) y las descripciones del material proveniente del Caribe colombiano y del Caribe y el océano Atlántico en general, con ayuda de las listas de especies de la World Porifera Database (http://www.marinespecies.org/ porifera). Respecto a la sinonimia, solo se utilizó la información de la World Porifera Database. El material estudiado se depositó en la colección de esponjas (INV POR) del Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) del Invemar, mientras que la información se introdujo en la base de datos del Sistema de Información en Biodiversidad Marina de Colombia (SIBM) y en los sistemas globales de información Ocean Biodiversity Information System (OBIS) y Global Biodiversity Information Facility (GBIF).

RESULTADOS

En total se identificaron 89 taxones pertenecientes a las clases Demospongiae y Homoscleromorpha, que se agruparon en 16 órdenes, 33 familias, 51 géneros y 45 especies, de las cuales 10 son nuevos registros para el Caribe colombiano **. La Tabla 2 lista las especies identificadas.

In the sponge collection of the MHNMC, diagnostic activities, historic information collection, general curation, and the separation of 224 lots were carried out. On the latter, permanent assemblies of clean spicules and skeletons were performed, as described in Zea (1987). They were observed and photographed using an optical microscope (Zeiss, Axio Lab. A1). Up to 25 spicules of each class were measured, as well as the most relevant skeletons structures of the specimens identified as new records for the Colombian Caribbean. The measurements are presented as the minimum-averagemaximum length x width in µm. Identification was carried out by consulting the keys of the Systema Porifera (Hooper and van Soest, 2002) and the descriptions of the material from the Colombian Caribbean and the Caribbean Sea and the Atlantic Ocean in general, with the help of the species lists of the World Porifera Database (http://www.marinespecies.org/ porifera). Regarding synonymy, only the information of the World Porifera Database was used. The studied material was stored in the sponge collection (of Invemar's) of Invemar'S Museum of Marine Natural History of Colombia (MHNMC), while the information was entered in the database of the Colombian Marine Biodiversity Information System (SIBM) and the Ocean Biodiversity Information System (OBIS) and Global Biodiversity Information Facility (GBIF) global information systems.

RESULTS

In total, 89 taxa were identified which belong to the classes Demospongiae and Homoscleromorpha, which were grouped in 16 orders, 33 families, 51 genera, and 45 species, out of which 10 are new records for the Colombian Caribbean**. Table 2 presents the list of identified species.

Tabla 2. Lista de especies de esponjas agrupadas por profundidad (73 a 210 m). Letras en negrita indican nuevos récords para el Caribe colombiano.
 Table 2. List of sponge species grouped by depth (73 to 210 m). Bold letters indicate new records for the Colombian Caribbean.

Taxón / Taxon	Número de catálogo / Catalog number (MHNMC INV POR)	Reportes para Colombia / Records for Colombia	Profundidad / Depth (m)		
Demospongiae					
Chondrillida Redmond, Morrow, Thacker, Diaz, Boury-Esnault, Cardenas, Hajdu, Lobo-Hajdu, Picton, Pomponi, Kayal and Collins, 2013					
<i>Thymosiopsis</i> sp. 1536, 1537, 1538, 1600			73, 78, 98, 124		
Verongiida Bergquist, 1978					
Suberea flavolivescens (Hofman and Kielman, 1992)	1517, 1518	Hofman and Kielman (1992); Valderrama and Zea (2013)	73, 98		
Verongula rigida (Esper, 1794)	1526	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73		

92

Taxón / Taxon	Número de catálogo / Catalog number (MHNMC INV POR)	Reportes para Colombia / Records for Colombia	Profundidad / Depth (m)
Aplysina cauliformis (Carter, 1882)	1555, 1565, 1570, 1572, 1595, 1597, 1602, 1604, 1621	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73, 78, 98, 124, 126
<i>Aplysina</i> sp.	1639, 1646, 1698		78, 73, 98
Dendroceratida Minchin, 1900			
<i>Aplysilla</i> sp.	1636, 1685		73, 126
Dictyoceratida Minchin, 1900			
Dysidea etheria de Laubenfels, 1936	1556, 1571, 1611	Zea (1987)	78, 98, 124
Ircinia felix (Duchassaing and Michelotti, 1864)	1489, 1491, 1495, 1497, 1499, 1500, 1503, 1534, 1546, 1548, 1583	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73, 78, 98, 128
Ircinia strobilina (Lamarck, 1816)	1486, 1490, 1494, 1498, 1535	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73, 78
Hyattella cavernosa (Pallas, 1766)	1502, 1505	Zea (1987)	73, 98
Spongia (Spongia) tubulifera Lamarck, 1814	1501		73
Haplosclerida Topsent, 1928			
**Haliclona (Reniera) strongylophora Lehnert and van Soest, 1996	1687		78
<i>Niphates erecta</i> Duchassaing and Michelotti, 1864	1631	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73
Neopetrosia cf. dendrocrevacea	1527, 1605, 1612, 1614		73, 78, 128, 126
<i>Neopetrosia próxima</i> (Duchassaing and Michelotti, 1864)	1528	Zea (1987)	126
Neopetrosia aff. rosariensis (Zea and Rützler, 1983)	1514, 1515, 1516		98, 125, 126
Neopetrosia sp.	1635, 1657		78
Neopetrosia sp. 2	1678		73
Petrosia (Petrosia) pellasarca (de Laubenfels, 1934)	1642	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	78
Petrosia (Petrosia) cf. weinbergi van Soest, 1980	1663	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73
Petrosia sp.	1504, 1529, 1606, 1615		73, 78, 98
Xestospongia muta (Schmidt, 1870)	1522, 1523	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013); Silva and Zea (2017)	95
Xestospongia cf. wiedenmayeri	1543, 1557, 1608, 1613		73, 78, 95, 98
Calyx podatypa (de Laubenfels, 1934)	1530, 1531, 1559	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73, 78, 98
Oceanapia sp.	1554		78
Oceanapia peltata (Schmidt, 1870)	1547, 1566, 1616	Zea (1987)	73, 78, 98
Axinellida Lévi, 1953			
Dragmaxia sp.	1519		73
Myrmekioderma sp.	1485, 1587, 1588		73, 82, 98
Raspailia aff. tenuis Ridley and Dendy, 1886	1510, 1596		73, 78
Paratimea sp.	1512, 1550, 1568, 1581		73, 95, 98, 124

Taxón / Taxon	Número de catálogo / Catalog number (MHNMC INV POR)	Reportes para Colombia / Records for Colombia	Profundidad / Depth (m)				
Bubarida Morrow and Cárdenas, 2015							
Acanthella sp.	1551		78				
Bubaris(?) sp.	1693		98				
Biemnida Morrow, Redmond, Picton, Thacker,							
** <i>Biemna spinomicroxea</i> Mothes, Campos, Lerner, Carraro y van Soest, 2005	1686		78				
Biemna sp.	1643, 1649, 1650, 1664		73, 124, 126, 128				
<i>Neofibularia nolitangere</i> (Duchassaing y Michelotti, 1864)	1672	Zea (1987)	98				
Rhabderemia sp.	1688		98				
Tetractinellida Marshall, 1876							
**Asteropus ketostea (de Laubenfels, 1950)	1620		95				
Jaspis sp.	1549, 1607		73				
Stellettinopsis megastylifera (Wintermann- Kilian y Kilian, 1984)	1682	Wintermann-Kilian and Kilian (1984)	124				
<i>Erylus</i> sp.	1532, 1584		124, 125				
<i>Erylus</i> sp. 2	1589		126				
Erylus sp. 3	1653		128				
Geodia sp.	1542, 1586		126, 128				
**Penares chelotropa Boury-Esnault, 1973	1691		98				
Cinachyrella kuekenthali (Uliczka, 1929)	1487, 1493, 1541, 1579	Rützler and Smith (1992); Valderrama and Zea (2013)	73, 98, 124				
**Fangophilina submersa Schmidt, 1880	1525, 1569, 1593, 1598, 1599		73, 78, 98, 95, 126				
Discodermia dissoluta Schmidt, 1880	1484, 1552, 1560, 1567, 1576, 1578, 1619	Zea (1987)	73, 78, 82, 95, 98, 126, 128				
** <i>Discodermia polydiscus</i> (Bowerbank, 1869)	1553, 1582		98, 126				
Agelasida Hartman, 1980							
Agelas schmidtii Wilson, 1902	1558	Zea (1987); Parra et al. (2014)	73				
Agelas wiedenmayeri Alcolado, 1984	1618	Parra et al. (2014)	78				
Merliida Vacelet, 1979							
**Hamacantha (Vomerula) agassizi Topsent, 1920	1483, 1577, 1580		128, 126, 210				

94



Taxón / Taxon	Número de catálogo / Catalog number (MHNMC INV POR)Reportes para Colombia / Records for Colombia		Profundidad / Depth (m)				
Poecilosclerida Topsent, 1928							
**Coelosphaera (Coelosphaera) hechteli van Soest, 1984	1562		73				
** <i>Forcepia (Forcepia) colonensis</i> Carter, 1874	1509, 1590		73, 78				
Iotrochota birotulata (Higgin, 1877)	1508, 1603	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73				
<i>Tedania (Tedania) ignis</i> (Duchassaing and Michelotti, 1864)	1545, 1564	Zea (1987)	73				
<i>Phorbas amaranthus</i> Duchassaing and Michelotti, 1864	1694	Zea (1987)	73				
Clionaida Morrow and Cárdenas, 2015							
<i>Diplastrella</i> sp.	1684		98				
Suberitida Chombard and Boury-Esnault, 1999)						
Axinyssa ambrosia (de Laubenfels, 1936)	1622	Zea et al. (2013)	98				
Axinyssa yumae (Pulitzer-Finali, 1986)	1690	Zea et al. (2013)	78				
Axinyssa sp.	1623		98				
** <i>Spongosorites ruetzleri</i> (van Soest and Stentoft, 1988)	1506, 1507		73, 124				
Spongosorites sp.	1513, 1520		73, 98				
Spongosorites sp. 2	1695		126				
Topsentia ophiraphidites (de Laubenfels, 1934)	1492, 1496, 1521, 1533, 1540, 1544, 1592, 1601, 1609	Díaz <i>et al.</i> (1993); Valderrama and Zea (2013)	73, 78, 98, 126, 128				
Hymeniacidon caerulea Pulitzer-Finali, 1986	168, 1692	Valderrama and Zea (2013)	95, 98				
Aaptos sp.	1488, 1539, 1563		73, 98				
Aaptos sp 2.	1511		73				
SCOPALINIDA Morrow and Cárdenas, 2015							
Scopalina sp.	1660		78				
Homoscleromorpha							
Homosclerophorida Dendy, 1905							
Plakinastrella onkodes Uliczka, 1929	1524, 1573 ,1574, 1575, 1585, 1591, 1594	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	73, 78, 98, 124, 125, 126				
Plakortis halichondrioides (Wilson, 1902)	1624, 1625, 1667	Zea (1987); Valderrama and Zea (2013)	95, 98, 125				
Plakortis sp.	1561, 1610, 1668		73, 95, 98				
Plakortis sp. 2	1659		73				
Plakortis sp. 3	1700		124				

Nuevos registros para el Caribe colombiano

Clase Demospongiae Sollas, 1885

Orden Haplosclerida Topsent, 1928

Familia Chalinidae Gray, 1867

Género Haliclona Grant, 1841

Subgénero Reniera Schmidt, 1862

Haliclona (Reniera) strongylophora Lehnert y van Soest, **1996** (Figura 3 A – D)

Haliclona strongylophora Lehnert y van Soest, 1996: 73, figs 12, 25, 73.

Material estudiado: INV POR1687, isla Fuerte, 78 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-30.

Descripción: esponja amorfa, blanda quebradiza de 5×3 cm diámetro, aproximadamente 0.3 cm de espesor, superficie lisa, sin ósculos visibles, color en alcohol beige oscuro (Figura 3A). **Esqueleto:** Ectosoma: reticulación irregular de espículas individuales y una cantidad considerable de sedimento; coanosoma: reticulación isotrópica de 4 a 6 espículas de 41.5 – $27.0 - 14.5 \mu m$ con un diámetro de malla de $129.3 - 87.1 - 44.5 \mu m$ (Figura 3D). **Espículas:** estrongilos, 185.5 – $172.5 - 154.9 \mu m$ de largo $\times 6.7 - 5.1 - 3.2 \mu m$ de ancho (Figura 3C), algunos en estadios de desarrollo, más delgados, con extremos cónicos o telescópicos y, en algunos casos, hinchazones irregulares (Figura 3B).

Hábitat: fondos blandos en ambientes mesofóticos.

Distribución en el Caribe: Discovery Bay, Jamaica (Lehnert y van Soest, 1996), Caribe colombiano.

Comentarios: Esta especie difiere de todas las otras especies de *Halicona* descritas para el Caribe (van Soest, 1980; De Weerdt *et al.*, 1991), pues tiene estrongilos como el único tipo de espícula, como se describe en Lehnert y van Soest (1996). *Haliclona (Soestella) brassica* Bispo y Pinheiro, 2014 tiene estrongilos pero también presenta rafidios en tricodragmas inusuales. *Haliclona (Reniera) implexiformis (Hechtel, 1965)*, *H. (Re.) tubifera* (George y Wilson, 1919), *H. (S.) caerulea* (Hechtel, 1965) y *H. (Halichoclona) albifragilis* (Hechtel, 1965) poseen oxeas con modificaciones estrongiloides, pero nunca tienen estrongilos de manera exclusiva.

New records for the Colombian Caribbean

Class Demospongiae Sollas, 1885

Order Haplosclerida Topsent, 1928

Family Chalinidae Gray, 1867

Genus Haliclona Grant, 1841

Subgenus Reniera Schmidt, 1862

Haliclona (Reniera) strongylophora Lehnert and van Soest, **1996** (Figure 3 A – D)

Haliclona strongylophora Lehnert and van Soest, 1996: 73, figs 12, 25, 73.

Studied material: INV POR1687, Isla Fuerte, 78 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-30.

Description: amorphous, soft, brittle sponge 5×3 cm in diameter, approximately 0.3 cm thick, flat surface, no visible oscula, beige-colored in alcohol (Figure 3A). **Skeleton:** Ectosome: irregular reticulation of individual spicules and a considerable amount of sediment; choanosome: isotropic reticulation of four to six $41.5 - 27.0 - 14.5 \mu$ m spicules, with a mesh diameter of $129.3 - 87.1 - 44.5 \mu$ m (Figure 3D). **Spicules:** strongyles, $185.5 - 172.5 - 154.9 \mu$ m long $\times 6.7 - 5.1 - 3.2 \mu$ m wide (Figure 3C), some of them in development stages, thinner and with conic or telescopic ends, and, in some cases, irregular swelling (Figure 3B).

Habitat: soft bottoms in mesophotic environments.

Distribution in the Caribbean: Discovery Bay, Jamaica (Lehnert and van Soest, 1996), Colombian Caribbean.

Comments: This species differs from all other *Halicona* species described for the Caribbean (van Soest, 1980; De Weerdt *et al.*, 1991), since they have strongyles as the only type of spicule, as described by Lehnert and van Soest, 1996. *Haliclona (Soestella) brassica* Bispo and Pinheiro, 2014 has strongyles but also exhibits raphides in rare trichodragmata. *Haliclona (Reniera) implexiformis* (Hechtel, 1965), *H. (Re.) tubifera* (George and Wilson, 1919), *H. (S.) caerulea* (Hechtel, 1965), and *H. (Halichoclona) albifragilis* (Hechtel, 1965) possess oxeas with strongyloid modifications, but they never have strongyles exclusively.





Figura 3. *Haliclona (Reniera) strongylophora*. A. Fragmento, B–C. Estrongilos, D. Esqueleto.

Figure 3. Haliclona (Reniera) strongylophora. A. Fragment, B–C. Strongyles, D. Skeleton.

Orden Biemnida Morrow, 2013

Familia Biemnidae Hentschel, 1923

Biemna spinomicroxea Mothes, Campos, Lerner, Carraro y van Soest, 2005 (Figura 4 A – E)

Biemna spinomicroxea Mothes *et al.*, 2005: 41-42, fig 2; Muricy *et al.*, 2011: 151.

Material estudiado: INV POR1686, isla Fuerte, 78 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-30.

Descripción: esponja masiva irregular, internamente cavernosa, medidas: 6 cm de ancho \times 4.5 cm de largo, superficie corrugada, ósculos esparcidos por la superficie de 0.2 cm de diámetro, consistencia blanda, fácilmente comprimible y desmoronable, color en alcohol castaño claro (Figura 4A.). Esqueleto: no se diferencia ectosoma o coanosoma. Tractos ascendentes irregulares de $245.5 - 149.4 - 72.2 \mu m$ de grosor, compuestas de 3 a 5 espículas conectadas por tractos transversales que tienen algunas microscleras distribuidas al azar (Figura 4E). Espículas: megascleras: oxeas levemente curvadas, extremidades ligeramente escalonadas, algunas ligeramente estrongiladas de $412.8 - 363.2 - 311 \,\mu\text{m}$ de largo $\times 17.5 - 12.3$ $-17.5 \,\mu\text{m}$ de ancho (Figura 4B); tricodragmas: 160.7 - 145.5 - 1131.4 μ m de largo × 6.1 – 4.5 – 16.5 μ m de ancho (Figura 5C). Microscleras: sigmas de curvas poco profundas con extremos espinados de $20.6 - 17.2 - 14 \mu m$ de largo (Figura 4D).

Hábitat: fondos blandos en ambientes mesofóticos.

Distribución en el Atlántico occidental: Amapá, Brasil (Mothes *et al.*, 2005); Caribe colombiano.

Order Biemnida Morrow, 2013

Family Biemnidae Hentschel, 1923

Biemna spinomicroxea Mothes, Campos, Lerner, Carraro, and van Soest, 2005 (Figure 4 A – E)

Biemna spinomicroxea Mothes *et al.*, 2005: 41-42, fig 2; Muricy *et al.*, 2011: 151.

Studied material: INV POR1686, Isla Fuerte, 78 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-30.

Description: massive, irregular sponge, internally cavernous, dimensions: 6 cm wide × 4.5 cm long, corrugated surface, oscula 0.2 cm in diameter spread across the surface, soft consistency, easily compressed and crumbled, light brown-colored in alcohol (Figure 4A). **Skeleton:** no distinction can be made between ectosome and choanosome. Ascending irregular tracts 245.5 – *149.4* – 72.2 µm thick, composed of three to five spicules connected by transversal tracts with some randomly distributed microscleres (Figure 4E). **Spicules:** megascleres: slightly curved oxeas, slightly phased limbs, some of them slightly strongylated 412.8 – *363.2* – 311 µm long × 17.5 – *12.3* – 17.5 µm wide (Figure 4B); Trichodragmas: 160.7 – *145.5* – 131.4 µm long × 6.1 – *4.5* – 16.5 µm wide (Figure 4C). Microscleres: sigmas of shallow curves with thorny ends, 20.6 – *17.2* – 14 µm long (Figure 4D).

Habitat: soft bottoms in mesophotic environments.

Distribution in the Western Atlantic: Amapá, Brazil (Mothes *et al.*, 2005); Colombian Caribbean.

Comentarios: teniendo en cuenta la descripción de Mothes *et al.* (2005), este espécimen tiene rafidios empaquetados en tricodragmas en vez de oxeas. Sin embargo, a diferencia de las especies de *Biemna* descritas para el Atlántico tropical, como *Biemna cribaria* (Alcolado y Gotera, 1986), entre otras, las espículas megascleras son oxeas, y las espículas microscleras no tienen dos categorías de sigmas y sí tienen puntas espinosas, por lo que el espécimen fue asignado a la especie *Biemna spinomicroxea*..

Comments: considering the description made by Mothes *et al.* (2005), this specimen has raphides enclosed in trichodragmas instead of oxeas. However, unlike the *Biemna* species described for the tropical Atlantic, like *Biemna cribaria* (Alcolado and Gotera, 1986) among others, megasclere spicules are oxeas and microsclera spicules do not have two sigma categories and do have spiny tips, which is why the specimen was assigned to the species *Biemna spinomicroxea*.



Figura 4. *Biemna spinomicroxea*. A. Fragmento, B. Oxea, C. Tricodragma. D. Sigma, E. Esqueleto.

Orden Tetractinellida Marshall, 1876

Familia Ancorinidae Schmidt, 1870

Asteropus ketostea (de Laubenfels, 1950) (Figura 5 A – E)

Stellettinopsis ketostea de Laubenfels, 1950: 112 – 114, textfig. 50 A – D; 1954: 224.

Asteropus ketostea; Bergquist, 1965: 189 (cambio de género); Hajdu y van Soest, 1992: 8 – 9. Desqueyroux-Faúndez(?), 1990: 378, figs. 13 – 15; Rützler *et al.*, 2009: 295 (lista).

Material estudiado: INV POR1620, isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-02; INV POR1675, isla Fuerte, 95 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29.

Descripción: esponja masiva lobulada irregular de 12.6 cm de largo × 2.1 cm de ancho, consistencia dura, poco compresible, superficie híspida con poros abundantes, pero sin evidencia de ósculos, color en alcohol violeta oscuro en la superficie, gris en el interior (Figura 5A). **Esqueleto:** Ectosoma: compuesto por grandes cantidades de microscleras selenaster, intercaladas con oxeas paratangenciales; coanosoma: con oxeas de gran tamaño formando tractos irregulares, $385.2 - 209 - 79.5 \mu m$ de

Figure 4. *Biemna spinomicroxea*. A. Fragment, B. Oxea, C. Trichodragma. D. Sigma, E. Skeleton.

Order Tetractinellida Marshall, 1876

Family Ancorinidae Schmidt, 1870

Asteropus ketostea (de Laubenfels, 1950) (Figure 5 A – E)

Stellettinopsis ketostea de Laubenfels, 1950: 112 – 114, textfig. 50 A – D; 1954: 224.

Asteropus ketostea; Bergquist, 1965: 189 (genus change); Hajdu and van Soest, 1992: 8 – 9. Desqueyroux-Faúndez(?), 1990: 378, figs. 13 – 15; Rützler *et al.*, 2009: 295 (list).

Studied material: INV POR1620, Isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-02; INV POR1675, Isla Fuerte, 95 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29.

Description: massive, irregular lobed sponge, 12.6 cm long \times 2.1 cm wide, hard consistency, little compressible, hispid surface with abundant pores, but no evidence of oscula, dark purple on the surface and gray coloration in alcohol (Figure 5A). **Skeleton:** Ectosome: composed of large amounts of selenaster microscleres interleaved with paratangential oxeas; choanosome: with large oxeas forming irregular tracts, $385.2 - 209 - 79.5 \,\mu$ m wide oxeas and some smaller,

ancho, y algunas más pequeñas y delegadas, dispersas al azar (Figura 5E). **Espículas:** Megascleras: tres categorías de oxeas, oxeas I: fusiformes de gran tamaño, ligeramente curvadas, con puntas gradualmente estrechas, $2515.2 - 1846 - 1147.5 \mu m$ de largo × 76.4 – 51.3 – 33.2 µm de ancho (Figura 5B-1); oxeas II: delgadas fusiformes, ligeramente curvadas con puntas gradualmente estrechas de 1371.6 – 883 – 553.2 µm de largo × 36.5 – 23 – 11.6 µm de ancho (Figura 5B-2); oxeas III: delgadas fusiformes, ligeramente curvadas 316.2 – 526.4 – 661.3 µm de largo × 3.5 – 1.0 – 1.5 µm de ancho (Figura 6B-3). Microscleras: sanidasters con más de 10 rayos microespinados, bifurcados o no, distribuidos a lo largo del eje de 22 – 17.7 – 13.8 µm de largo (Figura 5D); oxiasters (n = 17): delgados, con 4 a 6 radios microespinados en las puntas de cada radio de 66.5 – 50.9 – 43.1 µm de largo (Figura 5C).

Hábitat: fondos blandos en cuevas de ambientes someros y mesofóticos.

Distribución: Bermuda (de Laubenfels,1950), golfo de México (Rützler *et al.*, 2009); Caribe colombiano.

Comentarios: hasta ahora no se han registrado muchas especies para el Caribe colombiano que presenten una combinación entre megascleras oxeas y microscleras oxiaster y selenaster, por lo que se consultó la descripción original de de Laubenfeld (1950), *i.e.*, "*Stellettinopsis ketostea*". Esta descripción coincidía con esta combinación de espículas, aunque hay una diferencia significativa en el tamaño de las oxeas y los sanidasters (Oxea I: 1000 µm de largo × 25 µm de ancho; Oxea II: 800 – 600 µm de largo × 15 – 8 µm de ancho; Oxea III: 400 µm de largo ×3 µm de ancho; y Sanidaster: 12 – 18 µm de largo. No hay caracterizaciones posteriores de esta especie. El registro hecho por Desqueyroux-Faúndez (1990) en la Isla de Pascua debe ser verificado, pues es de otro océano. thinner, and randomly dispersed oxeas (Figure 5E); **Spicules:** Megascleres: three oxea categories: oxea I: spindle-shaped, large, slightly curved, with gradually narrow tips, 2515.2 – $1846 - 1147.5 \ \mu\text{m} \log \times 76.4 - 51.3 - 33.2 \ \mu\text{m}$ wide (Figure 6B-1.); oxea II: thin, spindle-shaped, slightly curved, with gradually narrow tips, $1371.6 - 883 - 553.2 \ \mu\text{m} \log \times 36.5 - 23 - 11.6 \ \mu\text{m}$ wide (Figure 5B-2.); oxea III: thin, spindle-shaped, slightly curved, $316.2 - 526.4 - 661.3 \ \mu\text{m} \log \times 3.5 - 1.0 - 1.5 \ \mu\text{m}$ wide (Figure 5B-3.); Microscleres: sanidasters with more than 10 micro-spined rays, bifurcated or not, distributed along the $22 - 17.7 - 13.8 \ \mu\text{m} \log axis$ (Figure 5D.); oxiasters (n = 17): thin, with four to six microspined radii at the tip of each radius, $66.5 - 50.9 - 43.1 \ \mu\text{m} \log$ (Figure 5C).

Habitat: soft bottoms in caves of shallow and mesophotic environments.

Distribution: Bermuda (de Laubenfels, 1950), Gulf of Mexico (Rützler *et al.*, 2009); Colombian Caribbean.

Comments: so far, for the Colombian Caribbean, not many species have been recorded which exhibit a combination between oxea megascleres and oxiaster and selenaster microscleres, which is why the original description by de Laubenfeld (1950) was consulted, *i.e.*, "*Stellettinopsis ketostea*". This description matched this spicule combination although there is a significant difference in the size of the oxeas and the sanidasters (Oxea I: 1000 µm long × 25 µm wide; Oxea II: 800 – 600 µm long × 15 – 8 µm wide; Oxea III: 400 µm long ×3 µm wide and Sanidaster: 12 – 18 µm long). There are no subsequent characterizations of this species. The record made by Desqueyroux-Faúndez (1990) in Easter Island should be verified, as it is from another ocean.



Figura 5. Asteropus ketostea. A. Fragmento, B.1-3 Oxeas C. Oxiaster, D. Selenasters. E. Esqueleto.

Figure 5. Asteropus ketostea. A. Fragment, B.1-3 Oxeas C. Oxiaster, D. Selenasters. E. Skeleton.

Familia Geodiidae Gray, 1867

Subfamilia Erylinae Sollas, 1888

Penares chelotropa Boury-Esnault, 1973 (Figura 6 A - G)

Penares chelotropa Boury-Esnault, 1973: 271-272, fig 10: Hechtel, G.J., 1976: 253; Muricy *et al.*, 2011: 41; van Soest, 2017: 90 – 91, fig 56.

Material estudiado: INV POR1691, isla Fuerte, 98 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29.

Descripción: esponja con lóbulos alargados y aplanados de 3 a 5.2 cm de largo y 0.5 cm de diámetro. Presenta una superficie levemente corrugada, una consistencia firme, y color marrón a ocre en alcohol (Figura 6A). Esqueleto: Ectosoma: compuesto por una costra densa de microxeas con un grosor de 310.7 -183.6 – 59.7 µm (Figura 6F) sostenida por los cladomas de megascleras ortotriaenas en la superficie. La costra tiene unas pequeñas perforaciones redondeadas con un diámetro de 90.6 -53.2 - 37.8 μm, separadas entre ellas por 296 - 204 - 134.8 μm (Figura 6G). Espículas: Megascleras: dos categorías de oxeas, oxeas I: largas fusiformes, ligeramente dobladas, de 702.2 - $573.3 - 467 \,\mu\text{m}$ de largo $\times 18.3 - 11.7 - 7.2 \,\mu\text{m}$ de ancho (Figura 6C-3), oxeas II: cortas fusiformes, ligeramente dobladas, de 197 $-160.8 - 127 \,\mu\text{m}$ de largo $\times 12.3 - 8.6 - 5.8 \,\mu\text{m}$ de ancho (Figura 6C-1.2). Ortotriaenas (n = 17): de forma similar a caltrops, ya que el rabdo y el clado tienen longitudes aproximadamente equivalentes pero se distinguen porque los rabdos son rectos y los clados generalmente extremos curvos o, a veces, ligeramente torcidos; rabdomas: $473.3 - 370.4 - 140.6 \,\mu\text{m}$ de largo × 14.3 $-10.3 - 7.2 \mu m$ de ancho, cladoma: $287.4 - 226.3 - 79.2 \mu m$ de largo \times 14.3 – 10 – 7.2 µm de ancho, clado: 401.2 – 292 – 108.3 μ m de largo × 11.7 – 9.7 – 108.3 μ m de ancho (Figura 6B-1.2). Microscleras: microxeas curvas puntiagudas, en forma de oxea, pero ocasionalmente con una parte central hinchada, de 96.2 – 61.2 – 35.6 μ m de largo × 4.2 – 3 – 1.7 μ m de ancho (Figura 6E), oxiasters con puntas microespinadas, 7 - 8 radios de $24.3 - 17 - 24.3 \mu m$ de diámetro (Figura 6D).

Hábitat: fondo blando en ambientes mesofóticos.

Distribución en el Atlántico occidental: Plataforma continental de Guyana (van Soest, 2017), noreste de Brasil (Muricy *et al.*, 2011); Isla Fuerte, Caribe colombiano

Comentarios: la forma de la espícula y los detalles de los especímenes son bastantes similares a los del holotipo de *P. chelotropa*, por lo que la identificación hace con confianza. Boury-Esnault (1973), p. 272, nombra asters de tipo tilaster, pero las terminaciones de las espículas son puntiagudas según SEM, por lo que se identifican como oxiasters.

Family Geodiidae Gray, 1867

Subfamily Erylinae Sollas, 1888

Penares chelotropa Boury-Esnault, 1973 (Figure 6 A - G)

Penares chelotropa Boury-Esnault, 1973: 271-272, fig 10: Hechtel, G.J., 1976: 253; Muricy *et al.*, 2011: 41; van Soest, 2017: 90 – 91, fig 56.

Studied material: INV POR1691, Isla Fuerte, 98 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29.

Description: sponge with elongated and flat lobes, measuring 3 to 5.2 cm in length and 0.5 cm in diameter. It features a mildly corrugated surface, firm consistency, and a brown to ochre-colored when in alcohol (Figure 6A). Skeleton: Ectosome: composed of one dense micro-oxea scab with a thickness of $310.7 - 183.6 - 59.7 \mu m$ (Figure 6F) supported by the cladomes of orthotriaene megascleres on the surface. The scab has little round perforations with a diameter of $90.6 - 53.2 - 37.8 \mu m$, separated from each other by $296 - 37.8 \mu m$ 204 – 134.8 µm (Figure 6G). Spicules: Megascleres: two oxeas categories, oxea I: long and spindle-shaped, slightly bent, $702.2 - 573.3 - 467 \mu m \log \times 18.3 - 11.7 - 7.2 \mu m$ wide (Figure 6C-3.), oxea II: short, spindle-shaped, slightly bent, $197 - 160.8 - 127 \mu m \log \times 12.3 - 8.6 - 5.8 \mu m$ wide (Figure 6C-1, 2.). Orthotriaenes (n = 17): similar to caltrops in shape, given that the rhabdus and clade have approximately equivalent lengths, but they differ from each other because rhabdes are straight and clades generally have curved or sometimes slightly twisted ends; rhabdomes: 473.3 - 370.4 $-140.6 \,\mu m \log \times 14.3 - 10.3 - 7.2 \,\mu m$ wide; cladome: 287.4 $-226.3 - 79.2 \ \mu m \log \times 14.3 - 10 - 7.2 \ \mu m wide; Clade:$ $401.2 - 292 - 108.3 \ \mu m \log \times 11.7 - 9.7 - 108.3 \ \mu m wide$ (Figure 6B-1, 2). Microscleres: curved, pointy micro-oxeas with the shape of an oxea, but occasionally with a swollen central part, $96.2 - 61.2 - 35.6 \,\mu m \log \times 4.2 - 3 - 1.7 \,\mu m$ wide (Figure 6E), oxiasters with micro-spined tips, 7 - 8 radii 24.3 - 17 - 11.4. µm in diameter (Figure 6D).

Habitat: soft bottom in mesophotic environments.

Distribution in the Western Atlantic: Guyana continental shelf (van Soest, 2017), north-eastern Brazil (Muricy *et al.*, 2011); Isla Fuerte, Colombian Caribbean.

Comments: the spicule shape and details of the specimens closely resemble those of the *P. chelotropa* holotype, hence the identification is confidently established. Boury-Esnault (1973), p. 272, names tilaster-type asters, but the ends of the spicules are pointy under SEM, so they are identified as oxiasters.





Figura 6. Penares chelotropa. A. Fragmento, B-1, 2. Ortotriaenas, C-1. Oxea II, C-2. Oxea I, D. Oxiaster. E. Micro-oxea, F. Coanosoma, G. Ectosoma.

Figure 6. Penares chelotropa. A. Fragment, B-1, 2. Orthotriaenes, C-1. Oxea II, C-2. Oxea I, D. Oxiaster. E. Micro-oxea, F. Choanosome, G. Ectosome.

Familia Tetillidae Sollas, 1886

Fangophilina submersa Schmidt, 1880 (Figura 7 A – K)

Fangophilina submersa Schmidt, 1880: 73-74, plate X, fig 3; Topsent, 1923: 2 (redescripción, *fide* de Voogd, 2022a); van Soest, 2017: 112, 69.

No *Fangophilina submersa*; Burton, 1956: 122-123; Burton, 1959: 201; Pulitzer-Finali, 1993: 261 (fide de Voogd *et al.*, 2022a).

Material estudiado: INV POR1525, isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-29; INV POR1569, isla Fuerte, 98 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-08-03; INV POR1593, isla Fuerte, 78 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-30; INV POR1598, isla Fuerte, 126 m, 2012-08-05. INV POR1599, isla fuerte, 95 m. col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-08-02; INV POR1628, isla Fuerte, 78 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-29; INV POR1666, isla fuerte, 82 m. col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-28.

Descripción: Esponja globular con dos porocálices laterales híspidos muy prominentes de aproximadamente 1.5 cm de diámetro y 2 cm de altura, con un tamaño promedio de entre 1 y 3 cm de diámetro, la superficie se ve lisa, pero al tacto es microhíspida, consistencia algo compresible, color en alcohol beige claro, algunas veces rosado claro (posible presencia de tinte durante la fijación) (Figura 7A). **Esqueleto:** Ectosoma: tractos de espículas que radian fuertemente desde los porocálices hasta el centro del cuerpo de la esponja, espículas prodiaenas

Family Tetillidae Sollas, 1886

Fangophilina submersa Schmidt, 1880 (Figure 7 A – K)

Fangophilina submersa Schmidt, 1880: 73-74, plate X, fig 3; Topsent, 1923: 2 (redescription, *fide* de Voogd, 2022a); van Soest, 2017: 112, 69.

No *Fangophilina submersa*; Burton, 1956: 122-123; Burton, 1959: 201; Pulitzer-Finali, 1993: 261 (fide de Voogd *et al.*, 2022a).

Studied material: INV POR1525, Isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-29; INV POR1569, Isla Fuerte, 98 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-08-03; INV POR1593, Isla Fuerte, 78 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-30; INV POR1598, Isla Fuerte, 126 m, 2012-08-05. INV POR1599, Isla Fuerte, 95 m. col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-08-02; INV POR1628, Isla Fuerte, 78 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-29; INV POR1666, Isla Fuerte, 82 m. col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-29;

Description: Globular sponge with two very prominent hispid lateral porochalices approximately 1.5 cm in diameter and 2 cm in height, with an average size between 1 and 3 cm in diameter, the surface looks flat but is micro-hispid to the touch, somewhat compressible consistency, light beige-colored in alcohol, sometimes light pink (possible presence of dye during fixation) (Figure 7A). **Skeleton:** Ectosome: spicule tracts strongly radiating from the porochalices to the center of the sponge's body, prodiaene spicules forming a layer on the

que forman una capa en la superficie y microscleras sigmaspiras distribuidas aleatoriamente; coanosoma: tractos delgados compuestos de megascleras largas: oxeas que sobresalen del ectosoma, plagiomono-, di- y triaenas, anatriaenas, prodi-triaenas (Figura 7K). Espículas: Megascleras: oxeas distinguibles en dos categorías de tamaño, oxeas I: largas de extremos puntiagudos, de 2923 - 1742.4 - 1155.7 µm de largo $\times 41.1 - 24.5 - 12$ µm de ancho (Figura 7B-1), oxeas II: ligeramente más cortas, con extremos puntiagudos de 1108 - 762.6 - 461.5 µm de largo × $31 - 17.2 - 11.6 \mu m$ de ancho (Figura 7B-2); ortomonoenas: clado recto en forma de guadaña $602.5 - 399.2 - 199.1 \mu m$ de largo \times 22.1 – 16.5 – 8.7 µm de ancho, rabdoma recto, a veces sinuoso, $2718 - 1946.4 - 1469 \,\mu\text{m}$ de largo $\times 25 - 18.7 - 12 \,\mu\text{m}$ de ancho (Figura 7E); ortotriaenas: grandes, con condiciones de diaena, rabdomas de 2325.5 – 1667.2 – 948.3 μ m de largo × $19.3 - 10 - 4.1 \mu m$ de ancho, cladoma de 812.7 - 434.5 - 201 μ m de longitud, clado de 400.5 – 247 – 106.5 μ m de largo × 14.2 $-9.7-6 \mu m$ de ancho (Figura 7C); plagiodiaenas: rabdomas de $2770.7 - 1531.4 - 870.1 \mu m$ de largo $\times 26.3 - 17.7 - 8.7$ μ m de ancho, cladoma de 571.3 – 359 – 162.1 μ m de longitud, clado de $327.6 - 228 - 87.4 \,\mu\text{m}$ de largo $\times 22.1 - 14 - 5.8 \,\mu\text{m}$ de ancho (Figura 7D); plagiotriaenas (n = 15): rabdoma, en algunos casos doblado, de 2624.7 - 1763.7 - 1181.5 µm de largo \times 31 – 16.7 – 9.2 µm de ancho, cladoma de 436.7 – 330.7 $-226 \,\mu\text{m}$ de longitud, clado de $259.7 - 188.7 - 116.4 \,\mu\text{m}$ de largo \times 22.1 – 13.7 – 6.5 µm de ancho (Figura 7F); prodiaenas en dos categorías de tamaño distintas (I, n = 15): robustas, con clados gruesos, casi paralelos, rabdoma de 2727.6 - 1469.3 -1185 µm de largo \times 38.2 – 25 – 12 µm de ancho, cladoma de 259-153-95 μm de longitud, clado de 259-161.5-79.4 μm de largo \times 35 – 22.6 – 13 µm de ancho, prodiaenas II (n = 9): más delgadas y pequeñas con clados muy largos y delgados, rabdomas de $1596 - 1263.4 - 655.2 \mu m$ de largo $\times 6.2 - 3.7 - 1.8$ μ m de ancho, cladoma de $82 - 51 - 34 \mu$ m de longitud, clado de 97.8 – 69.3 – 28.1 µm de largo $\times 4 - 3.1 - 2.1$ µm de ancho (Figura 7I); protriaenas en dos categorías de tamaño distintas, protriaenas I: robustas, con clado grueso, casi paralelo, rabdoma de $3128.6 - 2459 - 1379.5 \mu m$ de largo $\times 23.6 - 13.8 - 5.2 \mu m$ de ancho, cladoma de $218.6 - 140.4 - 67.7 \mu m$ de longitud, clado de $253 - 145.4 - 87.5 \mu m$ de largo $\times 22.7 - 14 - 8.7 \mu m$ de ancho (Figura 7H-1), protriaenas II: más delgadas, con clados muy delgados y largos, con algunas terminaciones dobladas, rabdoma de 2881.8 – 1934.8 – 646.4 μ m de largo × 8.7 – 4.6 – 1.8 μ m de ancho (Figura 7H-2); anatriaenas (n = 13): muy escasas, poco frecuentes, con rabdoma muy delgado de 3117 - 1216.8 $-1792.1 \,\mu\text{m}$ de largo $\times 17.7 - 10.7 - 4.1 \,\mu\text{m}$ de ancho (Figura 7G). Microscleras: sigmaspiras microespinadas variables y en forma de S, de $33.3 - 23.1 - 17.5 \mu m$ de longitud (Figura 7J).

surface, and randomly distributed sigmaspire microscleres; choanosome: thin tracts composed of long megascleres: oxeas protruding from the ectosome, plagiomono-, di-, and triaenes, anatriaenes, prodi- triaenes (Figure 7K.). Spicules: Megascleres: distinguishable oxeas in two size categories, oxea I: long, with pointy ends, 2923 - 1742.4 $-1155.7 \,\mu\text{m} \log \times 41.1 - 24.5 - 12 \,\mu\text{m}$ wide (Figure 7B-1.), oxea II: slightly shorter, with pointy ends, 1108 - 762.6 $-461.5 \,\mu\text{m} \log \times 31 - 17.2 - 11.6 \,\mu\text{m}$ wide (Figure 7B-2); Orthomonoenes: straight clade shaped like a scythe, 602.5 - $399.2 - 199.1 \ \mu m \log \times 22.1 - 16.5 - 8.7 \ \mu m wide, straight$ rhabdome, sometimes sinuous, 2718 - 1946.4 - 1469 µm $\log \times 25 - 18.7 - 12 \mu m$ wide (Figure 7E.); Orthotriaenes: large, with diaene conditions, $2325.5 - 1667.2 - 948.3 \,\mu\text{m}$ $long \times 19.3 - 10 - 4.1 \ \mu m$ wide rhabdomes, 812.7 - 434.5 $-201 \ \mu m \log$ cladome, $400.5 - 247 - 106.5 \ \mu m \log \times$ $14.2 - 9.7 - 6 \mu m$ wide clade (Figure 7C.); Plagiodiaenes: $2770.7 - 1531.4 - 870.1 \ \mu m \log \times 26.3 - 17.7 - 8.7 \ \mu m$ wide rhabdomes, $571.3 - 359 - 162.1 \mu m \log cladome$, $327.6 - 228 - 87.4 \,\mu m \log \times 22.1 - 14 - 5.8 \,\mu m$ wide clade (Figure 7D.); Plagiotriaenes (n = 15): rhabdome, sometimes bent, 2624.7 – 1763.7 – 1181.5 μm long × 31 – 16.7 – 9.2 μm wide, $436.7 - 330.7 - 226 \,\mu m \log cladome$, 259.7 - 188.7 -116.4 μ m long × 22.1 – 13.7 – 6.5 μ m wide clade (Figure 7F.); prodiaenes in two distinct size categories (I, n = 15): robust, with thick, almost parallel clades, $2727.6 - 1469.3 - 1185 \,\mu m$ $\log \times 38.2 - 25 - 12 \,\mu m$ wide rhabdome, $259 - 153 - 95 \,\mu m$ long cladome, $259 - 161.5 - 79.4 \mu m \log \times 35 - 22.6 - 13$ μ m wide clade; prodiaenes II (n = 9): thinner and smaller, with very long and thin clades, $1596 - 1263.4 - 655.2 \mu m$ $\log \times 6.2 - 3.7 - 1.8 \,\mu\text{m}$ wide rhabdomes, $82 - 51 - 34 \,\mu\text{m}$ long cladome, $97.8 - 69.3 - 28.1 \mu m \log \times 4 - 3.1 - 2.1$ µm wide clade (Figure 7I.); protriaenes in two distinct size categories, protriaenes I: robust, with thick, almost parallel clade, $3128.6 - 2459 - 1379.5 \mu m \log \times 23.6 - 13.8 - 5.2$ μ m wide rhabdome, 218.6 – 140.4 – 67.7 μ m long cladome, $253 - 145.4 - 87.5 \,\mu m \log \times 22.7 - 14 - 8.7 \,\mu m$ wide clade (Figure 7H-1.); protriaenes II: thinner, with very thin and long clades, with some bent ends, 2881.8 - 1934.8 - 646.4 μ m long × 8.7 – 4.6 – 1.8 μ m wide rhabdome (Figure 7H-2.); anatriaenes (n = 13): very scarce, rare, with a very thin rabdome $3117 - 1216.8 - 1792.1 \ \mu m \ long \times 17.7 - 10.7$ - 4.1 μm wide (Figure 7G.). Microscleres: micro-spined sigmaspires, variable, S-shaped, $33.3 - 23.1 - 17.5 \mu m \log 1000$ (Figure 7J.)

Hábitat: Fondos blandos en ambientes mesofóticos, 42 - 110 m (van Soest, 2017).

Distribución en el Caribe: Guyana, golfo de México, Caribe colombiano.

Comentarios: para identificarlo, este espécimen se comparó con el registro de van Soest (2017), el único que ha registrado esta especie para el Atlántico occidental. Las descripciones son muy similares; el autor describe variaciones de espículas megascleras como plagiomono-, di- y triaenas (como variaciones de plagiotriaenas) y orthodi- y triaenas (como variaciones de ortotriaenas) por el número y la orientación de los clados hacia los rabdos. Por lo tanto, en este trabajo se utilizó la misma nomenclatura, dada la similitud, excepto en el caso de las "monoplagiotriaenas", que no tienen forma de cuerno de buey, como lo describe el autor. Sin embargo, tanto la forma como la composición de la espícula coinciden, dando lugar a la asignación de la especie. **Habitat:** Soft bottoms in mesophotic environments, 42 – 110 m (van Soest, 2017).

Distribution in the Caribbean: Guyana, Gulf of México, Colombian Caribbean.

Comments: to identify this specimen, it was compared with the record provided by van Soest (2017), the only one who has reported this species for the western Atlantic. The descriptions are very similar; the author describes variations of megascleres spicules, like plagiomono-, di- and trienes (as variations of plagiotrienes), orthodi- and triene (as variations of orthotrienes) by the number and orientation of the clades towards the rabds. Therefore, in this work, the same nomenclature was used due to the similarity, except for "monoplagiotriaenes", which are not shaped like an ox horn, as described by the author. However, both the shape and the spicule composition coincided, thus assigning this species.



Figura 7. *Fangophilina submersa* A. Espécimen, B-1, 2. Oxeas, C. Ortotriaenas, D. Plagiodiaenas, E. Ortomonoenas, F. Plagiotriaenas, G. Anatriaena, H-1. Protriaena I, H-2. Protriaena II, I. Prodiaena, J. Sigmaspiras, K. Esqueleto.

Familia Theonellidae Lendenfeld, 1903

Discodermia polydiscus (Bowerbank, 1869) (Figura 8 A – G)

Dactylocalyx polydiscus Bowerbank, 1869.

Discodermia polydiscus; van Soest y Stentof, 1988: 50 – 52, fig 22; Pisera y Lévi, 2002: 329, fig 3 (con sinonimia adicional); Rützler *et al.*, 2009: 298 (listada).

[Para nombres mal aplicados y sinonimia adicionales, ver de Voogd *et al.*, 2022b].

Material estudiado: INV POR1553, isla Fuerte, 98 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-03; INV POR1582, isla Fuerte, 126 m, col.

Figure 7. Fangophilina submersa A. Specimen, B-1, 2. Oxeas, C. Ortotriaene, D. Plagiodiaene, E. Orthomonoenes, F. Plagiotriaenes, G. Anatriaene, H-1. Protriaene I, H-2. Protriaene II, I. Prodiaene, J. Sigmaspires, K. Skeleton.

Family Theonellidae Lendenfeld, 1903

Discodermia polydiscus (Bowerbank, 1869) (Figure 8 A-G)

Dactylocalyx polydiscus Bowerbank, 1869.

Discodermia polydiscus; van Soest and Stentof, 1988: 50 – 52, fig 22; Pisera and Lévi, 2002: 329, fig 3 (with additional synonymy); Rützler *et al.*, 2009: 298. (listed).

[For additional badly applied names and synonymy, see de Voogd *et al.*, 2022b].

Studied material: INV POR1553, Isla Fuerte, 98 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-03; INV POR1582, isla Fuerte, 126 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-05.

Descripción: esponja de forma irregular, con algunos poliquetos sobre y dentro del ectosoma, 3 cm de largo \times 2 cm de ancho, superficie lisa; sin ósculos visibles, consistencia quebradiza en la parte superior, dura y difícil de cortar en la parte inferior, color beige medio en alcohol (Figura 8A). Esqueleto: ectosoma: desprendible de discotriaenas, con algunas microscleras aleatoriamente visibles; coanosoma: tractos delgados de oxeotes apoyando la piel de las discotriaenas, elevándose entre la reticulación de desmas de 387.4 - 309.8 -232.2 µm de grosor (Figura 8F – G). Espículas: Megascleras: desmas con tallos lisos pero extremos muy verrugosos, se presenta la medida del diámetro más largo, $573.6 - 307.1 - 193 \mu m$ de longitud (Figura 8B), discotrieanas con bordes irregulares u ovalados, generalmente lisos, pero algunos corrugados o protuberancias muy pequeñas, rabdo de 198.6 – 174.4 – 150.2 µm de largo × 41.1 - 32-22.7 µm de ancho, diámetro más largo: 381.4 - 259 $-161 \,\mu\text{m}$ (Figura 8C), oxeote (n = 13) con modificaciones de estilotes de 698 – 442.6 – 223.7 μ m de largo × 10.2 – 6 – 3 µm de ancho (Figura 8D). Microscleras: acantomicroxea de 17.3 - 12 - 6.8 µm de largo $\times 4.2 - 2.8 - 1.5$ µm de ancho (Figura 8E).

Hábitat: fondo blando en ambientes mesofóticos.

Distribución en el Caribe: Barbados (van Soest y Stentoff, 1988); golfo de México (Rützler *et al.*, 2009); Caribe colombiano.

Comentarios: los morfotipos se compararon con *Discodermia dissoluta* Schmidt, 1880, la cual ya había sido registrada para el Caribe colombiano. Sin embargo, la morfología de las espículas discotriaenas es más irregular y grande que la reportada. Asimismo, los desmas tienen más protuberancias, lo que los hacer más fáciles de ver, por lo cual se asignó a *D. polydiscus*, siguiendo las comparaciones hechas por van Soest y Stentoff (1988), aunque no haya microscleras separadas, como se describe (microxeas y microrrabdos acantosos por separado), las cuales difieren en su nomenclatura con Pisera y Lévi (2002), que caracterizan acantoxeas y acantomicrorrabdos. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-05.

Description: irregularly shaped sponge, with some polychaetes on and within the ectosome, 3 cm long \times 2 cm wide, flat surface; no visible oscula, brittle consistency in the upper part, hard, difficult to cut in the lower part, medium beige-colored in alcohol (Figure 8A). Skeleton: ectosome: detachable from the discotriaenes, with some randomly visible microscleres; Choanosome: thin tracts of oxeotes supporting the skin of discotriaenes rising through the 387.4 - 309.8-232.2 µm thick reticulation of desmata (Figure 8F - G). Spicules: Megascleres: desmata with flat stems but very wart ends, the highest diameter is reported, 573.6 - 307.1 - 193µm long (Figure 8B), discotriaenes with irregular or oval edges, generally flat, but some corrugated or with very small protrusions, $198.6 - 174.4 - 150.2 \,\mu m \log \times 41.1 - 32 - 22.7$ μ m wide rhabdus, longest diameter: 381.4 – 259 – 161 μ m (Figure 8C), oxeote (n = 13) with modifications of stylotes, $698 - 442.6 - 223.7 \,\mu m \log \times 10.2 - 6 - 3 \,\mu m$ wide (Figure 8D.). Microscleres: acanthomicroxea $17.3 - 12 - 6.8 \,\mu m \log 100$ $\times 4.2 - 2.8 - 1.5 \,\mu m$ wide (Figure 8E).

Habitat: soft bottom in mesophotic environment.

Distribution in the Caribbean: Barbados (van Soest and Stentoff, 1988); Gulf of Mexico (Rützler *et al.*, 2009); Colombian Caribbean.

Comments: the morphotypes were compared to *Discodermia dissoluta* Schmidt, 1880, which has already been reported for the Colombian Caribbean. However, the morphology of the discotriaene spicules is more irregular and is greater in size than that reported. Similarly, the desmata have more protrusions, which makes them easy to spot, with is why *D. polydiscus* was assigned, following the comparisons made by van Soest and Stentoff (1988) although it does not have separate microscleres as they describe (microxeas and acanthose microrhabds separately), which differ in nomenclature with Pisera and Lévi (2002) who characterize acanthoxeas and acanthomicrorhabdes.





Figura 8. Discodermia polydiscus. A. Fragmento, B. Desma, C. Discotriaenas, D. Oxeote, E. Acantomicroxea F - G. Red de desmas fusionados

Figure 8. Discodermia polydiscus. A. Fragment, B. Desma, C. Discotriaenes, D. Oxeote, E. Acanthomicroxea F - G. Merged desmata network

Orden Merliida Vacelet, 1979

Familia Hamacanthidae Gray, 1872

Hamacantha (Vomerula) agassizi Topsent, 1920 (Figura 9 A−E)

Sinonimia en van Soest, 2017: 127, fig 78. Adicionalmente:

Evomerula agassizi; de Laubenfels, 1936: 125. (*fide* de Voogd *et al.*, 2022c).

Material examinado: INV POR1483, Manaure, 210 m, col. Paola Flórez | Manuel Garrido, 2011-12-02; INV POR1577, isla Fuerte, 128 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-04; INV POR1580, isla Fuerte, 126 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-05.

Descripción: esponja irregular en forma de lóbulo, delgada, de 2 cm de largo \times 1.7 cm de ancho, superficie lisa, sin ósculos visibles, consistencia quebradiza, fácil de rasgar, color en alcohol beige claro, algo traslúcido (Figura 9A). Esqueleto: Ectosoma: reticulación tangencial de tractos de estilos delgados y entrecruzados de $17 - 40 \mu m$ (3 a 5 espículas) de diámetro, con varias diancistras intercaladas. Coanosoma: formado por tractos de espículas plumosas de 195 - 287 µm de diámetro, adelgazándose hacia la superficie, 92 - 134 µm de ancho (Figura 9E). Espículas: Megascleras: estilos rectos o ligeramente curvos, lisos, ligeramente fusiformes, de 422.1 - $383.4 - 293.1 \,\mu\text{m}$ de largo $\times 7.4 - 4.8 - 2 \,\mu\text{m}$ de ancho (Figura 9C), diancistras en estado adulto con superficies afiladas, solo extensas en los ápices debajo de una abertura en forma de ojo de cerradura. La parte media del eje es redondeada, de 121.1 - $108.7 - 95.4 \,\mu\text{m}$ de largo $\times 9.3 - 6.9 - 4.1 \,\mu\text{m}$ de ancho (Figura Order Merliida Vacelet, 1979

Family Hamacanthidae Gray, 1872

Hamacantha (Vomerula) agassizi Topsent, 1920 (Figure 9 A – E)

Synonymy in van Soest, 2017: 127, fig 78. In addition:

Evomerula agassizi; de Laubenfels, 1936: 125. (fide de Voogd *et al.*, 2022c).

Examined material: INV POR1483, Manaure, 210 m, col. Paola Flórez | Manuel Garrido, 2011-12-02; INV POR1577, Isla Fuerte, 128 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-07-04; INV POR1580, Isla Fuerte, 126 m, col. Paola Flórez, Erika Montoya, Andrés Merchán, Manuel Garrido, 2012-08-05.

Description: lobe-shaped irregular sponge, thin, 2 cm $long \times 1.7$ cm wide, flat surface, no visible oscula, brittle consistency, easy to tear apart, light beige-colored in alcohol, somewhat translucid (Figure 9A). Skeleton: Ectosome: tangential reticulation of style tracts, thin, intertwined, 17 $-40 \mu m$ (three to five spicules) in diameter, with several diancistras interleaved. Choanosome: formed by tracts of feathery spicules $195 - 287 \mu m$ in diameter, becoming thinner towards the surface, $92 - 134 \mu m$ wide (Figure 9E). Spicules: Megascleres: straight or slightly curved, flat, spindle-shaped styes $422.1 - 383.4 - 293.1 \,\mu m \log \times 7.4 - 4.8 - 2 \,\mu m$ wide; (Figure 9C), diancistras in adult stage with sharp surfaces, only large at the apices below a keyhole-shaped opening. The middle part of the axis is rounded, $121.1 - 108.7 - 95.4 \,\mu\text{m}$ $\log \times 9.3 - 6.9 - 4.1 \mu m$ wide (Figure 9B); Microscleres: rounded sigmas $13.6 - 12 - 9.4 \mu m$ in length (Figure 9D).

9B). Microscleras: sigmas redondeadas de $13.6 - 12 - 9.4 \,\mu\text{m}$ de longitud (Figura 9D).

Hábitat: fondo de arenas gruesas a 130 m (van Soeste, 2017), fondos blandos en ambientes mesofóticos.

Distribución en el Caribe: Golfo de México (Topsent, 1920), registrado erróneamente desde las Azores por Van Soest (1984) (p. 144). Plataforma de Guyana (van Soest, 2017).

Comentarios: para identificar el espécimen, se revisó Castellano-Branco y Hadju (2018) (Tabla 2), donde se comparan las especies válidas de Hamacantha (Vomerula), pues sus megascleras son estilos y no oxeas. Adicionalmente, las características coinciden en forma y especulación con las descripciones de van Soest (2017). Se compararon varias especies registradas en el Atlántico occidental: H. (V.) jeanvacelati Castellano-Branco y Hadju, 2018 no registran microscleras, H. (V.) klausruetzleri Castellano-Branco y Hadju, 2018 presenta estrongilos como megascleras y dos categorías de diancistras y sigmas, H. (V.) azorica Topsent, 1904 no tiene registros de megascleras o diancistras para comparar y muestra rafidios como microscleras, H. (V.) bowerbanki Lundbeck, 1902 no reporta megascleras y tiene toxas como microscleras, H. (V.) carteri Topsent, 1904 tiene megascleras claramente más grandes que el espécimen, H. (V.) integra Topsent, 1904 registra estilos acantosos y no tiene microscleras, H. (V.) microxifera Lopes y Hadju, 2004 tiene rafidios como microscleras y H. (V.) tenda (Schmidt, 1880) difiere porque tiene toxas y carece de sigmas [(cf. Topsent 1920 (p. 9) v Hajdu 2002 (p. . 667)].

Habitat: coarse sand bottom at 130 m deep (van Soest, 2017), soft bottoms in mesophotic environments

Distribution in the Caribbean: Gulf of Mexico (Topsent, 1920), erroneously reported from the Azores by van Soest (1984) (p. 144). Guyana shelf (van Soest, 2017).

Comments: to identify the specimen, Castellano-Branco and Hadju (2018) (table 2) was reviewed, where the valid Hamacantha (Vomerula) species are compared, given that their megascleres are styles and not oxeas. In addition, the characteristics match in shape and spiculation with the descriptions made by van Soest (2017). Several species recorded in the western Atlantic were compared: H. (V.) jeanvacelati Castellano-Branco and Hadju, 2018 do not report microscleres, H. (V.) klausruetzleri Castellano-Branco and Hadju, 2018 shows strongyles as megascleres and two categories of diancistras and sigmas, H. (V.) azorica Topsent, 1904 has no record of megascleres or diancistras to compare and shows raphides as microscleres, H. (V.) bowerbanki Lundbeck, 1902 does not report megascleres and has toxae as microscleres, H. (V.) carteri Topsent, 1904 has megascleres that are clearly larger than the specimen, H. (V.) integra Topsent, 1904 reports acanthous styles and has no microscleres, H. (V.) microxifera Lopes and Hadju,2004 has raphides as microscleres, and H. (V.) tenda (Schmidt, 1880) differs as it has toxae and lacks sigmas [(cf. Topsent 1920 (p. 9) and Hajdu 2002 (p. . 667)].



Figura 9. Hamacantha (Vomerula) agassizi. A. Fragmento, B. Diancistras, C. Estilo, D. Sigma, E. Esqueleto.

Figure 9. Hamacantha (Vomerula) agassizi. A. Fragment, B. Diancistras, C. Style, D. Sigma, E. Skeleton.

Orden Poecilosclerida Topsent, 1928

Familia Coelosphaeridae Dendy, 1922

Coelosphaera (Coelosphaera) hechteli van Soest, 1984 (Figura 10 A – F)

Coelosphaera (Coelosphaera) hechteli van Soest, 1984.

Material examinado: INV POR1562, isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29.

Descripción: esponja en forma de fístulas irregulares huecas que miden 4.7 cm de largo y 0.5 cm de ancho cada una, superficie corrugada, sin ósculos visibles y consistencia muy frágil, color beige medio en alcohol (Figura 10A). **Esqueleto:** Ectosoma: capa densa de megascleras confusas; coanosoma: megaescleras únicas que forman tractos raros mal definidos (Figura 10F). **Espículas:** Megascleras: tilotes largos, sinuosos, con cabezas levemente hinchadas, de 522.6 – *384.3* – 252.8 µm de largo × 11.3 – 7.2 – 4.1 µm de ancho (Figura 10E), rafidios en tricodragmas gruesos de 734 – 347.7 – 230.1 µm de ancho × 88.5 – 29.3 – 11.7 µm de ancho (Figura 10D). Microscleras: sigmas: 53.2 – 45 – 39.6 µm de largo × 3.8 – 2.5 – 1.7 µm de ancho (Figura 10C) e isoquelas de 34.4 – 29 – 20.5 µm de largo × 3.8 – 2.5 – 1.7 µm de ancho (Figura 10B).

Hábitat: fondos fangosos y arenosos en aguas mesofóticas y profundas.

Distribución en el Caribe: Curaçao, Puerto Rico (van Soest, 1984), Caribe colombiano.

Comentarios: las características del espécimen coinciden en combinación y tamaño con el único registro para Punta Cadena, Curaçao, en el Atántico occidental (van Soest, 1984) (tilotes: $533 - 386 - 268 \mu m$ de largo × $6 - 4 - 2 \mu m$ de ancho; dragmas: $330 - 306.5 - 285 \mu m$ de largo × $55 - 38.8 - 20 \mu m$ de ancho; sigmas: $60 - 48.4 - 38 \mu m$ de largo e isoquelas: $30 - 26.7 - 22 \mu m$ de largo).

Order Poecilosclerida Topsent, 1928

Family Coelosphaeridae Dendy, 1922

Coelosphaera (Coelosphaera) hechteli van Soest, 1984 (Figure 10 A – F)

Coelosphaera (Coelosphaera) hechteli van Soest, 1984.

Examined material: INV POR1562, Isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29.

Description: sponge shaped like hollow irregular fistulae measuring 4.7 cm long and 0.5 cm wide each, corrugated surface, with no visible oscula and very fragile consistency, medium beige-colored in alcohol (Figure 10A). **Skeleton:** Ectosome: dense layer of unclear megascleres; Choanosome: single megascleres forming strange, badly defined tracts (Figure 10F). **Spicules:** Megascleres: long, sinuous tylotes with slightly swollen heads, $522.6 - 384.3 - 252.8 \mu m \log \times 11.3 - 7.2 - 4.1 \mu m$ wide (Figure 10E), raphides in thick trichodragmata $734 - 347.7 - 230.1 \mu m \log \times 88.5 - 29.3 - 11.7 \mu m$ wide (Figure 10D.). Microscleres: sigmas: $53.2 - 45 - 39.6 \mu m \log \times 3.8 - 2.5 - 1.7 \mu m$ wide (Figure 10D) and isochelae: $34.4 - 29 - 20.5 \mu m \log \times 3.8 - 2.5 - 1.7 \mu m$ wide (Figure 10B).

Habitat: muddy and sandy bottoms in mesophotic and deep waters.

Distribution in the Caribbean: Curaçao, Puerto Rico (van Soest, 1984), Colombian Caribbean.

Comments: the characteristics of the specimen match in combination and size with the only record for Punta Cadena, Curaçao in the western Atlantic (van Soest, 1984) (tylotes: $533 - 386 - 268 \ \mu m \log \times 6 - 4 - 2 \ \mu m wide$; dragmata: 330 $- 306.5 - 285 \ \mu m \log \times 55 - 38.8 - 20 \ \mu m wide$; sigmas: 60 $- 48.4 - 38 \ \mu m \log$ and isochelae: $30 - 26.7 - 22 \ \mu m \log$).



Figura 10. Coelosphaera (Coelosphaera) hechteli. A. Fragmento, B. Isoquela, C. Sigma, D. Tricodragmas, E. Tilote, F. Esqueleto.

Figure 10. Coelosphaera (Coelosphaera) hechteli. A. Fragment, B. Isochela, C. Sigma, D. Trichodragmata, E. Tylote, F. Skeleton.

Forcepia (Forcepia) colonensis Carter, 1874 (Figura 11 A-F)

Forcepia colonensis Carter, 1874: 248, pl. XV, fig. 47, No Carter, 1885: 110-111, pl. IV, fig 2, a-e.

Forcepia trilabis; van Soest, 1984: 66, pl. VI figs 1–2, text-fig. 24 (no Boury-Esnault, 1973: 280, fig. 32).

Material examinado: INV POR1509, isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29; INV POR1590, isla Fuerte, 78 m, Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-30.

Descripción: esponja amorfa, algo alargada, de 5 cm de largo \times 1.5 cm de ancho, superficie lisa, sin ósculos aparentes. Consistencia blanda-quebradiza, color beige medio en alcohol (Figura 11A). **Esqueleto:** Ectosoma: una costra de megaescleras entrecruzadas; coanosoma: disposición irregular de espículas megascleras individuales (Figura 11F). **Espículas.** Megascleras: tilotes con estilos bien desarrollados, algunas con deformaciones rugosas (Figura 11B), bastante uniformes, de 519.4 – 471.7 – 384 µm de largo \times 13 – 8.4 – 4.3 µm de ancho, fórceps grandes espinados y en varios estadios de desarrollo de 345.4 – 295.5 – 255.7 µm de largo \times 11.6 – 7.6 – 4.3 µm de ancho (Figura 11C-D). Microscleras: isoquelas arqueadas en dos categorías de tamaño, I: 32.3 – 25.3 – 21.2 µm de longitud, II (n = 12): 20.8 – 19.2 – 16.3 µm de longitud (Figura 11E).

Hábitat: sobre fondo de escombros de coral a 100 m de profundidad, fondos blandos mesofóticos.

Distribución en el Caribe: Panamá, Barbados (van Soest, 1984) (descrita como *Forcepia (Ectoforcepia) trilabis*), Caribe colombiano.

Forcepia (Forcepia) colonensis Carter, 1874 (Figure 11 A-F)

Forcepia colonensis Carter, 1874: 248, pl. XV, fig. 47, No Carter, 1885: 110-111, pl. IV, fig 2, a-e.

Forcepia trilabis; van Soest, 1984: 66, pl. VI figs 1–2, textfig. 24 (no Boury-Esnault, 1973: 280, fig. 32).

Examined material: INV POR1509, Isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29; INV POR1590, isla Fuerte, 78 m, Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-30.

Description: amorphous sponge, somewhat elongated, 5 cm long × 1.5 cm wide, flat surface, no apparent oscula. Soft-brittle consistency, medium beige-colored in alcohol (Figure 11A). **Skeleton:** Ectosome: one scab of intertwined megascleres; Choanosome: irregular array of individual megasclere spicules (Figure 11F). **Spicules:** Megascleres: tylotes with well-developed styles, some of them with rough deformations (Figure 11B.), very uniform, 519.4 – 471.7 – 384 µm long × 13 – 8.4 – 4.3 µm wide, large, thorny forceps in various development stages, 345.4 – 295.5 – 255.7 µm long × 11.6 – 7.6 – 4.3 µm wide (Figure 11C-D). Microscleres: arcuate isochelae in two size categories, I: 32.3 - 25.3 - 21.2 µm in length, II (n = 12): 20.8 - 19.2 - 16.3 µm in length (Figure 11E).

Habitat: on coral debris bottoms at 100 m deep, mesophotic soft bottoms.

Distribution in the Caribbean: Panama, Barbados (van Soest, 1984) (described as *Forcepia (Ectoforcepia) trilabis*), Colombian Caribbean.
Comentarios: van Soest (1984b) la confundió con una etapa de crecimiento delgada y rota de las pinzas grandes de *Forcepia trilabis*. Boury-Esnault (1973: 280) la confundió con *F. colonensis* Carter, 1874a. En su interpretación actual, es probable que esta sea una especie cercana pero distinta. La identificación se basó en el Systema Porifera, donde van Soest (2002) describe espículas megascleras: tilotes de $330 - 360 \,\mu\text{m}$ de $\times 7 - 4 \,\mu\text{m}$ de ancho; pinzas de $200 - 260 \,\mu\text{m}$ de long $\times 3.5 - 4.5 \,\mu\text{m}$ de ancho, y espículas microscleras: isoquelas arqueadas de $20 - 38 \,\mu\text{m}$ de largo; isoquelas arqueadas pequeñas, con forma normal, de $15 - 20 \,\mu\text{m}$ de largo.

Comments: van Soest (1984b) confused it with a thin, broken development stage of the large forceps of *Forcepia trilabis*. Boury-Esnault (1973: 280) confused it with *F. colonensis* Carter, 1874a. In its current interpretation, it is likely that this is a closely but separate species. The identification was based on the Systema Porífera, where van Soest (2002) describe spicules megascleres: tylotes $330 - 360 \ \mu m \ long \times 7 - 4 \ \mu m$ wide; forceps $200 - 260 \ \mu m \ long \times 3.5 - 4.5 \ \mu m$ wide and spicules microscleres: large arcuate isochelae $20 - 38 \ \mu m \ long$; small normal-shaped arcuated isochelae $15 - 20 \ \mu m \ long$.



Figura 11. Forcepia (Forcepia) colonensis. A. Fragmento, B. Tilote, C-D. Pinzas en diferentes estadios de crecimiento, E. Isoquela, F. Esqueleto.

Figure 11. Forcepia (Forcepia) colonensis. A. Fragment, B. Tylote, C-D. Forceps in different growth forms, E. Isochela, F. Skeleton.

Orden Suberitida Chombard y Boury-Esnault, 1999

Familia Halichondriidae Gray, 1867

Spongosorites ruetzleri (van Soest y Stentoff, 1988) (Figura 12 A – C)

? Halichondria ruetzleri van Soest y Stentoft, 1988.

Spongosorites ruetzleri (van Soest y Stentoff, 1988); Díaz *et al.* 1993: 300, figs 36, 37, 43.

Material examinado: INV POR1506, isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29; INV POR1507, isla Fuerte, 124 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-03.

Descripción: esponja masiva amorfa de 7.5 cm de diámetro, superficie lisa, pequeños ósculos distribuidos aleatoriamente, consistencia desmenuzable, caparazones de vermétidos que crecen dentro de y sobre la esponja, los cuales, según Díaz *et al.* (1993), causan un oscurecimiento a marrón oscuro en alcohol (Figura 12A). **Esqueleto:** Ectosoma: corteza paratangencial

Order Suberitida Chombard and Boury-Esnault, 1999

Family Halichondriidae Gray, 1867

Spongosorites ruetzleri (van Soest and Stentoff, 1988) (Figure 12 A – C)

? Halichondria ruetzleri van Soest and Stentoft, 1988.

Spongosorites ruetzleri (van Soest and Stentoff, 1988); Díaz *et al.* 1993: 300, figs 36, 37, 43.

Examined material: INV POR1506, isla Fuerte, 73 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-07-29; INV POR1507, isla Fuerte, 124 m, col. Paola Flórez | Erika Montoya | Andrés Merchán | Manuel Garrido, 2012-08-03.

Description: massive amorphous sponge 7.5 cm in diameter, flat surface, randomly distributed little oscula, crumbly consistency, shells of vermetids growing within and on the sponge, which, according to Díaz, *et al.* (1993) cause it to darken to dark brown in alcohol (Figure 12A). **Skeleton:** Ectosome: thick paratangential crust of smaller spicules in

gruesa de espículas más pequeñas dispuestas en muchas direcciones; coanosoma: megascleras dispuestas de manera confusa, paralelas u oblicuas a la superfície, algunas agrupadas a manera de tractos de $274.5 - 133 - 65 \mu m$ de ancho (Figura 12C). **Espículas:** megascleras oxeas en dos clases de tamaño, oxea I: larga, generalmente fusiforme, en ocasiones doblada en el centro o a lo largo de la espícula de $937 - 747.2 - 656.5 - \mu m$ de largo × $34.8 - 21.6 - 13.3 \mu m$ de ancho; oxea II: fusiforme, doblada en el centro, espícula de $559.3 - 408 - 264.2 \mu m$ de largo × $17.5 - 11 - 8.2 \mu m$ de ancho (Figura 12B).

Hábitat: aguas profundas, 25-173 m, sobre fondos rocosos o arenosos.

Distribución en el Caribe: Barbados (van Soest y Stentoft, 1988), Bahamas (Díaz *et al.*, 1993), Caribe colombiano.

Commentarios: el espécimen se comparó con el registro de Díaz *et al.* (1993), con similitudes consistentes tanto en la descripción como en la estructura del esqueleto y las espículas, si bien la identificación taxonómica del género fue compleja debido a la generalidad esquelética. Diaz *et al.* (1993) describen dos o tres clases de tamaño (600 – 200 µm de largo × 5 – 20 µm de ancho; 80 – 360 µm de largo × 3 – 12 µm de ancho; 40 - 180 µm de largo × 2 – 8 µm de ancho). En este trabajo se encontraron solo dos. La diferenciación del morfotipo con la presencia de vermétidos resultó en la asignación de esta especie. many directions; Choanosome: megascleres arrayed in a confusing manner, parallel or oblique to the surface, some of them grouped as $274.5 - 133 - 65 \mu m$ wide tracts (Figure 12C). **Spicules:** megascleres oxeas with two size classes, oxea I: long, generally spindle-shaped, some of them bent at the center or along the $937 - 747.2 - 656.5 - \mu m \log \times 34.8 - 21.6 - 13.3 \mu m$ wide spicule; oxea II: fusiform, bent at the center, $559.3 - 408 - 264.2 \mu m \log \times 17.5 - 11 - 8.2 \mu m$ wide spicule (Figure 12B.).

Habitat: deep waters, 25-173 m, on rocky or sandy bottoms.

Distribution in the Caribbean: Barbados (van Soest and Stentoff, 1988), Bahamas (Díaz *et al.*, 1993), Colombian Caribbean.

Comments: the specimen was compared to the report made by Díaz *et al.* (1993), with consistent similarities in both the description and its skeleton and spicule structure, although the taxonomic identification of the genus was a complex task due to skeleton generality. Diaz *et al.* (1993) describe two or three size classes ($600 - 200 \mu m \log \times 5 - 20 \mu m$ wide; $80 - 360 \mu m \log \times 3 - 12 \mu m$ wide; $40 - 180 \mu m \log \times 2$ $- 8 \mu m$ wide); in this work only two size classes were found. The differentiation of the morphotype with the presence of vermetids resulted in the assignation of this species.



Figura 12. Spongosorites ruetzleri. A. Fragmento, B. Oxea I, Oxea II, C. Esqueleto.

Figure 12. Spongosorites ruetzleri. A. Fragment, B. Oxea I, Oxea II, C. Skeleton.

DISCUSIÓN

De los 202 lotes procesados de las estaciones de Isla Fuerte y Alta Guajira, solo se registró una especie en la segunda, a una profundidad de 210 m, lo que representa el registro más profundo del estudio. Esta diferencia podría deberse a la composición arenosa del sustrato en la plataforma continental del Caribe colombiano, que dificulta el asentamiento y el crecimiento de organismos sésiles, a diferencia de los sustratos duros en áreas someras. La razón primordial de esto es la inestabilidad del sustrato y las altas concentraciones de aminoácidos disueltos en la columna de agua (Pansini y Musso, 1991; Ilan y Abelson, 1995; Rützler, 1997).

Según Invemar-ICP (2013), una hipótesis que podría explicar la excepcional riqueza y abundancia de organismos epibénticos (principalmente esponjas) en Isla Fuerte, que también es un hábitat para otros taxones, e.g., los moluscos de la familia Siliquaridae (gastrópodos vermiformes) y Spongosorites ruetzleri, es la ubicación de estos organismos al principio del descenso de la plataforma continental. Estos, por tanto, se ven afectados por eventos de diapirismo y emanación de gases que ocurren en el sector debido a la actividad tectónica de subducción del cinturón de San Jacinto (Duque-Caro, 1984). Si bien esto también depende de factores fisicoquímicos como la dirección de la corriente y su velocidad, turbulencia y disponibilidad de nutrientes, el flujo constante de alimento de productores primarios (principalmente bacterias, el cual puede ser suministrado por las emanaciones, es otra variable que puede determinar la composición de los organismos bentónicos sésiles en este sector (Martínez et al., 2007; Santodomingo et al., 2007). Por otro lado, la identificación de detritus de coral escleractíneo del género Agaricia sp. sugiere un probable origen en áreas más someras. El flujo desde la plataforma lleva este detritus hacia áreas más profundas, creando un sustrato apto para el asentamiento de especies (Santodomingo et al., 2007).

Al comparar las 45 especies identificadas con estudios sobre biodiversidad de esponjas en ambientes someros de la plataforma continental del Caribe colombiano, donde se registraron al menos 66 especies de esponjas (Díaz y Zea, 2008), puede concluirse que los ambientes mesofóticos (> 50 m) albergan una diversidad significativa de este grupo. Si bien estas áreas no se caracterizan por sustratos litorales duros, hay suficientes condiciones para que las larvas se asienten y crezcan. Para corroborar la mayor diversidad de ambientes de fondos duros con respecto a la de fondos blandos que mencionan Pansini y Musso (1991), es fundamental establecer similitudes y diferencias en la diversidad de esponjas en ambientes someros duros y ambientes profundos y blandos.

DISCUSSION

Out of the 202 processed lots from the Isla Fuerte and Alta Guajira stations, only one species was recorded in the latter at a depth of 210 m, representing the deepest record in the study. This difference could be explained by the sandy substrate composition of the Colombian Caribbean continental shelf, which hinders the settlement and growth of sessile organisms, unlike hard substrates found in shallow areas. The primary reason for this are substrate instability and the high concentrations of free dissolved amino acids in the water column (Pansini and Musso, 1991; Ilan and Abelson, 1995; Rützler, 1997).

According to Invemar-ICP (2013), a hypothesis that could explain the exceptional richness and abundance of epibenthic organisms (mainly sponges) in Isla Fuerte, which is also a habitat for other taxa, e.g., the mollusks belonging to the family Siliquaridae (vermiform gastropods) and Spongosorites ruetzleri, is the location of these organisms at the beginning of the continental shelf's descent. They are therefore affected by diapirism and gas emanation events occurring in the sector due to the San Jacinto belt subduction tectonic activity (Duque-Caro, 1984). Even though this also depends on physico-chemical factors such as current direction and speed, turbulence, and available nutrients, the constant supply of food by primary producers (mainly bacteria), which may be provided by these emanations, is another variable that can determine the composition of sessile benthic organisms in this sector (Martínez et al., 2007; Santodomingo et al., 2007). On the other hand, the identification of scleractinian coral detritus of the genus Agaricia sp. suggests a likely origin in shallower areas. The flow from the shelf carries this detritus into deeper areas, thus creating a suitable substrate for species' settlement (Santodomingo et al., 2007).

When comparing the 45 identified species to studies on sponge biodiversity in shallow environments of the Colombian Caribbean's continental shelf, where at least 66 sponge species were recorded (Díaz and Zea, 2008), it can be concluded that mesophotic environments (> 50 m) harbor a significant diversity of this group. Even though these areas are not characterized by hard littoral substrates, there are sufficient conditions for larvae to settle and grow. To corroborate the greater diversity of hard-bottom *vs.* softbottom environments mentioned by Pansini and Musso (1991), it is essential to establish similarities and differences regarding sponge diversity between shallow, hard-bottom environments and deep, soft-bottom ones.

La preservación de las esponjas identificadas dentro del MHNMC 2012 en el marco de este estudio resalta la importancia de las colecciones biológicas para la comunidad científica como repositorios cruciales de información sobre la biodiversidad marina del país. Esta es una contribución notable al conocimiento de la biodiversidad de Porifera en ambientes mesofóticos del Caribe colombiano, en particular debido a la descripción de nuevos registros para la zona.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia y Tecnología y al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar) por el financiamiento, el apoyo y la divulgación suministrados a lo largo de esta investigación, en el marco del proyecto titulado Fortalecimiento y generación de nuevo conocimiento de la colección de esponjas (phylum Porifera) del Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) de la convocatoria Expediciones científicas nacionales y fortalecimiento de colecciones biológicas no. 886 de 2019. Asimismo, los autores agradecen a los investigadores de Invemar David Alonso, Catalina Arteaga y Erika Montoya por su apoyo administrativo y su asesoría durante el proceso de investigación. Finalmente, agradecen al personal del MHNMC, i.e., Miller Flores, Julián Pardo, Iván Latorre y María Camila Londoño por su apoyo activo en la elaboración de placas históricas, la toma de fotografías, la digitalización de información, y la elaboración de hojas gráficas utilizadas en la descripción de nuevos registros. Contribución no. 371 de Invemar. El trabajo de S. Zea corresponde a la contribución 560 del Instituto de Estudios en Ciencias Marinas (Cecimar), Universidad Nacional de Colombia, sede Caribe.

The preservation of the sponges identified at the MHNMC since 2012 within the framework of this study highlights the significance of biological collections for the scientific community as crucial repositories of information on the country's marine biodiversity. This is a noteworthy contribution to the knowledge of Porifera biodiversity in mesophotic environments of the Colombian Caribbean, particularly due the description of new records for the area.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Ministry of Science and Technology and the Institute for Marine and Coastal Research (Invemar) for the funding, support, and dissemination provided throughout this research, within the framework of the project titled Strengthening and generating *new knowledge about the sponge collection (phylum Porifera)* of the Museum of Marine Natural History of Colombia (MHNMC) from call National scientific expeditions and strengthening biological collections no. 886 of 2019. In the same way, the authors would like to thank Invemar researchers David Alonso, Catalina Arteaga, and Erika Montoya for their administrative support and advice during the research process. Finally, they would like to thank the staff of the MHNMC, *i.e.*, Miller Flores, Julián Pardo, Iván Latorre, and María Camila Londoño for their active support in elaborating histological plaques, taking photographs, digitizing the information, and elaborating some graphic sheets used in the description of new records. Contribution no. 371 from Invemar. The work of S. Zea is contribution 560 of the Institute of Studies in Marine Sciences (Cecimar), Universidad Nacional de Colombia, Caribbean Campus.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Abril-Howard, A., N. Bolaños-Cubillos and H. Bent-Hooker. 2011. Expedición científica de recolección de datos biológicos a Serrana y Roncador, y primera aproximación al conocimiento de las comunidades coralina e íctica de los complejos arrecifales de Serranilla, Bajo Alicia y Bajo Nuevo Colombia, sección norte de la Reserva de Biósfera Seaflower, Caribe occidental. Corporación para el desarrollo sostenible del Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina Coralina. San Andrés, 56 p.
- Alcolado, P.M. y G.G. Gotera. 1986. Nuevas adiciones a la fauna de poríferos de Cuba. Poeyana, 331: 1-19
- Álvarez-León, R., J. Aguilera, C.A. Andrade y P. Nowak. 1995. Caracterización general de la zona de surgencia en la Guajira colombiana. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exact. Fis. Nat., 19(75): 679 – 694.
- Andrade, C.A. and E.D. Barton. 2000. Eddy development and motion in the Caribbean Sea. J. Geophys. Res., 105(11): 26191 26201. https://doi. org/10.1029/2000JC000300
- Bergquist, P. R. 1965. The sponges of Micronesia, Part I, The Palau Archipielago. Pacif. Sci., 19: 123 204. http://hdl.handle.net/10125/4411
- Bergquist, P. R. 1978. Sponges. Hutchinson, London, 268 p.
- Boury-Esnault, N. 1973. Spongiaires. Résultats scientifiques des campagnes de la 'Calypso'. Campagne de la 'Calypso' au large des côtes atlantiques de l'Amérique du Sud (1961-1962). I. 29. Ann. Inst. Oceanogr., 49(10): 263 295.
- Bowerbank, J.S. 1869. A monograph of the siliceo-fibrous sponges. Part I Proc. Zool. Soc. Lond., 1869(1): 66 100. https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1869. tb07296.x
- Burton, M. 1956. The sponges of West Africa. Atlantide Report, 4: 111-147.
- Burton, M. 1959. Sponges: 151 281. In: Trustees of the British Museum (Natural History). (Ed.). Sci. Rep. John Murray Expedition 1933 1934. Staples, London. 415 p.
- Carter, H. J. 1874. Descriptions and figures of deep-sea sponges and their spicules from the Atlantic ocean, dredged up on board H.M.S. 'Porcupine', chiefly in 1869; with figures and descriptions of some remarkable spicules from the Agulhas Shoal and Colon, Panama. Ann. Mag. Nat., 14 (79): 207 257. https://doi.org/10.1080/00222937608682078
- Carter, H. J. 1885. Descriptions of sponges from the neighbourhood of Port Phillip Heads, South Australia. Ann. Mag. Nat., 15(86): 107 117. htt ps://10.1080/00222938509459306
- Castello-Branco, C. and E. Hajdu. 2018. Two new *Hamacantha (Vomerula)* from the Rio Grande Rise (SW Atlantic) (Hamacanthidae, Porifera). Zootaxa, 4466 (1): 069 077. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4466.1.8
- Chombard, C. and N. Boury-Esnault. 1999. Good congruence between morphology and molecular phylogeny of Hadromerida, or how to bother sponge taxonomists: 44. In: Hooper J.N.A. (Ed.). Origin and outlook. Proc. 5th Intern. Sponge Symp. 1998. Mem. Queensland Mus. 100 p.
- Corredor, J. E. 1979. Phytoplankton response to low level nutrient enrichment through upwelling in the Colombian Caribbean basin, Deep-Sea Res., 26: 731 741. https://doi.org/10.1016/0198-0149(79)90010-4
- Dendy, A. 1905. Report on the sponges collected by Professor Herdman, at Ceylon, in 1902. 57 246. In: Herdman, W.A. (Ed.). Report to the Government of Ceylon on the pearl oyster fisheries of the Gulf of Manaar. Roy. Soc. London. 365 p.
- Dendy, A. 1922. Report on the Sigmatotetraxonida collected by H.M.S.'Sealark' in the Indian Ocean.1 164. In: Rathbun, M.J. (Ed.). Reports of the Percy Sladen Trust Expedition to the Indian Ocean in 1905. Trans. Linn. Soc. Lond. 261 p.
- de Voogd, N.J., B. Álvarez, N. Boury-Esnault, J.L Carballo, P. Cárdenas, M.C. Díaz, M. Dohrmann, R. Downey, E. Hajdu, J.N.A. Hooper, M. Kelly, M. Klautau, R. Manconi, C.C. Morrow, A.B. Pisera, P. Ríos, K. Rützler, C. Schönberg, J. Vacelet and R.W.M. Van Soest. 2022. World Porifera Database. *Fangophilina* submersa Schmidt, 1880. Accessed at: https://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=171363 on 2022-11-16
- de Voogd, N.J., B. Álvarez, N. Boury-Esnault, J.L Carballo, P. Cárdenas, M.C. Díaz, M. Dohrmann, R. Downey, E. Hajdu, J.N.A. Hooper, M. Kelly, M. Klautau, R. Manconi, C.C. Morrow, A.B. Pisera, P. Ríos, K. Rützler, C. Schönberg, J. Vacelet and R.W.M. Van Soest. 2022. World Porifera Database. *Discodermia polydiscus* (Bowerbank, 1869). Accessed at: https://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=134349 on 2022-11-16
- de Voogd, N.J., B. Álvarez, N. Boury-Esnault, J.L Carballo, P. Cárdenas, M.C. Díaz, M. Dohrmann, R. Downey, E. Hajdu, J.N.A. Hooper, M. Kelly, M. Klautau, R. Manconi, C.C. Morrow, A.B. Pisera, P. Ríos, K. Rützler, C. Schönberg, J. Vacelet and R.W.M. Van Soest. 2022. World Porifera Database. *Evomerula* agassizi (Topsent, 1920). Accessed at: https://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=196490 on 2022-11-03
- De Weerdt W. H., K. Rützler and K. P. Smith. 1991. The Chalinidae (Porifera) of twin cays, Belize and adjacent waters. Proc. Biol. Soc., 104(1): 189 205. http://hdl.handle.net/10088/7830
- Díaz, C.M. y S. Zea. 2008. Distribución de esponjas sobre la plataforma continental de la Guajira, Caribe colombiano. Bol. Invest. Mar. Cost., 37(2): 27 43. https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2008.37.2.189

Desqueyroux-Faúndez, R. 1990. Sponges (Demospongiae) from Easter Island (Isla de Pascua) (South Pacific Ocean). Rev. Suisse Zool., 97(2): 373 - 410.

- Díaz, C. M. and S. Zea. 2014. First record of the Indo-Pacific sponge genus *Rhaphidhistia* (Demospongiae, Hadromerida, Trachycladidae) from the Caribbean Sea, with description of a new species. J. Mar. Biolog. Assoc., 94(2): 255 259. https://doi.org/10.1017/S0025315413000970
- Díaz-Sánchez, C.M. y S. Zea. 2016. Esponjas (Porífera) de la Reserva de la Biosfera Seaflower. 72 83. In: Vides, M., D. Alonso, E. Castro and N. Bolaños (Eds.) Biodiversidad del mar de siete colores. Invemar y Coralina, Santa Marta. 228 p.
- Díaz-Sánchez C.M., E. Montoya-Cadavid, P. Cárdenas and S. Zea. 2013. Astrophorid sponges grounds in the deep seabeds of the joint regime area between Colombia and Jamaica, southwest Caribbean Sea. Abstract Ninth World Sponge Conf. 110 p.
- Díaz, M.C., S.A. Pomponi and R.W.M. Van Soest. 1993. A systematic revision of the central West Atlantic Halichondrida (Demospongiaem Porifera). Part III: Description of valid species. Sci. Mar., 57(4): 283 – 306.
- Duque-Caro, H. 1984. Estilo estructural, diapirísmo y episodios de acrecionamiento del terreno Sinú-San Jacinto en el noroccidente de Colombia. Bol. Geol., 27(2): 1 29. https://doi.org/10.32685/0120-1425/bolgeol27.2.1984.153
- Fajardo, G. E. 1979. Surgencia costera en las proximidades de la península colombiana de la Guajira. Informe final, CIOH, Cartagena. 19 p. https://doi. org/10.26640/01200542.2.7_19
- George, W.C. and H.V Wilson. 1919. Sponges of Beaufort (N.C.) Harbor and Vicinity. Bull. Bur. Fish., 36: 129-179.
- Gracia, A., N. Cruz, G. Borrero, D.P. Báez y N. Santodomingo. 2013. Macroinvertebrados marinos asociados con las plataformas de gas en la Guajira (Caribe colombiano). Bol. Invest. Mar. Cost., 42: 361 386. https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2013.42.2.56
- Gray, J. E. 1867. Notes on the arrangement of sponges, with the descriptions of some new genera. Proc. Zool. Soc. Lond., (2): 492-558.
- Gray, J. E. 1872. Notes on the classification of the sponges. Ann. Mag. Nat., 9(54): 442 461. https://doi.org/10.1080/00222937208696616
- Hajdu, E. 2002. Family Hamacanthidae Gray, 1872: 665 668. In: Hooper, J.N.A. and R.W.M. Van Soest. (Eds.). Systema Porifera A guide to the classification of sponges. Kluwer Academic/Plenum, New York, 1708 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0747-5_72
- Hajdu, E. and R.W.M. Van Soest. 1992. A revision of Atlantic Asteropus Sollas, 1888 (Demospongiae), including a description of three new species, and with a review of the family Coppatildae Topsent, 1898. Bijdr. Dierkd., 62(1): 3 19. https://doi.org/10.1163/26660644-06201001
- Hechtel, G. J. 1965. A systematic study of the Demospongiae of Port Royal, Jamaica. Bull. Peabody. Mus. Nat. Hist., 20: 1-103.
- Hechtel, G. J. 1976. Zoogeography of Brazilian marine Demospongiae. 238 260. In: Harrison, F.W. and R. R Cowden. (Eds), Aspects of sponge biology.
- New York and London. 354 p. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-327950-7.50021-X
- Hentschel, E. 1923. Erste unterabteilung der metazoa: parazoa, Porifera-Schwämme. In: Kükenthal, W. and T. Krumbach (Eds), Handbuch der zoologie. eine naturgeschichte der stämme des tierreiches. 1: protozoa, Porifera, Coelenterata, Mesozoa. Walter de Gruyter und Co: Berlín and Leipzig. 418 p.
- Hofman, C. C and M. Kielman. 1992. The excavating sponges of the Santa Marta area, Colombia, with description of a new species, Bijdr. Dierkd., 61(4): 205 217. https://doi.org/10.1163/26660644-06104002
- Hooper J. N. A. and R.W.M. Van Soest. 2002. Systema Porífera, A guide to the classification of sponges. New York: Kluwer Academic. Plenum Publishers, 2: 1100 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0747-5 1
- Ilan, M. and A. Abelson. 1995. The life of a sponge in a sandy lagoon. Biol. Bull., 189: 363 369 https://doi.org/10.2307/1542154
- Invemar-ANH. 2008. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras. Plan de acción para la creación del Subsistema Nacional de Áreas Marinas Protegidas vde Colombia. Informe técnico final. D. Alonso and L. Ramírez (Eds.). 28 p. + anexos. Santa Marta, Colombia.
- Invemar-ICP. 2013. "Toxicidad de fluidos de exploración de hidrocarburos offshore en organismos nativos del Caribe colombiano–Ecosistemas profundos y sus recursos pesqueros en los bloques de exploración RC11, RC12, Fuerte Norte y Fuerte Sur, Caribe colombiano". Informe Técnico Final, Santa Marta, 153 p. +anexos
- Laubenfels, M.W. de. 1936. A discussion of the sponge fauna of the Dry Tortugas in particular and the west Indies in general, with material for a revision of the families and orders of the Porifera. Publ. Carnegie Inst. Wash., 1 225. https://doi.org/10.15468/39omei
- Laubenfels, M.W. de. 1950. The Porifera of the Bermuda archipelago. Trans. Zool. Soc. London, 27(1): 1 154. https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1950. tb00227.x
- Lehnert, H. and R.W.M. Van Soest. 1996. North Jamaican deep fore-reef sponges. Beaufortia. 46(4): 53 81.
- Lundbeck, W. 1902. Porifera. (Part I.) Homorrhaphidae and Heterorrhaphidae: 1 108. In: Lundbeck, T. (Ed.). The Danish Ingolf-Expedition. Bianco Luno, Copenhagen. 104 p.
- Martínez, A., G. Ojeda, J. Reyes, N. Santodomingo y A. Gracia. 2007. Morfología del fondo del mar en los alrededores del archipiélago de San Bernardo. Mem. XII Congr. Latinoam. Cienc. Mar Colacmar. Florianópolis, Brasil. 414 p.

Marshall, W. 1876. Ideen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Hexactinelliden. Z. wiss. Zool., 27(1): 113 – 136.

- Minchin, E.A. 1900. Chapter III. Sponges: 1 178. In: Lankester, E.R. (Ed.). A treatise on zoology. Part II. The Porifera and Coelenterata. 2. Adam and Charles Black, London.
- Morrow, C. and P. Cárdenas. 2015. Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). Front. Zool., 12: 7 10. https://doi.org/10.1186/ s12983-015-0099-8
- Morrow, C.C., N.E. Redmond, B.E. Picton, R.W. Thacker, A.G. Collins, C.A. Maggs, J.D. Sigwart and A.L. Allcock. 2013. Molecular phylogenies support homoplasy of multiple morphological characters used in the taxonomy of Heteroscleromorpha (Porifera, Demospongiae). ICB. 53(3): 428 –446. https:// doi.org/10.1093/icb/ict065
- Mothes, B., M. Campos, C. Lerner, J.L. Carraro and R.W.M. Van Soest. 2005. A new species of *Biemna* Gray, 1867 (Demospongiae, Poecilosclerida) from the north coast of Brazil. Zootaxa. 1097: 39 – 44. https://doi.org/10.11646/zootaxa.1087.1.3
- Muricy, G., D. A. Lopes, E. Hajdu, M. S. Carvalho, F. C. Moraes, M. Klautau, C. Menegola and U. Pinheiro. 2011. Catalogue of Brazilian Porifera. Museu Nacional, Série Livros. 300 p.
- Parra-Velandia, F.J., S. Zea and R.W.M. Van Soest. 2014: Reef sponges of the genus *Agelas* (Porifera: Demospongiae) from the greater Caribbean. Zootaxa, 3794(3): 301 – 343. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3794.3.1
- Pansini, M. and B. Musso. 1991. Sponges from trawl-exploitable bottoms of Ligurian and Tyrrhenian seas: distribution and ecology. PSZN I: Mar. Ecol., 12(4): 317 329. https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1991.tb00261.x
- Parra-Velandia, F. J. and S. Zea. 2003. Comparación de la abundancia y distribución de algunas características de las esponjas del genero *Ircinia* en dos localidades contrastantes del área de Santa Marta, Caribe colombiano. Bol. Invest. Mar. Cost., 32: 75-91. https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2003.32.0.261
- Pulitzer-Finali, G. 1993. A collection of marine sponges from East Africa. Ann. Mus. Civ. Stor. Nat. Giacomo Doria., 89: 247 350.
- Redmond, N.E., C.C. Morrow, R.W. Thacker, M.C. Díaz, N. Boury-Esnault, P. Cárdenas, E. Hajdu, G. Lôbo-Hajdu, G. Picton, B.E. Pomponi, E. Kayal and A.G. Collins. 2013. Phylogeny and systematics of Demospongiae in light of new small-subunit ribosomal DNA (18S) sequences. ICB, 53 (3): 388 – 415. https://doi.org/10.1093/icb/ict078
- Rützler, K., R.W.M. Van Soest and C. Piantoni. 2009. Sponges (Porifera) of the Gulf of Mexico: 285–313. In: Felder, D.L. and D.K. Camp. (Eds.) Gulf of Mexico–Origins, waters, and biota. Biodiversity. Texas A and M, College Station, Texas. 1449 p.
- Rützler, K. 1997. The role of psammobiotic sponges in the reef community. Proc. 8th Int. Coral Reef. Symp. Panamá, 2: 1393 1398
- Rützler, K. and K. P. Smith. 1992. Guide to Western Atlantic species of Cinachyrella (Porifera: Tetillidae). Proc. Biol. Soc. Wash., 105(1): 148-164.
- Silva J.A. and S. Zea. 2017. New records of sponges of the genera *Petrosia* and *Xestospongia* (Demospongiae: Haplosclerida: Petrosiidae) from the Colombian Caribbean. Bol. Invest. Mar. Cost., 46(1): 113 136.
- Sandes, J., A. Bispo and U. Pinheiro. 2014. Two new species of *Haliclona* Grant, 1836 (Haplosclerida: Chalinidae) from Sergipe State, Brazil. Zootaxa, 3793(2): 273 280. http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3793.2.7
- Santodomingo, N., J. Reyes, A. Gracia, A. Martínez, G. Ojeda and C. García. 2007. Azooxanthellate Madracis coral communities off San Bernardo and Rosario Islands (Colombian Caribbean). Bull. Mar. Sci., 82 (3): 273 – 287.
- Schmidt, O. 1870. Grundzüge einer spongien-fauna des Atlantischen Gebietes. Wilhelm Engelmann, Leipzig. 88 p.
- Schmidt, O. 1880. Die spongien des Meerbusen von Mexico (Und des caraibischen Meeres). Zweites (schluss-) Heft, Jena. 90 p.
- Shepard F., R. Dill and B. Heezen. 1968. Diapiric intrusions in foreset slope sediments off Magdalena delta, Colombia. Am Assoc Pet Geol Bull., 52(11): 2197 2207. https://doi.org/10.1306/5D25C55F-16C1-11D7-8645000102C1865D
- Shepard, F., 1973. Sea floor off Magdalena delta and Santa Marta area, Colombia. Geol. Soc. Am. Bull., 84: 1955 1972. https://doi.org/10.1130/0016-7606(1973)84<1955:SFOMDA>2.0.CO;2
- Soest, R.W.M. Van and N. Stentof. 1988. Barbados deep-water sponges: 1 175. In: Hummelinck, P.W. and L.J. van der Steen (Eds.) Uitgaven van de Natuurwetenschappelijke Studiekring voor Suriname en de Nederlandse Antillen. No. 122. Stud. Fauna Curação Caribbean Islands. 175 p.
- Sollas, W.J. 1885. A classification of the sponges. Ann. Mag. nat. Hist., 16(95): 395. https://doi.org/10.1080/00222938509459901
- Soest, R. W. M. van. 1980. Marine sponges from Curaçao and other Caribbean localities. Part II. Haplosclerida. Stud. Fauna Curaçao Caribb. Isl., 62(191): 1 – 173.
- Soest, R. W. M. van. 1984. Marine sponges from Curaçao and other Caribbean localities. Part III. Poecilosclerida. 71 73. In: Hummelinck, P. W. and L. J. van der Steen. (Eds.). Uitgaven van de Natuurwetenschappelijke Studiekring voor Suriname en de Nederlandse Antillen. No. 112. Studies on the Fauna of Curaçao and other Caribbean Islands. 167 p.

- Soest, R. W. M. van. 1993. Distribution of sponges on the Mauritanian continental shelf. Hydrobiologia, 25: 95-106. https://doi.org/10.1007/BF00006189
- Soest, R. W. M. van. 2017. Sponges of the Guyana shelf. Zootaxa, 4217: 1-225. https://doi.org/10.11646/ZOOTAXA.4217.1.1
- Sollas, W. J. 1886. Preliminary account of the Tetractinellid sponges Dredged by H.M.S. 'Challenger' 1872 76. Part I. Sci Proc R Dublin Soc., 5: 177 199.
- Sollas, W. J. 1888. Report on the Tetractinellida collected by H.M.S. Challenger, during the years 1873–1876. Report on the Scientific Results of the Voyage of H.M.S. Challenger, 1873–1876. Zoology, 25(63): 273–274. https://doi.org/10.5962/bhl.title.6513
- Topsent, E. 1904. Spongiaires des Açores. résultats des campagnes scientifiques accomplies par le Prince Albert I. Monaco. 25: 1 280. https://doi.org/10.5962/ bhl.title.2169
- Topsent, E. 1920. Spongiaires du musée zoologique de strasbourg. Monaxonides. Bull. Inst. Océanogr., Monaco., 381: 1-36.
- Topsent, E. 1923. Spongiaires du musée zoologique de strasbourg. Choristides. Bull. Inst. Oceanogr., 435: 1-16.
- Topsent, E. 1928. Spongiaires de l'Atlantique et de la Méditerranée provenant des croisières du Prince Albert ler de Monaco. Résultats des campagnes scientifiques accomplies par le Prince Albert I, Monaco, 74: 1–376.
- Vacelet, J. 1979. Descriptions et affinités d'une éponge sphinctozoaire actuelle. 492. In: Lévi C, and N. Boury-Esnault. (Eds.). Biologie des Spongiaires. Sponge Biology. Colloques Internationaux du Centre National de la Recherché Scientifique, Paris. 493 p.
- Valderrama D. y S. Zea. 2003. Esquemas de distribución de esponjas arrecifales (Porífera) del noroccidente del golfo de Urabá, Caribe sur, Colombia. Bol. Invest. Mar. Cost., 32: 37 – 56. https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2003.32.0.259
- 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): 379 404 p. https://repositorio.accefyn.org.co/handle/001/779
- Wintermann-Kilian, G. and E.F. Kilian. 1984. Marine sponges of the region of Santa Marta (Colombia) Part II. Homosclerophorida, Choristida, Spirophorida, Hadromerida, Axinellida, Halichondida, Poecilosclerida. Stud. Neotrop. Fauna Environ, 19(3): 121 – 135. https://doi.org/0.1080/01650528409360650
- Xavier, J. R., P. G. Rachello-Dolmen, F. Parra-Velandia, C. H. Schönberg, J. A. Breeuwer and Soest van, R. W. M. 2010. Molecular evidence of cryptic speciation in the "cosmopolitan" excavating sponge *Cliona celata* (Porifera, Clionaidae). Mol. Phylogenet. Evol., 56 (1): 13 – 20. https://doi.org/10.1016/j. ympev.2010.03.030
- Zea, S. 1987. Esponjas del Caribe colombiano. Catálogo Científico, Bogotá. 286 p.
- Zea, S. 1998. Estado actual del conocimiento en sistemática de esponjas marinas (Porifera) del Caribe colombiano. Bol. Ecotróp.: Ecosist. Trop., 33: 43 59.
- Zea, S. 2001. Patterns of sponge (Porifera: Demospongia) distribution in remote oceanic reef complexes of the southwestern Caribbean. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exact. Fis. Nat., 25: 579 592.
- Zea, S. and C.M. Díaz-Sánchez. 2011. Biodiversidad de esponjas: 213 225. In: Entorno ambiental del Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo. Parques Nacionales Naturales de Colombia. 416 p.
- Zea, S. and A. Pulido. 2016. Taxonomy of the Caribbean sponge *Dragamacidon reticulatum* (Ridley and Dendy, 1886) (Porifera, Demospongiae, Axinellida), with the description of a new species. Zootaxa, 4114(4): 393 408. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4114.4.2
- Zea, S. and K. Rützler. 1983. A new species of *Xestospongia* (Porifera, Demospongea) from the Colombian Caribbean. Caldasia, 10:817 831. https://doi. org/10.15446/caldasia
- Zea, S. and E. Weil. 2003. Taxonomy of the Caribbean excavating sponge species complex Cliona caribbaea, C. aprica y C. langae (Porifera, Hadromerida, Clionaidae). Caribb. J. Sci., 39(3):348 370.
- Zea, S., A.M. Rodríguez and A.M. Martínez. 2014. Taxonomy of *Clathria* (Thalysias) (Demospongiae: Poecilosclerida: Microcionidae) from the Colombian Caribbean, with description of three new species. Zootaxa, 3835(4):401 – 436. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3835.4.1
- Zea, S., D. Valderrama and A. M. Martínez. 2013. Axinyssa ambrosia and Axinyssa yumae (Porifera, Halichondrida): two valid sponge species from the Caribbean Sea. Zootaxa, 3682(3): 495 500. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3682.3.10

RECIBIDO / RECEIVED: 26/11/2022

ACEPTADO / ACCEPTED: 18/09/2023

116



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Determinación de una Zona Exclusiva de Pesca Artesanal-ZEPA como estrategia de manejo sostenible de los recursos pesqueros y de adaptación climática para los pescadores artesanales del Pacifico sur colombiano

Determination of an Exclusive Artisanal Fishing Zone-ZEPA as a strategy for the sustainable management of fishery resources and climate adaptation for artisanal fishers of the Colombian South Pacific

> Daniel Alejandro López Perdomo¹* y Ángela Inés Guzmán Alvis¹ (D) 0000-0002-3829-2075 (D) 0000-0002-5185-8950

1. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, carrera 32 No 12-00, Palmira, Colombia. dalopezp@unal.edu.co, aiguzmana@unal.edu.co * Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

a sobrepesca, la pesca industrial y el cambio climático generan impactos que afectan al recurso pesquero marino, la principal fuente de ingreso y alimento de las poblaciones costeras de pescadores artesanales. La creación de condiciones que incrementen la capacidad de adaptación de los pescadores disminuirá su vulnerabilidad a los impactos. Esta investigación propone determinar una Zona Exclusiva de Pesca Artesanal-ZEPA como estrategia de manejo sostenible de los recursos pesqueros y de adaptación climática para los pescadores artesanales del área de estudio. Se utilizó el programa Marxan para identificar tres escenarios para la ubicación de la ZEPA y se realizó una cartografía participativa con pescadores para obtener el cuarto escenario. Se encontró similitud alta entre el escenario 2 y 4, lo que muestra que el enfoque científico (Marxan) y participativo (población) coinciden en la ubicación de ZEPA. La ZEPA definitiva se ubicó en la zona marino costera de los municipios de Tumaco y Francisco Pizarro, con un área total de 2 008 km². Incluyó objetos de conservación importantes para la pesca artesanal como caladeros de pesca artesanal, ecosistemas (manglares, playas y estuarios), áreas de ocurrencia de especies (sierra, pargos, corvina, piangua, camarón tití), entre otros. Se identificó que más de 80 % de los pescadores estuvo de acuerdo en que la estrategia le aportaría a reducir su vulnerabilidad frente a amenazas como fenómenos climáticos, sobrepesca, contaminación, entre otros. Se resalta la contribución a la adaptación al cambio climático de la población del área de estudio.

PALABRAS CLAVE: adaptación basada en ecosistemas, pesca artesanal, ZEPA, Marxan, áreas marinas protegidas.

ABSTRACT

verfishing, industrial fishing and climate change generate impacts that affect the marine fishery resource, the main source of income and food for coastal populations of artisanal fishers. The creation of conditions that increase the adaptive capacity of fishers will decrease their vulnerability to impacts. This research proposes to determine an Exclusive Zone for Artisanal Fishing-ZEPA as a strategy for sustainable management of fishery resources and climate adaptation for artisanal fishers in the study area. Marxan was used to identify three scenarios for the location of the ZEPA and participatory mapping was carried out with fishers to obtain the fourth scenario. High similarity was found between scenarios 2 and 4, which shows that the scientific (Marxan) and participatory (population) approaches coincide in the location of the ZEPA. The final ZEPA was located in the coastal marine zone of the municipalities of Tumaco and Francisco Pizarro, with a total area of 2,008 km². Included important conservation targets for artisanal fisheries such as artisanal fishing grounds, ecosystems (mangroves, beaches and estuaries), areas of occurrence of species (seerfish, snappers, sea bass, piangua, marmoset shrimp) among others. More than 80 % of the fishers agreed that the strategy would help reduce their vulnerability to threats such as climatic phenomena, overfishing, pollution, among others. The contribution to climate change adaptation of the study area's population is highlighted.

KEYWORDS: ecosystem based adaptation, artisanal fisheries, ZEPA, Marxan, marine protected areas.

DOI: https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2024.53.1.1240 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

Históricamente en los países en desarrollo, las comunidades costeras han obtenido alimentos y fuente de ingresos de la pesca artesanal (Ding et al., 2017; Chande et al., 2019). Esta actividad es practicada por las comunidades pesqueras más pobres y vulnerables, y contribuye a la sostenibilidad económica y social de las regiones (Mendelsohn et al., 2006; Ferro et al., 2019). En el Pacífico sur de Colombia se presentan impactos y amenazas para los pescadores artesanales, entre ellas, los efectos negativos del cambio climático como las inundaciones, el aumento de la intensidad y frecuencia de tormentas, cambios en la distribución, composición y abundancia de las especies pesqueras, factores estresantes no climáticos como la disminución y destrucción antrópica de hábitats, la sobrepesca, la contaminación marina, factores socioeconómicos y políticos como las bajas condiciones de vida, el abandono estatal, bajo apoyo financiero y los conflictos sociales (Lancker et al., 2019; Sumaila, 2019; Talloni et al., 2019; Jara et al., 2020; Macusi et al., 2020; Mendenhall et al., 2020). Lo que impacta negativamente la seguridad alimentaria y los ingresos de la población, dado que sus efectos se manifiestan en los aumentos de los costos del combustible, el esfuerzo de captura, el uso de artes de pesca no reglamentarias que no se usaban como el runche y la changa, el desplazamiento a zonas donde antes no se pescaba como bocanas de ríos, la captura de tallas que antes no se consideraban para la venta o el consumo y la disminución de los desembarcos (Lancker et al., 2019; Sumaila, 2019; Talloni et al., 2019; Jara et al., 2020; Macusi et al., 2020; Mendenhall et al., 2020). Además de estos impactos y amenazas que hacen vulnerables a los pescadores, se suma el poco acompañamiento estatal para la implementación de medidas que permitan minimizar los riesgos asociados a la actividad (Díaz et al., 2011; González et al., 2015; Arroyo et al., 2016; Departamento Administrativo Nacional de Estadística, 2018; Herrera et al., 2019). Por otro lado, la reducción de la vulnerabilidad de los hogares de pescadores artesanales depende de estrategias de adaptación como la movilidad ocupacional, algunos elementos del capital social y la disminución a la dependencia del recurso. Elementos que podrían constituir un insumo para la creación de una política pública que oriente esfuerzos a la consecución de estrategias para la sostenibilidad de los hogares de pescadores que continúen eligiendo a la pesca como su actividad económica principal, así como para la generación de otros medios de vida (Selvaraj et al., 2022a).

Varios autores sugieren que se deben implementar estrategias que permitan reducir el alto nivel de pobreza,

INTRODUCTION

Historically, in developing countries, coastal communities have obtained food and income from artisanal fishing (Ding et al., 2017; Chande et al., 2019). This activity is carried out by the poorest and most vulnerable fishing communities and contributes to the economic and social sustainability of the regions (Mendelsohn et al., 2006; Ferro et al., 2019). In the southern Pacific of Colombia, there are impacts and threats for artisanal fishermen, including the negative effects of climate change (*i.e.*, flooding, increased storm intensity and frequency, and changes in the distribution, composition, and abundance of fish species), non-climatic stressors (i.e., the reduction and anthropogenic destruction of habitats, overfishing, and marine pollution), and socioeconomic and political factors such as poor living conditions, state abandonment, low financial support, and social conflicts (Lancker et al., 2019; Sumaila, 2019; Talloni et al., 2019; Jara et al., 2020; Macusi et al., 2020; Mendenhall et al., 2020). This negatively impacts the population's food security and income, as its effects are manifested in increased fuel costs and fishing efforts, the use of unregulated fishing gear such as runches and changas, displacement to areas where fishing was not previously practiced (e.g., river mouths), catching sizes not previously considered for sale or consumption, and a decrease in landings (Lancker et al., 2019; Sumaila, 2019; Talloni et al., 2019; Jara et al., 2020; Macusi et al., 2020; Mendenhall et al., 2020). In addition to these impacts and threats that make fishermen vulnerable, there is also little state support for implementing measures aimed at minimizing the risks associated with this activity (Díaz et al., 2011; González et al., 2015; Arroyo et al., 2016; Departamento Administrativo Nacional de Estadística, 2018; Herrera et al., 2019). On the other hand, reducing the vulnerability of artisanal fishermen's households depends on adaptation strategies such as occupational mobility, some elements of social capital, and reduced dependence on the resource, which could constitute an input for the creation of a public policy that guides efforts towards strategies for the sustainability of the households of fishermen who continue to choose fishing as their main economic activity, as well as for the generation of other means of livelihood (Selvaraj et al., 2022a).

Various authors suggest that strategies should be implemented which allow reducing the high level of poverty, increasing state support, promoting associativity, reducing the population's exposure to climatic threats, ensuring the sustainable use of ecosystems that provide environmental incrementar el apoyo estatal, promover la asociatividad, reducir la exposición de la población a las amenazas climáticas, garantizar el uso sostenible de los ecosistemas que les brindan bienes y servicios ambientales e incrementar el acceso a servicios públicos, de modo que se mejore su capacidad adaptativa y en general su bienestar (Saavedra-Díaz *et al.*, 2015; Arroyo *et al.*, 2016; Jiménez y Saavedra, 2019). Entre las medidas que se espera puedan reducir la vulnerabilidad de los pescadores se encuentran: la creación de reservas marinas, el cambio de las prácticas de pesca, la formación y capacitación de los pescadores sobre las posibles consecuencias climáticas, la creación de asociaciones, redes de apoyo y los apoyos gubernamentales, como subsidios e incentivos a las buenas prácticas pesqueras (López *et al.*, 2008; Rosas *et al.*, 2014).

Las Áreas Marinas Protegidas (AMP) son un ejemplo de administración de los recursos naturales y de mitigación y adaptación al cambio climático, ya que recogen muestras representativas de ecosistemas de importancia ecológica, hacen de los territorios circundantes zonas con mayor capacidad de adaptación y fortalecen a la sociedad para afrontar los impactos generados por sobrepesca (Le Cornu et al., 2018; Baker et al., 2019). Esta estrategia se fundamenta principalmente en que las áreas marinas protegidas mantienen servicios ecosistémicos esenciales que benefician a las personas, directa e indirectamente; entre éstos se encuentra la regulación del clima y el aprovisionamiento del recurso (Herrera-Carmona et al., 2014). Se ha evaluado el manejo de los recursos naturales como estrategia de adaptación, donde se ha encontrado que las Áreas Marinas Protegidas-AMP, incrementan las de poblaciones de especies costeras y aumenta la producción oceánica, lo que ha mejorado la capacidad de adaptación a efectos negativos del cambio climático (Dey et al., 2016a, 2016b; Rosegrant et al., 2016).

La adaptación basada en ecosistemas – AbE reduce la vulnerabilidad de las personas y los ecosistemas a los efectos del cambio climático y demás amenazas, a través de acciones de conservación y uso sostenible, garantizando que los ecosistemas sigan brindando bienes y servicios esenciales a las comunidades a pesar de que se manifiesten impactos proyectados (Álvarez *et al.*, 2018). Como estrategia de AbE se presentan las AMP con enfoque de aprovechamiento sostenible, las cuales son un instrumento que garantiza la protección de hábitat, biodiversidad y servicios ecosistémicos para que el recurso pesquero se mantenga y que la pesquería sea sostenible (le Pape *et al.*, 2014; Timonet y Abecasis, 2020). Algunos estudios indican que, en las costas de manglar, la AbE presenta goods and services, and increasing access to public services, thereby improving their adaptation capacity and overall well-being (Saavedra-Díaz *et al.*, 2015; Arroyo *et al.*, 2016; Jiménez and Saavedra, 2019). Among the measures expected to reduce the vulnerability of fishermen are the creation of marine reserves, changes in fishing practices, the training and education of fishermen regarding possible climatic consequences, the creation of associations and support networks, and government support, such as subsidies and incentives for good fishing practices (López *et al.*, 2008; Rosas *et al.*, 2014).

Marine Protected Areas (MPAs) are an example of natural resource management and mitigation and adaptation to climate change, as they contain representative samples of ecologically important ecosystems, make the surrounding territories more adaptable, and strengthen society to face the impacts generated by overfishing (Le Cornu et al., 2018; Baker et al., 2019). This strategy is mainly based on the fact that these areas maintain essential ecosystem services that benefit people both directly and indirectly, among which are climate regulation and resource provisioning (Herrera-Carmona et al., 2014). The management of natural resources as an adaptation strategy has been evaluated, finding that MPAs increase coastal species population and oceanic production, which enhances the former's ability to adapt to the negative effects of climate change (Dey et al., 2016a, 2016b; Rosegrant et al., 2016).

Ecosystem-based adaptation (EbA) reduces the vulnerability of people and ecosystems to the effects of climate change and other threats through conservation and sustainable use actions, ensuring that ecosystems continue to provide essential goods and services to communities despite projected impacts (Álvarez *et al.*, 2018). As an EbA strategy, MPAs with a focus on sustainable use arise as a tool that guarantees the protection of habitats, biodiversity, and ecosystem services, so that the fishery resource is maintained and its associated activities are sustainable (le Pape *et al.*, 2014; Timonet and Abecasis, 2020). Some studies indicate that, in mangrove coasts, EbA is beneficial in adapting to climate change regardless of the climatic stressors faced by the system and the population that benefits from it (Sierra and Cantera, 2015).

In the northern Colombian Pacific, there is an Exclusive Zone for Artisanal Fishing (EZAF) where capture is regulated (due to overexploitation and industrial fishing), contributing to an increase in artisanal fishing landings and improving the economic conditions of fishermen (Guerrero beneficios en la adaptación al cambio climático sin importar los estresores climáticos a los que se vea enfrentado el sistema y la población que se beneficia de él (Sierra y Cantera, 2015).

En el Pacifico norte colombiano existe una Zona Exclusiva de Pesca Artesanal-ZEPA, donde se regula la captura (por sobreexplotación y pesca industrial), contribuyendo al aumento en los desembarques de la pesca artesanal en tallas y toneladas,; y mejorando las condiciones económicas de los pescadores (Guerrero *et al.*, 2021). Mientras los pescadores hagan un uso y manejo sostenible de los recursos, la ZEPA podríapuede reducir su vulnerabilidad a los impactos indirectos que el cambio climático tiene sobre los recursos pesqueros.

El cambio climático afecta las condiciones de los océanos (temperatura, salinidad, corrientes, acidificación del océano, pH, nutrientes), las cuales influyen en la distribución, la abundancia, y la productividad primaria, con consecuencias para la producción pesquera. Los trópicos y subtrópicos serán los más afectados, especialmente por el incremento en la temperatura, conllevando a que las especies marinas se desplacen hacia áreas en donde las condiciones de hábitat favorezcan su desarrollo (FAO, 2018). En respuesta al calentamiento de la superficie del océano ya se están produciendo cambios en la distribución horizontal y vertical de los peces costeros (Hobday et al, 2015). Selvaraj et al. (2022b) provectaron cambios futuros en la distribución de medianos pelágicos en el Pacífico colombiano en escenarios de cambio climático encontrando que Euthynnus lineatus y Scomberomorus sierra se alejaran de la costa distribuyéndose a mayor profundidad. Estos cambios afectarán negativamente la pesca artesanal, porque sus capturas actualmente se hacen en la zona costera (Selvaraj et al., 2022b).

Para modelar una AMP se pueden utilizar los programas de soporte de toma de decisiones, los cuales permiten proyectar áreas que agrupan componentes representativos de la biodiversidad basados en criterios objetivos (Pasnin *et al.*, 2016). Sin embargo, es necesario que los modelos generados sean validados con la comunidad pesquera (Hinchley *et al.*, 2007; Ardron *et al.*, 2010), para crear un área que contenga, tanto la perspectiva requerida para mantener las condiciones ecosistémicas y de productividad a un costo bajo, como la visión del territorio de las personas involucradas en la actividad económica (le Pape *et al.*, 2014; Ruiz-Frau *et al.*, 2015; le Cornu *et al.*, 2018).

Se considera que las áreas marinas orientadas a la gestión sostenible de los recursos pesqueros son opciones valiosas para adherirse a los principios y directrices del *et al.*, 2021). As long as fishermen make sustainable use and management of the resources, the EZAF can reduce their vulnerability to the indirect impacts of climate change on fishery resources.

Climate change affects the conditions of the oceans (temperature, salinity, currents, pH, nutrients) and influences distribution, abundance, and primary productivity, with consequences for fishery production. The tropics and subtropics are the most affected, especially due to the increase in temperature, leading to marine species moving to areas where habitat conditions favor their development (FAO, 2018). In response to the warming of the ocean surface, changes are already occurring in the horizontal and vertical distribution of coastal fish (Hobday et al., 2015). Selvaraj et al. (2022b) projected future changes in the distribution of medium pelagic fish in the Colombian Pacific under climate change scenarios, finding that *Euthynnus* lineatus and Scomberomorus sierra will move away from the coast and spread to greater depths. These changes will negatively affect artisanal fishing, as catches of these species are currently made in coastal areas (Selvaraj et al., 2022b).

To model an MPA, decision support programs can be used, which allow projecting areas that group representative components of biodiversity based on objective criteria (Pasnin *et al.*, 2016). However, it is necessary for the generated models to be validated with the fishing community (Hinchley *et al.*, 2007; Ardron *et al.*, 2010), in order to create an area that contains both the perspective required to maintain ecosystem and productivity conditions at a low cost and the vision of the territory of the people involved in the economic activity (le Pape *et al.*, 2014; Ruiz-Frau *et al.*, 2015; le Cornu *et al.*, 2018).

It is believed that marine areas oriented towards the sustainable management of fishery resources are valuable options for adhering to the principles and guidelines of the Code of Conduct for Responsible Fishing (FAO, 2001). Consequently, the implementation of EZAF not only enhances the economic activity of artisanal fishing, but also improves the economic conditions of the communities that depend on these fishery resources (Fundación MarViva, 2022). Therefore, the objective of this study was to define an EZAF as a strategy for the sustainable use of fishery resources and for the adaptation to climate change by artisanal fishermen in the southern Colombian Pacific, thus reducing their vulnerability.

Código de Conducta de Pesca Responsable (FAO, 2001). Consiguientemente, la implementación de Zonas Exclusivas de Pesca Artesanal-ZEPA no solo potencia la actividad económica de la pesca artesanal, sino que también mejora las condiciones económicas de las comunidades que dependen de estos recursos pesqueros (Fundación MarViva, 2022). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar una Zona Exclusiva de Pesca Artesanal-ZEPA, como estrategia de uso sostenible de los recursos pesqueros, y de adaptación al cambio climático de los pescadores artesanales del sur del Pacífico colombiano, y así reducir su vulnerabilidad.

ÁREA DE ESTUDIO

La región de estudio corresponde a un área marinocostera en el Pacífico sur colombiano, en el departamento de Nariño, incluye los municipios de San Andrés de Tumaco, Francisco Pizarro, Mosquera, Olaya Herrera, La Tola, El Charco y Santa Barbara (Figura 1). En el área de estudio se encuentran tres áreas que pertenecen al Sistema Nacional de Áreas Protegidas-SINAP de Colombia (Parque Nacional Natural Gorgona, Parque Natural Nacional Sanquianga y Distrito Nacional de Manejo Integrado Cabo Manglares, Bajo Mira y Frontera). Esta zona incluye manglares, estuarios, esteros y playas que aportan servicios ecosistémicos, como aprovisionamiento (alimento, materias primas) y regulación de la erosión costera (Delgado *et al.*, 2008).

La economía de la región se basa principalmente en la extracción y explotación de los recursos naturales a través de la silvicultura, la pesca y la ganadería (Gobernación de Nariño, 2012). La pesca es una de las principales actividades económicas, ya que genera empleos directos y brinda seguridad alimentaria a aproximadamente 13000 familias de pescadores artesanales (Herrera *et al.*, 2019). En los municipios costeros (Tumaco, Francisco Pizarro, Mosquera, Olaya Herrera, La Tola, El Charco, Santa Bárbara) del departamento de Nariño más del 98 % de la población presenta sus necesidades básicas insatisfechas y 70 % de la población de dichos municipios vive en condiciones de pobreza (Departamento Administrativo Nacional de Estadística, 2018; López *et al.*, 2008).

El área para identificar la ZEPA, incluyó 50 km de océano a partir de la línea de costa, correspondiente al área de pesca costera de los pescadores artesanales (Inshore Fishing Area-IFA) (Chuenpagdee *et al.*, 2006). Adicionalmente, se agregaron 5.4 km de área terrestre, a partir de la línea de costa, para incluir ecosistemas terrestres y usos del suelo que pudieran impactar el desempeño de la ZEPA. Esto se debe

STUDY AREA

The region under study corresponds to a marinecoastal area in the southern Pacific of Colombia, in the department of Nariño. It includes the municipalities of San Andrés de Tumaco, Francisco Pizarro, Mosquera, Olaya Herrera, La Tola, El Charco, and Santa Barbara (Figure 1). Within the study area, there are three areas that belong to the Colombian National System of Protected Areas (SINAP): Gorgona Natural National Park, Sanquianga Natural National Park, and the Cabo Manglares, Bajo Mira y Frontera National District of Integrated Management). This zone includes mangroves, estuaries, *esteros*, and beaches that provide ecosystem services, such as provisioning (*i.e.*, food and raw materials) and coastal erosion regulation (Delgado *et al.*, 2008).

The region's economy is primarily based on the extraction and exploitation of natural resources through forestry, fishing, and livestock (Gobernación de Nariño, 2012). Fishing is one of the main economic activities, as it generates direct employment and provides food security to approximately 13000 families of artisanal fishers (Herrera *et al.*, 2019). In the coastal municipalities of the department of Nariño (Tumaco, Francisco Pizarro, Mosquera, Olaya Herrera, La Tola, El Charco, and Santa Bárbara), more than 98 % of the population have their basic needs unmet, and 70 % of the population in these municipalities live in conditions of poverty (Departamento Administrativo Nacional de Estadística, 2018; López *et al.*, 2008).

The area for identifying the EZAF included 50 km of ocean from the coastline, corresponding to the coastal area of activity for artisanal fishers (Inshore Fishing Area, or IFA) (Chuenpagdee et al., 2006). Additionally, 5.4 km of terrestrial area from the coastline were added to the include terrestrial ecosystems and land uses that could impact the performance of the EZAF. This is because the coastal terrestrial subzone, which extends from the Mean High-Tide Line to a parallel line located 2 km inland (Article 2.2.4.2.1.1 of Decree 1076 of 2015), would be insufficient to evaluate critical areas, such as the rural zones where the coverage of original ecosystems is less than 50 % – in some cases, it is even less than 20 % (Garay, 2006; IDEAM et al., 2017). According to the Planning and Integral Management Plan of the UAC-LIAS, this area could exhibit monocultures or illicit crops, which have negative environmental impacts on marine-coastal ecosystems (Garay, 2006). Moreover, there are transitional forests, which are crucial for the health a que la subzona terrestre costera, que va desde la Línea de Marea Alta Promedio hasta una línea paralela localizada a 2 km tierra adentro (artículo 2.2.4.2.1.1 del Decreto 1076 del 2015), resultaría insuficiente para evaluar áreas críticas, como las zonas rurales donde la cobertura de ecosistemas originales es inferior al 50 % y, en algunos casos, incluso menor al 20 % (Garay, 2006; IDEAM *et al.*, 2017). Según el Plan de Ordenamiento y Manejo Integral de la UAC-LIAS, en esta área podrían presentarse monocultivos o cultivos ilícitos, los cuales tienen impactos ambientales negativos en los ecosistemas marino-costeros (Garay, 2006). Además, se encuentran los bosques de transición que son cruciales para la salud del ecosistema de manglares, como los bosques de Natal, Sajal y Naidizal, debido a su capacidad para retener sedimentos y contaminantes (López *et al.*, 2008). of the mangrove ecosystem, such as the Natal, Sajal, and Naidizal forests, given their ability to retain sediments and pollutants (López *et al.*, 2008).



Figura 1. Área de estudio y ubicación de las áreas protegidas de orden nacional (PNN–Parque Nacional Natural, DNMI–Distrito Nacional de Manejo Integrado).

Figure 1. Study area and location of the national protected areas (PNN: Parque Nacional Natural; DNMI: National Integral Management District).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se modeló un área marina protegida utilizando el programa Marxan (Ball *et al.*, 2009), que es una herramienta de toma de decisiones usada y aceptada ampliamente por la comunidad internacional debido a su potencial de analizar conjuntos de datos complejos, por su flexibilidad para desarrollar escenarios y alternativas (Ball *et al.*, 2009). Además, es un software de uso libre, que puede ser utilizado por tomadores de decisiones de países de rentas bajas (Janßen *et al.*, 2019). A pesar que el programa es para la modelación de áreas protegidas con un enfoque de conservación, también puede usarse para la modelación de áreas con enfoque de uso sostenible (Henriques *et al.*, 2017; Baker *et al.*, 2019; Janßen *et al.*, 2019). La totalidad de los conjuntos de datos utilizados en la modelación y sus fuentes se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Datos utilizados para la modelación en Marxan.

MATERIALS AND METHODS

A marine protected area was modeled using the Marxan software (Ball *et al.*, 2009), a decision-making tool widely used and accepted by the international community due to its potential to analyze complex datasets and its flexibility in developing scenarios and alternatives (Ball *et al.*, 2009). Additionally, it is a free software application that can be used by decision-makers in low-income countries (Janßen *et al.*, 2019). Although the program is intended for modeling protected areas with a conservation focus, it can also be used for modeling areas with a sustainable use focus (Henriques *et al.*, 2017; Baker *et al.*, 2019; Janßen *et al.*, 2019). All the datasets used in the modeling and their sources are presented in Table 1.

 Table 1. Data used for modeling in Marxan.

Conjunto de datos / Datasets	Fuente / Source		
Ecosistemas (Manglares; estuarios; acantilados, bajos, playas), playas de anidación tortugas, facies sedimentarias. / Ecosystems (mangroves; estuaries; cliffs, shallows, beaches), turtle nesting beaches, sedimentary facies.	(CIOH, 1999; Ramírez <i>et al.</i> , 2008; Yesson <i>et al.</i> , 2011; IDEAM <i>et al.</i> , 2017; Bunting <i>et al.</i> , 2018)		
Caladeros industriales, artesanales y rutas de pesca / Industrial and artisanal fishing grounds and fishing routes	(Rueda et al., 2010)		
Ocurrencia de especies / Species occurrence	Sistema de Información Ambiental Marino-SIAM / Marine Environmental Information System-SIAM (https://siam.invemar.org.co/) Sistema de Información Biogeográfica de los Océanos-OBIS / Ocean Biogeography Information System-OBIS (https://mapper.obis.org/).		
Centros poblados y puertos / Population centers and ports	Departamento Administrativo Nacional de Estadística -DANE, 2000 / National Administrative Department of Statistics-DANE, 2000 (https://www.dane.gov.co/); Visor de mapas, ANI / Map visualizer, ANI (https://sig.ani.gov.co/mapas/) /		
Áreas protegidas / Protected areas	Registro Único Nacional de Área Protegidas-RUNAP National Unified Registry of Protected Areas-RUNAP (https://runap.parquesnacionales.gov.co/)		

El área de estudio se cuadriculó en Unidades de Planificación–UP de 2 x 2 km² utilizando la herramienta "create Fishnet" de ArcGIS 10.6 (Ardron *et al.*, 2010; Giménez *et al.*, 2021), y se obtuvo un total de 3821 UP.

Objetos de conservación-OC

Los ecosistemas marinos considerados fueron: acantilados, bajos, estuarios, manglares, playas, otros objetos de conservación fueron las playas de anidación de tortugas y las facies sedimentarias. Los ecosistemas continentales que no presentaron alteraciones antrópicas se calificaron como objetos de conservación y los que sí, se consideraron como amenazas en la capa de costos. The study area was divided into a grid of 2 x 2 km2 Planning Units (PU) using the *create Fishnet* tool in ArcGIS 10.6 (Ardron *et al.*, 2010; Giménez *et al.*, 2021), obtaining a total of 3821 PU.

Conservation objects (COs)

The marine ecosystems considered were cliffs, shallows, estuaries, mangroves, and beaches. Other objects of conservation were turtle nesting beaches and sedimentary facies. The continental ecosystems that did not show anthropic alterations were classified as objects of conservation, and those that did were regarded as threats in the cost layer.

La información de los caladeros de pesca artesanal se obtuvo en cuadrículas de 1 852 \times 1 852 km (1 \times 1 millas náuticas), representando el número de faenas por unidad de área, por cada arte de pesca (línea de mano y palangre); se dividió en dos clases, utilizando la clasificación por cortes naturales o clasificación de jenks de ArcGIS; para agrupar los valores similares y maximizar las diferencias entre clases (Liu et al., 2019). Las capas obtenidas se denominaron de alta v de baja frecuencia. Los caladeros industriales y sus rutas de navegación se utilizaron en la capa de costo como amenaza, debido a la sobreexplotación de algunas especies comerciales en el pacífico (Saavedra-Díaz et al., 2015; Arroyo et al., 2016; Jiménez y Saavedra, 2019). También se incluyó en la capa de costo los caladeros de pesca artesanal con changa, ya que este arte de pesca no está reglamentado y presenta alto impacto en las especies objeto de pesca.

Se seleccionaron 25 especies de peces óseos, 5 de moluscos, 7 de crustáceos, 25 de rayas y tiburones, 2 de tortugas, 3 de delfines, una de ballena (ballena jorobada), y una de cachalote; dado que esas especies marinas son objeto de pesca artesanal (peces, moluscos y crustáceos) o permiten actividades alternativas como el ecoturismo (ballenas, rayas, tiburones, tortugas, y delfines). Algunas especies se agruparon por grupos funcionales (pelágicos, bentopelágicos, demersales, asociados a arrecifes, camarones y jaibas y langostas), otras por grupos de interés ecosistémico y turístico (tiburones, moluscos, rayas, ballenas, delfines, cachalotes y tortugas) (Zeller y Pauly, 2015). Estos objetos de conservación se clasificaron en alta y baja frecuencia. En la figura 2 se puede observar la distribución de los diferentes datos utilizados en el desarrollo de la modelación.

Capa de costo

La capa de costo se compuso de aquellos componentes geográficos que alteran el costo-beneficio del área de estudio y pueden causar alteración sobre los servicios ecosistémicos o los ingresos de la actividad pesquera (Alonso *et al.*, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2008; Ardron *et al.*, 2010; Baker *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020). Se ubicaron espacialmente las siguientes amenazas: centros poblados, puertos, rutas y caladeros de pesca industrial de atún, camarón de aguas profundas, camarón de aguas someras, pequeños pelágicos y pesca blanca, caladeros artesanales de changa, ecosistemas terrestres, áreas rurales intervenidas no diferenciadas (< 20 % de ecosistemas originales remanentes), áreas originales remanentes) y Agroecosistemas. Se

Information on artisanal fishing grounds was obtained in 1,852 x 1,852 km² (nm²) grids, representing the number of fishing activities per unit area for each type of fishing gear (handline and longline). It was divided into two classes, using the natural breaks or Jenks classification of ArcGIS in order to group similar values and maximize the differences between classes (Liu *et al.*, 2019). The layers obtained were classified as having high and low frequency. Industrial fishing grounds and their navigation routes were used as threats in the cost layer given the overexploitation of some commercial species in the Pacific (Saavedra-Díaz *et al.*, 2015; Arroyo *et al.*, 2016; Jiménez and Saavedra, 2019). Artisanal fishing grounds using *changa* were also included in the cost layer, as this type of fishing gear is not regulated and has a high impact on the target fishing species.

25 species of bony fish, 5 of mollusks, 7 of crustaceans, 25 of rays and sharks, 2 of turtles, 1 of whale (humpback whale), 3 of dolphins, and 1 of sperm whale were selected; these marine species are targets of artisanal fishing (fish, mollusks, and crustaceans) or allow for alternative activities such as ecotourism (whales, rays, sharks, turtles, and dolphins). Some species were grouped by functional groups (pelagic, benthopelagic, demersal, reef-associated, shrimps and crabs, and lobsters), and others by groups of ecosystem and touristic interest (sharks, mollusks, rays, whales, dolphins, sperm whales, and turtles) (Zeller and Pauly, 2015). These objects of conservation were classified as having high and low frequency. Figure 2 shows the distribution of the different data used in the modeling.

Cost layer

The cost layer was composed of the geographic components that alter the cost-benefit relationship of the study area and can cause alterations to ecosystem services or the income from fishing activity (Alonso et al., 2008; Gutiérrez et al., 2008; Ardron et al., 2010; Baker et al., 2019; Li et al., 2020). The following threats were spatially located: population centers; ports; industrial fishing grounds and routes for tuna, deep-water shrimp, shallow-water shrimp, small pelagics, and whitefish; artisanal fishing grounds using *changas*; terrestrial ecosystems; non-differentiated, intervened rural areas (< 20 % of remaining original ecosystems), non-differentiated, intervened rural areas (20 to 50 % of the remaining original ecosystems); and agroecosystems. The threat layers were overlaid on the planning units layer (PU) and assigned a value of 1 or 0 if the threat was or was not present in the PU. The cost of

Marine and Coastal Research Institute



Figura 2. Distribución de Objetos de Conservación y amenazas en el área de estudio. A: Ecosistemas; B: Tipos de fondo; C: distribución de ocurrencias; D: Caladeros y rutas de pesca; E: Ecosistemas continentales; F: Distribución de usos de artes de pesca artesanal.

Figure 2. Conservation objects distribution and threats in the study area. A: ecosystems; B: bottom types; C: occurrence distribution; D: fishing grounds and routes; E: continental ecosystems; F: distribution of fishing gear use.

superpusieron las capas de las amenazas a la capa de Unidades de Planificación–UP y se dio un valor de 1 o 0 si la amenaza estaba o no presente en la unidad de planificación. El costo de cada UP fue el producto de la cantidad de amenazas que se presentaron en una misma unidad y el área de la UP (Alonso *et al.*, 2008; Dalmau, 2020), utilizando la siguiente ecuación:

$$Costo = \text{ Area de la UP } * \sum_{i=1}^{n} \square \text{ Amenaza}_i$$

Escenarios

Se modelaron tres escenarios para el caso de estudio con el fin de evaluar el efecto de la inclusión o no de las AMP del territorio frente en el cumplimiento de las metas each PU was the product between the number of threats present in the same unit and the area of the PU (Alonso *et al.*, 2008; Dalmau, 2020), which was obtained using the following equation:

$$Cost = PU area * \sum_{i=1}^{n} \square Threat_i$$

Scenarios

Three scenarios were modeled for the case study in order to evaluate the effect of including the MPAs of the territory on achieving the inclusion goals regarding the conservation objects (CO) and the location of the EZAF (Ardron *et al.*, 2010). It is clarified that the Gorgona National de inclusión de los Objetos de conservación–OC y de la ubicación de la ZEPA (Ardron *et al.*, 2010). Se aclara que el Parque Nacional Natural-PNN Gorgona es un área protegida donde se prohíbe la pesca. Sin embargo, se consideró en este estudio para evaluar su aporte a los OC importantes para la pesca artesanal. Los escenarios se presentan a continuación:

- Escenario 1: UPs que se superponen a las AMP incluidas.
- Escenario 2: UPs que se superponen a las AMP excluidas.
- Escenario 3: Todas las UPs del área de estudio pueden ser seleccionadas.

Para cada escenario se obtuvieron dos enfoques de solución: la frecuencia de selección y mejor solución. El primer enfoque utilizó la frecuencia con que cada UP fue seleccionada durante las 100 réplicas; se le aplicó la clasificación utilizada por (Ruiz-Frau *et al.*, 2015) para obtener 5 clases (a = 0, b = < 25, c = 25-50, d = 50-75, e = 75-100). El segundo enfoque, asumió una agrupación de UPs "óptima" que cumplió con la mayor cantidad de metas de inclusión, mientras presentó el menor costo entre las 100 réplicas, sin significar que fue la solución definitiva, pues pudo presentar diferencias mínimas en el costo con respecto a otras réplicas, pero variar en la ubicación de las UP dentro del área de estudio (Zhang y Vincent, 2019).

El coeficiente Cohen's Kappa fue utilizado para comparar el grado de similitud de dos soluciones de Marxan (Ardron *et al.*, 2010). Se utilizó para evaluar la similitud entre los mapas de la frecuencia de selección de los tres escenarios.

Parámetros de Marxan y su calibración

Para la identificación de las áreas óptimas para el establecimiento de la ZEPA, se calibraron los parámetros de ingreso a Marxan (BLM y FPF) para generar las mejores soluciones con el menor costo posible (Serra-Sogas *et al.*, 2020). La calibración se realizó a través del software Zonae Cogito (Segan *et al.*, 2011). Para los tres escenarios se usó un número de repeticiones de 100 y de iteraciones de 10^7 , parámetros frecuentemente usados en la literatura y que permiten soluciones consistentes (Green *et al.*, 2007; Hinchley *et al.*, 2007; Abecasis *et al.*, 2015).

Validación de la modelación

En octubre de 2021 se realizó un taller de cartografía con 30 pescadores en el municipio de San Andrés de Tumaco, para que dibujaran en un mapa del área de estudio, las áreas Natural Park is a protected area where fishing is prohibited. However, it was considered in this study with the aim of evaluating its contribution to the Cos that are important for artisanal fishing. The scenarios are presented below:

- Scenario 1: PUs that overlap with the included MPAs.
- Scenario 2: PUs that overlap with the excluded MPAs.
- Scenario 3: All the PUs in the study area that can be selected.

For each scenario, two solution approaches were obtained: selection frequency and best solution. The first approach used the frequency with which each PU was selected during the 100 replicas. The classification used by Ruiz-Frau *et al.* (2015) was applied to obtain five classes (a = 0, b = < 25, c = 25-50, d = 50-75, e = 75-100). The second approach assumed an 'optimal' grouping of PUs which met the most inclusion goals while having the lowest cost among the 100 replicas, which is not to say that it was the definitive solution, as it could exhibit minimal differences in cost compared to other replicas, but vary in the location of the PUs within the study area (Zhang and Vincent, 2019).

Cohen's Kappa coefficient was used to compare the degree of similarity for two Marxan solutions (Ardron *et al.*, 2010). It was used to evaluate the similarity between the selection frequency maps of the three scenarios.

Marxan parameters and calibration

To identify the optimal areas for establishing the EZAF, the input parameters of Marxan (BLM and FPF) were calibrated to generate the best solutions at the lowest possible cost (Serra-Sogas *et al.*, 2020). Calibration was carried out using the Zonae Cogito software (Segan *et al.*, 2011). For the three scenarios, 100 replicas and 10^7 iterations were executed. These parameters are frequently used in the literature and allow for consistent solutions (Green *et al.*, 2007; Hinchley *et al.*, 2007; Abecasis *et al.*, 2015).

Modeling validation

In October 2021, a mapping workshop was conducted with 30 fishermen in the municipality of San Andrés de Tumaco, in order for them to draw on a map of the studied region and the areas suitable for the implementation of the EZAF according to their knowledge of the territory. The obtained maps were digitized and georeferenced in the ArcGIS 10.6 software, thus obtaining scenario 4. adecuadas para la implementación de la ZEPA de acuerdo con su conocimiento sobre el territorio. Los mapas obtenidos, se digitalizaron y georreferenciaron en el software ArcGIS 10.6, obteniéndose el escenario 4.

En el taller se brindó una inducción a los participantes acerca del cambio climático y su impacto en la actividad pesquera. Durante esta capacitación, se proyectó un video que presentaba el caso de estudio de la ZEPA de Bahía Solano. Asimismo, se explicó la metodología que se seguiría en el taller y se mostraron los resultados obtenidos mediante el uso de Marxan. Se presentó el mapa sobre el cual se llevaría a cabo la actividad de cartografía participativa. Además, se proporcionó a cada uno un mapa impreso en escala 1:750 000 en formato A3 (29.7 x 42 cm). El objetivo de este mapa era que los pescadores pudieran dibujar las áreas que consideraban más adecuadas para establecer una zona de pesca artesanal. Cabe mencionar que dicho mapa incluía puntos geográficos relevantes de la costa, así como los bancos de pesca y la batimetría.

Se realizaron encuestas a todos los participantes, las cuales constaban de 18 preguntas para conocer características de la población y su actividad (edad, género, asociatividad, artes de pesca usados y tipo de embarcación), consultar cuales amenazas consideran que afecta la pesca artesanal, medir la aceptación de los escenarios propuestos, la aceptación e implementación de una ZEPA en el territorio y evaluar su percepción sobre si la ZEPA contribuiría a reducir la presión de las amenazas consultadas (contaminación, fenómenos climáticos, sobrepesca, entre otros). Las mejores soluciones de cada escenario y las áreas dibujadas por los pescadores (escenario 4) se sobrepusieron, para establecer las áreas en común de cada escenario modelado con el Marxan, con la propuesta de los pescadores. Las áreas comunes se utilizaron como la propuesta de ZEPA o escenario 5. Además, se garantizó que dicha área diera cumplimiento de las metas de inclusión para algunos OC.

RESULTADOS

Costo

El máximo valor asociado a la sumatoria de amenazas por UP fue 4. El valor del área de cada UP fue de 400 ha. El producto de la sumatoria de amenazas por el área de cada UP dio las siguientes cuatro clases: 1 600, 1 200, 800 y 400 (Figura 3). In the workshop, an induction about climate change and its impact on fishing activities was provided to the participants. During this training, a video was projected, which presented a case study of the Bahía Solano EZAF. Likewise, the methodology to be followed in the workshop was explained, and the results obtained using Marxan were shown. The map on which the participatory cartography activity would take place was presented. Additionally, each participant was given a 1:750,000 scale printed map in A3 format (29.7 x 42 cm). The aim of this map was for the fishermen to draw the areas they considered to be the most suitable for establishing an artisanal fishing zone. It should be mentioned that this map included relevant geographical points of the coast, as well as fishing banks and bathymetry.

Surveys were conducted with all participants, which consisted of 18 questions seeking to learn about the characteristics of the population and their activities (age, gender, associativity, fishing gear used, and type of vessel), to consult which threats they perceive as affecting artisanal fishing, to gauge the acceptance of the proposed scenarios, as well as the acceptance and implementation of an EZAF in the territory, and to evaluate their perception of whether the EZAF would contribute to reducing the pressure of the aforementioned threats (pollution, climatic phenomena, and overfishing, among others).

The best solutions for each Marxan-modeled scenario and the areas drawn by the fishermen (scenario 4) were overlaid to establish common areas. These common areas were used as the proposed EZAF (scenario 5). Additionally, it was ensured that this area met the inclusion goals for some CO.

RESULTS

Cost

The maximum value associated with the sum of threats per PU was 4. The area value for each PU was 400 ha. The product between the sum of threats and the area of each PU yielded the following four classes: 1600, 1200, 800, and 400 (Figure 3).



Figura 3. Costo asociado a cada unidad de planificación en el área de estudio para la modelación de la Zona de Exclusiva de Pesca Artesanal en el Pacífico nariñense.

Figure 3. Cost associated with each planning unit in the study area to model the Exclusive Zone for Artisanal Fishing in the Nariño Pacific.

Análisis espacial

La mejor solución para el escenario 1, seleccionó 1 024 UP, que equivalen a un área de 4 096 km² (el 26.8 % del área de estudio), de la cual 82.1 % correspondió a Áreas Protegidas (Figura 4A). Agrupó las UP con las mayores frecuencias al interior de las Áreas Protegidas, algunas en la ensenada de Tumaco y al norte de la zona de estudio (Figura 4D). Cumplió la meta de inclusión de todos los OC.

El número total de UP seleccionadas en la mejor solución del escenario 2 fue de 393 (1 572 km²) que correspondió a 10.3 % del área de estudio (Figura 4B). Incluyó varias agrupaciones de UP de alta frecuencia a lo largo de la costa, como las ubicadas en el centro del área de estudio, donde se efectúa pesca artesanal y de subsistencia

Spatial analysis

The best solution for scenario 1 was 1,024 PUs, equivalent to an area of 4,096 km² (26.8 % of the study area), out of which 82.1 % corresponded to protected areas (Figure 4A). This solution grouped the PUs with the highest frequencies within the protected areas, some in Tumaco Bay and north of the study area (Figure 4D), while also meeting the inclusion goal for all COs.

The total number of PUs in the best solution for scenario 2 was 393 (1,572 km²), corresponding to 10.3 % of the study area (Figure 4B). This solution included several groups of high-frequency PUs along the coast, such as those located at the center of the study area, where artisanal and subsistence fishing is carried out (Figure 4E). In this

(Figura 4E). En este escenario se logró la inclusión de 45 OC. En la mejor solución, se cumplieron las metas de inclusión para caladeros de pesca artesanal y áreas de ocurrencia de los grupos funcionales de interés de la pesca artesanal.

En el escenario 3 la mejor solución seleccionó 428 UP, equivalentes a un área de 1 712 km² (Figura 4C). Cumplió las metas de inclusión de 49 OC. La mejor solución mostró una zona al noroccidente del PNN Sanquianga, la cual contiene mayor agrupación de grupos funcionales y actividad pesquera artesanal. Sin embargo, la frecuencia de selección de las UP fue menor, comparada con los dos escenarios anteriores (Figura 4F). Este escenario fue 54 % de las AMP actuales. scenario, the inclusion of 45 COs was achieved. The best solution met the inclusion goals for artisanal fishing grounds and areas of occurrence for functional groups of interest.

In scenario 3, the best solution corresponded to 428 PUs, equivalent to an area of 1,712 km² (Figure 4C), meeting the inclusion goals for 49 COs. The best solution showed an area to the northwest of the Sanquianga NNP, which contains a greater grouping of functional groups and artisanal fishing activity. However, the PU selection frequency was lower in comparison with the previous two scenarios (Figure 4F). This scenario considers 54 % of the current MPAs.



Figura 4. Escenarios que representan la mejor solución considerando UP seleccionadas (A-C) y frecuencias (D-E). En A-C las UP verdes son las "óptimas" para la ZEPA. En D-F las áreas de color azul oscuro son las más útiles para generar soluciones eficientes. Escenario 1: A y D; Escenario 2: B y E; Escenario 3: C y F.

Figure 4. Scenarios that represent the best solutions considering the selected PUs (A-C) and frequencies (D-E). In A-C, green indicates 'optimal' PUs for the EZAF. In D-F, dark blue areas represent those that are the most useful for generating efficient solutions. Scenario 1: A and D; Scenario 2: B and E; Scenario 3: C and F.

Los resultados del taller de cartografía participativa de los pescadores indicaron que el área seleccionada para la ZEPA está próxima a la costa, ubicada entre Cabo Manglares y Boca del Rio San Juan (Figura 5). Seleccionaron un total de 867 UPs (3 468 km²).

Al superponer los escenarios modelados en Marxan con el propuesto por los pescadores, se obtuvo el escenario 5 (Figura 6). Comprendió un total de 502 UPs (2 008 km²) ubicadas en la costa de Tumaco y Francisco Pizarro. Este escenario comprendió 32 de los 52 Objetos de Conservación (Tabla 2). Entre los Objetos de Conservación (OC) que cumplieron la meta de inclusión, se destacaron ecosistemas que soportan la actividad pesquera (manglares, estuarios), caladeros de línea de mano, que es un arte de pesca frecuentemente usados por los pescadores. Además, se logró la inclusión de áreas donde se distribuyen especies pelágicas, demersales, moluscos, camarones y jaibas (Tabla 2). As for the result of the participatory cartography workshop, the fishermen indicated that the area selected for the EZAF is near the coast, located between Cabo Manglares and the San Juan River Mouth (Figure 5). They selected a total of 867 PUs (3,468 km²).

Upon overlaying the scenarios modeled in Marxan with that proposed by the fishermen, scenario 5 was obtained (Figure 6), comprising a total of 502 PUs (2,008 km²) located on the coast of Tumaco and Francisco Pizarro. This scenario included 32 of the 52 COs (Table 2). Among the COs that met the inclusion goal, ecosystems supporting fishing activity (mangroves, estuaries) and handline fishing grounds (a frequently used fishing gear) were highlighted, while also achieving the inclusion of areas where pelagic and demersal species, mollusks, shrimps, and *jaibas* are distributed (Table 2).



Figura 5. Área propuesta por los pescadores artesanales. Unidades de Planificación mayores al 50 % de las veces seleccionadas (izq.)–Frecuencias de selección de UP (der).

Figure 5. Area proposed by the artisanal fishermen. Planning units selected more than 50 % of the time (left) – PU selection frequencies (left).





Figura 6. Zona Potencial Exclusiva de Pesca Artesanal creada de manera participativa con pescadores artesanales del área.

Figure 6. Potential Exclusive Zone for Artisanal Fishing created in a participatory manner with artisanal fishermen in the area.

Tabla 2. Objetos de Conservación–OC, área incluida de cada uno y evaluación del cumplimiento de la meta de inclusión en la ZEPA creada de manera participativa con pescadores artesanales. BAD–Bosque Alto Denso, BBA–Bosque Bajo Abierto, BMD–Bosque Medio Denso, DNMI-Distrito Nacional de Manejo Integrado,

Table 3. Conservation Objects (COs), including the area of each one and an evaluation of the fulfillment of inclusion goals in the EZAF created in a participatory manner with artisanal fishermen. TDF: Tall Dense Forest; MDF: Medium Dense Forest; LOF Low Open Forest; NIMD: National Integrated Management District.

Objeto de conservación-OC / Conservation object-CO	Cantidad del OC incluida / Amount of COs included (km²)	% incluido / % included	¿Cumple la meta? / Does it fulfill the goal?
Manglares / Mangroves	273.64	26	Sí / Yes
Estuarios / Estuaries	206.70	42	Sí / Yes
Acantilados / Cliffs	6.36	94	Sí / Yes
Playas / Beaches	22.23	52	Sí / Yes
Playas de anidación de tortugas / Turtle nesting beaches	16.86	53	Sí / Yes
BAD de manglar hiperhúmedo Pacifico / Hyperhumid mangrove TDF, Pacific	353.91	28	Sí / Yes
BAD de Las Terrazas y la planicie sedimentaria ligeramente ondulada / TDF in Las Terrazas and slightly undulating sediment plain	0	0	No / No

Objeto de conservación-OC / Conservation object-CO	Cantidad del OC incluida / Amount of COs included (km²)	% incluido / % included	¿Cumple la meta? / Does it fulfill the goal?	
BMD y BBA inundables de Natal Sajal y Naidizal / Floodable MDF and LOF in Natal Sajal and Naidizal	0	0	No / No	
BAD Planicie sedimentaria fuertemente ondulada / TDF, strongly undulating sediment plain	0	0	No / No	
Bajos / Shallows	0	0	No / No	
Arena lodosa litobioclástica / Muddy lithoclastic sand	0	0	No / No	
Arena biolitoclástica / Biolithoclastic sand	0	0	No / No	
Lodo arenoso litobioclástico / Sandy lithobioclastic mud	0	0	No / No	
Arena lodosa litoclástica / Muddy lithoclastic sand	202.97	29	Sí / Yes	
Bajos de arenas litoclásticas / Lithoclastic sand shallows	71.04	38	Sí / Yes	
Lodo litoclástico / Lithoclastic mud	168.78	23	Sí / Yes	
Bajos de lodos arenosos litoclásticos / Sandy lithoclastic mud shallows	39.99	45	Sí / Yes	
Arena litobioclástica / Lithobioclastic sand	0	0	No / No	
Bajos de lodo litoclástico / Lithoclastic mud shallows	0.42	32	Sí / Yes	
Arena litoclástica / Lithoclastic sand	386.16	32	Sí / Yes	
Bajos de arenas lodosas litoclásticas / Muddy lithoclastic sand shallows	5.85	100	Sí / Yes	
Lodo arenoso litoclástico / Sandy lithoclastic mud	487.9	27	Sí / Yes	
Línea de mano baja frecuencia / Handline, low frequency	55.92	62	Sí / Yes	
Línea de mano alta frecuencia / Handline, high frequency	7.76	100	Sí / Yes	
Palangre baja frecuencia / Longline, low frequency	118.54	15	No / No	
Palangre alta frecuencia / Longline, high frequency	7.75	5	No / No	
Área de Importancia para la Conservación de Aves-AICA/ Important Bird Areas, IBA	1.87	100	Sí / Yes	
Parque Nacional Natural Sanquianga / Sanquianga National Natural Park	0.00	0	Sí / Yes	
Parque Nacional Natural Gorgona / Gorgona National Natural Park	0.00	0	Sí / Yes	
DNMI Cabo Manglares Bajo Mira y Frontera / Cabo Manglares, Bajo Mira y Frontera NIMD	163.37	9	Sí / Yes	
Ballena jorobada baja frecuencia / Humpback whale, low frequency	140	13	No / No	
Ballena jorobada alta frecuencia / Humpback whale, high frequency	28	14	No / No	

_

Marine and Coastal Research Institute

Objeto de conservación-OC / Conservation object-CO	Cantidad del OC incluida / Amount of COs included (km²)	% incluido / % included	¿Cumple la meta? / Does it fulfill the goal?
Pelágicos baja frecuencia / Pelagics, low frequency	500	38	Sí / Yes
Pelágicos alta frecuencia / Pelagics, high frequency	92	44	Sí / Yes
Bentopelágicos baja frecuencia / Benthopelagics, low frequency	208	18	No / No
Bentopelágicos alta frecuencia / Benthopelagics, high frequency	16	15	No / No
Demersales baja frecuencia / Demersals, low frequency	344	23	Sí / Yes
Demersales alta frecuencia / Demersals, high frequency	4	2	No / No
Asociados a arrecifes baja frecuencia / Reef-associated, low frequency	0	0	No / No
Asociados a arrecifes alta frecuencia / Reef-associated, high frequency	0	0	No / No
Moluscos baja frecuencia / Mollusks, low frequency	120	38	Sí / Yes
Moluscos alta frecuencia / Mollusks, high frequency	28	64	Sí / Yes
Odontocetos baja Frecuencia / Odontocetes, low frequency	0	0	No / No
Odontocetos alta frecuencia / Odontocetes, high frequency	0	0	No / No
Jaibas y langostas baja frecuencia / Jaibas and lobsters, high frequency	56	70	Sí / Yes
Jaibas y langostas alta frecuencia / Crab and lobster High Frequency	20	45	Sí / Yes
Camarones baja frecuencia / Shrimps, low frequency	412	43	Sí / Yes
Camarones alta frecuencia / Shrimps, high frequency	136	85	Sí / Yes
Tortugas baja frecuencia / Turtles, low frequency	36	50	Sí / Yes
Tortugas alta frecuencia / Turtles, high frequency	4	100	Sí / Yes
Rayas y tiburones baja frecuencia / Rays and sharks, low frequency	12	23	Sí / Yes
Rayas y tiburones alta frecuencia / Rays and sharks, high frequency	0	0	No / No

Los resultados de la encuesta realizada a los pescadores identificaron que 90 % de ellos estaría dispuesto a participar en la implementación de una ZEPA en su territorio. El 80 % de la población encuestada estuvo de acuerdo o muy de acuerdo en que la experiencia obtenida por los pescadores del Pacífico norte en la creación de una Zona de Pesca Artesanal serviría para su región. Además, la mayoría de los pescadores estuvo de acuerdo o muy de acuerdo con que la ZEPA les ayudaría a garantizar la abundancia de peces para el desarrollo de la pesca artesanal (80 %), contribuiría al aumento de las capturas (83 %), reduciría los costos de operación

The results of the survey showed that 90 % of the fishermen would be willing to participate in the implementation of an Exclusive Zone for Artisanal Fishing (EZAF) in their territory. 80 % of the surveyed population agreed or strongly agreed that the experience gained by fishermen in the northern Pacific in creating an artisanal fishing zone would be useful for their region. Moreover, the majority of fishermen agreed or strongly agreed that the EZAF would help them ensure the abundance of fish for the development of artisanal fishing (80 %), that it would contribute to an increase in catches (83 %), that it would

(80 %), reduciría la presión de la pesca industrial sobre las especies (76 %), reduciría el riesgo de sobreexplotación de las especies (74 %), y reduciría su vulnerabilidad al cambio climático (77 %). Finalmente, los pescadores consideraron que la principal amenaza que afecta la pesca artesanal es la contaminación del agua (67 %), seguida por la pesca industrial (47 %), la sobrepesca (43 %) y el 33 % identificó los fenómenos climáticos extremos.

La similitud de la clasificación de la solución sumada entre el escenario 1 y 2, evaluada con los coeficientes de Cohen's Kappa fue de 0.04, entre el escenario 1 y 3 fue de 0.19 y entre el escenario 2 y 3 fue de 0.46 (Tabla 3). Comparando la superposición entre escenarios, las mayores similitudes se presentaron en la clase 0 (76.6 %, 74.0 % y 98.3 %, respectivamente), es decir en las UP que no fueron seleccionadas frecuentemente por el programa en los tres escenarios. En las siguientes categorías, el porcentaje de superposición se redujo a medida que la frecuencia se selección aumentó, lo que indicó que la cantidad de UP que se clasificaron en las clases con mayor frecuencia de selección, difirieron entre los escenarios. reduce operating costs (80 %), that it would reduce the pressure of industrial fishing on the species (76 %), that it would reduce the risk of species overexploitation (74 %), and that it would reduce their vulnerability to climate change (77 %). Finally, the fishermen considered that the main threat affecting artisanal fishing is water pollution (67 %), followed by industrial fishing (47 %), overfishing (43 %), and extreme climatic phenomena (33 %).

The similarity in the classification of the combined solution of scenarios 1 and 2, as evaluated with Cohen's *kappa* coefficients, was 0.04. The value for scenarios 1 and 3 was 0.19, and, for scenarios 2 and 3, it was 0.46 (Table 4). When comparing the overlap between scenarios, the greatest similarities were observed in class 0 (76.6 %, 74.0 %, and 98.3 %, respectively), that is, in the PUs that were not frequently selected by the program regarding the three scenarios. In the following categories, the percentage of overlap decreased as the frequency of selection increased, indicating that the number of PUs classified in the classes with the highest frequency of selection differed between scenarios.

 Tabla 3. Similitud entre los tres escenarios de la modelación de Marxan utilizando el coeficiente Kappa y basado en clases de frecuencia.

Table 4. Similarity between the three Marxan-modeled scenario	s, using the
kappa coefficient and upon the basis of frequency classes.	

Clase / Class	Porcentaje del área en cada escenario / Percentage of the area in each scenario			Porcentaje de sobreposición entre	Porcentaje de sobreposición entre	Porcentaje de sobreposición entre	
	1	2	3	Overlap percentage between scenarios 1 and 2	Overlap percentage between scenarios 1 and 3	Overlap percentage between scenarios 2 and 3	
0	63.7	77.58	65.72	76.6	74.02	98.34	
< 25	6.97	10.14	18.99	46.2	35.03	31.56	
26-50	1.61	2.02	7.65	7.0	13.26	11.74	
51-75	1.37	2.16	3.92	3.8	16.70	1.10	
76-100	26.36	8.11	3.71	3.9	9.71	38.92	
Карра		0.04	0.18	0.41			

Cuando se comparó la mejor solución entre los cuatro escenarios, se encontró que, los valores del coeficiente fueron negativos entre los escenarios 4 y 1 (-0.1) y 4 y 3 (-0.1); y entre los escenarios 4 y 2 el valor fue positivo (0.4) indicando que la similitud entre estos últimos fue buena (Tabla 4) (Ruiz-Frau *et al.*, 2015; Zhang and Vincent, 2019). La comparación de los escenarios 4 y 2, presentó los mayores valores de similitud y porcentajes de sobreposición tanto del área seleccionada como de la no seleccionada.

When the best solution among the four scenarios was compared, it was found that the coefficient values were negative between scenarios 4 and 1 (-0.1) and 4 and 3 (-0.1). Between scenarios 4 and 2, the value was positive (0.4), indicating a good degree of similarity (Table 5) (Ruiz-Frau *et al.*, 2015; Zhang and Vincent, 2019). The comparison between scenarios 4 and 2 showed the highest similarity values and overlap percentages for both the selected and non-selected areas.

Tabla 4. Similitud entre los tres escenarios de la modelación de Marxan y el escenario de los pescadores, utilizando el coeficiente Kappa y basado en clases de frecuencia.

Table 5. Similarity between the three Marxan-modeled scenarios and that of the fishermen, using the *kappa* coefficient and upon the basis of frequency classes.

Clases / Classes	Porcentaje de área de cada clase por escenario / Area percentage for each class by scenario				Porcentaje de sobreposición entre escenarios / Overlap percentage between scenarios		
	1	2	3	4	4 vs 1	4 vs 2	4 vs 3
Área no seleccionada / Non-selected area	73.2	89.7	88.8	86.9	68.9	96.1	87.1
Área seleccionada / Selected area	26.8	10.3	11.2	13.1	16.5	35.2	7.2
Карра					-0.1	0.4	-0.1

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la modelación en Marxan indican que las AMP actuales contribuyen al mantenimiento de los ecosistemas y áreas de ocurrencia de especies al interior del área de estudio, debido a que las AMP conservan elementos como manglares, estuarios, bajos, esteros playas, zonas de reproducción, guardería de especies pelágicas, entre otros, los cuales a pesar de no estar al interior de una zona que se establezca como ZEPA, aportan servicios ecosistémicos para que en las zonas de pesca exista la abundancia y biodiversidad de especies. Los escenarios, presentan beneficios ya que se ubican en áreas cercanas a las AMP que actualmente están establecidas en el territorio, lo que permite la conectividad entre estas áreas y la ZEPA; además, las comunidades de especies marino-costeras que habitan las AMP actuales, podrían migrar a nuevas zonas de la ZEPA, obteniendo peces objeto de pesca de tallas grandes, los cuales, además de generar un potencial para su captura, brindan alevines, juveniles y adultos para empezar con la recuperación de los ecosistemas albergados al interior de la zona (le Pape et al., 2014; Matera, 2016; le Cornu et al., 2018). El escenario 3 muestra que las AMP aportan en mayor medida a la conservación de los ecosistemas marinos, pero no son precisamente lugares con caladeros de pesca artesanal, ni zonas de ocurrencia de especies objeto de pesca artesanal, puesto que el software solo utilizó una fracción de ellas.

Al comparar los escenarios obtenidos en Marxan, se identificó que el escenario 2 es el que establece mayor área en las zonas externas a las AMP, brindando la oportunidad de distribuir más eficientemente la agregación y el esfuerzo pesquero. Adicionalmente, cuenta con el aporte de las AMP actuales en cuanto a la conservación de ecosistemas y la inclusión de zonas que permiten el desarrollo del ciclo de

DISCUSSION

The results obtained from the Marxan modeling indicate that the current MPAs contribute to the maintenance of ecosystems and species occurrence areas within the study area. This is because the MPAs preserve elements such as mangroves, estuaries, shallows, esteros, beaches, breeding zones, and nurseries for pelagic species, among others. Although these elements are not within an EZAF, they provide ecosystem services that contribute to the abundance and biodiversity of species in fishing areas. The scenarios have benefits since they are located in areas close to the territory's currently established MPAs, allowing for connectivity between these areas and the EZAF. Additionally, the communities of marine-coastal species that inhabit the current MPAs could migrate to new areas of the EZAF, yielding fish of large sizes. These fish, in addition to generating potential for capture, provide fry, juveniles, and adults to begin the recovery of the ecosystems within the zone (le Cornu et al., 2018; le Pape et al., 2014; Matera, 2016). Scenario 3 shows that MPAs contribute more significantly to the conservation of marine ecosystems but are not precisely areas with artisanal fishing grounds or occurrence zones for target species, as the software only used a fraction of them.

When comparing the scenarios obtained in Marxan, it was identified that scenario 2 establishes a larger area in the external zones to the MPAs, offering the opportunity to more efficiently distribute aggregation and fishing efforts. Additionally, it considers the contribution of current MPAs in terms of ecosystem conservation and the inclusion of zones that enable the development of species life cycles, such as nursery areas, where species spend the early stages of their biological cycle and later contribute to the underlying vida de las especies, como las áreas de guardería donde las especies pasan sus primeras etapas de su ciclo biológico y luego por efecto de un desbordamiento aportarían a las pesquerías subyacentes (le Pape *et al.*, 2014; le Cornu *et al.*, 2018; Baker *et al.*, 2019; Nickols *et al.*, 2019).

Las comparaciones entre los escenarios 1, 2 y 3 indican que, a pesar de que presentan "bajas similitudes" en los dos primeros casos (Kappa < 0.4) y apenas "buenas" en la comparación de los escenarios 2 y 3 (Kappa mayor o igual 0.4) cada solución contiene elementos representativos del territorio como ecosistemas, caladeros de pesca artesanal y zonas de ocurrencia de especies, los cuales son necesarios para el desarrollo apropiado de la pesca artesanal (Pasnin *et al.*, 2016; Zhang y Vincent, 2019). Los tres escenarios presentaron dos áreas en común, una en la ensenada de Tumaco y otra cercana al banco de pasacaballos, lugares que recogen varios OC del área de estudio, por lo que se podría indicar que dichas zonas son importantes por su aporte en el cumplimiento de las metas de inclusión de cada OC en la ZEPA (Ardron *et al.*, 2010).

El escenario 4 muestra que los pescadores artesanales conocen las limitaciones para realizar sus capturas, por lo que seleccionaron zonas aledañas a la línea de costa. Adicionalmente, la ubicación del área seleccionada también puede deberse a otros factores como el conocimiento y la frecuencia de uso en el área cercana a la costa (Bell et al., 2015; Hanich et al., 2018; le Cornu et al., 2018). Los pescadores identificaron la ZEPA como una estrategia que les ayudaría a reducir su vulnerabilidad frente a diversas amenazas como la sobreexplotación, pesca industrial, contaminación y finalmente al cambio climático. Esta aceptación corrobora que la implementación de zonas marinas para pesca artesanal como alternativa de uso sostenible de los recursos y control de amenazas, genera condiciones para una adaptación basada en ecosistemas; lo que valida la ZEPA como una estrategia adecuada para la población del área de estudio (le Pape et al., 2014; le Cornu et al., 2018)

La similitud entre el escenario 2 y 4 muestra que la población y el software coinciden en la ubicación de la ZEPA dado que los pescadores eligen lugares donde realizan la actividad pesquera y al mismo tiempo reducen la presión por otros usos incompatibles como la pesca industrial, mientras el software busca la ubicación de la zona en un lugar estratégico basado en factores de costo beneficio como la distancia entre UPs, el costo asociado a cada UP, la cantidad de OC incluidos, entre otros (Baker fisheries through overflow effects (le Pape *et al.*, 2014; le Cornu *et al.*, 2018; Baker *et al.*, 2019; Nickols *et al.*, 2019).

Comparisons between scenarios 1, 2, and 3 indicate that, despite exhibiting 'low similarities' in the first two cases (kappa < 0.4) and just 'good' similarities in the comparison of scenarios 2 and 3 (kappa greater than or equal to 0.4), each solution contains elements representative of the territory, such as ecosystems, artisanal fishing grounds, and species occurrence zones, which are necessary for the proper development of artisanal fishing (Pasnin *et al.*, 2016; Zhang and Vincent, 2019). The three scenarios showed two common areas, one in Tumaco Bay and another near the Pasacaballos bank. These places harbor several COs from the study area, indicating that they are important given their contribution in meeting the inclusion goals of each CO in the EZAF (Ardron *et al.*, 2010).

Scenario 4 shows that artisanal fishermen are aware of the limitations for their catches, therefore selecting zones adjacent to the coastline. Additionally, the location of the selected area may also be due to other factors such as the knowledge of and the frequency of use in the area near the coast (Bell et al., 2015; Hanich et al., 2018; le Cornu et al., 2018). Fishermen identified the EZAF as a strategy that would help to reduce their vulnerability to various threats such as overexploitation, industrial fishing, pollution, and, ultimately, climate change. This acceptance corroborates that the implementation of marine zones for artisanal fishing as an alternative for the sustainable use of resources and threat control generates conditions for ecosystem-based adaptation, thus validating the EZAF as an adequate strategy for the population in the study area (le Pape et al., 2014; le Cornu et al., 2018).

The similarity between scenarios 2 and 4 shows that the population and the software coincide in the location of the EZAF, as the fishermen choose places where they perform fishing activities while reducing the pressure from other incompatible uses such as industrial fishing. The software, in turn, seeks a strategic place based on costbenefit factors such as the distance between PUs, the cost associated with each PU, and the number of COs included, among others (Baker *et al.*, 2019; Ban *et al.*, 2009). This is why community participation is important in identifying optimal zones for artisanal fishing, as they know the territory and can identify the most suitable areas based on their experience and traditional knowledge. Likewise, this process aids in the appropriation of the results by the communities. Solution 2 excluded MPAs and was the most similar to *et al.*, 2019; Ban *et al.*, 2009). Es por esto, que es importante la participación de las comunidades en la identificación de zonas óptimas para la pesca artesanal, debido a que conocen el territorio e identifican las zonas más adecuadas basadas en su experiencia y saberes tradicionales. Asimismo, este proceso ayuda a la apropiación de los resultados por parte de las comunidades. La solución 2 excluyó las AMP y fue la que se pareció más al escenario 4. Esto posiblemente se deba a que los pescadores seleccionan áreas que no están bajo un esquema de protección y a que ellos identifican zonas donde pueden ejercer libremente la actividad pesquera.

Al combinar los resultados propuestos por el software y los pescadores para la obtención del resultado final, se obtuvo una solución con un área suficiente para que los pescadores ejerzan su actividad sin afectar la ubicación de sus caladeros, la inclusión de ecosistemas estratégicos y las zonas de distribución de especies de interés pesquero, lo que se ve reflejado en los OC que quedaron incluidos en el escenario 5 (Ruiz-Frau et al., 2015). Este escenario incluye zonas donde se puede realizar ecoturismo, como el avistamiento de ballenas o aves, constituyéndose como fuentes adicionales de ingreso. Incluye diversos recursos pesqueros, lo que les brinda posibles alternativas en cuanto a diversificar las especies objeto de captura en épocas de veda o de posible alteración en la distribución de las especies de pesca por el cambio climático. Este escenario también provee hábitats adecuados para que los ecosistemas mejoren su estado y permitan brindar a la población alimento e ingresos (le Cornu et al., 2018). Además, incluye ecosistemas como el bosque de manglar, el cual controla la erosión costera, permite el desarrollo de las especies en su etapa juvenil, captura emisiones de gases de efecto invernadero y brinda especies de pesca como las jaibas, las pianguas y demás especies que habitan estas zonas (Sierra y Cantera, 2015).

Los resultados obtenidos en la encuesta indican que la ZEPA es una estrategia de adaptación basada en ecosistemas, la cual es aceptada por la comunidad y es percibida como una alternativa para garantizar la sostenibilidad de la actividad pesquera en el tiempo (le Cornu *et al.*, 2018). Además, al tener menor presión sobre los ecosistemas por la exclusión de los industriales y otras amenazas, les permite mantener alta productividad, siempre y cuando se tomen medidas de manejo efectivas para la pesca artesanal sostenible (esfuerzo, artes, tallas, vedas temporales y espaciales) (Jamero *et al.*, 2019). Se resalta que los pescadores identifican que la variabilidad climática (ENOS) afecta negativamente la pesca; además una mayor proporción scenario 4. This may be due to the fact that fishermen select areas that are not under a protection scheme and identify zones where they can freely carry out fishing activities.

By combining the proposals of the software and the fishermen to obtain the final result, a solution was obtained which includes an area sufficient for fishermen to carry out their activity without affecting the location of their fishing grounds, as well as strategic ecosystems and the distribution zones of species of fishing interest, which is reflected in the COs included in scenario 5 (Ruiz-Frau et al., 2015). This scenario includes zones where ecotourism activities can be carried out, such as whale or bird watching, thus constituting additional sources of income. It includes various fishery resources, offering possible alternatives in terms of diversifying the target species for capture during closed seasons or in the face of possible alterations in species distribution due to climate change. This scenario also provides adequate habitats for ecosystems to improve their condition and manage to provide the population with food and income (le Cornu et al., 2018). Furthermore, it includes ecosystems such as mangrove forests, which control coastal erosion, enable the development of species in their juvenile stage, capture greenhouse gas emissions, and provide fishing species such as jaibas, pianguas, and others that inhabit these zones (Sierra and Cantera, 2015).

The results obtained in the survey indicate that the EZAF is an ecosystem-based adaptation strategy, which is accepted by the community and perceived as an alternative to ensure the sustainability of fishing activities over time (le Cornu et al., 2018). Moreover, by having less pressure on the ecosystems due to the exclusion of industrial activities and other threats, they can maintain a high productivity, as long as effective management measures for sustainable artisanal fishing are implemented (efforts, gear, sizes, temporal and spatial closures) (Jamero et al., 2019). It can be highlighted that fishermen identify the negative effect of climate variability (ENSO) on fishing. In addition, a greater proportion of the respondents identify pollution, industrial fishing, and overfishing as negative factors which should be appropriately managed in order to reduce the vulnerability of the population.

Given that climate change can cause alterations in the distribution and abundance of species of commercial and cultural interest in the Pacific, choosing an area with fixed boundaries and not considering the distribution of target species or future alternatives might imply difficulties in meeting food and economic needs. Moreover, it can de los encuestados también identifican la contaminación, la pesca industrial y la sobrepesca como factores negativos. Los cuales deben manejarse adecuadamente a fin de reducir la vulnerabilidad de la población.

Dado que el cambio climático puede generar alteraciones en la distribución y abundancia de especies de interés comercial y cultural en el Pacífico, al elegirse un área con límites fijos y no considerar la distribución de las especies de captura o alternativas a futuro, podría significar que se presenten dificultades para satisfacer sus necesidades alimentarias y económicas. Además, puede afectar a los pescadores si se les condiciona a ejercer la actividad pesquera en un área limitada. Para llevar a cabo los cambios de la ubicación v los límites de la zona de acuerdo con las condiciones donde se encuentre el recurso, se requeriría que se estudie la distribución y abundancia de las especies bajo los efectos del cambio climático, el comportamiento de los ecosistemas y las tendencias de la actividad pesquera (le Cornu et al., 2018). Se debe aclarar que una ZEPA no significa que la comunidad deba pescar exclusivamente en esta zona, significa que los pescadores artesanales son los únicos que pueden realizar extracción en esta área y además se establecen reglas frente a otras actividades económicas y su posible efecto frente al desarrollo de las comunidades marinas. Es por esto por lo que, en caso de migración de especies a zonas externas a la ZEPA, los pescadores pueden ejercer su actividad en zonas externas a la misma. Además, existe la posibilidad de que lleguen otras especies de interés comercial que actualmente no tienen distribución en el territorio (le Pape et al., 2014).

Los planificadores de este tipo de áreas pueden considerar los diferentes escenarios con base en la inclusión o exclusión de las AMP como aportantes a la conservación de OC en el territorio, con el fin de evaluar el aporte de las ZEPA a la conservación de elementos representativos a la conectividad de ecosistemas y/o el aporte de las AMP a la inclusión de ecosistemas importantes, y al flujo de recursos a los lugares donde se ejerce la pesca artesanal (Cuervo et al., 2018). Los resultados de este trabajo proporcionan una base técnica para la evaluación de la implementación de una ZEPA en el territorio por parte de las autoridades responsables; el conocimiento científico y técnico son aspectos importantes en los que se deben basar las decisiones para el uso sostenible de los recursos marinos de la zona costera (López et al., 2008). Además, uno de los problemas identificados en el Plan de Ordenamiento y Manejo Integral de la Unidad Ambiental Costera de la Llanura del Sur (donde affect fishermen if they are conditioned to carry out fishing activities in a limited area. To make changes in the location and the boundaries of the zone according to the conditions of the resource, it would be necessary to study the distribution and abundance of species under the effects of climate change, the behavior of ecosystems, and the trends of fishing activities (le Cornu et al., 2018). It should be clarified that defining an EZAF does not mean that the community must fish exclusively in this zone, but rather that artisanal fishermen are the only ones who can extract in this area, and that rules are established against other economic activities and their possible effect on the development of marine communities. This is why, in the case of the migration of species, fishermen can carry out their activities in areas outside the EZAF. In addition, there is the possibility that other commercially interesting species, which currently do not have distribution in the territory, may arrive (le Pape et al., 2014).

The planners of such areas can consider different scenarios based on the inclusion or exclusion of MPAs as contributing to the issue of COs in the territory, in order to assess the contribution of EZAF to the conservation of representative elements for the connectivity of ecosystems and/or the contribution of MPAs to the inclusion of important ecosystems and to the flow of resources to areas where artisanal fishing is carried out (Cuervo et al., 2018). The results of this work provide a technical basis for evaluating the implementation of an EZAF in the territory by the competent authorities. Scientific and technical knowledge are important aspects on which decisions for the sustainable use of marine resources in coastal areas should be based (López et al., 2008). Furthermore, one of the problems identified in the Planning and Integral Management Plan for the Coastal Environmental Unit of the Southern Plains (where the EZAF is located) is environmental zoning. Here, an area is proposed for the sustainable use of the coastal zone's marine resources, considering the characteristics of the socio-ecosystem to support sustainable use in the long term (López et al., 2008). At the same time, it can be part of a solution to the vulnerability of the population and the marine-coastal ecosystems to natural threats. It is also important to consider that an EZAF can be established in the territory if and only if the administration, which is led by the AUNAP in co-management with the communities, fulfills the duty to regulate and perform prevention, surveillance, and control activities with regard to industrial fishing and unregulated or harmful artisanal fishing practices such as

se encuentra la ZEPA), es la zonificación ambiental, aquí se propone un área para el uso sostenible de los recursos marinos de la zona costera considerando las características del socio-ecosistema para soportar un uso sostenible a largo plazo (López et al., 2008). Al mismo tiempo puede ser parte de una solución a la vulnerabilidad de la población y los ecosistemas marino-costeros a las amenazas naturales. También es importante considerar que el establecimiento de una ZEPA en el territorio se puede dar si y sólo si, la administración de la figura de conservación en cabeza de la AUNAP y en co-manejo con las comunidades, cumple con el deber de regular y desarrollar las actividades de Prevención, Vigilancia y Control sobre las pesca industrial y las artes de pesca artesanal no reglamentarias o nocivas como la changa, la cual se realiza en la zona marino costera y afecta el adecuado desarrollo de las especies objeto de pesca (Satizábal, 2018; Jiménez y Saavedra, 2019; Guerrero et al., 2021).

Se recomienda que el proceso de establecimiento se realice de la mano con las comunidades, sectores económicos y administradores, con el fin de lograr un proceso sólido y soportado en trabajo participativo, para que así permita la apropiación y el control por parte de los usuarios de la ZEPA y evitar imposiciones que entran en conflicto con los valores culturales y saberes tradicionales de las poblaciones (López et al., 2008; Ruiz-Frau et al., 2015; Saavedra-Díaz et al., 2015). Para esto, se debe tomar como ejemplo el proceso participativo que se llevó a cabo para el establecimiento de la ZEPA del Pacífico norte entre diferentes actores como las autoridades pesqueras, Parques Nacionales Naturales, Corporaciones Autónomas Regionales y los consejos comunitarios donde el co-manejo ha generado mejores resultados que en otras zonas donde no se implementa de esta manera. Además, ha permitido mejorar la recuperación de los recursos pesqueros al punto que los pobladores manifiestan que se ha recuperado al 100 % (Jiménez y Saavedra, 2019; Guerrero et al., 2021).

CONCLUSIONES

Los tres escenarios considerados (UP que incluyen AMP, UP que excluyen AMP e inclusión de cualquier UP) para identificar una ZEPA potencial en el Pacífico nariñense, incluyeron variedad de objetos de conservación basados en ecosistemas que tienen el potencial de mantener recursos pesqueros diversos que favorezcan los ingresos de los pescadores. La ZEPA potencial ubicada en la ensenada de *changas*, which is used in marine-coastal areas and affects the proper development of target fishing species (Satizábal, 2018; Guerrero *et al.*, 2021; Jiménez and Saavedra, 2019).

It is recommended that the establishment process be carried out hand in hand with the communities, economic sectors, and administrators, in order to achieve a solid process supported by participatory work. This allows for appropriation and control by the users of the EZAF and avoids impositions that conflict with the cultural values and traditional knowledge of the populations (López et al., 2008; Ruiz-Frau et al., 2015; Saavedra-Díaz et al., 2015). To this effect, the participatory process carried out for establishing the EZAF in the northern Pacific should be taken as an example. This process involved different actors such as fishing authorities, National Natural Parks, Regional Autonomous Corporations, and community councils. Here, co-management has yielded better results than in other areas whose implementation process was different. Moreover, it has allowed improving the recovery of fishery resources, to the point that the inhabitants claim that there has been a 100 % recovery (Jiménez and Saavedra, 2019; Guerrero et al., 2021).

CONCLUSIONS

The three scenarios considered (PUs that include MPAs, PUs that exclude MPAs, and the inclusion of any PU) to identify a potential EZAF in the Nariño Pacific included a variety of conservation objects upon the basis of ecosystems with the potential to maintain diverse fishery resources that favor the income of fishermen. The potential EZAF, located in Tumaco Bay and selected by Marxan, corresponded to the second scenario; it included the largest area additional to the MPAs and was the one with the greatest similarity to the scenario chosen by the fishermen, since they did not include areas that had any protection mechanism.

The defined EZAF connects the protected marine areas of the Cabo Manglares, Bajo Mira y Frontera National Integrated Management District, the Sanquianga NNP, and the Gorgona NNP, forming a biological corridor to maintain biodiversity.

The criteria used in this study for the selection of the EZAF are complementary and support the fact that the local knowledge of fishermen and technical knowledge are fundamental in any process carried out on a specific area (such as an EZAF). Incorporating artisanal fishermen and their knowledge from the beginning empowers and Tumaco seleccionada por Marxan correspondió al segundo escenario, incluyó la mayor área adicional a las AMP y fue la que tuvo mayor similitud con el escenario escogido por los pescadores, dado que los pescadores no incluyeron áreas que tuvieran algún mecanismo de protección.

La ZEPA determinada conecta las áreas marinas protegidas del Distrito Nacional de Manejo Integrado de Cabo Manglares Bajo Mira y Frontera, PNN Sanquianga y PNN Gorgona, formando un corredor biológico para mantener la biodiversidad.

Los criterios utilizados en este estudio para la selección de la ZEPA son complementarios, y refuerzan que el conocimiento local de los pescadores como el técnico son fundamentales en cualquier proceso que se realice sobre un área específica como una ZEPA. Incorporar a los pescadores artesanales y su conocimiento desde el inicio los empodera y fortalece; los acuerdos logrados entre ellos, y con las autoridades de pesca y ambientales, lo que conducezcan al uso sostenible de los recursos, conllevará y a que la ZEPA se mantenga en el tiempo, convirtiéndose en una estrategia de adaptación al cambio climático.

Se recomienda evaluar la dimensión espacial y temporal debido al efecto que tiene el cambio climático en la distribución de las especies.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue desarrollado en el marco del proyecto de investigación: "Evaluación de la vulnerabilidad y adaptación al cambio climático en la pesquería marina de Tumaco–Departamento de Nariño"; por la Universidad Nacional de Colombia y financiado por el Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación de Colombia (CTO 80740-607-2019). Al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" –Invemar y a sus instituciones financiadoras, por el suministro de información de los objetos de conservación para la modelación de la ZEPA. strengthens them; the agreements reached between them, and with the fishing and environmental authorities, lead to the sustainable use of resources, and to the EZAF being maintained over time, which makes it a strategy for adaptation to climate change.

We recommend evaluating the spatial and temporal dimensions, given the effect of climate change on species distribution.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was conducted within the framework of Universidad Nacional de Colombia's research project titled "Evaluation of vulnerability and adaptation to climate change in the marine fishery of Tumaco, department of Nariño", funded by the Ministry of Science, Technology, and Innovation (CTO 80740-607-2019). We would like to thank the José Benito Vives de Andrèis Institute for Marine and Coastal Research (Invemar) and is funding institutions for providing information on the conservation objects to model the EZAF.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Abecasis, D., P. Afonso and K. Erzini. 2015. Toward adaptive management of coastal MPAs: The influence of different conservation targets and costs on the design of no-take areas. Ecol. Inf., 30: 263–270. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2015.08.009
- Alonso, D., C. Segura, P. Castillo y J. Gerhantz. 2008. Avances en el diseño de una red de áreas marinas protegidas: Estrategia de conservación para el norte del Caribe continental colombiano. Bol. Inv. Mar. Cost., 37 (1): 129–156.
- Álvarez, G.E., B.M. Florian, Z.L Peñuela y O.E. Cortés. 2018. AbE. Guía de adaptación al cambio climático basada en ecosistemas en Colombia. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, Bogotá. 160 p.
- Ardron, A.J., P.H. Possingham and J.C. Klein. 2010. Marxan Good Practices Handbook. Pacific Marine Analysis and Research Association, British Columbia. Canada.165 p.
- Arroyo, J. S., D.A. Revollo Fernández, A. Aguilar Ibarra and N. Georgantzis. 2016. Economic behavior of fishers under climate-related uncertainty: Results from field experiments in Mexico and Colombia. Fish. Res., 183: 304–317. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fishres.2016.05.020
- Baker, M., T.F. Allnutt, M.L. Baskett, R.A. Watson, E. Lagabrielle and C. Kremen. 2019. Rethinking spatial costs and benefits of fisheries in marine conservation. Oc. Coast. Manag., 178: 104824. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2019.104824
- Ball, IR., H.P. Possingham and M. Watts. 2009. Marxan and relatives: software for spatial conservation prioritization: 185-195. En: Moilanen, A., K.A. Wilson, and H.P. Possingham (Eds). Spatial conservation prioritization: quantitative methods and computational tools. Oxford University Press, Oxford. 304 p.
- Ban, N. C., C.R. Picard and A.C. Vincent. 2009. Comparing and integrating community-based and science-based approaches to prioritizing marine areas for protection. Conserv. Biol., 23(4): 899–910. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2009.01185.x
- Bell, J. D., J. Albert, S. Andréfouët, N.L. Andrew, M. Blanc, P. Bright, D. Brogan, B. Campbell, H. Govan, J. Hampton, Q. Hanich, S. Harley, A. Jorari, M. Lincoln Smith, S. Pontifex, M.K. Sharp, W. Sokimi and A. Webb. 2015. Optimising the use of nearshore fish aggregating devices for food security in the Pacific Islands. Mar. Pol., 56: 98–105. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2015.02.010
- Bunting, P., A. Rosenqvist, R.M. Lucas, L.M. Rebelo, L. Hilarides, N. Thomas, A. Hardy, T. Itoh, M. Shimada and C.M. Finlayson. 2018. The global mangrove watch–A new 2010 global baseline of mangrove extent. Rem. Sens., 10(10): 1669. DOI: https://doi.org/10.3390/rs10101669
- Chande, M., I.A. Kimirei, M.M. Igulu, B. Kuguru, R. Kayanda, C. Mwakosya, S.J. Kangwe, J. Sululu and E. Ulotu. 2019. Assessment of the impacts of artisanal fishing gears on nearshore fish stocks along coastal waters off the Kilwa–Mafia seascape in Tanzania. Reg. Stud. Mar. Sci., 27: 100531. DOI: https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100531
- Chuenpagdee, R., L. Liguori, M.L.D. Palomares and D. Pauly. 2006. Bottom-up, global estimates of small-scale marine fisheries catches. Fish. Centre Res. Rep., 14(8), 105 p. DOI: https:// 10.14288/1.0074761
- CIOH. 1999. Mapa de repartición de las facies sedimentarías y perfiles batimétricos plataforma continental. Escala 1:300.000. DIMAR, Cartagena.
- Cuervo, R., J.H. Maldonado y M. Rueda. 2018. Spillover from marine protected areas on the pacific coast in Colombia: A bioeconomic modelling approach for shrimp fisheries. Mar. Pol., 88: 182-188. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.10.036
- Dalmau, N.A. 2020. Introduction to Marxan building a marine protected area network. Univ. Queensl., Queensland, Australia. 25 p.
- Delgado, A., S. Ruiz, L. Arévalo, G. Castillo y N. Viles. 2008. Plan de acción en biodiversidad del departamento de Nariño 2006–2030–Propuesta Técnica. Corponariño, Gobernación de Nariño–Sec. Agricultura, Inst. Invest. Rec. Biol. Alexander von Humboldt, Unid. Adm. Esp. Sist. Parques Nales Nat.– UAESPNN–Territorial Surandina, Univ. Nariño, Univ. Mariana, y Asoc. Des. Camp., Pasto. 62 p.

Departamento Administrativo Nacional de Estadística-DANE. 2000. Cartografía censal DANE Escala 1:100.000. DANE. Bogotá.

- Departamento Administrativo Nacional de Estadística DANE. 2018. Geoportal DANE información para todos. Geovisor por grupos de niveles de vulnerabilidad. https://geoportal.dane.gov.co/geovisores/sociedad/vulnerabilidad/
- Dey, M.M., K. Gosh, R. Valmonte, M.W. Rosegrant and O.L. Chen. 2016a. Economic impact of climate change and climate change adaptation strategies for fisheries sector in Fiji. Mar. Pol., 67: 164–170. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2015.12.023
- Dey, M. M., K. Gosh, R. Valmonte, M.W. Rosegrant and O.L. Chen. 2016b. Economic impact of climate change and climate change adaptation strategies for fisheries sector in Solomon Islands: Implication for food security. Mar. Pol., 67: 171–178. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2016.01.004
- Díaz, J.M., C.A. Vieira y G.J. Melo. 2011. Diagnóstico de las principales pesquerías del Pacífico colombiano. Fund. Marviva-Colombia, Bogotá. 242 p.
- Ding, Q., X. Chen, R. Hilborn and Y. Chen. 2017. Vulnerability to impacts of climate change on marine fisheries and food security. Mar. Pol., 83: 55–61. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.05.011

- FAO. 2018. Impacts of climate change on fisheries and aquaculture, Synthesis of current knowledge, adaptation and mitigation options, Tech. Doc.
- FAO. 2001. ¿Qué es el código de conducta para pesca responsable? Org. Nac. Unid. Agric. Alim., Roma. 19 p. on Fisheries and Aquaculture 627. 628 p.
- Ferro, H., A. Espinoza, R. Calderón, V.C. Ramenzoni y M.M. Gómez. 2019. Adaptive capacity and social-ecological resilience of coastal areas: A systematic review. Oc. Coast. Manag., 173: 36–51. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2019.01.005
- Fundación MarViva. 2022. Zonas marino costeras ZEPA y ZEMP. Fundación MarViva & AUNAP. https://storymaps.arcgis.com/stories/715b508e2c05436 d8012470bb5e67318
- Garay T., J.A., D.I. Gómez-López y J.R. Ortíz Galvis (Eds). 2006. Diagnóstico integral del impacto biofísico y socioeconómico relativo a las fuentes de contaminación terrestre de la bahía de Tumaco, Colombia y lineamientos básicos para un plan de manejo. Proy. Progr. Nac. Unid. Med. Amb. (PNUMA– Programa de Acción Mundial PAM) y Com. Perm. Pac. Sur CPPS. Inst. Invest. Mar. Cost. Invemar, Centro Control Cont. Pac. CPPS–Corp. Aut. Reg. Nariño Corponariño. Santa Marta. 290 p.
- Giménez, J., A. Cañadas, R. de Stephanis and F. Ramírez. 2021. Expanding protected areas to encompass the conservation of the endangered common dolphin (*Delphinus delphis*) in the Alboran Sea. Mar. Environ. Res., 168: 105305. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105305

Gobernación de Nariño. 2012. Plan de desarrollo departamental "Nariño Mejor" 2012-2015. Gob. Nariño, Pasto. 296 p.

- González, J., R. Rivera y L. Manjarrés-Martínez. 2015. Aspectos socioeconómicos de la pesca artesanal marina y continental en Colombia. Autor. Nal Acuic. Pesca (AUNAP), Bogotá. 24 p.
- Green, A., P. Lokani, S. Sheppard, J. Almany, S. Keu, J. Aitsi, J. Warku Karvon, R. Hamilton and G. Lipsett-Moore. 2007. Scientific design of a resilient network of marine protected areas. Kimbe Bay, West New Britain, Papua New Guinea. TNC Pac. Isl. Countr. Rep. 2/07, Nat. Cons., Queensland, Australia. 60 p.
- Guerrero, D., A. Hailu, J.S. Arroyo y L.A. Zapata. 2021. Territorial Use Rights for Fisheries (TURF) and self-regulation of behavior: Experimental evidence from the Colombian Pacific coast. Fish. Res., 240. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fishres.2021.105946
- Gutiérrez, C., Alonso, D. y C. Segura. 2008. Diseño de un área marina protegida para Bahía Portete–la Guajira, Caribe colombiano. Bol. Inv. Mar. Cost., 37(2): 189–212.
- Hanich, Q., C.C.C. Wabnitz, Y. Ota, M. Amos, C. Donato-Hunt and A. Hunt. 2018. Small-scale fisheries under climate change in the Pacific Islands region. Mar. Pol., 88: 279–284. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.11.011
- Henriques, N.S., P. Monteiro, L. Bentes, F. Oliveira, C.M.L. Afonso and J.M.S. Gonçalves. 2017. Marxan as a zoning tool for development and economic purposed areas–Aquaculture Management Areas (AMAs). Oc. Coast. Manag., 141: 90–97. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2017.03.016
- Herrera, S.A., K.V. Coronado and J.J. Selvaraj. 2019. Predicted changes in the potential distribution of seerfish (Scomberomorus sierra) under multiple climate change scenarios in the Colombian Pacific Ocean. Ecol. Inf., 53: 100985. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2019.100985
- Herrera-Carmona, J.C., L.A. Zapata y X. Moreno-Gutiérrez. 2014. Vulnerabilidad, cambio climático y estrategias de adaptación en áreas marinas y costeras del Pacífico colombiano. WWF-Colombia. Bogotá. 40 p.
- Hinchley, D., G. Lipsett-Moore, S. Sheppard, F.U. Sengebau, E. Verheij and S. Austin. 2007. Biodiversity planning for Palau's protected areas network: An ecoregional assessment. TNC Pac. Isl. Countr. Rep. 1/07, Nat. Cons., Queensland, Australia. 68 p.
- Hobday, A.J., J.D. Bell, T.R. Cook, M.A. Gasalla and K.C. Weng. 2015. Reconciling conflicts in pelagic fisheries under climate change. Deep Sea Res. Part II: Top. Stud. Oceanogr., 113, 291–300.
- IDEAM. 2017. Ecosistemas continentales, costeros y marinos de Colombia. Escala 1:100.000. IDEAM, Bogotá. 276 p.
- Jamero, M.L., M. Onuki, M. Esteban, C. Chadwick, N. Tan, V.P. Valenzuela, R. Crichton and J.E. Avelino. 2019. In-situ adaptation against climate change can enable relocation of impoverished small islands. Mar. Pol., 108: 103614. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2019.103614
- Janßen, H., C. Göke, y A. Luttmann. 2019. Knowledge integration in marine spatial planning: A practitioners' view on decision support tools with special focus on Marxan. Oc. Coast. Manag., 168: 130–138. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2018.11.006
- Jara, H.J., J. Tam, B.G. Reguero, F. Ganoza, G. Castillo, C.Y. Romero, M. Gévaudan and A.A. Sánchez. 2020. Current and future socio-ecological vulnerability and adaptation of artisanal fisheries communities in Peru, the case of the Huaura province. Mar. Pol., 119: 104003. DOI: https://doi. org/10.1016/j.marpol.2020.104003
- Jiménez, J. and L. Saavedra. 2019. Evaluating formal and informal rules as a basis for implementing coastal marine artisanal fisheries management in Colombia. Mar. Pol., 101: 225–236. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2018.09.019
- Lancker, K., A.L. Deppenmeier, T. Demissie and J.O. Schmidt. 2019. Climate change adaptation and the role of fuel subsidies: An empirical bioeconomic modeling study for an artisanal open-access fishery. PLoS One, 14(8): 1–24. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220433

- le Cornu, E., A.N. Doerr, E.M. Finkbeiner, D. Gourlie and L.B. Crowder. 2018. Spatial management in small-scale fisheries: A potential approach for climate change adaptation in Pacific Islands. Mar. Pol., 88: 350–358. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.09.030
- le Pape, O., J. Delavenne and S. Vaz. 2014. Quantitative mapping of fish habitat: A useful tool to design spatialised management measures and marine protected area with fishery objectives. Oc. Coast. Manag., 87: 8–19. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2013.10.018
- Li, Y., M. Sun, Y. Ren and Y. Chen. 2020. Impact of pre-closure fishing effort on marine protected area performance in social-ecological dimensions: Implications for developing marine conservation plans. Sci. Total. Environ., 729: 138936. DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138936
- Liu, Y., T. Li, W. Zhao, S. Wang and B. Fu. 2019. Landscape functional zoning at a county level based on ecosystem services bundle: Methods comparison and management indication. J. Environ. Manag., 249: 109315. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109315
- López, R. A. C., P.J.C. Rodríguez, M.G. Arteaga, C.L.M. Almario, B.S. Prieto and P.C. Sierra-Correa. 2008. Unidad Ambiental Costera de la Llanura Aluvial del Sur (UAC-LLAS), Pacífico colombiano; Plan de manejo integrado de la zona costera. Invemar–CRC–Corponariño. 126 p.
- Macusi, E. D., E.S. Macusi, L.A. Jiménez and J.P. Catam. 2020. Climate change vulnerability and perceived impacts on small-scale fisheries in eastern

Mindanao. Oc. Coast. Manag., 189: 105143. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2020.105143

- Martínez, A. and J. J. Selvaraj. 2021. Effects of climate change on potential dolphinfish (*Coryphaena hippurus* L.) ffshing zone on the Colombian Pacific coast. Intern. J. Clim. Change: Imp. Resp., 13 (2): 105-126. https://doi.org/10.18848/1835-7156/CGP/v13i02/105-126.
- Matera, J. 2016. Livelihood diversification and institutional (dis-)trust: Artisanal fishing communities under resource management programs in Providencia and Santa Catalina, Colombia. Mar. Pol., 67: 22–29. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2016.01.021
- Mendelsohn, R., A. Dinar y L. Williams. 2006. The distributional impact of climate change on rich and poor countries. Environ. Devel. Econ., 11(2): 159–178. DOI: https://doi.org/10.1017/S1355770X05002755
- Mendenhall, E., C. Hendrix, E. Nyman, P.M. Roberts, J.R. Hoopes, J.R. Watson, V.W.Y. Lam and U.R. Sumaila. 2020. Climate change increases the risk of fisheries conflict. Mar. Pol., 117: 103954. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2020.103954
- Nickols, K.J., J.W. White, D. Malone, M.H. Carr, R.M. Starr, M.L. Baskett, A. Hastings and L.W. Botsford. 2019. Setting ecological expectations for adaptive management of marine protected areas. J. Appl. Ecol., 56(10): 2376–2385. DOI: https://doi.org/10.1111/1365-2664.13463
- Pasnin, O., C. Attwood and R. Klaus. 2016. Marine systematic conservation planning for Rodrigues Island, western Indian Ocean. Oc. Coast. Manage., 130: 213–220. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2016.06.014
- Portilla, C. 2022. Un enfoque integrado para la priorización de estrategias de adaptación de los pescadores artesanales de Tumaco Nariño frente a estresores climáticos y no climáticos. Tesis Mag. Ing. Amb. Univ. Nal Col. Sede Palmira. Palmira, 101 p.
- Ramírez, L.F., C. Segura-Quintero, D. Alonso and P. Castillo-Torres. 2008. Portafolio de sitios prioritarios de conservación para la zona marina y costera del Pacífico colombiano. Inf. Téc. Invemar–TNC, Santa Marta. 48 p.
- Rosas, J., J. Dresdner, C. Chávez and M. Quiroga. 2014. Effect of social networks on the economic performance of TURFs: The case of the artisanal fishermen organizations in southern Chile. Oc. Coast. Manag., 88: 43–52. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2013.11.012
- Rosegrant, M.W., M.M. Dey, R. Valmonte, y O.L. Chen. 2016. Economic impacts of climate change and climate change adaptation strategies in Vanuatu and Timor-Leste. Mar. Pol., 67: 179–188. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2015.12.010
- Rueda, M., D. Mármol, E. Viloria, O. Doncel, F. Rico-Mejía, L. García y A. Girón. 2010. Identificación, ubicación, y extensión de caladeros de pesca artesanal e industrial en el territorio marino-costero de Colombia. Invemar, Incoder. ANH. Santa Marta.
- Ruiz-Frau, A., H.P. Possingham, G. Edwards-Jones, C.J. Klein, D. Segan and M.J. Kaiser. 2015. A multidisciplinary approach in the design of marine protected areas: Integration of science and stakeholder-based methods. Oc. Coast. Manag., 103: 86–93. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2014.11.012
- Saavedra-Díaz, L.M., A.A. Rosenberg and B. Martín-López. 2015. Social perceptions of Colombian small-scale marine fisheries conflicts: Insights for management. Mar. Pol., 56: 61–70. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2014.11.026
- Satizábal, P. 2018. The unintended consequences of 'responsible fishing' for small-scale fisheries: Lessons from the Pacific coast of Colombia. Mar. Pol., 89: 50–57. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.12.005
- Segan, D.B., E.T. Game, M.E. Watts, R.R. Stewart and H.P. Possingham. 2011. An interoperable decision support tool for conservation planning. Environ. Modell. Softw., 26(12): 1434–1441. DOI: https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2011.08.002
- Selvaraj, J.J., D. Guerrero, M.A. Cifuentes-Ossa and A.I. Guzmán. 2022a. The economic vulnerability of fishing households to climate change in the south Pacific region of Colombia. Helyon, e09425. DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09425

- Selvaraj, J.J., L.V. Rosero-Henao and M.A. Cifuentes-Ossa. 2022b. Projecting future changes in distributions of small-scale pelagic fisheries of the southern Colombian Pacific Ocean. Helyon, e08975. DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08975
- Selvaraj, J.J., M.A. Cifuentes-Ossa, J. Penna-Narváez, M.A. Miranda-Parra and F.A. Herrera-Rozo. 2023. Species distribution models as tools for community empowerment and informed decision making in Colombia's Chocó Pacific coast fisheries. Fishes, 8, 349. https://doi.org/10.3390/ fishes8070349
- Serra-Sogas, N., A. Kockel, E.T. Game, H.P. Possingham and J. McGowan. 2020. Marxan user manual: For Marxan version 2.43 and above. Nat. Cons. (TNC), Arlington, USA and Pac. Mar. Anal. Res. Ass. (PacMARA), British Columbia, Canada. 120 p.
- Sierra, P. C. y J.R. Cantera. 2015. Ecosystem-based adaptation for improving coastal planning for sea-level rise: A systematic review for mangrove coasts. Mar. Pol., 51: 385–393. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2014.09.013
- Sumaila, U.R. 2019. Climate change: Impact on marine ecosystems and world fisheries: 218-222. In: Ferranti, P., E.M. Berry and R.A. Jock (Eds). Encyclopedia of food security and sustainability. Elsevier. 1894 p. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812687-5.22009-1
- Talloni, N.E., R.U. Sumaila, P. le Billon and W.W.L. Cheung. 2019. Climate change impact on Canada's Pacific marine ecosystem: The current state of knowledge. Mar. Pol., 104: 163–176. DOI: https://doi.org/10.1016/j.marpol.2019.02.035
- Timonet, D. S. and D. Abecasis. 2020. An integrated approach for the design of a marine protected area network applied to mainland Portugal. Oc. Coast. Manag., 184: 105014. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2019.105014
- Yesson, C., M.R. Clark, M.L. Taylor and A.D. Rogers. 2011. The global distribution of seamounts based on 30 arc seconds bathymetry data. Deep-Sea Res. Part I: Oceanogr. Res. Pap., 58(4): 442–453. https://doi.org/10.1016/j.dsr.2011.02.004
- Zeller, D. and D. Pauly. 2015. Catch reconstruction: concepts, methods, and data sources. https://www.seaaroundus.org/catch-reconstruction-and-allocationmethods/# Toc421534360 23/06/2022.
- Zhang, X. and A.C.J. Vincent. 2019. Conservation prioritization for seahorses (Hippocampus spp.) at broad spatial scales considering socioeconomic costs. Biol. Conserv., 235: 79–88. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.04.008

RECIBIDO / RECEIVED: 08/08/2022

ACEPTADO / ACCEPTED: 03/10/2023


Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Variabilidad de la anchoveta (*Engraulis ringens*) entre febrero y junio en la zona restringida a la pesca industrial en el inicio la primera temporada de pesca del 2022

Variability of anchoveta (Engraulis ringens) between February and June in the area restricted to industrial fishing at the start of the first fishing season of 2022

> Gustavo Cuadros¹*, Pedro Ramiro Castillo¹, Luis La Cruz², Carlos Valdez¹, (D) 0000-0003-2397-111X (D) 0000-0003-0580-2742 (D) 0000-0002-2208-4538 (D) 0000-0003-3022-0656

Cecilia Peña¹, German Chacón¹, Luis Escudero¹ y José Salcedo¹ D 0000-0000-0000-0000 D 0000-0002-4425-6652 D 0000-0000-0000 D 0000-0003-0582-487X

1. Instituto del Mar del Perú (Imarpe). Esq. Gamarra and General Valle s/n. Chucuito. Callao. Perú. gcuadros@imarpe.gob.pe, rcastillo@imarpe.gob.pe, cvaldez@imarpe.gob.pe, cvaldez@imarpe.gob.pe, cpeña@imarpe.gob.pe, gchacon@imarpe.gob.pe, lescudero@imarpe.gob.pe, jsalcedo@imarpe.gob.pe

2. Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), Valparaíso, Chile. luis.lacruz@ifop.cl

* Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

ste estudio analiza el comportamiento distribucional de la anchoveta (Engraulis ringens) en el área entre las latitudes 06° 00'y 11° 59' S durante cuatro actividades de investigación del Imarpe de febrero a junio de 2022. Esta área estuvo inicialmente restringida en la primera temporada de pesca debido a la alta presencia de ejemplares juveniles. El propósito fue observar la redistribución de la anchoveta para proponer medidas de gestión en la sostenibilidad pesquera. Durante las actividades 1 y 2, se observó una alta concentración y abundancia de anchoveta, mientras que en las actividades 3 y 4, la anchoveta se dispersó migrando hacia áreas alejadas de costa. Esta variabilidad en la distribución afectó los descriptores energéticos y morfométricos, con valores altos con altas concentraciones y menores cuando se encontraba dispersa. En la franja costera de 55.56 km (30 millas náuticas), se registró una superposición de juveniles y adultos, con un crecimiento somático normal entre las actividades 1 y 4. Las modas principales en cada actividad fue de 8.5, 10, 9.5 y 10.5 cm, respectivamente. La biomasa varió de 6.86 millones de toneladas en la actividad 1 a 3.00 millones en la actividad 4, influida por condiciones oceanográficas y la productividad de la clorofila-a.

PALABRAS CLAVE: anchoveta juvenil, anchoveta adulta, distribución, cardumen, descriptor acústico, estructura de tallas.

ABSTRACT

his study examines the distributional behavior of the anchovy (Engraulis ringens) in the area between latitudes 06° 00' and 11° 59' S during four research activities conducted by Imarpe from February to June 2022. This area was initially restricted in the first fishing season due to the high presence of juvenile specimens. The purpose was to observe the redistribution of anchovy to propose management measures for fisheries sustainability. During activities 1 and 2, a high concentration and abundance of anchovy were observed, while in activities 3 and 4, the anchovy dispersed, migrating towards areas away from the coast. This variability in distribution affected energetic and morphometric descriptors, with high values during high concentrations and lower values when it was dispersed. In the coastal strip of the 55.56 km (30 nautical miles), there was an overlap of juveniles and adults, with normal somatic growth between activities 1 and 4. The main modes in each activity were 8.5, 10, 9.5, and 10.5 cm, respectively. Biomass varied from 6.86 million tons in activity 1 to 3.00 million tons in activity 4, influenced by oceanographic conditions and chlorophyll-a productivity.

KEY WORDS: juvenile anchovy, adult anchovy, distribution, shoal, acoustic descriptor, size structure.

DOI: https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2024.53.1.1246 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

La anchoveta peruana (Engraulis ringens) es una especie pelágica de mayor abundancia en la Región Norte del Sistema de la Corriente de Humboldt (RNSCH) y que en las últimas décadas ha sido sostenible en el tiempo, las medidas de gestión decretados por el Viceministerio de Pesquería del Ministerio de la Producción (Produce) son generadas por las actividades de investigación que realiza el Instituto del Mar del Perú (Imarpe); por lo que el continuo monitoreo es necesario para poder actualizar las condiciones oceanográficas del ecosistema, biológicas y acústicas de la población ya que esta región es una zona de alta variabilidad de condiciones ambientales y producción biológica (CSA-UPCH, 2011; Bouchón, 2018). La producción biológica se origina por la surgencia o afloramiento, generada por el ascenso de aguas ricas en nutrientes orgánicos (nitratos, nitritos, entre otros), que por acción de la fotosíntesis activa su conversión en materia orgánica para el fitoplancton y zooplancton, alimento de la anchoveta y otras especies (Chávez et al., 2008; Espinoza y Bertrand, 2008; Oerder et al., 2015). Los cruceros de evaluación hidroacústica de la anchoveta y otros recursos tienen como objetivos principales mostrar las condiciones oceanográficas, la distribución espacial de anchoveta, biomasa de anchoveta y otros recursos, así como el rango de tallas de los mismos (Imarpe, 2022). La presente investigación utilizara la información proveniente de estas cuatro actividades de investigación para mostrar la variabilidad espacial en pequeños espacios de tiempo de la anchoveta en la zona restringida entre las latitudes 06° 00' y 11° 59' S.

La distribución de la anchoveta es estructurada y espacialmente dependiente, es decir, tiene un proceso continuo con características de autocorrelación y diferencias distribucionales inter e intra-estacionales (Castillo *et al.*, 2015). Esta variabilidad espacial de la distribución se atribuye a la dinámica de las aguas frías de la RNSCH (Swartzman *et al.*, 2008; Bertrand *et al.*, 2011; Castillo *et al.*, 2018), lo que implica que el nicho ecológico de la anchoveta peruana cambie conforme a sus estadios de desarrollo y estos tengan distintas tolerancias a las variables ambientes (Lujan, 2016). En tanto, su distribución vertical está contenida por la extensión y profundidad de la zona epipelágica ubicada por encima de la zona mínima de oxigeno (ZMO) (Gutiérrez *et al.*, 2012).

La primera temporada de pesca de la anchoveta para 2022 fue recomendada después de los resultados obtenidos del crucero 2202-04, y que fueron descritos en el informe "*Situación del stock norte-centro de la anchoveta*

INTRODUCTION

The Peruvian anchoveta (Engraulis ringens) is a pelagic species most abundant in the Northern Region of the Humboldt Current System (NRHCS) and has been sustainable over the last decades. The management measures decreed by the Vice-Ministry of Fisheries of the Ministry of Production (Produce) are generated by the research activities carried out by the Peruvian Institute of the Sea (Imarpe). Therefore, continuous monitoring is necessary for updating the oceanographic, biological, and acoustic conditions of the population, as this region is an area of high variability regarding environmental conditions and biological production (CSA-UPCH, 2011; Bouchón, 2018). Biological production originates from upwelling, caused by the rise of waters rich in organic nutrients (nitrates, nitrites, among others), which, through photosynthesis, activates their conversion into organic matter for phytoplankton and zooplankton, the food source for anchovetas and other species (Chávez et al., 2008; Espinoza and Bertrand, 2008; Oerder et al., 2015). The main objectives of hydroacoustic survey cruises for anchoveta and other resources are to show the oceanographic conditions, the spatial distribution, and the biomass of anchoveta and other resources, as well as the size range of these species. (Imarpe, 2022). This research will use information from these four research activities to show the spatial variability of anchoveta in short periods of time in the restricted area between the latitudes 06° 00' and 11° 59' S.

The distribution of the Peruvian anchoveta is structured and spatially dependent, meaning it undergoes a continuous process with characteristics of autocorrelation and inter- and intra-seasonal distributional differences (Castillo *et al.*, 2015). This spatial variability in distribution is attributed to the dynamics of the cold waters of the NRHCS (Swartzman *et al.*, 2008; Bertrand *et al.*, 2011; Castillo *et al.*, 2018), implying that the ecological niche of the Peruvian anchoveta changes according to its developmental stages, which have different tolerances to environmental variables (Lujan, 2016). Meanwhile, its vertical distribution is constrained by the extent and depth of the epipelagic zone located above the minimum oxygen zone (MOZ) (Gutiérrez *et al.*, 2012).

The first fishing season for Peruvian anchoveta in 2022 was recommended following the results of the 2202-04 cruise, as described in the report titled *Status of the north-central stock of Peruvian anchoveta (Engraulis ringens)* as of April 1 and prospects for exploitation for the first

peruana (Engraulis ringens) al 01 de abril y perspectivas de explotación para la primera Temporada de pesca de 2022", donde se describe los resultados del crucero 2202-04, tales como condiciones oceanográficas, distribución espacial y biomasa acústica, tallas de anchoveta, condiciones biológicas v tablas de decisión para la determinación del límite máximo total de captura permisible (LMTCP), para lo cual Produce determinó una cuota de 2.79 millones de toneladas en la región norte-centro (extremo norte del dominio marítimo del Perú y los 16° 00' S). Dicha temporada de pesca fue iniciada el 19 de mayo de 2022 con destino al consumo humano indirecto, mediante Resolución Ministerial Nº 00167-2022 de Produce en el área marítima fuera de 9.26 km (cinco millas) de la línea de costa, solo entre: a) el extremo norte del dominio marítimo del Perú y 06° 00' S; y, b) al sur de la latitud 10° 59' S y 16° 00' S; teniendo en consideración que el Imarpe recomiende, entre otras, medidas de protección totales o parciales de la fracción juvenil, conclusión por haber alcanzado la cuota y/o por circunstancias ambientales o biológicas (Produce, 2022a, 2022b). Las zonas vedadas son cierres espacio-temporales con delimitaciones especificas en el mar los cuales se dan por motivos de alta incidencia de pesca de juveniles con ocurrencia de enmallamiento y estas zonas tienen el objetivo de reducir el impacto sobre la fracción juvenil del stock.

Por lo tanto, en el presente estudio se abordará solo el área restringida entre los entre los 06° 00' y 11° 59' S, esta área fue restringida a la flota industrial durante el vedada en el inicio de la primera temporada de pesca de 2022 por la alta incidencia de ejemplares juveniles. El estudio comprende cuatro actividades de investigación realizadas por el Imarpe entre febrero y junio de 2022, principalmente en la franja costera de 55.56 km (30 mn) del área restringida.

El registro de un alto porcentaje de juveniles requirió el monitoreo exhaustivo de los cambios oceanográficos a lo largo de la costa peruana (masas de agua, anomalías térmicas superficiales y producción primaria) a través de actividades de investigación continua, en diversos periodos de tiempo en la principal área histórica de pesca, y que podrían condicionar la redistribución espacial de la anchoveta. Asimismo, hacer un reconocimiento de la distribución de las distintas cohortes en toda el área en veda y tener elementos de juicio actualizados para adoptar las medidas de conservación pertinentes. La finalidad de los análisis en cada actividad fue observar la redistribución espacial de la anchoveta, mismos que permitieron proponer medidas adecuadas de gestión durante la temporada de pesca en el marco de su sostenibilidad pesquera. fishing season of 2022. This report details the findings of the 2202-04 cruise, including oceanographic conditions, spatial distribution, and acoustic biomass, sizes, biological conditions, and decision tables for determining the maximum total allowable catch limit (MTACL). Consequently, Produce set a quota of 2.79 million tons in the north-central region (the north end of Peru's maritime domain and 16° 00' S). This fishing season, aimed at indirect human consumption, began on May 19, 2022, as per Ministerial Resolution N° 00167-2022 of Produce, in the maritime area outside the five-mile coastline, only between a) the north end of Peru's maritime domain and 06° 00' S and b) south of the 10° 59' S and 16° 00' S; all this, while considering Imarpe's recommendations, among others, regarding total or partial protection measures for the juvenile fraction, completion upon reaching the quota, and/or environmental or biological circumstances (Produce, 2022a, 2022b). Closed zones are spatial-temporal closures with specific delimitations at sea, implemented due to a high incidence of juvenile fish catch with occurrences of netting. These zones aim to reduce the impact on the juvenile fraction of the stock.

This study will focus only on the restricted area between 06° 00' and 11° 59' S. This area was restricted to the industrial fleet during the beginning of the first fishing season of 2022 due to the high incidence of juvenile specimens. Our work considers four research activities carried out by Imarpe between February and June 2022, mainly in the coastal strip of the 55.56 km (30 nm) of the restricted area.

Recording a high percentage of juveniles required exhaustive monitoring of oceanographic changes along the Peruvian coast (water masses, surface thermal anomalies, and primary production) through continuous research activities over various time periods in the main historical fishing area, which could condition the spatial redistribution of the anchoveta. Additionally, it involved recognizing the distribution of different cohorts throughout the entire closed area, as well as updated elements of judgment to adopt the relevant conservation measures. The purpose of the analyses in each activity was to observe the spatial redistribution of the anchoveta, which allowed proposing appropriate management measures during the fishing season while aiming for sustainable fishery.

147

MATERIALES Y METODOS

Actividades de investigación analizadas

Para este estudio fue analizada el área comprendida entre las latitudes 06° 00' y 11° 59' S (Punta La Negra-Callao) mediante las siguientes actividades de investigación (Figura 1):

- a. "Crucero de evaluación hidroacústica de la anchoveta y otros recursos pelágicos 2202-04" (Activ 1), realizado entre el 15 de febrero y el 09 de abril de 2022 con la participación del BIC Flores Portugal, L/P Imarpe IV y 05 embarcaciones industriales de la Sociedad Nacional de Pesquería (SNP) en forma permanente. Tuvo por finalidad determinar la biomasa, distribución y aspectos biológico-pesqueros del recurso anchoveta y otros pelágicos, en toda la costa marítima peruana hasta 148.16 km (80 mn).
- b. "Operación Eureka LXXII" (Activ 2), realizada entre el 24 y el 27 de abril de 2022, entre Paita-Chala hasta las hasta 129.64 km (70 mn) de la costa, y contó con la participación de 20 embarcaciones de mayor escala de la SNP. Tuvo por finalidad conocer la distribución, concentración y condiciones biológico-pesqueras de los recursos pelágicos, principalmente anchoveta (Produce, 2022c).
- c. "Prospección biológica de la anchoveta" (Activ 3), realizada en el área comprendida entre Punta Falsa-Huacho hasta las hasta 111.12 km (60 mn) de distancia a la costa, entre 11 y 19 de mayo de 2022 en el BIC Flores Portugal. Tuvo por finalidad actualizar la información sobre la distribución espacial y estructura de tallas de la anchoveta.
- d. "Crucero de investigación de la merluza y anchoveta en la zona costera entre Callao y Punta Falsa 2205-06" (Activ 4), hasta una distancia máxima de 111.12 km (60 mn) de la costa y realizada entre el 31 de mayo y el 15 de junio de 2022. Tuvo por finalidad actualizar la información sobre la distribución de la merluza y distribución, concentración y condiciones biológicas-pesqueras de la anchoveta.

Información acústica

Los datos acústicos fueron obtenidos de la ecosonda científica EK80 Simrad instalada en el BIC Flores Portugal con cuatro frecuencias de emisión de sonido (38, 70, 120 y 200 kHz). En la Activ. 1, la EP Andes 52 (SNP) cubrió una zona de los muestreos acústicos, usando una ecosonda científica portátil EK80 con tres frecuencias (38, 70 y 120 kHz). La calibración acústica fue realizada de acuerdo a la metodología del *International Council for the Exploration of the Sea* (ICES) *Cooperative Research Report Nro 326* (Demer *et al.*, 2015), obteniéndose en todas las actividades un nivel "*muy aceptable*"

MATERIALS AND METHODS

Research activities analyzed

For this study, the area between the latitudes $06^{\circ} 00'$ and $11^{\circ} 59'$ S (Punta La Negra-Callao) was analyzed through the following research activities (Figure 1):

- a. The Hydroacoustic evaluation cruise of the anchoveta and other pelagic resources 2202-04 (Activ 1), conducted from February 15 to April 9, 2022, with the permanent participation of the BIC Flores Portugal, L/P Imarpe IV, and five industrial vessels from the National Society of Fisheries (SNP). Its purpose was to determine the biomass, distribution, and biological-fishery aspects of anchoveta and other pelagic resources along the entire Peruvian maritime coast up to 148.16 km (80 nm).
- *b. Operation Eureka LXXII* (Activ 2), conducted between April 24 and 27, 2022, from Paita-Chala up to 129.64 km (70 nm) off the coast, which involved the participation of 20 larger-scale vessels from the SNP. Its purpose was to understand the distribution, concentration, and biological-fishery conditions of pelagic resources, primarily anchoveta (Produce, 2022C).
- *c. Biological prospecting of the anchoveta* (Activ 3), conducted in the area between Punta Falsa-Huacho up to 111.12 km (60 nm) from the coast from May 11 to 19, 2022, on the BIC Flores Portugal. The purpose was to update information on the spatial distribution and size structure of the anchoveta.
- d. Research cruise for hake and anchoveta in the coastal zone between Callao and Punta Falsa 2205-06 (Activ 4), up to a maximum distance of 60 nm from the coast, conducted between May 31 and June 15, 2022. The purpose was to update the information on the distribution of hake and the distribution, concentration, and biological-fishery conditions of the anchoveta.

Acoustic information

Acoustic data were obtained from the scientific echosounder EK80 Simrad installed on the BIC Flores Portugal, with four sound emission frequencies (38, 70, 120, and 200 kHz). In Activ 1, the EP Andes 52 (SNP) covered an area for acoustic sampling, using an EK80 portable scientific echosounder with three frequencies (38, 70, and 120 kHz). Acoustic calibration was carried out according to the methodology of the *International Council for the Exploration of the Sea (ICES) Cooperative Research Report No. 326* (Demer *et al.*, 2015), achieving a 'very acceptable' de acuerdo con la escala establecida, con un valor de RMS menor de 0.2 dB para la frecuencia de 120 kHz (frecuencia utilizada para los análisis de la anchoveta). En el caso de la Activ. 2, las embarcaciones participantes tuvieron ecosondas semicientíficas ES70 y/o ES80 operando a una frecuencia de 120 kHz y ecosondas comerciales Furuno FCV.

El diseño de muestreo acústico fue sistemático (transectos paralelos), a excepción de la Activ. 3 que fue en zig-zag. La unidad de muestreo acústico o EDSU (Elementary Distance Sampling Unit) fue de 1.852 km (1 mn), en todas las actividades (Simmonds and MacLennan, 2005).

Para el análisis de identificación de cardúmenes fue realizado con el programa *Echoview* a través de análisis multifrecuencia, características de los ecotrazos y de los resultados de los lances de pesca, teniendo como resultado la distribución espacial del recurso mientras que para la estimación de biomasa de la anchoveta se utilizó solo la frecuencia de 120 kHz; los procedimientos se describen en Castillo *et al.* (2011). Los lances de pesca realizados por el BIC Flores Portugal del Imarpe fue a través de una red pelágica de media agua tipo Granton modelo 360/290 con abertura vertical de 8 m, mientras que las embarcaciones de la SNP utilizaron redes de cerco con tamaño de malla de 13 mm (Figura 1). level in all activities according to the established scale, with an RMS value of less than 0.2 dB for the 120 kHz frequency (the frequency used for analyzing anchovetas). In the case of Activ 2, the participating vessels had ES70 and/or ES80 semi-scientific echosounders operating at a frequency of 120 kHz, as well as commercial Furuno FCV echosounders.

The acoustic sampling design was systematic (parallel transects), except in Activ 3, which had a zigzag design. The acoustic sampling unit, or EDSU (Elementary Distance Sampling Unit), was 1 nm for all activities (Simmonds and MacLennan, 2005).

The Echoview software was used for school identification through multifrequency analysis, the characteristics of the echo traces, and the results of fishing hauls, thus obtaining the spatial distribution of the resource. To estimate the biomass of anchoveta, only the 120 kHz frequency was used. The procedures followed in this regard are described in Castillo *et al.* (2011). The fishing hauls conducted by Imarpe's BIC Flores Portugal were carried out using a 360/290 Granton-type midwater pelagic net with an 8 m vertical opening. In contrast, the vessels of the SNP used purse seine nets with a mesh size of 13 mm (Figure 1).





Figure 1. Paths and fishing hauls for the research activities conducted at 06°-12° S between February and June 2022.

La biomasa de anchoveta fue considerada solamente en las áreas isoparalitorales estimadas en la Activ. 4, que fueron comparadas con la Activ. 1.

Información biológica

Los muestreos biométricos fueron realizados a bordo de las embarcaciones utilizando un ictiómetro de aluminio con doble graduación, usando la medición al medio centímetro de la longitud total de la anchoveta. Los grupos de tallas registrados fueron pesados con una balanza digital (graduación al 0.1 g). Este tipo de muestreo está basado en un diseño aleatorio simple. La estructura por tamaños de anchoveta de cada actividad, correspondió a la sumatoria de la estructura por frecuencia de cada lance, ponderada mediante los parámetros de la relación longitud-peso a los valores de integración acústica descritas en Imarpe (2020). Finalmente, para una mejor separación de las estructuras de tallas se utilizó el método de Bhattacharya, mediante el programa FAO-ICLARM Stocks Assessment Tools (FiSAT) (Gavanilo et al., 1994; Salgado-Ugarte et al., 2005). Los parámetros de la relación longitud-peso ("a" y "b"), utilizada en la estimación de biomasa fueron derivados de las capturas obtenidas.

Información oceanográfica por imágenes de satélite

La información de satélite utilizada son promedios mensuales de: temperatura superficial del mar (TSM) de nivel L4 y resolución espacial de 5 km, que provienen del modelo OSTIA (*Operational Sea Surface Temperatura and Sea Ice Analysis*), utilizando datos *in situ* y satelitales de radiómetros infrarrojos y microondas, descritos en Quispe *et al.* (2019). La salinidad de la superficie del mar (SSM), también nivel L4 pero de resolución espacial de 9 km, fue obtenida del modelo HYCOM (*HYbrid Coordinate Ocean Model*). La clorofila-*a* de nivel L3 de 1 km proviene del sensor MODIS (*Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer*), descrito en Xu *et al.* (2021). Estos datos e imágenes fueron obtenidos de la página web del Área Funcional de Sensoramiento Remoto de la Dirección General de Investigaciones en Hidroacústica, Sensoramiento y Artes de Pesca del Imarpe.

Análisis de la distribución en la zona investigada

En el gráfico de la distribución de la anchoveta en el área investigada para cada actividad fue agregada la inercia y el centro de gravedad del NASC (*Nautical Area Scattering Coefficient*). La inercia es una medida de dispersión de la población alrededor de su centro de gravedad, es decir, la distancia cuadrática media entre las detecciones de los peces. El NASC es un valor de cuantificación de la ecosonda The biomass of anchoveta was considered only in the isoparalittoral areas estimated in Activ 4, which were compared against Activ 1.

Biological information

Biometric samplings were conducted aboard vessels using an aluminum ichthyometer with dual graduation, measuring the total length of the anchoveta to the nearest half centimeter. The recorded size groups were weighed with a digital scale (graduated to 0.1 g). This sampling had a simple random design. The size structure of anchoveta in each activity corresponded to the sum of the structure by the frequency of each haul, weighted by the parameters of the length-weight relationship to the values of acoustic integration as described in Imarpe (2020). Finally, for a better separation of the size structures, the Bhattacharya method was employed, by means of the FAO-ICLARM Stock Assessment Tools (FiSAT) software (Gayanilo et al., 1994; Salgado-Ugarte et al., 2005). The parameters of the length-weight relationship ("a" and "b") used in the biomass estimation were derived from the catches obtained.

Oceanographic information from satellite images

The satellite data used correspond to Level L4 Sea Surface Temperature (SST) monthly averages, with a spatial resolution of 5 km, derived from the OSTIA model (Operational Sea Surface Temperature and Sea Ice Analysis) using in situ and satellite data from infrared and microwave radiometers, as described in Quispe et al. (2019). The Sea Surface Salinity (SSS), also Level L4, albeit with a spatial resolution of 9 km, was obtained from the HYCOM model (HYbrid Coordinate Ocean Model). The chlorophyll-a data (Level L3) with a 1 km resolution come from the MODIS sensor (Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer), as described in Xu et al. (2021). These data and images were obtained from the website of the Remote Sensing Functional Area of the General Directorate of Research in Hydroacoustics, Remote Sensing, and Fishing Gear of Imarpe.

Analysis of the distribution in the studied area

In the anchoveta distribution graph for each activity's study area, the inertia and the center of gravity of the NASC (Nautical Area Scattering Coefficient) were added. Inertia is a measure of the dispersion of the population around its center of gravity, meaning the average quadratic distance between fish detections. The NASC is a quantification value of the echosounder expressed in m² nm² and obtained by measuring the energy emitted by a target,

como consecuencia de la medida de la energía emitida por un objetivo, pez o banco expresado en m² nm⁻² (MacLennan *et al.*, 2002; Simmonds y MacLennan, 2005).

La formulación de la inercia y centro de gravedad esta descrita en Bez y Rivoirard (2001) y Woillez *et al.* (2007):

$$Inercia = \frac{\sum_{i=1}^{N} z_i \cdot (x_i - CG)^2}{\sum_{i=1}^{N} z_i}$$
$$CG = \frac{\int x \ z(x) dx}{\int z(x) \ dx}$$

Donde: Z_i es el valor NASC de la anchoveta, X_i es el punto en el espacio (latitud o longitud) de la muestra y CG es el centro de gravedad. La inercia está constituida por una elipse con un diámetro mayor (latitudinal) y un diámetro menor (longitudinal), es una medida de dispersión del conjunto de individuos respecto al centro de gravedad.

Con respecto a la distribución vertical de los cardúmenes de anchoveta, esta fue obtenida de las exportaciones de las regiones detectadas a través del programa *Echoview* y clasificadas de acuerdo con tres niveles de abundancia de la fuerza de retrodispersión de volumen (S_v), expresada en decibeles (dB) referido a 1 m⁻¹, dada por la fórmula:

$S_v = 10 \log 10(S_v)$

 S_v es el coeficiente de retrodispersión de volumen (MacLennan *et al.*, 2002).

Los descriptores de los cardúmenes de anchoveta también fueron obtenidos con *Echoview*. Estos descriptores, descritos por Nero y Magnuson (1989), Weill *et al*. (1993), Scalabrin *et al*. (1996) y Diner (1998, 2001), son los siguientes:

- *1. Profundidad media*: Es la profundidad promedio del cardumen en la columna de agua, expresada en metros.
- S_v mean: Es la energía promedio o densidad media acústica producida por los píxeles que componen el cardumen, expresada en dB re 1 m⁻¹.
- 3. $S_v max$: Es la energía máxima S_v del cardumen, expresada en dB re 1 m⁻¹.
- 4. $S_v min$: Es la energía mínima S_v del cardumen, expresada en dB re 1 m⁻¹.
- Asimetría: Es el estadístico que usa para identificar si los datos de la energía acústica del cardumen se distribuyen de forma uniforme alrededor del punto central (media), expresada en dB re 1 m⁻¹.

fish, or school (MacLennan *et al.*, 2002; Simmonds and MacLennan, 2005).

The formulation for inertia and the center of gravity is described in Bez and Rivoirard (2001) and Woillez *et al.* (2007):

$$Inertia = \frac{\sum_{i=1}^{N} z_i \cdot (x_i - CG)^2}{\sum_{i=1}^{N} z_i}$$
$$CG = \frac{\int x \ z(x) dx}{\int z(x) dx}$$

Where: z_i is the NASC value of the anchoveta, X_i is the point in space (latitude or longitude) of the sample, and *CG* is the center of gravity. Inertia is constituted by an ellipse with a major diameter (latitudinal) and a minor diameter (longitudinal), and it is a measure of the dispersion of the group of individuals with respect to the center of gravity.

The vertical distribution of anchoveta schools was obtained via Echoview from the exports of the studied regions and classified according to three levels of abundance of volume backscatter strength (S_v), expressed in decibels (dB) relative to 1 m⁻¹, as given by the formula:

$S_v = 10 \log 10(S_v)$

Where: S_v is the volume backscattering coefficient (MacLennan *et al.*, 2002).

The descriptors of anchoveta schools were also obtained with Echoview. These descriptors were described by Nero and Magnuson (1989), Weill *et al.* (1993), Scalabrin *et al.* (1996) and Diner (1998, 2001). They include the following:

- *1. Mean depth* is the average depth of the school in the water column, expressed in meters.
- 2. S_v mean denotes the average energy or mean acoustic density produced by the pixels composing the school, expressed in dB re 1 m⁻¹.
- 3. $S_v max$ represents the maximum energy S_v of the school, expressed in dB re 1 m⁻¹.
- 4. $S_v \min$ corresponds the minimum energy S_v of the school, expressed in dB re 1 m⁻¹.
- 5. Asymmetry: This statistic is used to identify whether the acoustic energy data of the school are uniformly distributed around the central point (mean). It is expressed in dB re 1 m⁻¹.

- 6. *Curtosis*: Es el estadístico que mide la concentración de los valores S_v cerca de la media de la distribución formando un pico o por lo contrario una distribución alejada de la media mostrando una curva achatada formando colas, expresada en dB re 1 m⁻¹.
- Altura media: Es la altura promedio o medida de extensión de un cardumen a lo largo del eje del haz. La distancia media de las distancias superior e inferior a lo largo de cada ping que conforma el cardumen, es expresada en metros.
- 8. *Longitud*: Es la medida del largo del cardumen o distancia horizontal desde el primer ping hasta el último ping del cardumen, expresado en metros.
- 9. Área: Es el área del cardumen, expresado en metros cuadrados.
- Volumen del cardumen X3D: Es el estimado del volumen del cardumen, asumiendo una forma cilíndrica, expresada en metros cúbicos.
- 11. Perímetro: Es el perímetro del cardumen, expresado en metros.
- *12. Elongación:* Es un índice de la relación del largo y el alto del cardumen.
- *13. Dimensión fractal:* es un índice de la complejidad de forma del cardumen, donde un valor de 1 representa un contorno liso o cuadrado y mayor de 2 un contorno muy complejo.
- 14. Circularidad: Expresa la desviación de la forma de un círculo.
- *15. Rectangularidad:* Expresa la desviación de la forma de un rectángulo. Es un índice de la razón entre el área del rectángulo que podría ser formando por la altura y el largo del cardumen y el área observada del cardumen.
- 16. Image compactness: Indicador de la tendencia a la forma redonda de un cardumen. Es un estadístico que mide la razón entre el perímetro al cuadrado y el área observada del cardumen. Un cardumen circular perfecto tiene un IC de 1.

Programa informático

Los gráficos generados fueron realizados mediante el programa libre R versión 4.2.0 con el programa RStudio versión 2022.02.3. Fueron utilizados los paquetes: *EchoviewR* (Harrison *et al.*, 2015) y *AcousticR* (Pozada, en preparación).

- 6. *Kurtosis*: This statistic measures the concentration of S_v values near the mean of the distribution, forming a peak, or, conversely, a distribution far from the mean, showing a flattened curve forming tails. It is expressed in dB re 1 mm⁻¹.
- 7. *Mean height*: The average height or measure of the extension of a school along the beam axis. The average distance of the upper and lower distances along each ping that makes up the school is expressed in meters.
- 8. *Length*: The measure of the length of the school, or the horizontal distance from the first to the last ping of the school. It is expressed in meters.
- 9. Area: The area of the school, expressed in square meters.
- *10. School volume X3D*: The estimated volume of the school, assuming a cylindrical shape, expressed in cubic meters.
- *11. Perimeter*: The perimeter of the school, expressed in meters.
- *12. Elongation*: An index of the relationship between the length and height of the school.
- *13. Fractal Dimension*: An index of the shape complexity of the school, where a value of 1 represents a smooth or square contour, and a value greater than 2 indicates a highly complex contour.
- *14. Circularity* expresses the deviation of the shape from a circle.
- *15. Rectangularity* expresses the deviation of the shape from a rectangle. It is an index of the ratio between the area of the rectangle that could be formed by the height and length of the school and the observed area of the school.
- 16. Image compactness is an indicator of a school's tendency towards a round shape. It is a statistic that measures the ratio between the square of the perimeter and the observed area of the school. A perfectly circular school would have an image compactness (IC) value of 1.

Computer software

The generated graphics were created using the R version 4.2.0 (CITA) free software with RStudio version 2022.02.3. The packages used include *EchoviewR* (Harrison *et al.*, 2015) and *AcousticR* (Pozada, in preparation).

RESULTADOS

Distribución espacial

En la primera actividad (Activ 1), la distribución de anchoveta en la franja costera de 55.56 km (30 mn) fue principalmente densa; es decir, tuvo un amplio porcentaje de área (70 %) de altas concentraciones de cardúmenes a lo largo de la costa, localizados entre Punta La Negra-Casma y Huarmey-Chancay. A nivel longitudinal, fue amplia encontrada hasta 150.01 km (81 mn) de distancia a la costa en la zona de Punta La Negra y entre Pacasmayo-Chimbote, y costera hasta 114.82 km (62 mn) de la costa entre Huarmey-Callao.

En la segunda actividad (Activ 2), las áreas densas de anchoveta disminuyeron en la franja costera de 55.56 km (30 mn), éstas áreas de alta concentración se encontraron hasta 129.64 km (70 mn) de la costa de Salaverry-Huarmey. También, fue encontrado a 129.64 km (70 mn) de distancia a la costa de Pimentel en concentraciones dispersas. En general, las altas concentraciones fueron registradas principalmente entre Punta La Negra-Huarmey.

En la tercera actividad (Activ 3), la disminución de las áreas densas o de alta concentración de los cardúmenes de anchoveta fue mayor en la franja costera de 55.56 km (30 mn), fueron registrados núcleos densos en: Punta La Negra, Pimentel, Pacasmayo-Punta Chao y Huarmey-Supe. Por la cobertura de investigación, es notorio que la distribución de anchoveta sería más amplia en esta zona. En la cuarta actividad (Activ 4), se encontró la misma característica de la distribución de la anchoveta en la franja costera de 55.56 km (30 mn); es decir, con diversos núcleos de alta concentración distribuidos en Punta La Negra, Pimentel, Chicama, Salaverry-Punta Chao, Chimbote-Casma, Huarmey-Punta Bermejo y Huacho-Callao. También, por la cobertura de investigación la distribución de anchoveta sería más amplia en esta área.

En estas actividades de investigación fue observada la distribución continua de la anchoveta a lo largo de la costa en la zona evaluada, notándose similares características de amplias áreas de alta concentración en las actividades 1 y 2, y de reducidas concentraciones de áreas densas en las actividades 3 y 4, como consecuencia de la dispersión en estos meses del año. Con respecto a la inercia, que es una medida de dispersión de los datos ponderados de ecointegración, el diámetro longitudinal de la elipse fue más angosto en las actividades 3 y 4, debido a la cobertura de investigación; mientras que, el centro de gravedad se mantuvo en la zona central de Punta Chao (08° 46' S) (Figura 2).

RESULTS

Spatial distribution

In the first activity (Activ 1), the distribution of anchoveta along the 55.56 km (30 nm) coastal strip was primarily dense, *i.e.*, there was a large percentage of the area (70 %) with high concentrations of schools along the coast, located between Punta La Negra-Casma and Huarmey-Chancay. Longitudinally, the distribution was broad (found up to 150.01 km (81 nm) from the coast in the Punta La Negra area and between Pacasmayo-Chimbote) and coastal (up to 114.82 km (62 nm) from the coast between Huarmey-Callao).

In the second activity (Activ 2), the dense areas of anchoveta decreased along the 55.56 km (30 nm) coastal strip. High concentration areas were found up to 129.64 km (70 nm) off the coast from Salaverry-Huarmey. Furthermore, anchoveta was found in scattered concentrations 129.64 km (70 nm) off the coast of Pimentel. In general, high concentrations were primarily recorded between Punta La Negra-Huarmey.

In the third activity (Activ 3), there was a greater decrease in the dense or high concentration areas along the 55.56 km (30 nm) coastal strip. Dense clusters were recorded at Punta La Negra, Pimentel, Pacasmayo-Punta Chao, and Huarmey-Supe. Given the coverage of this research, it is notable that the distribution of anchoveta would be more extensive in this area. In the fourth activity (Activ 4), the same characteristics were found regarding anchoveta distribution along the 55.56 km (30 nm) coastal strip, *i.e.*, with various high concentration cores distributed at Punta La Negra, Pimentel, Chicama, Salaverry-Punta Chao, Chimbote-Casma, Huarmey-Punta Bermejo, and Huacho-Callao. Moreover, due to the research coverage, the distribution of anchoveta would be more extensive in this area.

In these research activities, a continuous distribution of anchoveta was observed along the coast in the evaluated area, showing similar characteristics in the form of extensive areas with high concentrations in activities 1 and 2 and reduced dense area concentrations in activities 3 and 4, as a result of dispersion during these months of the year.

Regarding inertia, which is a measure of dispersion of the weighted eco-integration data, the longitudinal diameter of the ellipse was narrower in activities 3 and 4, due to the coverage of the research. Meanwhile, the center of gravity remained in the central zone of Punta Chao (08° 46' S) (Figure 2).



Figura 2. Centro de gravedad e inercia de la distribución espacial de la anchoveta en las actividades de investigación realizados entre febrero y junio del 2022.

Figure 2. Center of gravity and inertia of the spatial distribution of anchoveta in the research activities conducted between February and June 2022.

Distribución vertical

Normalmente, la anchoveta habita en la capa superficial del mar, hasta 80 m de profundidad. En la Activ 1 se encontró entre 1.3 y 48.5 m de profundidad con una media en 8.6 m; en la Activ 2 se detectó entre 1.1 y 43.1 m, con una media en 8.7 m; en la Activ 3 fue registrada entre 1.3 y 49.0 m, con una media en 12.3 m, y en la Activ 4 se encontró a la mayor profundidad registrada, entre 1.3 y 81.36 m, con una media en 16.4 m, los cardúmenes más profundos fueron encontrados en los 07° S. En las Activ 1 y 2, se visualiza una mayor abundancia con un predominio de valores S_v entre -43 y -35 dB considerados como "Muy denso" de S_v ; mientras que, en las Activ 3 y 4 predominaron los valores de S_v entre -65 y -55 dB considerados como "Disperso" (Figura 3).

Características de los cardúmenes

El descriptor posicional profundidad media mostró que la anchoveta se ha mantenido en la capa superficial de 81 m. En los primeros meses del año se registró en la capa superficial de 49 m y entre junio-julio 2022 (Activ 4) a mayores profundidades.

Vertical distribution

Anchovetas typically inhabit the surface layer of the sea, down to 80 m in depth. In Activ 1, they were found between 1.3 and 48.5 m deep, with an average of 8.6 m. In Activ 2, they were detected between 1.1 and 43.1 m deep, with an average of 8.7 m. In Activ 3, they were recorded between 1.3 and 49.0 m deep, with an average of 12.3 m. Finally, in Activ 4, they were found at a greater recorded depth, *i.e.*, between 1.3 and 81.36 m deep, with an average of 16.4 m. The deepest schools were found at 07° S. In Activ 1 and 2, a higher abundance was observed, with a predominance of S_v values between -43 and -35 dB, which was deemed 'very dense', whereas, in Activ 3 and 4, the predominant S_v values were between -65 and -55 dB, regarded as 'disperse' (Figure 3).

Characteristics of the schools

The mean depth positional descriptor showed that anchovetas have remained in the surface layer (down to 81 m). In the first months of the year, they were recorded in the surface layer down to 49 m, and between June and July 2022 (Activ 4), they were found at greater depths.



Figura 3. Distribución vertical de los cardúmenes de anchoveta por grado de latitud clasificado por niveles de abundancia en las actividades comprendidas entre febrero-junio 2022. La línea suavizada de color gris indica el promedio de la distribución vertical. En el caso de la Activ 2 (Operación Eureka) entre los grados 07°-08° S y 11°-12° S las embarcaciones que participaron en estas zonas no tuvieron ecosondas digitales.

Figure 3. Vertical distribution of anchoveta schools by degree of latitude, classified by levels of abundance in the activities conducted from February to June 2022. The smoothed gray line indicates the average of the vertical distribution. In the case of Activ 2 (Operation Eureka) between $07^{\circ}-08^{\circ}$ S and $11^{\circ}-12^{\circ}$ S, the vessels that operated in these areas did not have digital echo sounders.

Los descriptores energéticos como S_v medio, asimitreia y curtosis fueron mayores en la Activ 1 (-49.0, 3.0 y 13.7, respectivamente) debido a la mayor concentración de individuos en el cardumen o densidad que normalmente ocurre en el verano, generando mayores capacidades reflectivas o energéticas comparadas con el invierno, en las cuales los cardúmenes no son tan compactos, como los observados en los resultados principalmente en la Activ 3 (-50.7, 2.6 y 13.3, respectivamente) y Activ 4 (-53.6, 2.5 y 12.0, respectivamente). En los descriptores morfométricos, también hubo diferencias en la estructura dimensional de los cardúmenes de anchoveta entre las Activ 1 y Activ 4, que fueron los extremos (finales de verano y otoño, respectivamente). Los descriptores longitud, área, volumen del cardumen y perímetro tuvieron mayores valores en la Activ 1 (63.8, 109.3, 185.8 y 333.3, respectivamente) con respecto a la Activ 4 (22.7, 54.1, 163.4 y 153.0, respectivamente), debido normalmente a que en el verano se genera la formación de mayores concentraciones y extensiones de los cardúmenes, cerca de la costa por el repliegue hacia la costa de las aguas costeras frías; mientras que, en el otoño e invierno los cardúmenes se dispersan y se alejan de la costa. En el caso de la variable Height mean, los valores promedio para cada actividad fueron similares, lo que indica que la altura del

The energy descriptors, *i.e.*, *mean S_v*, *asymmetry*, and kurtosis, were higher in Activ 1 (-49.0, 3.0, and 13.7, respectively) due to the higher concentration of individuals in the school or the density that typically occurs during the summer, generating higher reflective or energy capacities compared to winter, when the schools are not as compact, as observed in the results, mainly in Activ 3 (-50.7, 2.6, and 13.3, respectively) and Activ 4 (-53.6, 2.5, and 12.0, respectively). In the morphometric descriptors, there were also differences regarding the dimensional structure of anchoveta schools between Activ 1 and 4, which represented the extremes (the end of summer and autumn, respectively). The descriptors for length, area, school volume, and perimeter showed higher values in Activ 1 (63.8, 109.3, 185.8, and 333.3, respectively) in comparison with Activ 4 (22.7, 54.1, 163.4, and 153.0, respectively) typically because, in summer, there is a formation of larger concentrations and extensions of schools near the coast, due to the retreat of cold coastal waters towards the coast. In autumn and winter, however, the schools disperse and move away from the coast. For the mean height variable, the average values for each activity were similar, indicating that the average height of the school showed no significant differences. The elongation, rectangularity, and image cardumen en promedio no tuvo diferencias significativas. Con respecto a los descriptores *Elongation, Rectangularity* e *Image compactness* también fueron mayores en la Activ 1 (23.3, 2.7 y 102.5, respectivamente) con respecto a la Activ 4 (8.5, 2.4 y 50.9, respectivamente). Los coeficientes de variación (CV) de los descriptores acústicos también mostraron una alta dispersión estadística de los datos en la Activ 4, debido a la mayor variabilidad de los cardúmenes en cuanto a sus dimensiones (Tabla 1). compactness descriptors were also higher in Activ 1 (23.3, 2.7, and 102.5, respectively) compared to Activ 4 (8.5, 2.4, and 50.9, respectively). The coefficients of variation (CV) of the acoustic descriptors also showed a high statistical dispersion of data in Activ 4 due to the greater variability of the schools in terms of their dimensions (Table 1).

Tabla 1. Medidas de dispersión estadística de los descriptores acústicos de
los cardúmenes de anchoveta en las actividades de investigación realizadas
entre febrero-junio del 2022. CV es el coeficiente de variación.

Table 1. Statistical dispersion measures of the anchoveta schools' acousticdescriptors for the research activities conducted between February and June2022. CV denotes the coefficient of variation.

	Descriptores / Descriptors	Activ 1			Activ 2		Activ 3		Activ 4				
#		Min/Max	Prom / Mean	CV	Min /Max	Prom / Mean	CV	Min /Max	Prom / Mean	CV	Min /Max	Prom / Mean	CV
	Posicional / Positional												
1	Profundidad media / Average depth	1.3 / 48.5	8.6	0.5	1.1 / 43.1	8.7	0.6	1.3 / 49.0	12.3	0.5	1.3 / 81.36	16.4	0.7
	Energéticos / Energetics												
2	Sv promedio / Sv mean	-65.5 / -36.5	-49.0	-0.1	-84.8 / -31.7	-50.6	-0.2	-67.9 / -31.4	-50.7	-0.1	-67.9 / -34.4	-53.6	-0.1
3	Sv max	-62 / -30.2	-39.5	-0.1	-80 / -25.6	-43.2	-0.2	-63.2 / -25.0	-42.2	-0.2	-64.8 / -26.62	-45.4	-0.2
4	Sv min	-67.9 / -46.9	-65.8	-0.1	-84.9 / -41.9	-63.0	-0.1	-67.9 / -47.0	-64.8	-0.1	-67.9 / -41.77	-66.0	0.0
5	Asimetría / Asymmetry	-0.8 / 24.9	3.0	0.6	-1.4 / 36.6	2.4	0.8	-0.6 / 30.5	2.6	0.8	-1.2 / 56.7	2.5	0.8
6	Curtosis / Kurtosis	-1.7 / 917.3	13.7	1.9	-2.1 / 1553.8	10.6	3.2	-1.9 / 1503.6	13.3	3.4	-1.8 / 4057.5	12.0	4.2
	Morfométricos / Morphometrics												
7	Altura media / Average height	0.1 / 17.3	1.3	0.8	0.2 / 21.6	1.1	0.9	0.1 / 22	1.3	0.9	0.2 / 22.6	1.4	1.0
8	Longitud / Length	0.6 / 3229.1	63.8	1.7	1.1 / 6638.1	26.4	3.2	1 / 2506	27.2	2.6	1 / 4073.3	22.7	3.3
9	Area	0.1 / 18858.2	109.3	4.1	1 / 27038.2	47.4	7.1	1 / 8269.8	58.0	5.0	1 / 15134.3	54.1	6.7
10	Volumen del cardumen / Shoal volume (X3D)	0 / 136010.3	185.8	11.8	0.1 / 84520.8	112.3	11.5	0.1 / 72638.0	151.9	9.1	0.1 / 142075.0	163.4	12.8
11	Perímetro / Perimeter	4.6 / 27286.7	333.3	2.4	3.6 / 36389.2	131.6	4.1	3.8 / 15975.7	16.8	3.3	4.3 / 33463.6	153.0	4.6
12	Elongación / Elongation	0.3 / 236	23.3	0.7	0.2 / 799.3	9.8	1.1	0.3 / 209.8	9.5	1.0	0.1 / 539.6	8.5	1.2
13	Dimensión fractal / Fractal dimension	-57.2 / 400.7	2.3	2.2	-0.5 / 280.4	2.9	1.7	-1.7 / 1862.3	3.2	5.8	1 / 5354.6	3.7	11.9
14	Circularidad / Circularity	0 / 0.4	0.0	1.0	0 / 1.2	0.1	1.1	0 / 1.1	0.1	1.2	0 / 0.8	0.1	1.1
15	Rectangularidad / Rectangularity	1 / 14.5	2.7	0.3	1 / 9.4	2.6	0.4	0.9 / 17.6	2.5	0.5	1 / 16.0	2.4	0.4
16	Compactación de imagen / Image compaction	2.4 / 4538.0	102.5	1.7	0.7 / 36673.5	42.8	6.6	0.8 / 5321.3	53.3	2.5	1.2 / 19863.1	50.9	4.2

156

Estructura de tallas

En general, en el primer semestre de 2022 la anchoveta presentó una amplia distribución espacial en la región norte-centro, principalmente entre Paita-Bahía Independencia dentro de 111.12 km (60 mn) de la costa, encontrándose grupos modales principalmente de individuos juveniles (< 12.0 cm de longitud total-LT); así como, una superposición de ejemplares adultos y juveniles. Se encontró que en la zona de la Activ 1 se observó 89 % de la biomasa total de la región norte-centro del litoral peruano; la anchoveta presentó un rango de tallas de 4.5 a 16.5 cm de LT, con presencia de tres grupos modales, teniendo como principal el de 8.5 cm de LT, y secundarios en 6.5 y 12.5 cm de LT. Ante esta situación, se recomendó el aplazamiento del inicio de la primera temporada de pesca de anchoveta de 2022 en la región norte-centro y la realización de una prospección para observar algún cambio en la distribución y comportamiento del recurso.

En la Activ 2, se observó el crecimiento somático de los grupos modales observados en la Activ 1. El grupo modal principal fue de 10.0 cm de LT y los grupos secundarios en 8.0 cm y 13.0 cm de LT; además de evidenciar un núcleo en 11.5 cm que posiblemente correspondió a una fracción traslapada en el grupo principal de 8.00 cm de LT registrado en la Activ 1, con moda en 10.0 cm de LT.

En la Activ 3, también fue registrado el crecimiento de los grupos modales, observándose una moda principal en 9.5 cm de LT correspondiente al crecimiento de grupo modal de 8.0 cm registrado en la Activ 2, y como grupos secundarios 12.0 cm y 13.5 cm de LT. Igualmente se detectó el ingreso de una nueva cohorte de 7.0 cm de LT proveniente de la prolongación del desove de verano del 2022. En la Activ 4, se evidenció un amplio rango de tallas, con tres grupos modales bien definidos, registrando el crecimiento de la nueva cohorte a 8.5 cm de LT, del grupo modal principal de la prospección a 10.5 cm de LT y de la moda secundaria de 12.0 y 12.5 cm de LT. En las cuatro (4) actividades de investigación se registró la superposición de individuos juveniles y adultos, comportamiento que se continuó hasta finalizar la primera temporada de pesca de anchoveta del 2022 (Figura 4).

Comparación de la biomasa de la anchoveta

El comportamiento estacional de la anchoveta fue reflejado en su biomasa en la zona costera. Las abundancias disminuyeron en las áreas isoparalitorales costeras con respecto a la Activ 1; en las que se obtuvieron el 60.46 % de la biomasa total en la franja costera de 37.04 km (20 mn)

Size structure

In general, in the first half of 2022, the anchoveta showed a broad spatial distribution in the north-central region, mainly between Paita and Bahía Independencia within 60 nm of the coast, with modal groups primarily of juvenile individuals (< 12.0 cm in total length, TL) and an overlap of adult and juvenile specimens. It was found that, in the area of Activ 1, 89 % of the total biomass of the north-central Peruvian littoral region was observed. The anchovetas exhibited a size range of 4.5 to 16.5 cm TL, with the presence of three modal groups, the main one being 8.5 cm TL and the secondary ones at 6.5 and 12.5 cm TL. In light of the above, it was recommended that the start of the first anchoveta fishing season of 2022 be postponed in the north-central region and that a survey be conducted to observe any changes in the distribution and behavior of the resource.

In Activ 2, somatic growth was noted in the modal groups observed in Activ 1. The main modal group was at 10.0 cm TL, with secondary groups at 8.0 cm and 13.0 cm TL. Additionally, a nucleus at 11.5 cm was observed, which likely corresponded to a fraction overlapped in the main 8.00 cm TL group recorded in Activ 1, with a mode at 10.0 cm TL.

In Activ 3, there was also a recorded growth in the modal groups, with a main mode observed at 9.5 cm TL, corresponding to the modal group growth of 8.0 cm recorded in Activ 2, as well as secondary groups at 12.0 cm and 13.5 cm TL. Additionally, the entry of a new 7.0 cm TL cohort was noted, which stemmed from the extended spawning period of summer 2022. In Activ 4, a wide range of sizes was observed, with three well-defined modal groups. The growth of the new cohort to 8.5 cm TL, the main modal group from the survey to 10.5 cm TL, and the secondary mode at 12.0 and 12.5 cm TL were recorded. In the four research activities, an overlap of juvenile and adult individuals was recorded. This behavior continued until the end of the first anchoveta fishing season of 2022 (Figure 4).

Comparison of anchoveta biomass

The seasonal behavior of the anchoveta was reflected in its biomass in the coastal area. The abundances decreased in the coastal isoparalittoral areas when compared to Activ 1, where 60.46 % of the total biomass was obtained in the 20 nm coastal strip (total biomass estimated at 10.2 million tons). In Activ 1, a biomass of 6.86 million tons was estimated only in the studied isoparalittoral areas,



Figura 4. Estructura de tallas de anchoveta observadas en las actividades científicas desarrolladas en el primer semestre del 2022. R: rango, M: moda y J: juveniles. La línea azul representa a las estructuras obtenidas en cada actividad y la línea roja continuaes la estructura de tallas calculadas con el programa FiSAT.La línea punteda roja indica 12 cm, que es la que divide la anchoveta juvenil y adulta.

Figure 4. Size structure of anchoveta observed in the scientific activities conducted in the first half of 2022. R: range, M: mode, and J: juveniles. The blue line represents the structures obtained in each activity, and the continuous red line is the size structure calculated with the FiSAT software. The dotted red line indicates 12 cm, which is the threshold dividing juvenile and adult anchovetas.

(biomasa total estimada en 10.2 millones de toneladas). En la Activ 1, fue estimada una biomasa de 6.86 millones de toneladas solamente en las áreas isoparalitorales investigadas; mientras que en la Activ 4 fue estimada en total 3 millones de toneladas, en las mismas áreas isoparalitorales.(Figura 5). Esta reducción correspondió a 43.80 %, de lo encontrado en la Activ 1, siendo entre los 09° 30' y 10° 00' S la biomasa más baja con 17.85 % obtenida en la Activ 4; que indicó, una disminución de la abundancia por la migración de la anchoveta hacia áreas alejadas de la costa y hacia el sur, por el incremento de la biomasa obtenida entre 11° 30' y 12° 00' S con 176.88 %. whereas, in Activ 4, a total of 3 million tons was estimated for the same areas (Figure 5). This reduction corresponds to 43.80 % of what was found in Activ 1. The lowest biomass, at 17.85 %, was recorded between 09° 30' and 10° 00' S in Activ 4. This indicated a decrease in abundance due to the migration of anchoveta away from the coast and southwards, because of the increase in biomass obtained between 11° 30' and 12° 00' S, with 176.88 %.



Figura 5. Comparación de los estimados de biomasa de anchoveta para cada área isoparalitoral determinados en la Activ. 1 y en la Activ. 4, entre febrero y junio de 2022. Se muestran las biomasas por cada área isoparalitoral que fueron muestreadas por ambas actividades (1 y 4) y la sumatoria de biomasa por cada medio grado de latitud.

Figure 5. Comparison of estimated anchoveta biomass for each isoparalittoral area determined in Activ 1 and 4 between February and June 2022. The figure displays the biomasses for each isoparalittoral area sampled in both activities and the cumulative biomass for each half degree of latitude.

Condiciones oceanográficas superficiales

Las variables ambientales de TSM, SSM y clorofila-*a*, durante los meses de febrero a junio de 2022, mostraron condiciones frías que se mantuvieron, produciendo el estado "Alerta de La Niña Costera", de acuerdo a los comunicados del ENFEN (Estudio Nacional del Fenómeno El Niño). La TSM se encontró por debajo de los valores normales, al sur de Punta La Negra (06° 00' S) entre los meses de febrero-marzo mostraron valores entre 18 y 24 °C, obteniéndose anomalías de TSM hasta -2 °C; posteriormente, entre los meses de abril-junio se obtuvieron valores entre 16 y 20 °C, la anomalía de TSM mostró continuidad de un escenario frio con mayor intensidad entre los 04° y 12° S (-1.0 a 3.5 °C). Estas condiciones frías fueron intensificándose paulatinamente en los meses analizados.

Surface oceanographic conditions

The SST, SSS, and chlorophyll-*a* from February to June 2022 indicated cold conditions that persisted, leading to a La Niña Coastal Alert, according to reports from ENFEN (National Study of El Niño Phenomenon). The SST was found to be below normal values south of Punta La Negra (06° 00' S) between February and March, ranging between 18 and 24 °C, implying SST anomalies of up to -2 °C. Subsequently, between April and June, the values ranged between 16 and 20 °C, and the SST anomaly continued to indicate a colder scenario, with greater intensity between 04° and 12° S (-1.0 to 3.5 °C). These cold conditions gradually intensified over the months analyzed. La SSM entre los meses febrero-marzo se mantuvo el predominio de las aguas costeras frías (ACF) dentro de las 111.12 km (60 mn) de a costa y alejada de la costa se observó un acercamiento de las aguas subtropicales superficiales (ASS) en la zona central; en los meses siguientes, se observó una disminución paulatina de la cobertura de las ACF, que generó una mayor presencia de aguas de mezcla con las ASS, las cuales presentaron un mayor acercamiento hacia la costa entre Chimbote-Callao, con valores mayores a 35.1.

En cuanto a la productividad marina, la concentración de clorofila-*a* indicador de la producción de fitoplancton, en los meses de febrero y marzo entre los 07° y 14° S presentó concentraciones que variaron entre 2.0 a 25.0 mg.m⁻³ siendo mayores a su patrón climatológico; posteriormente, en los meses siguientes estos valores fueron decreciendo hasta registrarse en junio entre 1 y 3 mg.m⁻³, con algunos núcleos de mayores concentraciones en el sur hasta 10 mg.m⁻³ (Callao-Pisco y Atico-Ilo). Para la franja costera de 100 km la concentración promedio de clorofila-*a* desde febrero a junio de 2022 en la zona estudiada tendió a disminuir variando ligeramente por debajo de su patrón climatológico (Figura 6).

The SSS from February to March showed a predominance of cold coastal waters (CCW) within 60 nm of the coast. Further away from the coast, there was a noticeable approach of surface subtropical waters (SSW) in the central area. In the following months, there was a gradual decrease in the coverage of the CCW, leading to a greater presence of waters mixed with the SSW, which showed an increased proximity to the coast between Chimbote and Callao, with values exceeding 35.1.

Regarding marine productivity, the chlorophyll-*a* concentration, an indicator of phytoplankton production, showed variations between February and March in 07-14° S, ranging from 2.0 to 25.0 mg/m³, which were higher than the climatological pattern. Subsequently, in the following months, these values decreased, reaching between 1 and 3 mg/m³ in June, with some areas of higher concentration (up to 10 mg/m³) in the south (Callao-Pisco and Atico-Ilo). For the 100 km coastal strip, the average concentration of chlorophyll-*a* from February to June 2022 tended to decrease in the studied area, slightly varying below its climatological pattern (Figure 6).



Figura 6. Distribución mensual de la temperatura superficial del mar (SST en °C), salinidad superficial del mar (SSS) y clorofila-a superficial (Chl-a en mg.m-3) de febrero a junio de 2022. La línea negra es el contorno de la distribución de la anchoveta encontrada en la actividad correspondiente al mes realizado.

Figure 6. Monthly distribution of sea surface temperature (SST in °C), sea surface salinity (SSS), and surface chlorophyll-*a* concentration (Chl-*a* in mg.m³) from February to June 2022. The black line outlines the distribution of anchovetas found per month.

DISCUSIÓN

Chirichigno v Vélez (1998) consideraron que la población de anchoveta se encuentra estructurada en dos stocks distribuidos en diferentes regiones: uno frente al nortecentro de Perú (04° 30'-16° 00' S) y otra región compartida frente al sur del Perú y el norte de Chile (16° 01'-24° 00' S), siendo la región norte-centro la más importante por las altas abundancias encontradas (Ñiguen et al., 2000) y en las cuales se establecen las dos temporadas de pesca que se ejecutan cada año. La primera temporada de pesca 2022 de los recursos anchoveta y anchoveta blanca (samasa), fue condicionada con disposiciones de limitación extractiva entre las latitudes 06° 00' y 10° 59' S (Produce, 2022a), debido a la alta presencia de ejemplares juveniles encontrada en esta área, principalmente en la franja de las 55.56 km (30 mn) de la costa. Los resultados de las actividades de investigación analizadas en esta zona, mostraron que la anchoveta tuvo comportamientos distribucionales habituales propias de la estación; en las Activ 1 y 2, se encontraron formando áreas de alta concentración cerca de la costa en el litoral analizado, lo que generó cardúmenes compactos de altas densidades con mayores capacidades energéticas o reflectividad acústica (S_{ν}) y morfométricamente de amplias dimensiones o extensiones (Corrected length, Corrected área, X 3D school volumen, *Corrected perimeter, Elongation, Rectangularity e Image* compactness). En las Activ 3 y 4, realizadas en el otoño, los cardúmenes de anchoveta migraron hacia áreas alejadas de la costa por la amplitud de las ACF, originando una disgregación de las áreas densas o dispersión de los cardúmenes, lo que se ha descrito por varios investigadores (Swartzman et al., 2008; Bertrand et al., 2011; Castillo et al., 2018). En estas distribuciones prevalecieron las áreas dispersas constituidos por cardúmenes de menor capacidad energética y de menor capacidad morfométrica.

La mayor profundización de la distribución vertical de anchoveta encontrada en la Activ 4, fue debido al oxígeno con valores cercanos a 0.5 mL L^{-1} [la ZMO fue registrada entre entre 55.56 y 148.16 km (30 y 80 mn) de la costa]. La identificacion de los grupos modales en la estructura de tallas de la anchoveta mostró el crecimiento somatico normal del recurso desde la Activ 1 hasta la Activ 4. La primera temporada de pesca fue sustentada por el ultimo grupo modal, de 12.5 cm de LT, observado durante la Activ 1, aunque con una gran incidencia de juveniles. Debido a la persistente superposición de adultos y juveniles en la zona evaluada, se implentaron medidas de manejo orientadas a proteger los juveniles mediante el cierre oportuno de áreas

DISCUSSION

Chirichigno and Vélez (1998) considered that the population of anchovetas is structured in two stocks distributed in different regions: one off the north-central coast of Peru (04° 30'-16° 00' S) and another in the region shared by southern Peru and northern Chile (16° 01'-24° 00' S). The north-central region is deemed more significant due to the higher abundances found there (Niquen et al., 2000). It is there that the two annual fishing seasons are established and conducted. The first fishing season of 2022 for anchoveta and white anchovy (samasa) resources was subject to extraction limitations between the 06° 00' and 10° 59' S latitudes (Produce, 2022a), given the high presence of juvenile specimens found in this area, especially within the 55.56 km (30 nm) strip off the coast. The results of the research activities analyzed in this zone showed that the anchoveta exhibited usual distributional behaviors which were characteristic of the season. In Activ 1 and 2, they were found forming areas of high concentration near the coast in the analyzed littoral zone, leading to high-density compact schools with greater energy capacities or acoustic reflectivity (Sv) and morphometrically of wide dimensions or extensions (corrected length, corrected area, X 3D school volume, corrected perimeter, elongation, rectangularity, and image compactness). In Activ 3 and 4, conducted in autumn, the anchoveta schools migrated towards areas further from the coast due to the extent of the CCW, causing a dispersion of the dense areas, or scattering of the schools, as described by various researchers (Swartzman et al., 2008; Bertrand et al., 2011; Castillo et al., 2018). In these distributions, dispersed areas prevailed, consisting of schools with lower energy capacity and smaller morphometric capacity.

The greater depth in the vertical distribution of anchoveta found in Activ 4 was due to oxygen, whose values were close to 0.5 mL L⁻¹ (the OMZ was recorded between 30 and 80 nm off the coast). The identification of modal groups in the size structure of anchoveta showed the normal somatic growth of the resource from Activ 1 to Activ 4. The first fishing season was supported by the last modal group, measuring 12.5 cm TL and observed during Activ 1, although there was a significant presence of juveniles. Due to the persistent overlap of adults and juveniles in the evaluated area, management measures were implemented, in order to protect the juveniles through the timely closure of marine areas to the extraction activity of the purse seine fleet. Regarding the estimated biomass in Activ 1 and 4, a reduction was observed in the latter, due to marinas a la actividad extractiva de la flota de cerco. Con respecto a la biomasa estimada en las Activ 1 y 4, esta mostró una reducción en la Activ 4, debido a la limitación del área investigada principalmente en la franja costera de 55.56 km (30 mn), cuya distribución longitudinal de su distribución sería mayor a esta, por la temperatura fría registrada en los meses de mayo y junio de 2022.

Los niveles de concentración de la distribución y abundancia de la anchoveta encontrada en este semestre de 2022 fueron debidos a las condiciones oceanográficas; en febrero y marzo (Activ 1) hubo una alta concentración de anchoveta por el predominio de las ACF y una alta concentración de clorofila-a por encima del patrón climatológico. A fines de abril (Activ 2) esta característica fue similar a lo observado en la Activ 1, a pesar de que las condiciones ambientales estaban en proceso de cambio. Finalmente en mayo y junio (Activ 3 y Activ 4) el nivel de concentración de la distribución en la zona costera fue principalmente dispersa, por la ampliación hacia áreas alejadas de la costa, característica habitual del comportamiento de la anchoveta; a pesar que en estos meses fue observado en la zona de Chimbote-Callao un acercamiento de las ASS (por los valores mayores a 35.1) hacia la costa, y también por los bajos niveles de clorofila-a. Castillo et al. (2022) mencionan que la anchoveta se encuentra distribuida en dos zonas, una zona optima dada principalmente por las ACF y una de estrés fisiológico determinada por las aguas de mezcla de las ACF y aguas ecuatoriales superficiales en el norte, y por las ACF y ASS principalmente hacia el sur de 06° S, en esta zona de estrés la anchoveta se encontró hasta temperaturas menores a 25.0 °C y salinidades menores a 35.29. Por ello una parte de su distribución estaría por fuera de 55.56 km (30 mn) de la costa en las Actividades 3 y 4.

Durante la temporada de pesca iniciada el 4 de mayo de 2022 (considerando la pesca exploratoria, previa al inicio de temporada propiamente dicha) y finalizada el 24 de julio de 2022, se capturaron 2.34 millones de toneladas (84.06 % de la cuota total asignada), lo cual generará alrededor de US\$ 1 000 millones en divisas al país. Los puertos con los mayores desembarques fueron: Chimbote (588 000 toneladas), Callao (283 000 toneladas), Coishco (260 000 toneladas) y Malabrigo (231 000 toneladas), efectuándose el cierre espacio-temporal de 150 áreas y tres cierres preventivos adicionales de aproximadamente 20 días cada uno con la finalidad de proteger el recurso juvenil.

La finalización de la temporada de pesca fue por recomendación de Imarpe señalada en el "Informe sobre el

the limitations of the studied area, primarily in the coastal strip of 55.56 km (30 nm). Its longitudinal distribution could be greater, considering the cold temperatures recorded in May and June 2022.

The concentration levels and abundance of anchoveta distribution in the first half of 2022 were influenced by oceanographic conditions. In February and March (Activ 1), there was a high concentration of anchoveta due to the predominance of CCW and a high concentration of chlorophyll-a, above the climatological pattern. By the end of April (Activ 2), the situation was similar to that observed in Activ 1, despite the changing environmental conditions. Finally, in May and June (Activ 3 and 4), the concentration of the distribution in the coastal zone was mainly disperse due to expansion towards areas farther from the coast, a typical behavior of anchovetas, despite the fact that, during these months, an approach of SSW towards the coast was observed in the Chimbote-Callao area (indicated by values over 35.1), along with low levels of chlorophyll-a. Castillo et al. (2022) note that the anchoveta is distributed in two zones: an optimal zone, mainly influenced by CCW, and a zone of physiological stress, determined by the mixing of CCW and surface equatorial waters in the north as well as of CCW and SSW mainly towards the south of 06° S. In this stress zone, the anchoveta was found at temperatures lower than 25.0 °C and salinities lower than 35.29. Therefore, a part of their distribution during Activ 3 and 4 would be beyond the 30 nm off the coast.

During the fishing season that began on May 4, 2022 (including the exploratory fishing prior to the official start of the season) and ended on July 24, 2022, a total of 2.34 million tons of fish were caught (84.06 % of the total assigned quota), which will generate around US\$ 1000 million in foreign exchange for the country. The ports with the highest landings were Chimbote (588,000 tons), Callao (283,000 tons), Coishco (260,000 tons), and Malabrigo (231,000 tons). To protect the juvenile fish resource, spatial-temporal closures of 150 areas and three additional preventive closures of approximately 20 days each were implemented.

The conclusion of the fishing season was based on a recommendation made by Imarpe, as stated in their *Report on the development of the anchoveta fishery during the first fishing season of 2022 in the north-central region of the Peruvian sea as of July 17, 2022*, as the expected juvenile incidence limit (15.4 %) of the anchoveta resource was reached. As of the date of this report, it was indicated desarrollo de la pesquería de anchoveta durante la primera temporada de pesca 2022 en la región norte-centro del mar peruano al 17 de julio de 2022", debido al cumplimiento del límite esperado de incidencia de ejemplares juveniles del recurso anchoveta (15.4 %). A la fecha de este informe, se indicó que "las capturas de anchoveta en la Región Norte-Centro estuvieron conformadas por individuos con tallas que abarcaron desde 7.0 a 17.0 cm de LT, con moda principal en 12.0 cm LT". También se indicó que "la incidencia de ejemplares juveniles alcanzó el 25.94 % en número y 17.20 % en peso"; y de acuerdo "al 17 de julio, se registra el 95 % de la captura prevista de juveniles de anchoveta (405 990 toneladas) para la Primera Temporada de Pesca 2022 de la Región Norte-Centro y considerando el ritmo de captura de juveniles más reciente de 3 455 toneladas de Juv/día, toda la flota cumpliría la cuota de juveniles al 22 de julio"; recomendando suspender las actividades extractivas a fin de proteger el reclutamiento o la alta tasa de juveniles. Sobre esta incidencia de captura de juveniles, Zhou, et al. (2019) mencionan que capturar individuos grandes desequilibra al ecosistema y tener una pesca proporcional o equilibrada (captura de pequeños, medianos y grandes) puede reducir el impacto de la pesca en la estructura del ecosistema (reducir la interrupción del sistema trófico natural en la estructura de las poblaciones) y mantener o aumentar el rendimiento agregado.

Es conveniente mencionar que la industria pesquera constituida por la SNP desde el 2017 se encuentra en proceso de certificación internacional por el *Marine Stewardship Council* (MSC) de la pesquería de anchoveta para el Consumo Humano Indirecto. Por otro lado, la metodología de evaluación hidroacústica que realiza el Imarpe desde 2021 se encuentra en proceso de certificación establecida por el ICES (International Council for the Exploration of the Sea) y certificación ISO 9001, con la finalidad de garantizar los procesos y/o metodologías que se utilizan para estimar la biomasa, en el marco de la sostenibilidad de la pesquería de la anchoveta.

CONCLUSIONES

En los meses de marzo y abril de 2022 la anchoveta tuvo una distribución principalmente concentrada con altas abundancias, mientras que en mayo y junio se encontró generalmente dispersa por su migración longitudinal hacia áreas alejadas de la costa, comportamiento habitual de la anchoveta.

Verticalmente, la anchoveta se encontró principalmente en la capa superficial de 50 m, aunque en

that "the catches of anchoveta in the North-Central Region were composed of individuals with sizes ranging from 7.0 to 17.0 cm TL, with the main mode at 12.0 cm TL". It was also reported that "the incidence of juvenile specimens reached 25.94 % in number and 17.20 % in weight", and that, "as of July 17, 95 % of the planned juvenile anchoveta catch (405990 tons) for the First Fishing Season 2022 of the North-Central Region was recorded, and, considering the most recent rate of juvenile catch, *i.e.*, 3455 tons of Juv/ day, the entire fleet would meet the juvenile quota by July 22", which is why the suspension of extraction activities was recommended in order to protect the recruitment or high rate of juveniles. Regarding this incidence of juvenile catches, Zhou, et al. (2019) mention that catching large individuals unbalances the ecosystem, and that having a proportional or balanced fishery (catching small, medium, and large individuals) can reduce the impact of fishing on the ecosystem structure (reducing the disruption of the natural trophic system in the population structure) and maintain or increase the overall yield.

It is convenient to note that the fishing industry, constituted by the SNP in 2017, is in the process of receiving an international certification by the *Marine Stewardship Council* (MSC) regarding anchoveta fishery for indirect human consumption. On the other hand, the hydroacoustic assessment methodology implemented by Imarpe since 2021 is undergoing certification by the ICES (International Council for the Exploration of the Sea) and according to the ISO 9001 norm, aiming to provide guarantees regarding the processes and methodologies used for estimating biomass in the context of sustainable the anchoveta fishery.

CONCLUSIONS

In March and April 2022, the anchovetas exhibited a primarily concentrated distribution with high abundances, while, in May and June, they were generally found dispersed due to their longitudinal migration towards areas farther from the coast. This dispersion is a typical behavior of the anchoveta species.

Vertically, the anchoveta was primarily found in the surface layer, down to 50 m deep, although, in the months of May and June, it was found at depths of up to 81 meters due to the presence of SSW near the coast.

The high concentration of anchoveta schools resulted in higher values of energy descriptors (average S_{v} , asymmetry, and kurtosis) and morphometric descriptors

mayo y junio se encontró hasta 81 m por la presencia de las ASS cerca de la costa.

La alta concentración de los cardúmenes de anchoveta generó mayores valores de los descriptores descriptores energéticos (S_v promedio, asimetria y curtosis) y morfométricos (*longitud, área*, volumen del cardumen X 3D y perímetro); mientras que una dispersión de los cardúmenes generó menores valores de los descriptores energéticos y morfométricos.

En el primer semestre de 2022, en la franja costera de 55.56 km (30 mn) de la costa de la región norte-centro hubo una alta superposición de juveniles con adultos de anchoveta, registrándose su normal crecimiento somático observada entre la Activ 1 y la Activ 4. El grupo modal principal de 8.5 cm pasó a 12.0 cm de LT en la Activ 4; de igual manera, el grupo modal secundario de 6.5 cm llegó a la última actividad, con moda principal en 10.5 cm de LT y, finalmente el grupo modal de 12.5 cm alcanzó los 13.5 cm de LT.

El comportamiento estacional de la anchoveta se vio reflejado en su biomasa en la zona costera, en la Activ 1 fue estimada una alta biomasa en la zona costera con 6.86 millones de toneladas, y en la Activ 4 tan solo 3.00 millones de toneladas en las mismas áreas isoparalitorales, debido a la alta dispersión.

Las altas biomasas encontradas en la Activ 1 fueron favorecidas por las condiciones oceanográficas, principalmente por las ACF y la alta productividad de acuerdo con la clorofila-*a*.

En la primera temporada de pesca de la anchoveta se registró en las capturas una alta incidencia de juveniles, determinándose un gran número de cierres espacio-temporales en la zona con la finalidad de proteger el recurso.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al personal que ha contribuido en las gestiones administrativas y/o técnicas de estas actividades de investigación de la Dirección General de Investigaciones en Hidroacústica, Sensoramiento Remoto y Artes de Pesca (Dgihsa) del Imarpe como: Ketty Ferrel, Cynthia Gonzales, Néstor Saavedra, Jairo Calderón, William Calderón, Marisella Posada, Daniel Grados y Naldi Herrera. De igual forma, a los Físicos Han Xu y Edward Alburquerque por el procesamiento de las imágenes satelitales. (length, area, 3D school volume, and perimeter). Conversely, a dispersion of the schools led to lower values in both energy and morphometric descriptors.

During the first half of 2022, in the 55.56 km (30 nm) coastal strip of the north-central region, there was a high overlap of juvenile and adult anchovetas, with normal somatic growth observed from Activ 1 to Activ 4. The main modal group, at 8.5 cm TL, grew to 12.0 cm TL in Activ 4. Similarly, the secondary modal group, at 6.5 cm, reached the last activity with a main mode at 10.5 cm TL. Finally, the modal group initially at 12.5 cm reached 13.5 cm TL.

The seasonal behavior of the anchoveta was reflected in its biomass in the coastal area. In Activ 1, a high biomass was estimated in the coastal zone, at 6.86 million tons; while, in Activ 4, it was only 3.00 million tons in the same isoparalittoral areas due to high dispersion.

The high biomasses found in Activ 1 were favored by oceanographic conditions, mainly by the CCW and high productivity, as indicated by the chlorophyll-*a* concentration.

In the catches of the first anchoveta fishing season, a high incidence of juveniles was reported, leading to numerous spatial-temporal closures in the area, with the aim of protecting the resource.

ACKNOWLEDGEMENTS

We extend our gratitude to the staff who contributed to the administrative and technical management of these research activities from Imarpe's General Directorate of Hydroacoustic Research, Remote Sensing, and Fishing Arts (DGIHSA), including Ketty Ferrel, Cynthia Gonzales, Néstor Saavedra, Jairo Calderón, William Calderón, Marisella Posada, Daniel Grados, and Naldi Herrera. Similarly. We thank physicists Han Xu and Edward Alburquerque for processing the satellite images.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Bertrand, A., F. Gerlotto, S. Bertrand, M. Gutiérrez, L. Alza, A. Chipollini, E. Diaz, P. Espinoza, J. Ledesma, R. Quesquén, S. Peraltilla and F. Chávez. 2008. Schooling behaviour and environmental forcing in relation to anchoveta distribution: an analysis across multiple spatial scales. Prog. Oceanogr., 79: 264-277.
- Bertrand A., A. Chaigneau, S. Peraltilla, J. Ledesma, M. Graco, F. Monetti and F. Chávez. 2011. Oxygen: A fundamental property regulating pelagic ecosystem structure in the coastal southeastern tropical Pacific. PLoS ONE 6(12): e29558. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029558
- Bez, N. and J. Rivoirard. 2001. Transitive geostatistics to characterize spatial aggregations with diffuse limits: an application on mackerel ichtyoplankton. Fish. Res., 50: 41–58. https://doi.org/10.1016/S0165-7836(00)00241-1
- Bouchón, M. 2018. La pesquería de anchoveta en Perú. Tesis Doct. Cienc. Mar Biol. Apl., Univ. Alicante, España. 131 p.
- Castillo, P.R., S. Peraltilla, A. Aliaga, M. Flores, M. Ballón, J. Calderón y M. Gutiérrez. 2011. Protocolo técnico para la evaluación acústica de las áreas de distribución y abundancia de recursos pelágicos en el mar peruano. Bol. Inst. Mar Perú, 36(1-2): 7–28.
- Castillo, P., L. Madureira, J. Marangoni, F. Gerlotto and R. Guevara-Carrasco. 2015. Variability in distribution and aggregation behavior of the Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) analyzed using a fifteen-year long series of acoustic surveys (2000–2014). Acoustics, 1-9. https://doi.org/10.1109/ RIOAcoustics.2015.7473636
- Castillo, R., L. Dalla Rosa, W. García, L. Madureira, M. Gutiérrez, L. Vásquez and R. Koppelmann. 2018. Anchovy distribution off Peru in relation to abiotic parameters: A 32-year time series from 1985 to 2017. Fish. Oceanogr., 28. 1-13. https://doi.org/10.1111/fog.12419
- Castillo, P.R., C. Peña, D. Grados, L. La Cruz, C. Valdez, M. Pozada and R. Cornejo. 2022. Characteristics of anchoveta (*Engraulis ringens*) schools in the optimum zone and the physiological stress zone of its distributions between 2011 and 2021. Fish. Oceanogr., 31(5): 510-523. https://doi.org/10.1111/ fog.12601
- Chávez, F.P, A. Bertrand, R. Guevara-Carrasco and P. Soler. 2008. The northern Humboldt Current System: Brief history, present status and a view towards the future. Prog. Oceanogr., 79(2-4): 95–105. https://doi.org/10.1016/j.Pocean.2008.10.012
- Chirichigno, N. y J. Vélez. 1998. Clave para identificar los peces marinos del Perú. Seg. Ed. Publ. Esp. Inst. Mar Perú, 500 p.
- CSA-UPCH. 2011. La pesquería peruana de la anchoveta. Doc. Trab. Cent. Sost. Amb. Univ. Per. Cayetano Heredia, 1, 59 p.
- Demer, D.A, L. Berger, M. Bernasconi, E. Bethke, K. Boswell, D. Chu, R. Domokos, *et al.* 2015. Calibration of acoustic instruments. ICES Coop. Res. Rep. 326, 133 p.
- Diner, N. 1998. Correction on school geometry and density. ICES C. M. 1998/B:1.
- Diner, N. 2001. Correction on school geometry and density: approach based on acoustic image simulation. Aquat. Liv. Res., 14: 211-222.
- Espinoza, P. and A. Bertrand. 2008. Revisiting Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) trophodynamics provides a new vision of the Humboldt Current System. Prog. Oceanogr., 79(2-4): 215–227.
- Gayanilo, F.C, P. Sparre and D. Pauly. 1994. The FAO-ICLARM Stock Assessment Tools (FiSAT) user's guide. FAO Comp. Inf. Ser. (Fish.), 7, 124 p.
- Gutiérrez, M., R. Castillo, M. Segura, S. Peraltilla and M. Flores. 2012. Trends in spatio-temporal distribution of Peruvian anchovy and other small
- pelagic fish biomass from 1966-2009. J. Aquat. Res., 40(3): 633-648.
- Harrison, L-M.K., M.J. Cox, G. Skaret and R. Harcourt. 2015. The R package EchoviewR for automated processing of active acoustic data using Echoview. Front. Mar. Sci., 2. https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00015
- Imarpe. 2020. Protocolo elaboración de la tabla de decisión para la determinación del límite máximo total permisible por temporada de pesca en la pesquería del stock norte-centro de la anchoveta peruana. IMP-DGIRP/AFDPERP, 05, 40 p.
- Imarpe. 2022. Informe ejecutivo del crucero 2202-04 de Evaluación Hidroacústica de Anchoveta y Otros Recursos Pelágicos, realizado entre el 15 de febrero al 09 de abril del 2022. Inf. Imarpe. 57 p.
- Lujan, D.C. 2016. Factores determinantes de la variabilidad espacial de la anchoveta peruana (*Engraulis ringens*) en el Pacífico sudoriental. Tesis M.Sc. Cienc. Mar. Univ. Per. Cayetano Heredia. 191 p.
- MacLennan, D.N., P.G Fernandes and J. Dalen. 2002. A consistent approach to definitions and symbols fisheries acoustics. ICES J. Mar. Sci., 59: 365-369.
- Nero, R.W. and J.J. Magnuson. 1989. Characterization of patches along transects using high-resolution 70-kHz integrated echo data. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 46: 2056-206.

Ñiquen, M., M. Bouchón, S. Cahuín y E. Díaz. 2000. Pesquería de anchoveta en el mar peruano: 1950–1999. Bol. Inst. Mar Perú, 19: 117–123.

- Oerder, V., F. Colas, V. Echevín, F. Codrón, J. Tam and A. Belmadani. 2015. Peru-Chile upwelling dynamics under climate change. J. Geophys. Res. Oc., 120(2): 1152–1172. http://doi.wiley.com/10.1002/2014JC010299
- Pozada, M. En preparación. Herramientas para el análisis de datos acústicos. Instituto del Mar del Perú.
- Produce. 2022a. Resolución Ministerial N° 00167-2022-Produce. Autorizan el inicio de la primera temporada de pesca 2022 del recurso anchoveta y anchoveta blanca con destino al consumo humano indirecto en la zona norte-centro del Perú, y dictan diversas disposiciones. Diario El Peruano, Normas Legales 30 de abril del 2022. 4 p.
- Produce. 2022b. Resolución Ministerial N° 00171-2022-Produce. Primera temporada de pesca del 2022 y pesca exploratoria de la anchoveta, con fecha10 de mayo del 2022. 4 p.
- Produce. 2022c. Resolución Ministerial Nº 00157-2022-Produce. Autorización de la Operación Eureka LXII, con fecha 22 de abril del 2022. 5 p.
- Quispe, D., D. Gutiérrez y L. Vásquez. 2019. Validación de información satelital de temperatura superficial del mar con registros *in situ* dentro de las 60 millas del mar del Perú. Bol. Inst. Mar Perú, 34(2): 392-405.
- Salgado-Ugarte, I.H., J.L. Gómez-Márquez y B. Peña-Mendoza. 2005. Métodos actualizados para análisis de datos biológico-pesqueros. FES Zaragoza, UNAM, México. 240 p.
- Scalabrin, C., N. Diner, A. Weill, A. Hillion and M-C. Mouchot. 1996. Narrowband acoustic identification of mono specific fish shoals. ICES J. Mar. Sci., 53: 181–188.
- Simmonds, J. and D. MacLennan. 2005. Fisheries acoustics. Theory and practice. Sec. ed. 436 p.
- Swartzman, G., A. Bertrand, M. Gutiérrez, S. Bertrand and L. Vásquez. 2008. The relationship of anchovy and sardine to water masses in the Peruvian Humboldt Current System from 1983 to 2005. Prog. Oceanogr., 79: 228–237.
- Weill, A., C. Scalabrin and N. Diner. 1993. MOVIES-B: an acoustic detection description software. Application to shoal species' classification. Aquat. Liv. Res., 6: 255–267.
- Woillez, M., J-C. Poulard, J. Rivoirard, P. Petitgas and N. Bez. 2007. Indices for capturing spatial patterns and their evolution in time, with application to European hake (*Merluccius merluccius*) in the Bay of Biscay. ICES J. Mar. Sci., 64: 537–550.
- Xu, H., G. Velaoacha, H. Siguayro, C. Paulino, E. Alburqueque, L. Escudero, J. Atiquipa y C. Gamarra. 2021. Validación de datos satelitales de la concentración de clorofila-*a*, temperatura superficial y coeficiente de atenuación difusa en el Lago Titicaca. Inf. Inst. Mar Perú. 48(3): 367-379.
- Zhou, S., J. Kolding, S.M. García, M.J. Plank, A. Bundy, A. Charles, C. Hansen, M. Heino, D. Howell, N.S. Jacobsen, D.G Reid, J.C. Rice and P.A.M. Van Zwieten. 2019. Balanced harvest: concept, policies, evidence, and management implications. Rev. Fish. Biol., 29(3): 711–733.

RECIBIDO / RECEIVED: 01/09/2022

ACEPTADO / ACCEPTED: 21/11/2023



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras Bulletin of Marine and Coastal Research 53 (1), 167-174

NOTA / NOTE

Presencia del mangle de té Pelliciera benthamii en la Bahía de Cispatá, Córdoba, Caribe colombiano

Presence of the tea mangrove Pelliciera benthamii in Cispatá Bay, Córdoba, Colombian Caribbean

Joaquín Antonio Torres-Duque, Amanda Selene Rojas-Aguirre, Tania Carolina Hovos-Ruiz, D 0000-0002-6892-3966 (D) 0009-0004-4597-8501 (D) 0000-0003-0325-5036

> JP Caicedo-García y Paula Cristina Sierra-Correa* 0009-0004-4153-6976 0000-0001-7252-7993

Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" (Invemar), Calle 25 No. 2-55, El Rodadero, Santa Marta, Colombia. joaquin.torres@invemar.org.co, selene.rojas@invemar.org.co, asrojasa@unal.edu.co, tania.hoyos@invemar.org.co, juan.caicedo@invemar.org.co, paula.sierra@invemar.org.co*

* Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

e presenta una descripción estructural, morfológica y ambiental de individuos de mangle de té (genero *Pelliciera*). Los especímenes estudiados fueron encontrados en ocho sectores de Caño Salado, que es una zona de preservación en el plan de manejo de la bahía de Cispatá, en parcelas de monitoreo de 500 m² (20 m x 25 m). Las muestras registradas presentaron caracteres consistentes con la especie recientemente descrita Pelliciera benthamii encontrada en relictos de bosque con una distribución espacial dispersa. Los registros de esta especie en Cispatá son de gran importancia para el conocimiento de los manglares colombianos y para generar iniciativas de conservación y restauración que impacten positivamente las poblaciones de Pelliciera, actualmente en estado de amenaza.

PALABRAS CLAVE: Colombia, manglares, morfología, Tetrameristaceae, conservación

ABSTRACT

structural, morphological and environmental description of tea mangrove individuals (genus Pelliciera) is presented. The specimens studied were found in eight sectors of Caño Salado which is a preservation zone in the Cispatá Bay Management Plan, using monitoring plots of 500 m² (20 m x 25 m). The reported samples presented characters consistent with the recently redescribed species *Pelliciera* benthamii, found in forest relicts with a disperse spatial distribution. Reports of this species in the Cispatá bay are of great importance for the knowledge of the Colombian mangroves and to generate conservation and restoration initiatives that will have a positive impact on the populations of Pelliciera mangrove trees currently in state of threat.

KEYWORDS: Colombia, mangrove, morphology, Tetrameristaceae, conservation

DOI: https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2024.53.1.1285 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

El género *Pelliciera* Triana y Planchon (1862), familia Tetrameristaceae, forma parte de los ecosistemas de manglar neotropicales, considerado endémico de la costa tropical del Pacífico americano hasta 1982 (Calderón-Sáenz, 1982). En el Caribe colombiano se registró por primera vez en sistemas estuarinos del departamento de Bolívar (Calderón-Sáenz, 1982, 1983, 1984) y posteriormente en Córdoba (Sánchez *et al.*, 1997; Castillo-Cárdenas *et al.*, 2015) y Antioquía (Blanco-Libreros *et al.*, 2016). En el Caribe se ha registrado la presencia de poblaciones en otros países como Nicaragua (Roth y Grijalva, 1991) y Panamá (Duke *et al.*, 1997; Dangremond y Feller, 2014).

Pelliciera fue por mucho tiempo considerado un género monotípico, con *P. rhizophorae* como única representante, y según registros fósiles, es la especie de mangle más antigua del neotrópico (Graham, 1977; Duke, 2020). No obstante, Triana y Planchon (1862) y Calderón-Sáenz (1982) catalogaron algunos individuos de esta especie como una variedad (*P. rhizophorae* var. *benthamii*), que de acuerdo con recientes evidencias genéticas, ecológicas y morfológicas, como color y dimensiones de las flores y bractéolas, y presencia de dentición en los márgenes de las hojas (Castillo-Cárdenas *et al.*, 2015; Garzón *et al.*, 2018; Duke, 2020) se elevó a categoría de especie y se lectotipificó (Cornejo y Bonifaz, 2020), reestructurando el género con dos especies: *P. rhizophorae* Triana y Planchon y *P. benthamii* (Triana y Planchon 1862) Cornejo.

La similitud entre estas dos especies y su historia evolutiva relacionada con el surgimiento del istmo de Panamá instan al estudio de sus características morfológicas, el estado de sus poblaciones a nivel local y su estado de vulnerabilidad a escala global. Con el apoyo de la taxonomía integrativa estas incógnitas y debates acerca de la existencia de una o dos especies separadas en el Pacífico y en el Caribe es fundamental.

La bahía de Cispatá (Figura 1), localizada en el Caribe continental colombiano en el departamento de Córdoba, entre los municipios de San Antero, San Bernardo del Viento y Santa Cruz de Lorica (09°20' - 24' N y 75°49'30" - 54'30" W), posee bosques de manglar cubriendo aproximadamente 8 571 ha (CVS-Invemar, 2010). La temperatura media mensual oscila entre 26.7 y 28.6 °C (Sánchez *et al.*, 2005) y la precipitación media anual es de 1 425 mm (Sánchez *et al.*, 2004). Según Robertson y Chaparro (1998), el delta y la desembocadura del río Sinú han migrado al menos cuatro veces; por lo que se considera como una de las regiones más dinámica de la costa Caribe colombiana (Sánchez *et al.*, 2005).

The genus *Pelliciera* Triana and Planchon (1862), family Tetrameristaceae, is part of neotropical mangrove ecosystems, considered endemic to the tropical Pacific coast of the Americas until 1982 (Calderón-Sáenz, 1982). In the Colombian Caribbean, it was first reported in estuarine systems in the Bolívar department (Calderón-Sáenz, 1982, 1983, 1984), and subsequently in Córdoba (Sánchez *et al.*, 1997; Castillo-Cárdenas *et al.*, 2015) and Antioquia (Blanco-Libreros *et al.*, 2016). In the Caribbean, the presence of populations of this mangrove has been reported in other countries such as Nicaragua (Roth and Grijalva, 1991) and Panama (Duke *et al.*, 1997; Dangremond and Feller, 2014).

Pelliciera was long considered a monotypic genus, with *P. rhizophorae* as sole representative, and according to fossil records, it is the oldest mangrove species in the Neotropics (Graham, 1977; Duke, 2020). However, Triana and Planchon (1962) and Calderón-Sáenz (1982) described some individuals of this species as a variety (*P. rhizophorae* var. *benthamii*), which, based on recent genetic, ecological, and morphological evidence, such as flower color and dimensions, bracteole characteristics, and the presence of dentition on leaf margins (Castillo-Cárdenas *et al.*, 2015; Garzón *et al.*, 2018; Duke, 2020), has been elevated to species status and lectotypified (Cornejo and Bonifaz, 2020), restructuring the genus into two species: *P. rhizophorae* Triana and Planchon and *P. benthamii* (Triana and Planchon, 1862) Cornejo.

The similarity between these two species and their evolutionary history related to the emergence of the isthmus of Panama need scientific study on their morphological characteristics, the status of their populations at the local level, and their vulnerability at a global scale. With the support of integrative taxonomy, we address these uncertainties and debates about the existence of one or two separate species in the Pacific and Caribbean is crucial.

Cispatá Bay (Figure 1), located on the Caribbean continental coast of Colombia in the Cordoba department, between the municipalities of San Antero, San Bernardo del Viento, and Santa Cruz de Lorica ($09^{\circ}20^{\circ} - 24^{\circ}$ N and $75^{\circ}49^{\circ}30^{\circ} - 54^{\circ}30^{\circ}$ W), has mangrove forests covering approximately 8,571 ha (CVS-Invemar, 2010). The average monthly temperature ranges from 26.7 to 28.6 °C (Sánchez *et al.*, 2005), and the annual average precipitation is 1,425 mm (Sánchez *et al.*, 2004). According to Robertson and Chaparro (1998), the delta and mouth of the Sinú River have migrated at least four times, making it one of the most dynamic areas on the Colombian Caribbean coast (Sánchez *et al.*, 2005).





Figura 1. Localizaciones donde se registró *Pelliciera benthamii* en la Bahía de Cispatá. Fuente: LabSIS-Invemar.

Figure 1. Locations where *Pelliciera benthamii* was recorded in Cispatá Bay. Source: LabSIS-Invemar.

Se recolectaron muestras de las plantas (Figura 2) según los protocolos descritos por el herbario de Queensland (2016). A las cuales se les realizaron mediciones del ancho, largo, forma y estructuras (glándulas del borde) de las hojas; ancho, largo y color de los pétalos, sépalos, brácteas y pistilos. Además, se registraron características ambientales la precipitación (mm) y parámetros dasométricos como el diámetro y la altura de árboles encontrados en parcelas de monitoreo de 20×25 m (500 m2) en la región de estudio. Se registraron en bases de datos para hacer el cotejo con los caracteres morfológicos presentes en las claves taxonómicas que se resumen en la tabla 1. Las muestras botánicas fueron entregadas a la colección del herbario (número de catálogo INV TRA0007) del Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) –Makuriwa del Invemar.

Samples of the plants were collected (Figure 2) following the protocols described by the Queensland Herbarium (2016). Measurements of width, length, shape, and leaf edge structures (glandular characteristics) were taken from the leaves. Additionally, measurements of width, length, and color were recorded for the petals, sepals, bracts, and pistils. Environmental characteristics such as precipitation (mm) and dendrometric parameters like tree diameter and height were also recorded within monitoring plots measuring 20×25 m (500 m²) in the study area. All data were recorded in a databases for comparison with the morphological characteristics outlined in the taxonomic keys summarized in Table 1. The botanical samples were deposited in the herbarium collection (catalog number INV TRA0007) of the Museum of Marine Natural History of Colombia (MHNMC)-Makuriwa at Invemar.



Figura 2. Muestras de *Pelliciera benthamii* recolectadas en la Bahía de Cispatá. Fotos: Tania Hoyos.

Figure 2. Samples of *Pelliciera benthamii* collected in Cispatá Bay. Photos: Tania Hoyos.

Se registran individuos de *Pelliciera benthamii* en asociación con otras especies en el sector de preservación de caño Salado en la bahía de Cispatá (CVS-Invemar, 2010). Se confirma la presencia y permanencia de *P. benthamii* registrada por Castillo-Cárdenas (2015) y Duke (2020). Estos árboles forman un bosque mixto de manglares de desarrollo intermedio con predominancia de *Rhizophora mangle* L, seguido de *Laguncularia racemosa* (L.) C. F. Gaertn y en menor cantidad de *Avicennia germinans* (L.) L.

Los árboles de *Pelliciera benthamii* encontrados cerca de la ribera de caño Salado (rango de salinidad intersticial: 19-45) se caracterizaron por presentar mayor desarrollo estructural hacia el interior del bosque. Los individuos encontrados hacia el final del caño (1, 2, 3, 4 y 5), presentaron los mayores desarrollos estructurales (DAP > 4 cm; alturas > 4 m), mientras que los árboles del sector cercano a la boca de caño Salado (6, 7 y 8), exhibieron un menor desarrollo estructural (DAP < 2.5 cm; alturas < 2 m).

Los individuos de *P. benthamii* observados (Figura 3), presentaron hojas subverticiladas de color verde, lanceoladas, simples, alternas, sin estípulas, asimétricas y con margen ancho entero hasta subcrenado, con glándulas marginales (se observan mejor cuando la hoja está nueva).

Individuals of *P. benthamii* are reported in association with other species in the preservation sector of Caño Salado in Cispatá Bay. The presence and permanence of *P. benthamii* recorded by Castillo-Cárdenas, (2015) and Duke (2020) are confirmed. These trees form a mixed mangrove forest of intermediate development, with a predominance of *Rhizophora mangle* L., followed by *Laguncularia racemosa* (L.) C. F. Gaertn and, in smaller quantities, *Avicennia germinans* (L.) L.

The *Pelliciera benthamii* trees found near the shore of Caño Salado (interstitial salinity range: 19 - 45) were characterized by having a more pronounced structural development towards the interior of the forest. The individuals located towards the end of the canal (1, 2, 3, 4, and 5) (Figure 1) exhibited the most significant structural developments (DAP > 4 cm; heights > 4 m), while the trees in the sector near the mouth of Caño Salado (6, 7, and 8) displayed a lower structural development (DAP < 2.5 cm; heights < 2 m).

The observed individuals of *Pelliciera benthamii* (Figure 3) have green leaves which are subverticillate, lanceolate, simple, alternate, without stipules, asymmetric, and with a wide entire to subcrenate margin, with marginal

Las flores son completas y perfectas, poseen cinco pétalos blancos lanceolados y cinco sépalos blancos con múltiples glándulas nectáreas en el centro, con una bráctea solitaria de color verde y dos bractéolas de color rojo en el exterior y rosadas al interior (se observan cuando abren). El tallo es ensanchado en la base y de crecimiento piramidal. El fruto es coriáceo de color marrón y rojo al interior del pericarpio. Las plántulas presentan un par de cotiledones bien desarrollados antes de la producción de los primordios foliares. glands (more visible in young leaves). The flowers are complete and perfect, featuring five lanceolate white petals and five white sepals with multiple nectar glands in the center, along with a solitary green bract and two reddish bracteoles on the exterior and pink on the interior (visible when they open). The stem widens at the base and grows in a pyramidal fashion. The fruit is leathery, brown, and red on the inside of the pericarp. Seedlings exhibit a pair of well-developed cotyledons before the production of leaf primordia.



Figura 3. Imágenes *in situ* de *Pelliciera benthamii*. **a**) semilla abierta con plúmula emergente; **b**) sépalos con glándulas nectáreas; **c**) flor abierta con 5 pétalos lanceolados y un par de bractéolas rosadas; **d**) Tallo con base ensanchada en forma de pirámide; **e**) lado ancho de la hoja con dentículos marginales; **f**) hojas y capullo floral encerrado por un par de bractéolas foliáceas rojas; **g**) hoja de una plántula, pericarpo del fruto y semilla. Fotos: a, b, d, e, f, g-Tania Hoyos; c–Joaquín Torres.

Figure 3. In situ images of *Pelliciera benthamii*. a) Open seed with emerging plumule; b) Sepals with nectar glands; c) Open flower with 5 lanceolate petals and a pair of pink bracteoles; d) Stem with widened base in pyramid shape; e) Wide side of the leaf with marginal teeth; f) Leaves and floral bud enclosed by a pair of reddish foliaceous bracteoles; g) Leaf of a seedling, fruit pericarp, and seed. Photos: a, b, d, e, f, g–Tania Hoyos; c–Joaquín Torres.

 Tabla 1. Comparación de los caracteres diagnósticos para la determinación de *Pelliciera benthamii* con dos claves encontradas en la literatura botánica.

Table 1. Diagnostic characters of Pelliciera benthamii and P. rhizophorae.

Esturioturio / Sturioturio	Caracteres diagnósticos / Diagnostic characters							
	Pelliciera rhizophorae	Pelliciera benthamii	Este estudio / Present study					
Hoja / Leaf	Ancho / Width > 34 mm	Ancho / Width < 34 mm	$27.42 \pm 4.085 \text{ mm} (21 \text{ mm} - 33 \text{ mm})$					
Lado ancho de la hoja / Leaf wide-side	Ancho / Width >20 mm	Ancho / Width 17-19 mm	18.42 ± 2.57 mm (14 mm – 26 mm)					
Pétalos / Petals	A menudo rosado o blanco / Often pink or white Ancho / Width > 14 mm	Blanco, rosado o rojo / White, pink or red Ancho / Width ≤ 14 mm	Blanco / White 10.86 ± 1.95 mm (8 mm – 14 mm)					
Sépalos / Sepals	Blanco / White Longitud / Length: 15 – 25 mm	Blanco, rosado o rojo / White to pink or red Longitud / Length: 10 – 17 mm	Blanco / White 13.42 ±1.62mm (11 mm – 16 mm)					
Brácteas / Bracts	Verde claro, blanco o crema / Light green, white or cream Ancho / Width: 40 – 47 mm Longitud / Length 88 – 102 mm	Rosado a rojo / Pink to red Ancho / Width: 14 – 18 mm Longitud / Length: 45–63	$\begin{tabular}{l} Rosa / Pink \\ Ancho / Width: 17.5 \pm 2.74 \mbox{ mm} \\ (14 \mbox{ mm} - 21 \mbox{ mm}) \\ Longitud / Length: 56.17 \pm 6.73 \mbox{ mm} \\ (47 \mbox{ mm} - 61 \mbox{ mm}) \end{tabular}$					
Pistilos / Pistils	Longitud / Length: 58 - 72 mm	Longitud / Length: 32-50 mm	Longitud / Length: 47.5 ± 0.35 mm (45 mm - 50 mm)					
Altura del árbol / Tree height	10–30 m	< 10 m	8 m					
Precipitación / Precipitation	> 1,900 mm	< 1,850 mm	1,425 mm					
Referencias / References	Cornejo and Bonifaz (2020), Duke (2020)	Cornejo and Bonifaz (2020), Duke (2020)	Este estudio / Present study					

La taxonomía del género Pelliciera, el más antiguo de los manglares caribeños, ha sido revisada recientemente, resultando en la separación de dos especies (Cornejo y Bonifaz, 2020; Duke, 2020). Inicialmente Pelliciera fue considerado un género monotípico exclusivo del Pacífico (Jiménez, 1985), pero Calderón-Sáenz (1983) lo encontró en el Caribe en la bahía de Cartagena y Barbacoas. En la actualidad, con las claves taxonómicas generadas por Cornejo y Bonifaz (2020) y Duke (2020), existen suficientes evidencias para apoyar la hipótesis de que existen dos especies, con una nueva en el Caribe: P. benthamii. En las claves, Cornejo y Bonifaz (2020) hacen mayor énfasis en la morfometría de caracteres como sépalos, longitud del pistilo, altura del árbol y algunos parámetros ambientales para explicar la diversificación y distribución de estas especies (Castillo-Cárdenas, 2005); Duke (2020) aporta información detallada sobre la hoja, incluyendo otros análisis especializados no estudiados en esta investigación (tamaño y textura del polen), que valida la ubicación temporal del género en el Caribe durante el Eoceno (Graham y Jarzen, 1969; Fuchs, 1970; Graham, 1977). En la bahía de Cispatá, Sánchez-Páez (1997) registró relictos de P. rhizophorae; sin embargo, con las claves recientemente publicadas se propone registrar la especie como P. benthamii, según lo registrado por Castillo-Cárdenas (2015). En el sitio de estudio el taxón exhibe una distribución restringida debido a la transformación antropogénica del paisaje.

The taxonomy of the genus Pelliciera, the oldest Caribbean mangroves, has recently been revised, resulting in a separation of two species (Cornejo and Bonifaz, 2020; Duke, 2020). Initially Pelliciera was considered a monotypic genus exclusive to the Pacific (Jiménez, 1985), but Calderón-Sáenz (1983) found it in the Caribbean in the bay of Cartagena and Barbacoas. Nowadays, with the taxonomic keys generated by Cornejo and Bonifaz (2020) and Duke (2020), there is enough evidence to support the hypothesis that there are two species, with a new one in the Caribbean: P. benthamii. In their keys, Cornejo and Bonifaz (2020) place more emphasis on the morphometry of characters such as sepals, pistil length, tree height and some environmental parameters to explain the diversification and distribution of these species (Castillo-Cárdenas, 2005); Duke (2020) provides detailed information on the leaf, including other specialized analyses not studied in this research (pollen size and texture), which validates the temporal location of the genus in the Caribbean during the Eocene (Graham and Jarzen, 1969; Fuchs, 1970; Graham, 1977). In Cispatá Bay, Sánchez-Páez (1997) reported relicts of Pelliciera rhizophorae; however, with the recently published keys it is proposed to register the species as P. benthamii as reported by Castillo-Cárdenas (2015). In the study site the taxon exhibits a restricted distribution due to anthropogenic landscape

172

Al igual que ocurre con P. rhizophorae, particularmente en el Caribe (Polidoro et al., 2010), esta perturbación antrópica hace que la población sea altamente vulnerable a la extinción con baja probabilidad de recuperación a través de la recolonización de poblaciones vecinas (Blanco-Libreros et al., 2016). Duke (2020) destaca la probable presencia de P. benthamii en el Caribe, enfatizando la importancia de descubrir rodales en la bahía de Cispatá para entender la influencia de procesos geológicos, como el surgimiento del Istmo de Centroamérica, en la diferenciación del género Pelliciera en el Pacífico y Caribe centro-sudamericano. Considerando los argumentos anteriores, el presente estudio reconoce las características morfológicas y ambientales de P. benthamii y su distribución en Cispatá, aportando información para medidas de conservación en la región Caribe y contribuyendo al conocimiento de la biodiversidad del país. Sin embargo, resalta la necesidad de una taxonomía integrativa con las poblaciones de Pelliciera del Caribe y del Pacífico colombiano para redefinir el estado de conservación de ambas especies, dada la falta de información actual para P. rhizophorae, que se encuentra en la Lista Roja de la UICN. Para mejorar el estado de los relictos de Pelliciera sp, se propone implementar medidas de preservación de los manglares en Colombia y promover el uso sostenible de los recursos naturales en áreas con presencia de especies del género. Las condiciones ambientales favorables para Pelliciera, identificadas en sectores de preservación, refuerzan la importancia de estas áreas, como en la bahía de Cispatá, donde se encontraron poblaciones de P. benthamii en sectores exclusivamente designados para la preservación (CSV-Invemar, 2010).

AGRADECIMIENTOS

Los resultados que aquí se presentan son producto de actividades de campo en el marco del programa Vida Manglar, primer programa de carbono azul en el mundo desarrollado en los manglares del Golfo de Morrosquillo en Colombia bajo el programa REDD+ con el estándar de VERRA, el cual es coordinado por la CVS, Carsucre, Invemar, Fundación Omacha, Conservación Internacional, 14 asociaciones de mangleros y 3 asociaciones productivas del área marina protegida (AMP) denominada en español como Distrito de Manejo Integrado Cispatá, La Balsa, Tinajones y sectores aledaños; con el apoyo del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Colombia. Los autores quieren agradecer a todas las instituciones que hacen parte de Vida Manglar y en el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" – Invemar, a Anny Paola Zamora

transformation. As with P. rhizophorae, particularly in the Caribbean (Polidoro et al., 2010), this anthropic disturbance makes the population highly vulnerable to extinction with low probability of recovery through recolonization of neighboring populations (Blanco-Libreros et al., 2016). Duke (2020) highlights the probable presence of P. benthamii in the Caribbean, emphasizing the importance of discovering stands in Cispatá Bay to understand the influence of geological processes, such as the emergence of the Central American Isthmus, on the differentiation of the genus *Pelliciera* in the Pacific and Central and South American Caribbean. Considering the above arguments, the present study recognizes the morphological and environmental characteristics of P. benthamii and its distribution in Cispatá Bay, providing information for conservation measures in the Caribbean region and contributing to the knowledge of the country's biodiversity. However, it highlights the need for integrative taxonomy with the Caribbean and Colombian Pacific populations of Pelliciera to redefine the conservation status of both species, given the current lack of information for P. rhizophorae, which is on the IUCN Red List. To improve the status of Pelliciera spp. relicts, it is proposed to implement mangrove preservation measures in Colombia and to promote the sustainable use of natural resources in areas where *Pelliciera* species are present. The favorable environmental conditions for *Pelliciera*, identified in preservation sectors, reinforce the importance of these areas, such as in Cispatá Bay, where populations of P. benthamii were found in sectors exclusively designated for preservation (CSV-Invemar, 2010).

ACKNOWLEDGMENTS

The results presented here are the product of field activities within the framework of the Vida Manglar program, the world's first blue carbon program developed in the mangroves of the Gulf of Morrosquillo in Colombia under the REDD+ program with the VERRA standard, coordinated by CVS, Carsucre, Invemar, Fundación Omacha, Conservación Internacional, 14 mangrove associations, and 3 productive associations in the protected marine area (PMA) known as the Integrated Management District of Cispatá, La Balsa, Tinajones, and adjacent sectors, with the support of the Ministry of Environment and Sustainable Development of Colombia. The authors would like to thank all the institutions that are part of Vida Manglar and the Institute of Marine and Coastal Research "José Benito Vives de Andréis"–Invemar, to Anny Paola Zamora Bornachera for the technical support Bornachera por el apoyo técnico brindado para el desarrollo de la nota científica. También al Museo de Historia Natural de Colombia–Makuriwa del Invemar, por prestar sus instalaciones y equipos para el análisis de las muestras, y por la custodia de las muestras botánicas. Y a la comunidad de mangleros del área marina protegida (AMP), en particular a los señores Domingo Rodríguez y Remberto de la Rosa, por su acompañamiento y entusiasmo en campo. Esta es la contribución 1285 de Invemar. provided for the development of the scientific note. Thanks to the Museum of Natural History of Colombia–Makuriwa at Invemar for providing facilities and equipment for sample analysis and for safeguarding the botanical samples, and thanks to the mangrove community of the protected marine area (PMA), especially to Domingo Rodríguez and Remberto de la Rosa for their support and enthusiasm in the field work. This is Invemar contribution 1285.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Blanco-Libreros, J.F., E.A. Estrada-Urrea, R.J. Pérez-Montalvo, A. Taborda-Marín y R. Álvarez-León. 2016. Influencia antrópica en el paisaje de las poblaciones de *Pelliciera rhizophorae* (Ericales: Tetrameristaceae) más sureñas del Caribe (Turbo, Colombia). Rev. Biol. Trop., 64(1): 79-94.
- Calderón-Sáenz, E. 1982. Hallazgo de *Pelliciera rhizophorae* Triana & Planchon (Theaceae) en la costa del Atlántico, con observaciones taxonómicas y biogeográficas preliminares. Acta Biol. Col., 1(1): 99-110.
- Calderón-Sáenz, E. 1983. Hallazgo de *Pelliciera rhizophorae* Triana & Planchon (Theaceae) en la costa del Atlántico, con observaciones taxonómicas y biogeográficas preliminares. Bol. Mus. Mar. 11: 100-111.
- Calderón-Sáenz, E 1984. Ocurrence of the mangrove *Pelliciera rhizophorae* Triana & Planchon on the Caribbean coast of Colombia with biogeographical notes. Bull. Mar. Sci., 35: 105-110.
- Castillo-Cárdenas, M.F., F. Díaz-Gonzales, I. Cerón-Souza, O. Sanjur and N. Toro-Perea. 2015. Jumping a geographic barrier: diversification of the mangrove species *Pelliciera rhizophorae* (Tetrameristaceae) across the Central American Isthmus. TREE Gen. Genomes, 11: 1-11. https://doi.org/10.1007/s11295-014-0822-1
- Cornejo, X. and C. Bonifaz. 2020. *Pelliciera benthamii* (Tetrameristaceae): A new status and lectotypification of an overlooked neotropical mangrove. Harvard Pap. Bot.. 25: 47-49. https://doi.org/10.3100/hpib.v25iss1.2020.n5
- Corporación Autónoma Regional de los Valles del Sinú y del San Jorge CVS and Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras Invemar. 2010. Plan integral de manejo del Distrito de Manejo Integrado (DMI) bahía de Cispatá–La Balsa–Tinajones y sectores aledaños del delta estuarino del río Sinú, departamento de Córdoba (1). Ser. Publ. Esp. Invemar, 18, 141 p.
- Dangremond, E.M. and I.C. Feller. 2014. Functional traits and nutrient limitation in the rare mangrove *Pelliciera rhizophorae*. Aq. Bot., 116: 1-7. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.12.007
- Duke, N.C., M. Pinzón, S. Zuleika, T. Prada and C. Martha. 1997. Large-scale damage to mangrove forests following two large oil spills in Panamá. Biotropica, 29(1): 2-14. https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.1997.tb00001.x
- Duke, N. C. 2020. A systematic revision of the vulnerable mangrove genus *Pelliciera* (Tetrameristaceae) in equatorial America. Blumea, 65(2): 107-120. https://doi.org/10.3767/blumea.2020.65.02.04
- Garzón, Y., M. Báez, C.M. Caetano, N. Toro, M. Guerra and M.F. Castillo. 2018. Karyotype of the Neotropical mangrove species *Pelliciera rhizophorae* Triana and Planchon (Tetrameristaceae), Caryologia, 71(2); 182-189. https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1458528
- Graham, A. 1977. New records of *Pelliciera* (Theaceae/Pelliceriaceae) in the Tertiary of the Caribbean. Biotropica, 48-52. https://doi.org/10.2307/2387858
- Polidoro, B.A., K.E. Carpenter, L. Collins, N.C. Duke, A.M. Ellison, J.C. Ellison, ... and J.W.H. Yong. 2010. The loss of species: mangrove extinction risk and geographic areas of global concern. PloS one, 5(4), https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010095.
- Queensland Herbarium. 2016. Collection and preserving plant specimens, a manual (2). Dep. Sci., Inf. Tech. Inn., Brisbane, Australia.
- Robertson, K. y J. Chaparro. 1998. Evolución histórica del río Sinú. Cuad. Geogr., 7(1-2): 70-87
- Roth L.C. and A. Grijalva. 1991. New record of the mangrove *Pelliciera rhizophorae* (Theaceae) on the Caribbean coast of Nicaragua. Rhodora, 93 (874): 183–186. http://www.jstor.org/stable/23312792
- Sánchez, H., R. Álvarez, O.A. Guevara, A. Zamora, H. Rodríguez y H.E. Bravo. 1997. Diagnóstico y zonificación preliminar de los manglares del Caribe de Colombia (Proyecto. PD 171/91 Rev.2 (F) Fase I. Conservación y manejo para el uso múltiple de los manglares de Colombia), Bogotá. MinAmbiente/OIMT.
- Sánchez, H., G. Ulloa y T. Tavera. 2004. Manejo integral de manglares por comunidades locales, Caribe de Colombia (p. 335). Min. Amb. Viv. Des. Terr.. CONIF-OIMT. 335 p.
- Sánchez, H., G. Ulloa, H. Tavera y W. Gil. 2005. Plan de manejo integral de los manglares de la zona de uso sostenible del sector estuarino de la bahía de Cispatá departamento de Córdoba–Colombia (p. 202). OIMT, CVS, CONIF, Min. Amb., Viv. Des. Terr., Bogotá.
- Triana, J. et J.E. Planchon. 1862. Prodromus Florae Novo-Granatensis ou Enumération des Plantes de la Nouvelle-Grenade, avec Description des Espéces Nouvelles. Ann. Sci. Nat. sér. 4(17): 319-382.

RECIBIDO / RECEIVED: 05/05/2023

ACEPTADO / ACCEPTED: 15/11/2023

174



Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" Santa Marta, Colombia

Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras Bulletin of Marine and Coastal Research 53 (1), 175-186

NOTA / NOTE

Evaluación de las técnicas para la digestión y extracción de microplásticos ingeridos por el zooplancton marino

Assessment of techniques for the digestion and extraction of microplastics ingestion by marine zooplankton

Laura Sofía Coral-Chamorro¹, Jenny Alejandra Ruiz-Jiménez¹, María Isabel Críales-Hernández²* y D 0000-0002-4301-3886 D 0000-0001-9700-3774 (D) 0000-0001-5608-8943

> Rafael Cabanzo-Hernández³ D 0000-0002-6907-2120

1. Laboratorio de Hidrobiología, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander, Colombia. laura2181317@correo.uis.edu.co, alejandrar.jj@gmail.com

2. Universidad Nacional de Colombia–Sede Bogotá -Facultad de Ciencias–Departamento de Biología, Bogotá, Colombia. micrialesh@unal.edu.co*

3. Laboratorio de Espectroscopía Atómica y Molecular (LEAM), Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander, Colombia. rcabanzo@uis.edu.co

* Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

xiste un incremento de publicaciones por conocer la problemática de la contaminación marina por microplásticos (MPs), donde ya se reconocen algunos de los efectos que pueden tener en el zooplancton. Este aumento de publicaciones requiere que se revisen las metodologías para unificar criterios de comparación, por lo que es de gran importancia unificar técnicas para las metodologías de extracción de los microplásticos ingeridos por el zooplancton para determinar la abundancia y las características de los MPs. A partir de una búsqueda en bases de datos, se escogieron cuatro técnicas específicas para la degradación de la materia orgánica representada por el zooplancton. Las técnicas fueron evaluadas en cuatro aspectos: 1) Eficiencia de la degradación de la materia orgánica, 2) Duración y condiciones de temperatura para el procesamiento, 3) Efecto físico de la digestión sobre los microplásticos, 4) cuantificar los MPs a partir de la tasa de ingestión. Se emplearon cincuenta individuos para cada uno de los grupos más abundantes correspondientes a las familias Paracalanidae, Corycaeidae y Oncaeidae, y al filo Chaetognatha. Los resultados obtenidos mostraron que la mejor técnica fue la de Md Amin et al (2020) con modificaciones, en la que no se observaron alteraciones en la integridad de los MPs y la tasa de ingestión fue similar a la que se reporta para estos organismos.

PALABRAS CLAVE: costa del Caribe colombiano, contaminación emergente, técnicas de degradación, microplásticos, invertebrados.

ABSTRACT

arine pollution caused by microplastics (MPs) in the ocean has been very high in recent years, and their effects on zooplankton have been recognized. The crescent publications require review of the methodologies to unify the criteria of comparison. It is of great importance to establish unified techniques for the extraction methodologies of microplastics ingested by zooplankton to determine the abundance and characteristics of MPs. Databases were used to find specific techniques for the digestion of organic material from marine organisms, and four specific techniques were chosen for zooplankton degradation. The chosen techniques were evaluated in four aspects: 1) The efficiency of digestion was evaluated on zooplankton samples, 2) The efficiency of digestion in different duration and temperature conditions was assessed, 3) Evaluate the effect physics of digestions on microplastics, 4) Quantifying MPs from the ingestion rate. Fifty individuals were chosen from the most abundant groups corresponding to the families Paracalanidae, Corycaeidae, Oncaeidae, and the phylum Chaetognatha were used. The best technique obtained was Md Amin et al (2020) with our modifications. The organic matter was totally degraded, not changes in the physic integrity of MPs were observed, and the ingestion rates were similarly reported for other authors in these organisms.

KEYWORDS: Caribbean Colombian coast, digestión, microplastics, emerging pollutants, zooplankton.

DOI: https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2024.53.1.1277 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

La acumulación y aumento de plásticos en el ecosistema marino se ha convertido en una problemática durante los últimos años, contaminando desde regiones costeras (Chenillat et al., 2021) hasta regiones oceánicas (Lebreton et al., 2018); por efectos erosivos, los plásticos se fragmentan en partículas más pequeñas también conocidas como microplásticos (MPs: 1 µm-5 mm) (Frias y Nash, 2019). Los microplásticos (MPs) se sabe que están presentes en todo el océano global y pueden ser encontrados por muchas especies, incluidas las del zooplancton. Aunque se encuentran dentro del rango de tamaño de las presas del zooplancton, pocos estudios sobre la ingestión de MP se han llevado in situ (Zavala-Alarcón et al. 2023), para lo cual también se necesitan protocolos de digestión para determinar la abundancia y las características de los microplásticos (Alfonso et al. 2021). Como resultado de diversas investigaciones, se ha registrado la ingesta de MPs en peces (Calderón et al., 2019; Zitouni et al., 2021; Garcés-Ordóñez et al. 2022), bivalvos (Lo y Chan, 2018; Liu et al. 2021), crustáceos (Cau et al., 2019; Yin et al., 2022) y en la comunidad zooplanctónica (Lee et al., 2013; Cole et al., 2015; Jeong et al., 2017, Alfonso et al. 2021; Zavala-Alarcón et al. 2023); los animales pueden ingerir MPs al confundirlos con presas o de manera pasiva al filtrar el agua marina (Md Amin et al., 2020). La ingesta de partículas plásticas ha desencadenado efectos adversos como la reducción del consumo de alimentos, incorporación de MPs en los tejidos corporales, daños físicos en el tracto digestivo y disrupciones endocrinas en los organismos (de Sá et al., 2018; Lo y Chan, 2018; Yu et al. 2020; Zitouni et al., 2021; He et al., 2022).

El zooplancton generalmente se alimenta en las aguas superficiales donde la abundancia de MPs es superior a la que se puede encontrar a media agua, por lo que se aumentan las posibilidades de encuentro e ingestión (Steinberg y Landry, 2017; Botterell et al., 2019). En Colombia, se ha registrado principalmente la presencia de MPs en áreas marinas (Acosta-Coley et al., 2019; Garcés-Ordóñez et al., 2021, 2022), y dentro del contenido estomacal de peces (Calderon et al., 2019; Tafurt-Villarraga et al., 2021; Jimenez-Cárdenas et al., 2022); no obstante, en el país hasta la fecha no existe información publicada acerca de la ingesta de MPs por el zooplancton. Aunque la atención sobre la contaminación de MPs, es algo que se investiga actualmente, se mantienen muchas preguntas sobre los efectos que pueden tener sobre los ecosistemas marinos incluyendo su impacto potencial sobre el ciclo del carbono (Shen et al., 2020) y la producción secundaria a través de la ingestión (Troost et al., 2018). Por

The accumulation and increase of plastics in the marine ecosystem have become a significant issue in recent years, contaminating from coastal regions (Chenillat et al., 2021) to oceanic areas (Lebreton et al., 2018). Due to erosive effects, plastics break down into smaller particles known as microplastics (MPs: 1 µm-5 mm) (Frias and Nash, 2019). Microplastics (MPs) are known to be present throughout the global ocean and can be found by many species, including zooplankton. Although they fall within the size range of zooplankton prey, few in situ studies on MPs ingestion have been conducted (Zavala-Alarcón et al., 2023), requiring digestion protocols to determine abundance and characteristics of microplastics (Alfonso et al., 2021). Various studies have reported MPs ingestion by fish (Calderón et al., 2019; Zitouni et al., 2021; Garcés-Ordóñez et al., 2022), bivalves (Lo and Chan, 2018; Liu et al., 2021), crustaceans (Cau et al., 2019; Yin et al., 2022), and zooplankton communities (Lee et al., 2013; Cole et al., 2015; Jeong et al., 2017, Alfonso et al., 2021; Zavala-Alarcón et al., 2023). Animals may ingest MPs by mistaking them for prey or passively while filtering seawater (Md Amin et al., 2020). Ingesting plastic particles has triggered adverse effects, including reduced food consumption, incorporation of MPs into body tissues, physical damage to the digestive tract, and endocrine disruptions in organisms (de Sá et al., 2018; Lo and Chan, 2018; Yu et al., 2020; Zitouni et al., 2021; He et al., 2022).

Zooplankton generally feeds in surface waters where MPs abundance is higher than at mid-depth, increasing the chances of encounter and ingestion (Steinberg and Landry, 2017; Botterell et al., 2019). In Colombia, the presence of MPs has been mainly reported in marine areas (Acosta-Coley et al., 2019; Garcés-Ordóñez et al., 2021, 2022), and within the stomach contents of fish (Calderon et al., 2019; Tafurt-Villarraga et al., 2021; Jimenez-Cárdenas et al., 2022). However, there is no published information on MPs ingestion by zooplankton in Colombia to date. Despite the current focus on MPs pollution, many questions remain about its effects on marine ecosystems, including potential impacts on the carbon cycle (Shen et al., 2020) and secondary production through ingestion (Troost et al., 2018). Zooplankton plays a crucial role in marine ecosystems, facilitating energy transfer through the food web and representing the early life stage of many marine species. Given their varied feeding habits and the size range of their prey, zooplankton is one of the most sensitive groups to MPs (Moore, 2008; Zavala-Alarcón et al., 2023).

lo que el zooplancton juega un papel fundamental en los ecosistemas marinos, permite la transferencia de energía a lo largo de la red alimentaria, y comprende la etapa temprana de la vida de muchas especies marinas. Dado que muchas de estas especies presentan diferentes hábitos alimentarios y los microplásticos se encuentran dentro del rango de tamaño de sus presas, el zooplancton es uno de los grupos más sensibles a los MPs. (Moore, 2008; Zavala-Alarcón *et al* 2023).

Debido a que las muestras que se analizan de MPs en los ecosistemas marinos y organismos del zooplancton son usualmente obtenidos con redes de plancton, presentan gran cantidad de materia orgánica (MO) representada principalmente por organismos del zooplancton y fitoplancton. Para lo que es necesario efectuar técnicas de digestión para degradar la MO de los organismos y la detección de MPs ingeridos, se han seguido diferentes protocolos que utilizan diferentes reactivos (ácidos, bases, oxidantes, enzimas), concentraciones, pasos en la digestión, duración y condiciones de temperatura, dependiendo del tipo de organismos (Desforges et al., 2015; Cau et al., 2019; Md Amin et al., 2020; Lusher et al., 2020; Zheng et al., 2020; Alfonso et al., 2021; Aytan et al., 2022). Considerando el incremento exponencial de los estudios sobre MPs en las fracciones más pequeñas a 100µm que son las que se encuentran ingeridos por el zooplancton (Zhang et al. 2020; Alfonso et al. 2021), el presente trabajo tiene como objetivo encontrar los efectos de los protocolos sobre los organismos y los MPs, mejorando la eficiencia en los métodos para investigar la presencia de estos, contribuyendo a establecer una metodología eficiente y estandarizada para su investigación.

Se realizó una revisión de la literatura en las bases de datos Google Schoolar, Web of Science y Scopus con las palabras clave "microplásticos", "ingestión", "organismos acuáticos", los protocolos elegidos se aplicaron y ajustaron a partir de una muestra piloto recolectada en Isla Arena dentro del Parque Nacional Natural Corales del Rosario y de San Bernardo (PNNCRSB), Colombia, ubicada en las siguientes coordenadas geográficas 10° 08' 55.3" N 75° 43' 45.1" W (ver Figura 1). Los organismos zooplanctónicos se recolectaron con una red mini bongo de 30 cm de diámetro, provista con dos redes de 200 µm y 500 µm, y un contador mecánico General Oceanic para determinar el volumen de agua filtrada; se realizó un arrastre oblicuo de acuerdo con la metodología de Smith y Richardson (1979), desde la superficie hasta el fondo a partir de un espacio de seguridad aproximado de un metro sobre el fondo, por cinco minutos de arrastre de fondo a una velocidad de 5.6 km/h. El material biológico se fijó en

Samples analyzed for MPs in marine ecosystems and zooplankton organisms are usually obtained with plankton nets, containing a significant amount of organic matter (OM) mainly represented by zooplankton and phytoplankton organisms. Digestion techniques are necessary to degrade the OM of organisms and to detect ingested MPs, and different protocols have been followed using various reagents (acids, bases, oxidants, enzymes), concentrations, digestion steps, duration, and temperature conditions depending on the type of organisms (Desforges et al., 2015; Cau et al., 2019; Md Amin et al., 2020; Zheng et al., 2020; Lusher et al., 2020; Alfonso et al., 2021; Aytan et al., 2022). Considering the exponential increase in studies on MPs in the smaller fractions up to 100µm, which are ingested by zooplankton (Zhang et al., 2020; Alfonso et al., 2021), this study aims to explore the effects of digestion protocols on organisms and MPs, improving the efficiency of methods to investigate their presence and contributing to establishing an efficient and standardized methodology for research.

A literature review was conducted on Google Scholar, Web of Science, and Scopus using the keywords "microplastics," "ingestion," "aquatic organisms," and chosen protocols were applied and adjusted based on a pilot sample collected on Isla Arena within Corales del Rosario and San Bernardo National Natural Park (PNNCRSB), Colombia, located at 10° 08' 55.3" N 75° 43' 45.1" W (Figure 1). Zooplankton organisms were collected with a 30 cm diameter mini bongo net equipped with two nets of 200 µm and 500 µm, and a General Oceanic mechanical counter to determine the filtered water volume. An oblique tow was conducted following the methodology of Smith and Richardson (1979), from the surface to the bottom with an approximate safety space of one meter above the bottom, for five minutes of bottom trawling at a speed of 5.6 km/h. The biological material was fixed in 4 % formaldehyde seawater neutralized with sodium tetraborate ($Na_2B_4O_7 / Na_2 * 2 B_2O_3$) and transported to the hydrobiology laboratory at Universidad Industrial de Santander, Colombia, where the four most abundant zooplankton groups from the 200 µm net were observed and separated. Fifty (50) individuals from each zooplankton group were then separated and measured using a Discovery V.12 stereomicroscope with an Axiocam ERc 5s camera via ZEISS ZEN software (Blue edition). Finally, to validate the different protocols, the MPs ingestion rate was estimated.

177



Figura 1. Área de estudio y ubicación de muestreo en Isla Arena, Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo, Bolívar, Colombia.

agua de mar con formol al 4 % neutralizado con tetraborato de sodio ($Na_2B_4O_7 / Na_2 * 2 B_2O_3$) y se transportó al laboratorio de hidrobiología de la Universidad Industrial de Santander, Colombia, en donde se observaron y separaron los cuatro grupos más abundantes del zooplancton provenientes de la red de 200 µm. Posteriormente, se separaron y midieron cincuenta (50) individuos de cada grupo de zooplancton empleando un estereomicroscopio Discovery V.12. con cámara Axiocam ERc 5s mediante el software ZEISS ZEN (Blue edition). Por último, para validar los diferentes protocolos se estimó la tasa de ingestión de MPs.

Con el propósito de evitar la contaminación en el laboratorio, se utilizó material de vidrio, sustancias filtradas con membrana de microfibra de vidrio (0.45 μ m de poro), limpieza con alcohol al 70 % y agua destilada, manipulación

Figure 1. Study area and sampling location in Isla Arena, Corales del Rosario and San Bernardo National Natural Park, Bolívar, Colombia.

To avoid contamination in the laboratory, glass material was used, substances were filtered with a glass microfiber membrane (0.45 μ m pore), cleaning with 70 % alcohol and distilled water, substance handling and filtrations in gas extraction hoods; organisms were rinsed with ultrapure deionized water (type I) to remove salts and impurities and deposited in glass jars. Tweezers were used to remove external material. To determine MPs integrity, control samples with MPs particles in a glass jar were used, evaluating the impact of the procedure for each of the employed protocols.

de sustancias y filtraciones en cabinas de extracción de gases; los organismos se lavaron con agua desionizada ultrapura (tipo I) para retirar las sales e impurezas y depositarlo en los frascos de vidrio, con pinzas se retiró cualquier material externo. Para determinar la integridad de los MPs se emplearon muestras de control con partículas de microplásticos en un frasco de vidrio y de esta manera evaluar el impacto del procedimiento para cada uno de los protocolos empleados.

Para la degradación de los organismos y extracción de MPs, se seleccionaron cuatro protocolos: dos de estos protocolos fueron desarrollados por Aytan et al. (2022), mientras que los otros dos provienen de las investigaciones de Cau et al. (2019) y Md Amin et al. (2020) (Tabla 1). Los protocolos se eligieron a partir de los resultados encontrados en las bases de datos donde se observa una amplia diversidad de técnicas de digestión para los análisis de MPs, con solo unos pocos estudios que evalúan la eficiencia de la digestión de la MO y organismos del zooplancton de los taxones que constituyeron el objeto de este estudio; adicionalmente se consideró la facilidad y disponibilidad de los reactivos (Li et al. 2016; Sun et al., 2017; Kosore et al. 2018; Botterell et al. 2019; Calderón et al., 2019; Cau et al., 2019; Garcés-Ordóñez et al., 2020; Md Amin et al., 2020; Zheng et al., 2020; Aytan et al., 2022; Jiménez-Cárdenas et al., 2022). Los protocolos seleccionados fueron aplicados a muestras compuestas por 50 organismos de los cuatro grupos de zooplancton encontrados más abundantes los cuales corresponden a las familias Paracalanidae, Corycaeidae y Oncaeidae, y al filo Chaetognatha.

Four protocols were selected for organism degradation and MPs extraction: two of these protocols were developed by Aytan et al. (2022), while the other two come from the research of Cau et al. (2019) and Md Amin et al. (2020) (Table 1). The protocols were chosen based on the results found in the databases, which show a wide diversity of digestion techniques for PM analysis, with only a few digestion techniques for MPs analysis, with only a few studies evaluating the efficiency of OM digestion and zooplankton organisms of Taxons that constituted the object of our study; additionally the ease and availability of reagents was considered (Li et al. 2016; Sun et al., 2017; Kosore et al. 2018; Botterell et al. 2019; Calderón et al., 2019; Cau et al., 2019; Garcés-Ordóñez et al., 2020; Md Amin et al., 2020; Zheng et al., 2020; Aytan et al., 2022; Jiménez-Cárdenas et al., 2022). The selected protocols were applied to samples composed of 50 organisms from the four most abundant zooplankton groups, corresponding to the Paracalanidae, Corvcaeidae, Oncaeidae, and Chaetognatha families.

 Tabla 1. Características y generalidades de los protocolos seleccionados con la finalidad de conseguir la degradación de organismos zooplanctónicos.

 Table 1. Characteristics and generalities of the selected protocols aimed at achieving the degradation of zooplanktonic organisms.

Protocolo / Protocol	Sustancia / Substance	Muestra / Sample	Cantidad de elementos degradados / Number of degraded elements
Aytan <i>et al.</i> (2022)	FeSO ₄ ·7H ₂ O + H ₂ O ₂ 30 % (reacción de Fenton) / (Fenton reaction)	Materia orgánica de la muestra de zooplancton / Organic matter from zooplankton sample	No aplica / Not applicable
Cau <i>et al.</i> (2019)	H ₂ O ₂ 15 %	Nephrops norvegicus and Aristeus antennatus	89 y 63 estómagos de las especies, respectivamente / 89 and 63 stomachs of the species, respectively
Aytan <i>et al.</i> (2022)	H ₂ O ₂ 30 %	Pellets fecales de Calanoida / Fecal pellets of Calanoida	20-40 individuos con pellets disponibles / $20-40$ individuals with available pellets
Md Amin <i>et al.</i> (2020)	HNO ₃ 65 %	Larva de pez / Fish larva, Crustacea, Polichaeta, Chaetognatha	20 individuos de cada grupo / 20 individuals from each group

El protocolo de Aytan et al. (2022) emplea la reacción Fenton, que consiste en la combinación de $FeSO_4 \cdot 7H_2O +$ H₂O₂ al 30 %, para la degradación de MO en muestras de agua. Esta misma metodología se utiliza por otros autores para la eliminación de la MO presente en los organismos más grandes (Tagg et al., 2017; Al-Azzawi et al., 2020; Lucher et al, 2020; Schrank et al., 2022). Los resultados obtenidos en el laboratorio con esta técnica no lograron una degradación completa de los organismos. Se implementaron modificaciones a este protocolo duplicando el volumen H₂O₂ al 30 % en la fórmula de Fenton y se prolongó la fase de calentamiento a dos horas adicionales. Las condiciones de temperatura se mantuvieron constantes debido a que la reacción de Fenton es exotérmica, y un aumento de la temperatura podría implicar riesgos en el laboratorio y tratando de mantener la integridad de los MPs que según los autores no debe exceder los 60 °C cuando se utilizan reacciones oxidativas y alcalinas (Lusher et al., 2020; Alonso et al., 2021)

El protocolo de Cau et al. (2020) usa peróxido de hidrógeno al 15 % para la degradación de los crustáceos Nephrops norvegicus y Aristeus antennatus; los crustáceos son un grupo taxonómico dominante en el plancton y que presentan una mayor dificultad para degradar la MO debido a la presencia de quitina en los exoesqueletos (Souza et al., 2011). Los volúmenes de H₂O₂a 2 mL se modificaron a fin de adaptarlos a la MO presente en el zooplancton. La temperatura y el tiempo establecido por los autores en el protocolo, no consiguió degradar los organismos especialmente copépodos y quetognatos (ver Tabla 2, Figura 2). Para lograr degradar a los organismos zooplanctónicos especialmente los crustáceos como copépodos y quetognatos se modificó el tiempo de calentamiento hasta 12 h con la misma temperatura (50 °C), como se registra en la Tabla 2, sin obtener resultados 100 % efectivos en la degradación y con consecuencias posiblemente en la integridad de los MPs (Alonso et al., 2021).

En el protocolo de Aytan *et al.* (2022) también utilizaron H_2O_2 al 30 % para la degradación de MO del zooplancton, a una temperatura controlada de 45 °C en un periodo de 4 h a 6 h. Este protocolo tampoco logró la degradación total de los organismos de zooplancton. En este sentido, con la finalidad de digerir los organismos se ajustó el volumen de H_2O_2 a 2 mL y se incrementó la temperatura hasta llegar a 75 °C por 12 h, a pesar de que Alonso *et al.* (2021) sugiere que altas temperaturas pueden dañar la integridad de los MPs, en nuestros resultados no se logró ni siquiera degradar la MO (Tabla 2, Figura 2).

The protocol by Aytan et al. (2022) employs the Fenton reaction, combining $FeSO_4 \cdot 7 H_2O + H_2O_2$ at 30 %, for OM degradation in water samples. This methodology is used by other authors for removing OM from larger organisms (Tagg et al., 2017; Al-Azzawi et al., 2020; Lucher et al, 2020; Schrank et al., 2022). However, the laboratory results with this technique did not achieve complete degradation of organisms. Modifications were made to this protocol by doubling the H_2O_2 at 30 % volume in the Fenton formula and extending the heating phase by two additional hours. Temperature conditions were kept constant because the Fenton reaction is exothermic, and an increase in temperature could pose risks in the laboratory while trying to maintain MPs integrity, as authors suggest not exceeding 60 °C when using oxidative and alkaline reactions (Lusher et al., 2020; Alonso et al., 2021).

The protocol by Cau *et al.* (2020) uses 15 % hydrogen peroxide for the degradation of Nephrops norvegicus and Aristeus antennatus crustaceans; crustaceans, being a dominant taxonomic group in plankton, which present greater difficulty in degrading OM due to the presence of chitin in exoskeletons (Souza *et al.*, 2011). H₂O₂ volumes at 2 mL were modified to adapt to zooplankton OM. The temperature and time set by the authors in the protocol did not degrade the organisms, especially copepods and chaetognaths. To degrade zooplankton organisms, especially crustaceans like copepods and chaetognaths, the heating time was extended to 12 h at the same temperature (50 °C), as reported in Table 2, without obtaining 100 % effective degradation and possibly affecting MPs integrity (Alonso *et al.*, 2021).

In Aytan *et al.*'s (2022) protocol, H_2O_2 at 30 % was also used for zooplankton OM degradation, with a controlled temperature of 45 °C over a period of 4 h to 6 h. This protocol also failed to achieve total degradation of zooplankton organisms. To digest organisms, the H_2O_2 volume was adjusted to 2 mL, and the temperature was increased to 75 °C for 12 h. Despite suggestions that high temperatures can damage MPs integrity (Alfonso *et al.*, 2021), our results did not even achieve OM degradation (Table 2, Figure 2).
Tabla 2. Protocolos seleccionados y adaptados para obtener la degradación de zooplancton marino.

Table 2. Selected and adapted protocols for achieving marine zooplankton degradation.

Protocolo / Protocol	Sustancia / Substance	Original			Modificación / Modification		
		Vol	Т	Tiempo / Time	Vol	Т	Tiempo / Time
Aytan <i>et al.</i> (2022)	$\begin{array}{c} FeSO_4 \cdot 7H_2O \\ + H_2O_2 \ 30 \ \% \\ (Reactivo \ de \\ Fenton) \ / \\ (Fenton \ Reagent) \end{array}$	20 mL (FeSO ₄ · 7 H ₂ O) + 20 mL (H ₂ O ₂ 30 %)	45 °C	Hasta que se degrade la materia orgánica o hasta 72 h / Until organic matter degrades or up to 72h	10 mL (FeSO ₄ · 7 H ₂ O) + 20 mL (H ₂ O ₂ 30 %)	45 °C	74 h
Cau <i>et al.</i> (2019)	H ₂ O ₂ 15 %	Hasta cubrir la muestra / Enough to cover the sample	50 °C	Durante la noche / Overnight	2 mL	50 °C	12h
Aytan <i>et al.</i> (2022)	${ m H_2O_2}$ 30 %	Hasta cubrir la muestra / Enough to cover the sample	45 °C	4 h – 6 h	2 mL	75 °C	7 h – 12 h
Md Amin et al. (2020)	HNO ₃ 65 %	$17~\mu L-20~\mu L$	80 °C	30 min	2 mL	80 °C	1 h



Figura 2. Organismos degradados parcialmente; a) Chaetognatha. d,g) Oncaeidae. b,e,h) Paracalanidae. c,f,i) Corycaeidae.

Figure 2. Partially degraded organisms; **a)** Chaetognatha. **d,g)** Oncaeidae. **b,e,h)** Paracalanidae. **c,f,i)** Corycaeidae.

El protocolo de Md Amin *et al.* (2020) usaron entre 17 μ l – 20 μ l de ácido nítrico (HNO₃) al 65 % por un tiempo de calentamiento de 30 min para degradar los organismos zooplanctónicos; el volumen propuesto del ácido no fue suficiente para cubrir la muestra de zooplancton por lo que se aumentó a 2 mL. Adicionalmente, el tiempo de calentamiento establecido por el autor no consiguió degradar los ganchos de los Chaetognathos, razón por la que el tiempo se incrementó In Md Amin *et al.*'s (2020) protocol, between 17 μ l – 20 μ l of 65 % nitric acid (HNO₃) was used for 30 min to degrade zooplankton organisms. The proposed acid volume was not sufficient to cover the zooplankton sample, so it was increased to 2 mL. Additionally, the author's specified heating time did not fully degrade the chaetognath hooks, so the time was increased to 1 h. To avoid physical damage to MPs, the temperature was not a 1 h; para evitar daños físicos en los MPs, la temperatura no fue modificada, la integridad de los plásticos, a pesar de las recomendaciones de Alfonso *et al.* (2021), se mantuvo al compararlo con la muestra control. Después de realizados los procedimientos, se filtraron las soluciones con una membrana de éster de nitrato de celulosa (0.45 μ m de poro) con área de 5 cm², y lo retenido en el filtro se observó en el estereomicroscopio.

Los protocolos basados en la oxidación y acidificación (Cau et *al* 2019; Md Amin *et al*, 2020; Aytan *et al.*, 2022), solo lograron degradaciones parciales en algunos grupos de zooplancton en determinadas condiciones; con respecto a la oxidación, el peróxido de hidrógeno es eficiente en la remoción de MO según lo registrado en sedimentos, muestras de agua (Aytan *et al.*, 2022), en tejidos blandos de *Mytilus edulis* (Li *et al.*, 2016; Kolandhasamy *et al.*, 2018), y en la digestión parcial del tracto intestinal de peces y langostas (Avio *et al.*, 2015; Cau *et al.*, 2019). No obstante, los organismos utilizados en nuestra investigación al poseer estructuras quitinosas no se degradan completamente (Figura 2); similar a lo registrado por Cole *et al.* (2014), donde se observó que el peróxido de hidrógeno removió parcialmente las muestras de zooplancton por un periodo de hasta siete días.

La reacción de Fenton es un proceso que combina oxidación y bases cuando se combina el peróxido de hidrógeno (H₂O₂ 30 %) con sulfato de hierro (II) (FeSO₄); esta disolución ha demostrado ser eficiente en la descomposición de MO en muestras de lodo provenientes de aguas residuales (Al-Azzawi et al., 2020) y en la degradación de MO disuelta en muestras de agua marinas (Aytan et al., 2022). En varias investigaciones, se ha considerado la reacción Fenton como una reacción clave para estandarizar un método en la digestión de MO (Tagg et al., 2017; Al-Azzawi et al., 2020; Schrank et al., 2022) por ser efectiva en un tiempo de menor exposición y por no tener efectos adversos en la composición física y química de los plásticos (Al-Azzawi et al., 2020; Schrank et al., 2022); sin embargo, en nuestra investigación, las estructuras de los organismos zooplanctónicos utilizados se degradaron parcialmente.

La metodología de Fenton presenta una reacción exotérmica, es decir, que alcanza temperaturas hasta los 90 °C (Al-Azzawi *et al.*, 2020) por lo que se requieren frascos cónicos a partir de 100mL para evitar el derrame del contenido, lo que dificulta la extracción de MPs inmersos en muestras de tamaño reducido. Möller *et al.* (2020) registraron que la reacción de Fenton no es suficiente para obtener la remoción completa de MO al igual que lo observado en este estudio, lo modified, and MPs integrity was maintained compared to the control sample Alfonso *et al.* (2021). After the procedures, the solutions were filtered with a cellulose nitrate ester membrane (0.45 μ m pore) with an area of 5 cm², and the retained material on the filter was observed under the stereomicroscope.

Protocols based on oxidation and acidification (Cau *et al.*, 2019; Md Amin *et al.*, 2020; Aytan *et al.*, 2022) only achieved partial degradation in some zooplankton groups under certain conditions. Regarding oxidation, hydrogen peroxide is efficient in removing OM, as reported in sediments, water samples (Aytan *et al.*, 2022), soft tissues of *Mytilus edulis* (Li *et al.*, 2016; Kolandhasamy *et al.*, 2018), and the partial digestion of fish and lobster intestinal tracts (Avio *et al.*, 2015; Cau *et al.*, 2019). However, the organisms used in our research, having chitinous structures, were not fully degraded (Figure 2), similar to findings by Cole *et al.* (2014), where hydrogen peroxide partially removed zooplankton samples for up to seven days.

The Fenton reaction is a process that combines oxidation and bases when combining hydrogen peroxide $(H_2O_2 30 \%)$ with iron sulfate (II) (FeSO₄). This solution has proven efficient in decomposing OM in sludge samples from wastewater (Al-Azzawi *et al.*, 2020) and degrading dissolved OM in marine water samples (Aytan *et al.*, 2022). In several studies, the Fenton reaction has been considered a key method for standardizing the digestion of organic matter (OM) (Tagg *et al.*, 2017; Al-Azzawi *et al.*, 2020; Schrank *et al.*, 2022) due to its effectiveness in a shorter exposure time and its lack of adverse effects on the physical and chemical composition of plastics (Al-Azzawi *et al.*, 2020; Schrank *et al.*, 2022). However, in our research, the structures of the zooplankton organisms used were only partially degraded.

The Fenton methodology involves an exothermic reaction, reaching temperatures up to 90 °C (Al-Azzawi *et al.*, 2020), requiring conical flasks of at least 100 mL to prevent content spillage, making it challenging to extract microplastics (MPs) from small-sized samples. Möller *et al.* (2020) reported that the Fenton reaction alone is insufficient for complete OM removal, as observed in our study. A complementary step, such as the use of digestive enzymes, is necessary for total digestion, increasing sample processing costs. No alterations in the integrity of MPs were observed, similar to the findings of Hurley *et al.* (2018), who reported that MP forms maintain their integrity between 86 % and 90 %, depending on the shape and polymer composition.



Figura 3. Ejemplos de MPs ingeridos por zooplancton marino; **a,b**) Chaetognatha. **c**) Corycaeidae. **d**) Oncaeidae. **e,f**) Paracalanidae. (Barra de escala = 200μ m).

Figure 3. Examples of MPs ingested by marine zooplankton; **a,b**) Chaetognatha. **c**) Corycaeidae. **d**) Oncaeidae. **e,f**) Paracalanidae. (Scale bar = 200μ m).

que hace necesario realizar un paso complementario como el uso de enzimas digestivas para conseguir la digestión total, que aumentan los costos de procesamiento de las muestras. No se evidenció alteraciones en la integridad de los MPs similar a lo evaluado por Hurley *et al.* (2018) quienes encontraron que las formas de MPs mantienen su integridad entre un 86 al 90 % dependiendo de la forma y composición del polímero.

La acidificación ha demostrado ser útil en la remoción de material orgánico de muestras marinas, facilitando el aislamiento de MPs (Avio *et al.*, 2015); asimismo, el ácido nítrico ha sido utilizado en la digestión de muestras de zooplancton (Sun *et al.*, 2017; Desforges *et al.*, 2019; Zavala-Alarcón *et al.*, 2023) y en tractos digestivos de camarones (Gurjar *et al.*, 2021). En este trabajo de investigación se modificó el tiempo de exposición de ácido nítrico al 65 % de 30 min a 1 h; en este aspecto, se obtuvieron resultados positivos de una degradación completa de los organismos zooplanctónicos y una integridad en las características físicas de los MPs.

Algunos autores sugieren que el ácido nítrico cuando se somete a presiones y temperaturas altas puede oxidar, destruir y dañar los polímeros de los MPs que son intolerantes a bajos pH como el poliestireno, polietileno y poliamidas (Cole *et al.*, 2014; Acidification has proven useful for removing organic material from marine samples, facilitating MPs isolation (Avio *et al.*, 2015). Nitric acid has been used in the digestion of zooplankton samples (Sun *et al.*, 2017; Desforges *et al.*, 2019; Zavala-Alarcón *et al.*, 2023) and shrimp digestive tracts (Gurjar *et al.*, 2021). In this research the exposure time of 65 % nitric acid was modified from 30 minutes to 1 hour, resulting in positive outcomes with complete degradation of zooplankton organisms and preserved physical characteristics of MPs.

Some authors suggest that nitric acid, under high pressures and temperatures, can oxidize, destroy, and damage polymer MPs intolerant to low pH, such as polystyrene, polyethylene, and polyamides (Cole *et al.*, 2014; Schrank *et al.*, 2022). Desforges *et al.* (2015) used 100 % nitric acid for 30 minutes, finding MPs in samples of the copepod *Neocalanus cristatus* and krill *Euphausia pacifica*, reporting that acid impact on MPs depends on exposure time and concentration. Md Amin *et al.* (2020) and Zavala-Alarcón *et al.* (2023) used 65 % and 55 % nitric acid, respectively, modifying Desforges *et al.*'s (2015) methodology, showing no impact on the physical and chemical integrity of MPs. Schrank *et al.*, 2022); en este sentido, Desforges *et al.* (2015) utilizaron ácido nítrico al 100 % por 30 min y encontraron MPs en muestras del copépodo calanoideo *Neocalanus cristatus* y en muestras de krill de *Euphausia pacifia*, registrando que el impacto del ácido en los MPs depende del tiempo de exposición y la concentración. Asimismo, Md Amin *et al.* (2020) y Zavala-Alarcón *et al.* (2023) usaron ácido nítrico al 65 % y 55 %, respectivamente, modificando la metodología realizada por Desforges *et al.* (2015); en este aspecto, evidenciaron que la integridad física y química de los MPs no fue afectada.

Por otra parte, la presencia de polímeros como el PET, según Schrank et al. (2022), se degradan utilizando ácido nítrico al 69 % durante 2 h, mientras que Zavala-Alarcón et al. (2023) encontraron que este polímero se degrada utilizando ácido nítrico al 55 % por 30 min, lo que evidencia que las modificaciones en el tiempo de exposición y concentración del ácido nítrico continúan siendo favorables en la conservación de la integridad de los MPs y en la digestión completa de los organismos zooplanctónicos. En cada uno de los protocolos se calculó la tasa de ingestión por grupo taxonómico, sin embargo, solo el protocolo modificado de Md Amin et al. (2020) se obtuvieron resultados, debido a que los otros protocolos no lograron degradar la MO y por lo tanto no se podían observar la presencia de MPs. La tasa de ingestión de MPs empleando el protocolo modificado de Md Amin et al. (2020) encontró los siguientes valores para cada uno de los grupos de zooplancton: Paracalanidae 16 MPs/50 (0.31), Corycaeidae 8 MPs/50 (0.16), Oncaeidae 8 MPs/50 (0.16) y Chaetognatha 12 MPs/50 (0.24). Los fragmentos fueron la única forma de MPs detectada para los copepodos (Paracalanidae, Corycaeidae, Paracalanidae, Oncaeidae); la ingesta de estas formas se asocia con su disponibilidad en el ambiente, y particularmente a que este grupo es omnívoro lo que los hace más susceptibles de ingerir MPs (Zavala-Alarcón et al 2023), lo anterior también se sustenta con la investigación de Garcés-Ordoñez et al. (2022) quienes encontraron mayor ocurrencia de fragmentos sobre otras formas de MPs en las aguas superficiales de las áreas costeras del Caribe colombiano. Los filamentos que son la segunda forma encontrada fueron ingeridos por el grupo de Chaetognatha, como lo encontrado por otros autores (Kosore et al., 2018; Md Amin et al., 2020).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los diferentes profesionales y técnicos del Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo, que colaboraron en la adquisición de las muestras. Agradecemos a los revisores en las sugerencias para

Schrank et al. (2022) reported the degradation of PET polymers using 69 % nitric acid for two hours, while Zavala-Alarcón et al. (2023) found that this polymer degrades using 55 % nitric acid for 30 minutes, demonstrating that modifications in exposure time and concentration of nitric acid remain favorable for preserving MP integrity and achieving complete digestion of zooplankton organisms. In each protocol, the ingestion rate per taxonomic group was calculated. However, only the modified protocol of Md Amin et al. (2020) yielded results (Figure 3), as other protocols failed to degrade OM, making it impossible to observe the presence of MPs. The MPs ingestion rate using the modified protocol found the following values for each zooplankton group: Paracalanidae 16 MPs/50 (0.31), Corycaeidae 8 MPs/50 (0.16), Oncaeidae 8 MPs/50 (0.16), and Chaetognatha 12 MPs/50 (0.24). Fragments were the only MPs form detected for copepods (Paracalanidae, Corycaeidae, Oncaeidae); their ingestion is associated with environmental availability, and their omnivorous nature makes them more susceptible to MPs ingestion (Zavala-Alarcón et al., 2023), supported by Garcés-Ordoñez et al.'s (2022) findings of higher fragment occurrence in surface waters of coastal areas in the Colombian Caribbean. Filaments, the second form found, were ingested by the Chaetognatha group, consistent with other authors' findings (Kosore et al., 2018; Md Amin et al., 2020).

ACKNOWLEDGMENTS

The authors express gratitude to the various professionals and technicians of the Corales del Rosario and San Bernardo National Natural Park who collaborated in sample acquisition. We appreciate the reviewers for their suggestions in publishing this manuscript. This work was funded by the Vice-Rectorate of Research and Extension of Universidad Industrial de Santander, project 2839, in collaboration with National Natural Parks and Universidad Nacional de Colombia. The results are part of the thesis of one of the authors (L.S.C.C) for obtaining a degree in Biology from Universidad Industrial de Santander. la publicación de este manuscrito. Este trabajo fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander proyecto 2839, Parques Nacionales Naturales y la Universidad Nacional de Colombia. Los resultados hacen parte de la tesis de una de las autoras (L.S.C.C) para obtener el título de bióloga en la Universidad Industrial de Santander.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Acosta-Coley, I., M. Durán-Izquierdo, E. Rodríguez-Cavallo, J. Mercado-Camargo, D. Méndez-Cuadro and J. Olivero-Verbel. 2019. Quantification of microplastics along the Caribbean coastline of Colombia: Pollution profile and biological effects on *Caenorhabditis elegans*. Mar. Poll. Bull., 146: 574–583. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.084
- Al-Azzawi, M.S., S. Kefer, J. Weißer, J. Reichel, C. Schwaller, K. Glas, ... and J.E. Drewes. 2020. Validation of sample preparation methods for microplastic analysis in wastewater matrices reproducibility and standardization. Water, 12(9), 2445.
- Alfonso, M.B., K.Takashima, S. Yamaguchi, M. Tanaka and A. Isobe. 2021. Microplastics on plankton samples: Multiple digestion techniques assessment based on weight, size, and FTIR spectroscopy analyses. Mar. Poll. Bull., 173: 113027. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113027
- Avio, C.G., S. Gorbi abd F. Regoli. 2015. Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: First observations in commercial species from Adriatic Sea. Mar. Environ. Res., 111: 18–26. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.014
- Aytan, U., F.B. Esensoy and Y. Senturk. 2022. Microplastic ingestion and egestion by copepods in the Black Sea. Sci. Total Environ., 806. https://doi. org/10.1016/j.scitotenv.2021.150921
- Botterell, Z.L.R., N. Beaumont, T. Dorrington, M. Steinke, R.C. Thompson and P.K. Lindeque. 2019. Bioavailability and effects of microplastics on marine zooplankton: A review. Environ. Poll., 245: 98–110. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.065
- Calderón, E.A., P. Hansen, A. Rodríguez, M.C.M. Blettler, K. Syberg and F.R. Khan. 2019. Microplastics in the digestive tracts of four fish dpecies from the Ciénaga Grande de Santa Marta Estuary in Colombia. Wat. Air Soil Poll., 230(11). https://doi.org/10.1007/s11270-019-4313-8
- Cau, A., C.G. Avio, C. Dessì, M.C. Follesa, D. Moccia, F. Regoli and A. Pusceddu. 2019. Microplastics in the crustaceans *Nephrops norvegicus* and *Aristeus antennatus*: Flagship species for deep-sea environments? Environ. Poll., 255: 113107. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113107
- Chenillat, F., T. Huck, C. Maes, N. Grima and B. Blanke. 2021. Fate of floating plastic debris released along the coasts in a global ocean model. Mar. Poll. Bull., 165:112116. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112116
- Cole, M., H. Webb, P.K. Lindeque, E.S. Fileman, C. Halsband and T.S. Galloway. 2014. Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. Sci. Rep., 4. https://doi.org/10.1038/srep04528
- Cole, M., P. Lindeque, E. Fileman, C. Halsband and T.S. Galloway. 2015. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. Environ. Sci. Techn., 49(2): 1130–1137. https://doi.org/10.1021/es504525u
- De Sá, L.C., M. Oliveira, F. Ribeiro, T.L. Rocha and M.N. Futter. 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future? Sci. Total Environ., 645: 1029-1039.
- Desforges, J.P.W., M. Galbraith and P.S. Ross. 2015. Ingestion of microplastics by zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. Arch. Environ. Cont. Toxicol., 69(3). https://doi.org/10.1007/s00244-015-0172-5
- Frias, J.P.G.L. and R. Nash. 2019. Microplastics: Finding a consensus on the definition. Mar. Poll. Bull., 138: 145–147. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2018.11.022
- Garcés-Ordóñez, O., J.F. Saldarriaga-Vélez, L.F. Espinosa-Díaz, A.D. Patiño, J. Cusba, M. Canals, ... and M. Thiel. 2022. Microplastic pollution in water, sediments and commercial fish species from Ciénaga Grande de Santa Marta lagoon complex, Colombian Caribbean. Sci. Total Environ., 829: 154643. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154643
- Gurjar, U.R., K.M. Xavier, S.P. Shukla, G., Deshmukhe, A.K. Jaiswar and B.B. Nayak. 2021. Incidence of microplastics in gastrointestinal tract of golden anchovy (*Coilia dussumieri*) from northeast coast of Arabian Sea: The ecological perspective. Mar. Poll. Bull., 169: 112518.
- He, S., M. Jia, Y. Xiang, B. Song, W. Xiong, J. Cao, H., Peng, Y. Yang, W. Wang, Z. Yang and G. Zeng. 2022. Biofilm on microplastics in aqueous environment: Physicochemical properties and environmental implications. J. Hazard. Mat., 424. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127286
- Hurley, R.R., A.L. Lusher, M. Olsen and L. Nizzetto. 2018. Validation of a method for extracting microplastics from complex, organic-rich, environmental matrices. Environ. Sci. Technol., 52(13): 7409-7417.
- Jeong, C.B., H.M. Kang, M.C. Lee, D.H. Kim, J. Han, D.S. Hwang, S. Souissi, S.J. Lee, K.H. Shin, H.G. Park and J.S. Lee. 2017. Adverse effects of microplastics and oxidative stress-induced MAPK/Nrf2 pathway-mediated defense mechanisms in the marine copepod *Paracyclopina nana*. Sci. Rep., 7. https://doi.org/10.1038/srep41323

- Jimenez-Cárdenas, V., A. Luna-Acosta and L.D. Gómez-Méndez. 2022. Differential presence of microplastics and mesoplastics in coral reef and mangrove fishes in Isla Grande, Colombia. Microplastics, 1(3), 477–493. https://doi.org/10.3390/microplastics1030034
- Kolandhasamy, P., L. Su, J. Li, X. Qu, K. Jabeen and H. Shi. 2018. Adherence of microplastics to soft tissue of mussels: A novel way to uptake microplastics beyond ingestion. Sci. Total Environ., 610: 635-640.
- Kosore, C., L. Ojwang, J. Maghanga, J. Kamau, A. Kimeli, J. Omukoto, N. Ngisiang'e, J. Mwaluma, H. Ong'ada, C. Magori and E. Ndirui. 2018). Occurrence and ingestion of microplastics by zooplankton in Kenya's marine environment: First documented evidence. Afr. J. Mar. Sci., 40: 225–234. https://doi.org/ 10.2989/1814232X.2018.1492969
- Lee, K.W., W.J. Shim, O.Y. Kwon and J.H. Kang. 2013. Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. Environ. Sci. Technol., 47(19): 11278–11283. https://doi.org/10.1021/es401932b
- Li, J., X. Qu, L. Su, W. Zhang, D. Yang, P. Kolandhasamy, D. Li and H. Shi. 2016. Microplastics in mussels along the coastal waters of China. Environ. Poll., 214: 177–184. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.012
- Liu, Y., R. Li, J. Yu, F. Ni, Y. Sheng, A. Scircle, ... and Y. Zhou. 2021. Separation and identification of microplastics in marine organisms by TGA-FTIR-GC/ MS: A case study of mussels from coastal China. Environ. Poll., 272: 115946.
- Lo, H.K.A. and K.Y.K. Chan. 2018. Negative effects of microplastic exposure on growth and development of *Crepidula onyx*. Environ. Poll., 233: 588– 595. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.095
- Lusher, A.L., K. Munno, L. Hermabessiere and S. Carr. 2020. Isolation and extraction of microplastics from environmental samples: An evaluation of practical approaches and recommendations for further harmonization. App. Spectr., 74:1049–1065. https://doi.org/10.1177/0003702820938993
- Md Amin, R., E.S. Souhaimi, S.T. Anuar and Z. Bachok. 2020. Microplastic ingestion by zooplankton in Terengganu coastal waters, Southern South China Sea. Mar. Poll. Bull., 150. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110616
- Möller, J.N., M.G. Löder and C. Laforsch. 2020. Finding microplastics in soils: A review of analytical methods. Environ. Sci. Technol., 54(4): 2078-2090.
- Schrank, I., J.N. Möller, H.K. Imhof, O. Hauenstein, F. Zielke, S. Agarwal, ... and C. Laforch. 2022. Microplastic sample purification methods— Assessing detrimental effects of purification procedures on specific plastic types. Sc. Total Environ., 833: 154824.
- Shen, M., S. Ye, G. Zeng, Y. Zhang, L. Xing, W. Tang, X. Wen and S. Liu. 2020. Can microplastics pose a threat to ocean carbon sequestration? Mar. Poll. Bull., 1(150): 110712. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110712
- Souza, C.P., B.C. Almeida, R.R. Colwell and I.N.G. Rivera. 2011. The importance of chitin in the marine environment. Mar. Biotechnol., 13(5): 823–830. https:// doi.org/10.1007/s10126-011-9388-1
- Steinberg, D.K. and M.R. Landry. 2017. Zooplankton and the ocean carbon cycle. Ann. Rev. Mar. Sci., 9(1): 413–444. https://doi.org/10.1146/annurevmarine-010814-015924
- Sun, X., Q. Li, M. Zhu, J. Liang, S, Zheng and Y. Zhao. 2017. Ingestion of microplastics by natural zooplankton groups in the northern South China Sea. Mar. Poll. Bull., 115(1-2): 217-224. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.004
- Tafurt-Villarraga, D., A. Molina and G. Duque. 2021. Feeding habits of three species of sole fish (Pleuronectiformes: Achiridae) in Buenaventura Bay, Colombian Pacific. Rev. Biol. Trop., 69(3): 1055-1068.
- Tagg, A.S., J.P. Harrison, Y. Ju-Nam, M. Sapp, E.L. Bradley, C.J. Sinclair and J.J. Ojeda. 2017. Fenton's reagent for the rapid and efficient isolation of microplastics from wastewater. Chem. Comm., 53(2): 372-375.
- Troost, T.A., T. Desclaux, H.A. Leslie, M.D. Van Der Meulen and A.D. Vethaak. 2018. Do microplastics affect marine ecosystem productivity? Mar. Poll. Bull., 135: 17–29. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.067
- Yin, J., J.Y. Li, N.J. Craig and L. Su. 2022. Microplastic pollution in wild populations of decapod crustaceans: A review. Chemosphere, 291(P2), 132985. https:// doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132985
- Yu, S.P.Y., M.C. Cole and B.K. Chan. 2020. Effects of microplastic on zooplankton survival and sublethal responses. Oceanogr. Mar. Biol.
- Zavala-Alarcón, F.L., J.P. Huchin-Mian, M.D.P. González-Muñoz and E.R. Kozak. 2023. In situ microplastic ingestion by neritic zooplankton of the central Mexican Pacific. Environ. Poll., 319: 120994.
- Zheng, S., Y. Zhao, W. Liangwei, J. Liang, T. Liu, M. Zhu, Q. Li and X. Sun. 2020. Characteristics of microplastics ingested by zooplankton from the Bohai Sea, China. Sci. Total Environ., 713. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136357
- Zitouni, N., N. Bousserrhine, O. Missawi, I. Boughattas, N. Chèvre, R. Santos, S. Belbekhouche, V. Alphonse, F. Tisserand, L. Balmassiere, S.P. Dos Santos, M. Mokni, H. Guerbej and M. Banni. 2021. Uptake, tissue distribution, and toxicological effects of environmental microplastics in early juvenile fish *Dicentrarchus labrax*. J. Hazard. Mat., 403. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124055

RECIBIDO / RECEIVED: 04/04/2023

ACEPTADO / ACCEPTED: 21/11/2023

186

Guía de autores / Author's guide

El *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* (título abreviado: Bol. Invest. Mar. Cost.) es una publicación indexada de acceso abierto, periodicidad semestral y arbitrada bajo la modalidad ciego. 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.

La revista es editada desde 1967 por el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andréis" (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, periodicidad que se mantiene hasta la fecha. El primer número se publica en el mes de junio y el segundo, en el mes de diciembre.

El *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* únicamente considera para publicación trabajos originales, es decir, aquellos que incluyan resultados significativos que no hayan sido publicados ni estén siendo considerados para publicación en otra revista. Se reciben artículos de investigación, notas científicas y artículos de revisión que compilen y resuman adecuadamente el trabajo en un campo particular y señalen líneas de investigación a seguir. La revista se publica en inglés y español en formato PDF que puede ser consultada en: http://boletin.invemar.org.co/ojs/index.php/boletin. La revista se encuentra indexada en Scopus desde 2016 (Q3 del Scimago Journal Ranking en la categoría "Animal Science and Zoology") y en Publindex (categoría C).

El *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* es una publicación de acceso abierto, por lo que no existen cargos para lectura o descarga de información, basado en el principio de que ofrecer al público un acceso libre a las investigaciones ayuda a un mayor intercambio global de conocimiento. Su distribución y divulgación es libre, siempre y cuando se respeten los respectivos créditos de los manuscritos. Los autores no deben pagar por someter o publicar sus manuscritos, 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 americano. El Boletín recibe artículos en sometimiento escritos en ambos idiomas o en uno solo. En este último caso, el resumen, el *abstract* y las palabras clave deben ser enviados originalmente en español e inglés americano. Por su parte, las notas científicas deben ser sometidas en ambos idiomas. A partir del año 2021, las disposiciones sobre la traducción de los artículos que culminen satisfactoriamente el proceso editorial serán informadas a través del sitio web del Boletín. Los autores no podrán retirar el manuscrito una vez este haya sido aceptado.

Presentación: para someter su artículo, debe cargarlo junto a la carta de sometimiento a través de la página. Puede hacerlo registrándose en el sitio web 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 en el sitio web, en la sección "Guía de autores". Si el manuscrito es aceptado para publicación, se solicitará a los autores el envío de las gráficas en formato editable (.xml [excel], .eps o .pdf vectorial) y con los textos en español e inglés americano, así como las fotos en formato JPG o TIF, con una resolución de, al menos, 360 dpi. Los colores deben corresponder a la escala CMYK.

Bulletin of Marine and Coastal Research (title abbreviation: Bull. Mar. Coast. Res.) is an open-access, semi-annual, indexed publication, refereed under the single-blind modality. It is aimed at the scientific community and people related to environmental issues in coastal and marine areas, with particular emphasis on tropical America. It considers unedited works about research topics on the sea or coastal aquatic environments, undertaken in the tropical and subtropical areas of the Americas.

The journal is edited since 1967 by the "José Benito Vives de Andréis" Marine and Coastal Research Institute (Invemar). Until volume 8 it was called *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, two issues are published per annual volume, a frequency that has been maintained to date. The first issue is published in June and the second in December.

Bulletin of Marine and Coastal Research only considers for publication original works, that is, those that include significant results that have not been published nor are being considered for publication in another journal. Research articles, scientific notes, and review articles are received that adequately compile and summarize work in a particular field and indicate lines of research to be followed. The journal is published in English and Spanish in PDF format and can be consulted at http://boletin.invemar.org. co/ojs/index.php/boletin. The journal is indexed on Scopus since 2016 (Q3 Scimago Journal Ranking on "Animal Science and Zoology" category) and on Publindex (category C).

The Bulletin is an open-access journal, so there is no charge for reading or downloading information, based on the principle that providing free access to research helps to increase global knowledge exchange. Its distribution and dissemination are free, respecting each credit and authorship of the manuscripts. 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 American English. The Bulletin receives articles in submissions written in both languages or in one language only. In the latter case, the *abstract* and keywords must be submitted originally in Spanish and American English. Scientific notes must be submitted in both languages. From 2021, the instructions on the translation of articles that successfully complete the editorial process will be reported through the Bulletin's website. Authors will not be able to withdraw their manuscript once it has been accepted.

Presentation: To submit your article, you must upload it together with the complementary files through the page. You must register on the website or enter 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 on the website, in the "Author's Guide" section. If the manuscript is accepted for publication, the authors will be asked to send the graphics in an editable format (.xml [excel], .eps or .pdf vectorial) and with the texts in Spanish and American English, as well as the photos in JPG or TIF format, with a resolution of at least 360 dpi. Colors must correspond to the CMYK scale.

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 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.

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 se deben redactar en tercera persona del singular (impersonal).

Los **artículos** deben tener una extensión máxima de 6 000 palabras incluyendo figuras y tablas, pero sin contar bibliografía, resumen y *abstract*. Solo en casos excepcionales y justificados, se aceptarán manuscritos más extensos, para lo cual los autores tendrán que enviar una nueva carta de sometimiento que contenga dicha justificación. Los artículos deben tener la siguiente estructura: título, autor(es), OrcID, filiación institucional y correo electrónico de todos los autores, 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, las **notas científicas** deben tener una extensión máxima de 1 500 palabras, sin contar bibliografía y sin división en secciones como los artículos. Deben venir en ambos idiomas (español e inglés americano) y tener la siguiente estructura: resumen, *abstract*, palabras clave, texto, agradecimientos y bibliografía.

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, tanto en la versión en español como en inglés.

Nota: es importante escoger bien las palabras clave. Recuerde que cualquier persona puede encontrar su trabajo en la web por intermedio de ellas. Recomendamos revisarlas a la luz del Tesauro Marino Ambiental Costero del Centro de Documentación del Invemar.

Tablas: elaboradas en procesador de texto con la opción Tabla, sin líneas verticales. La leyenda debe ir encima, en minúscula, y ser suficientemente explicativa. Las tablas deben ser numeradas consecutivamente y ubicadas conforme son citadas por primera vez dentro del texto. La información incluida en las tablas no puede aparecer repetida en las figuras.

Figuras: incluyen mapas, esquemas, dibujos, fotografías y láminas. La leyenda debe ir en el margen inferior, en minúscula, y ser suficientemente explicativa. Las figuras deben tener letras y símbolos en tamaño apropiado, de modo que al reducirlas no pierdan su nitidez. Además, deben ser numeradas consecutivamente y ubicadas conforme son citadas por primera vez dentro del texto.

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. The *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. The 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 should be written in the third person singular (impersonal).

Articles must have a maximum of 6,000 words including tables and figures but excluded literature cited, *resumen*, and abstract. Only in exceptional and justified cases, more extensive manuscripts will be accepted, for which the authors will have to send a new letter of submission containing such justification. The 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, acknowledgments, 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.

Scientific notes must have a maximum of 1,500 words (excluding literature cited), without divisions and subtitles like the long manuscripts. Notes must be submitted in two languages: Spanish and American English and divided only in the abstract, abstract in Spanish (*resumen*), text, acknowledgments, 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 (5) keywords in lowercase letters.

Note: Special attention should be paid to keywords. Remember the people can find your article on the internet through them. We recommend reviewing them in light of the Coastal Environmental Marine Thesaurus of the Invemar Documentation Center.

Tables: Must be processed using the Table tool as text file, without vertical lines. Table legends must be placed on the top, in lowercase letters, and present clearly the content. Tables must be enumerated consecutively and placed as they are first cited in the text. The information included in tables cannot 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. Letters and symbols on figures should have a suitable size so that if they get reduced they will not lose their shape and details. Moreover, they must be numbered and placed as they are first cited in the text.

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)*. 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.

* 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. Para más información, escribir a boletin@invemar.org.co

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 el manuscrito está escrito en español y con punto cuando está escrito en inglés, excepto cuando se incluyan en tablas. En esos casos, los decimales deben ir con punto, independientemente del idioma.

Citas: No se aceptan citas de citas. Por ejemplo: Pérez, 2007 (En: Fernández, 2008). Dentro del texto, debe citarse como sigue (sin usar *op. cit.*):

"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", de acuerdo con el idioma de la referencia citada. La exactitud de las referencias 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.

Los **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 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. The journal covers the costs of publishing black and white **photographs**. If there are color images in the manuscript, the authors will have to afford color page fees*. We suggest sending images for the 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 the quotation at the time of acceptance of the manuscript for publication. There may be no charge for this. For more information, write to boletin@invemar.org.co

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), except when they are included in tables. In those cases, the decimals must be with a period, regardless of the language.

Citation style: There are not accepted indirect references like Pérez 2007 (In: Fernández, 2008). In the text, reference the bibliography as follows, avoiding the 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 cited reference. The accuracy of the references is the sole responsibility of the authors. Citations of papers that have not been accepted for publication are not allowed.

Note: Considering international standards, please includes DOI in all references.

If a **manuscript in press** has to be cited, it should include information about the 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 the journal*, must be cited in the next format:

Author (period) Year (period) Title (period) Journal's title (comma) Volume (comma) Total number of pages (p.).

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 www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog (or at www.abbreviations.com, when the journal is not found on the previous website). For no *listed journals*, use the complete title.

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. Serán aceptados a juicio del editor a cargo de cada artículo. Si el documento tiene DOI, añádalo.

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 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/

For books, must follow next format:

Author (period) Year (period) Title (period) Publishing house (comma) City (period) Total number of pages (p.).

i.e.: Dahl, G. 1971. Los peces del norte de Colombia. Inderena, Bogotá. 391 p.

For the **chapter of books**, must follow the 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 (p.).

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.).

i.e.: 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 a 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.
- Measurements have to be marked using the 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/

- Se deben sugerir los nombres de tres evaluadores, mínimo, para el manuscrito sometido, incluyendo la información necesaria para contactarlos (filiación institucional y correo electrónico). Es preciso aclarar que las personas sugeridas no necesariamente serán los evaluadores del manuscrito; las sugerencias están sujetas a revisión por parte del editor encargado.
- 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.

PROCESO DE REVISIÓN

- 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.
- Junto con el artículo o nota científica, cargue la carta de sometimiento en formato PDF. Recuerde que el texto debe incluir inicialmente las figuras y tablas en baja resolución.
- 3. Una vez cargado el documento, este es sometido a una revisión preliminar por parte del asistente de comité editorial. Con su visto bueno, se envía invitación al comité editorial y, posteriormente, el manuscrito es asignado a un editor de sección.
- 4. El editor de sección define si el manuscrito pasa a evaluación por pares, si debe corregirse antes de ser evaluado o si se rechaza. Cuando el manuscrito obtiene el visto bueno del editor, pasa a evaluación por pares. Si es rechazado, los autores reciben una comunicación oficial de no aceptación del manuscrito.
- 5. El proceso de evaluación en el *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* es realizado por pares expertos en cada una de las temáticas que aborda la revista y se efectúa en modalidad simple ciego. Los evaluadores cuentan con 30 días calendario (contados a partir del momento en que reciben la invitación a evaluar por la plataforma) para enviar sus apreciaciones haciendo uso de la ficha de evaluación de manuscritos. Si desean hacer observaciones en el manuscrito, pueden hacerlo con el control de cambios activo y dejando comentarios al margen, siempre de forma anónima.
- 6. Una vez se reciben las evaluaciones, el editor determina si el manuscrito es aceptado para publicación (sin o con cambios mínimos), si requiere cambios menores o importantes, si debe pasar a una nueva ronda de evaluación o si se rechaza. Cuando el manuscrito obtiene el visto bueno del editor, los autores reciben una comunicación oficial de aceptación del manuscrito. Si es rechazado, los autores reciben una comunicación oficial de no aceptación del manuscrito. Para artículos de investigación y artículos de revisión, se emite un concepto editorial con al menos dos evaluaciones; para notas científicas, con al menos una evaluación.
- Una vez aprobado para publicación, se inicia la edición y producción del manuscrito, que incluye las fases de corrección de estilo, traducción, maquetación y pruebas de galera.
- 8. Publicación en línea e impresión.
- 9. Difusión y divulgación en línea y distribución 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 diez (10) meses. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los tiempos dependen directamente de los actores que intervienen en el proceso, esto es, autores, editores y evaluadores.

- The names of at least three evaluators should be suggested for the submitted manuscript, including the necessary contact information (institutional affiliation and e-mail). It should be clarified that the persons suggested will not necessarily be the evaluators of the manuscript; the suggestions are subject to review by the section editor.
- The manuscripts published since this number are going to have DOI, in electronic and printed version, therefore it must be referenced.

REVIEW PROCESS

- 1. Authors must register on the platform to obtain a username and password and upload 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. Together with the article or scientific note, please upload the submission letter in PDF format. Remember that the text must initially include the figures and tables in low resolution.
- 3. Once the document is uploaded, it is submitted to a preliminary review by the Assistant Editorial Committee. With his approval, an invitation is sent to the editorial committee and the manuscript is then assigned to a section editor.
- 4. The section editor defines whether the manuscript goes to peer review, whether it must be corrected before being evaluated, or whether it is rejected. When the manuscript is approved by the editor, it goes into peer review. If it is rejected, the authors receive an official communication of non-acceptance of the manuscript.
- 5. The evaluation process in the *Bulletin of Marine and Coastal Research* is carried out by expert peers in each of the topics covered by the journal and is done in a single-blind modality. Evaluators have 30 calendar days (counted from the moment they receive the invitation to evaluate through the platform) to send their assessments using the manuscript evaluation form. If they wish to make comments on the manuscript, they can do so with active change control and leaving comments in the margin, always anonymously.
- 6. Once the evaluations are received, the editor determines whether the manuscript is accepted for publication (with or without minimal changes), whether it requires minor or major changes, whether it should go into a new round of evaluation, or whether it is rejected. When the manuscript is approved by the editor, the authors receive an official communication of acceptance of the manuscript. If it is rejected, the authors receive an official communication of non-acceptance of the manuscript. The evaluation process is single-blind. For research and review articles, an editorial concept with at least two evaluations is issued; for scientific notes, with at least one evaluation.
- 7. Once approved for publication, the editing, and production of the manuscript begins, which includes the phases of copyediting and proofreading, translation, layout, and galley proofs.
- 8. Online publishing and printing.
- 9. On-line diffusion and distribution of copies.

Note: At any part of the process, authors can view the status of their manuscript by logging in with their username and password to the platform. The editorial process can take about ten (10) months. However, it must be taken into account that the times depend directly on the actors involved in the process, that is, authors, editors, and peer reviewers.

Ética de publicación / Publication ethics

El *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* sigue las recomendaciones de COPE (Committee on Publication Ethics) para garantizar la transparencia en el proceso de publicación para todas las partes implicadas (autores, revisores, editores).

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 de los autores de que se trata de un trabajo original, que no ha sido publicado ni aceptado para su publicación ni se encuentra bajo consideración en otra revista o medio de difusión científica. Si el manuscrito incluye textos, tablas o figuras con reserva de derechos, los autores declaran en la carta de sometimiento que cuentan con la autorización para su reproducción.

La revista no cobra a los autores por publicar ni paga a los pares evaluadores. Asimismo, el trabajo de nuestro comité editorial es *ad honorem*.

Confidencialidad: todos los manuscritos sometidos al *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* son tratados como documentos confidenciales. El comité editorial se compromete a proteger la integridad y confidencialidad del trabajo de cada autor y el anonimato de cada evaluador. Por su parte, los evaluadores se comprometen a proteger el carácter confidencial del manuscrito asignado, teniendo en cuenta que el proceso de evaluación es simple ciego, es decir, los autores desconocen la identidad de los evaluadores, pero los evaluadores conocen la identidad de los autores.

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).

Declaración de conflicto de interés: cuando los autores someten su manuscrito al *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, deben acompañar el envío con una carta de sometimiento en la que declaran, entre otras cosas, que han leído y aprobado el manuscrito remitido en su contenido, organización, presentación y orden de autoría, por lo que no existe conflicto de interés entre ellos. En la carta, los autores también pueden solicitar que una persona no sea escogida como par evaluador cuando consideran que podrían presentarse conflicto de interés.

Los miembros del comité editorial, que fungen como editores encargados dentro de la revista, tienen la responsabilidad de declarar si presentan conflicto de interés con el manuscrito asignado. De igual manera, los pares evaluadores deben declarar si presentan conflicto de intereses al conocer el nombre de los autores del manuscrito asignado, considerando que el proceso de evaluación en la revista es simple ciego.

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 sesenta (60) días en ser entregados por los autores cuando se les soliciten correcciones se retirarán automáticamente del Boletín y deberán ser sometidos nuevamente, salvo casos debidamente justificados.

El sometimiento de un manuscrito debe estar acompañado por una carta dirigida al editor general de la revista, en la que 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. *Bulletin of Marine and Coastal Research* follows the recommendations of COPE (Committee on Publication Ethics) to ensure transparency in the publication process for all parties involved (authors, reviewers, editors).

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 authors that it has not been published or accepted for publication in another journal or scientific dissemination medium. If the manuscript includes texts, tables, or figures with reserved rights, the authors declare in the submission letter that they have the authorization to reproduce them.

The journal does not charge for publication and does not pay peer reviewers. Also, the work of our Editorial Committee is ad honorem.

Confidentiality: All manuscripts submitted to the *Bulletin of Marine and Coastal Research* are treated as confidential documents. The Editorial Committee is committed to protecting the integrity and confidentiality of each author's work and the anonymity of each reviewer. For their part, the evaluators are committed to protecting the confidentiality of the assigned manuscript, taking into account that the evaluation process is single-blind, that is, the authors do not know the identity of the evaluators, but the evaluators know the identity of the authors.

Copyright: *Bulletin of Coastal and Marine Research* is under Creative Commons license BY-NC-SA 4.0.

Declaration of conflict of interest: When authors submit their manuscript to the *Bulletin of Coastal and Marine Research*, they must accompany the submission with a letter of submission in which they declare, among other things, that they have read and approved the submitted manuscript in its content, organization, presentation, and order of authorship, so that no conflict of interest exists between them. In the letter, the authors can also request that a person not be chosen as an evaluator couple when they consider that a conflict of interest could arise.

The members of the Editorial Board, who act as commissioned editors within the journal, have the responsibility to declare whether they have a conflict of interest with the assigned manuscript. Similarly, peer reviewers must declare whether they present a conflict of interest by knowing the name of the authors of the assigned manuscript, considering that the evaluation process in the journal is single-blind.

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 sixty (60) days when corrections are requested will be automatically withdrawn from the journal and must be resubmitted, except in duly justified cases.

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.

- 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.
- 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 de 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.
- · Declarar si presentan conflicto de intereses.

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 y notas científicas sometidos a la revista.
- · Declarar si presentan conflicto de intereses.
- Proteger la integridad y confidencialidad del trabajo de cada autor y el anonimato de cada evaluador.
- Aceptar o rechazar los manuscritos sometidos.
- En el caso de errores, promover la corrección o retractación 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 a la revista, ya sea de forma individual o colectiva. Esta sanción tendrá vigencia por dos años a partir de su notificación.
- El editor general y el director de la revista se reservan el derecho de imponer sanciones adicionales a las descritos anteriormente, si lo consideran necesario.

- 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.
- 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 of the complete list of reviewers who participated in the review. The functions of the reviewers are:

- Evaluating assigned manuscripts and give a substantiated decision.
- Adopting an impartial, critical and constructive position towards the manuscripts they evaluate.
- · Protecting the confidentiality of the manuscripts reviewed.
- Declaring whether there is a conflict of interest.

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:

- Guaranteeing the quality of the articles and scientific notes submitted to the journal.
- Declaring whether there is a conflict of interest.
- Protecting the integrity and confidentiality of the author's work and the anonymity of each reviewer.
- · Accepting or refusing the submitted manuscripts.
- Promoting correction or retraction in the publication, in case of errors.

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 to the journal, either individually or collectively. This sanction will be in force for two years from its notification.
- The general editor and the director of the journal reserve the right to impose additional sanctions to those described above, if they consider it necessary.

BOLETÍN DE INVESTIGACIONES MARINAS Y COSTERAS Bulletin of Marine and Coastal Research

(Bol. Invest. Mar. Cost.)

TABLA DE CONTENIDO / CONTENTS ARTÍCULOS / ARTICLES Edgar Zapata-Vívenes, Gabriela Sánchez, Leida Marcano y Mariannys Antón Inmunotoxicidad y daño lisosomal en la ostra Pinctada imbricata (Röding) expuesta a lubricantes usados de motores de automóviles Hanna Elizabeth Hernández-Acevedo, Leenin Flores-Ramos, Alberto Oscanoa-Huaynate, Anthony Ruiz-Soto y Carla Aguilar-Samanamud Perfil nutricional de cepas de microalgas peruanas de los géneros Chaetoceros y Skeletonema de la costa central del Perú como ingrediente potencial para acuicultura Nutricional profile of native strains of the genera Chaetoceros and Skeletonema Cristina Cedeño - Posso, Fernando Dorado - Roncancio, Oscar Martínez - Ramírez y Johanna Medellín - Mora Diversidad de sifonóforos en Colombia (Cnidaria: Hydrozoa): lista actualizada Ingrid Arboleda, Andrés Molina y Guillermo Duque Influencia de las condiciones ambientales sobre la distribución y tipos de microplásticos en aguas superficiales en la bahía de Tumaco, Pacífico colombiano Nicoll Lizarazo y Sven Zea Sponges in the Continental Shelf (73 - 210 m) of the South-Western Area of Isla Fuerte and Alta Guajira, with the Description of New Records for the Colombian Caribbean Esponjas de la plataforma continental (73 – 210 m) del área sur-occidental de isla Fuerte y Daniel Alejandro López Perdomo y Ángela Inés Guzmán Alvis Determinación de una Zona Exclusiva de Pesca Artesanal-ZEPA como estrategia de manejo sostenible de los recursos pesqueros y de adaptación climática para los pescadores artesanales del Pacifico sur colombiano Determination of an Exclusive Artisanal Fishing Zone-ZEPA as a strategy for the sustainable management of fishery resources and climate adaptation for artisanal fishers of the Colombian South Pacific Gustavo Cuadros, Pedro Ramiro Castillo, Luis La Cruz, Carlos Valdez, Cecilia Peña, German Chacón, Luis Escudero y José Salcedo Variabilidad de la anchoveta (Engraulis ringens) entre febrero y junio en la zona restringida a la pesca industrial en el inicio la primera temporada de pesca del 2022 Variability of Anchoveta (Engraulis ringens) between February and June in the Area Restricted to

NOTAS / NOTES

Joaquín Antonio Torres-Duque, Amanda Selene Rojas-Aguirre, Tania Carolina Hoyos-	
Ruiz, JP Caicedo-García y Paula Cristina Sierra-Correa	
Presencia del mangle de té Pelliciera benthamii en la Bahía de Cispatá, Córdoba, Caribe colombiano	
Presence of the tea mangrove Pelliciera benthamii in Cispatá Bay, Córdoba, Colombian Caribbean	167
Laura Sofía Coral-Chamorro, Jenny Alejandra Ruiz-Jiménez, María Isabel Críales-Hernández y Rafael Cabanzo-Hernández	
Evaluación de las técnicas para la digestión y extracción de microplásticos ingeridos por el zooplancton marino	
Assessment of techniques for the digestion and extraction of microplastics ingestion by marine zooplankton.	175
Guía de autores / Author's guide	187
Ética de publicación / Dublication athica	102
	172



www.invemar.org.co/boletin