

ISSN: 1390-8413

Volumen 8

Número 2

Diciembre 2014

Revista Científica

Ciencias Naturales y Ambientales



UNIVERSIDAD
DE GUAYAQUIL



Facultad
de Ciencias Naturales

ÁREA CIENCIAS DE LA VIDA

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad de Guayaquil

Editora

Dra. Carmita Bonifaz de Elao, MSc. (Decana, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, carmenbonifaz@hotmail.com)

Consejo Editorial

Galo Salcedo Maridueña, Ph.D. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Richard Banda Gavilanes, Ph.D. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Luis Muñiz Vidarte, MSc. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Ariel Escobar Troya, MSc. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Comité Científico

Claes Persson, Ph.D. (Departamento de Biología y el Medio Ambiente, University of Gothenburg, Suecia)

Bertil Ståhl, Ph.D. (Departamento de Biología, Gotland University, Suecia)

Rocío Cuiña, PhD. (Prometeo, Senescyt)

Beatriz Pernía, Ph.D. (Prometeo, Senescyt)

Adolfo Borges, Ph.D. (Prometeo, Senescyt)

Elba Mora, MSc. (Instituto Nacional de Pesca, Ecuador)

Manuel Cruz, MSc. (Instituto Oceanográfico de la Armada, Ecuador)

Coordinación Editorial

Ing. José Antepará Basurto

Blgo. Xavier Cornejo Sotomayor

Impresión y acabados

Editorial Universidad de Guayaquil

Edición patrocinada y financiada por la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Esta publicación se envía a personas o instituciones por intercambio con otros similares, dedicada a la Ciencias Naturales.

This publication is sent to people or institutions for exchange with other similar issues dedicated to Natural Sciences.

Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales es de periodicidad semestral y se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines. Toda correspondencia que tenga relación con la Revista deberá ser dirigida a la editora, Carmita Bonifaz de Elao, a la dirección que se indica más adelante.

Ilustración de portada: *Tityus* cf. *asthenes* colectado en Macuma, cantón Taisha, provincia de Morona Santiago (Fotografía: Adolfo Borges), ver pág.59-68.

Incluida en el Directorio de LATINDEX

con el número de Folio 16446,

Vol. 8(2), Se terminó de editar en diciembre de 2014.

Canje, suscripciones y avisos, dirigirse a:

Exchange, subscriptions and publicity, go to:

Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales

Código Postal 090612

Avenida Raúl Gómez Lince s/n y Avenida Juan Tanca Marengo

<http://goo.gl/pxqu2n>

revistacienciasnaturales@ug.edu.ec

Tel.: (04) 3080777 - 3080758 ext. 200

Guayaquil, Ecuador



Los Artrópodos Venenosos de Importancia Médica en Ecuador: Estado del Conocimiento y Perspectivas de Investigación

Venomous arthropods of medical significance in Ecuador: state of knowledge and perspectives of research

Adolfo Borges^{1,2,3,*}; David Anchundia⁴, Yazmín Cedillo⁴, Lissette Gamboa⁴, Marlon Luzardo⁴, Diana Macías⁴, Daniel Medina⁴, Marcia Méndez⁴, Patricia Mero⁴, Erick Meza⁴, Eva Moncada⁴, Ghislaine Mora⁴, Viveky Morán⁴, Dayanara Moyano⁴, Karla Naranjo⁴, Alex Pazmiño⁴, Jorge Peñaherrera⁴, Antonio Pillajo⁴, Jordy Soledispa⁴, Jonathan Totoy⁴, Sophie Vasquez⁴, Diana Zabala⁴

¹Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil

²Laboratorio de Biología Molecular de Toxinas y Receptores, Instituto de Medicina Experimental, Universidad Central de Venezuela

³Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación de Ecuador

⁴Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil

Recibido 1 de octubre 2014; recibido en forma revisada 5 de noviembre 2014, aceptado 3 de diciembre 2014
Disponible en línea 5 de enero 2015

Resumen

Los artrópodos con glándulas productoras de veneno capaces de ocasionar accidentes de importancia en humanos han sido poco estudiados en Ecuador desde los puntos de vista epidemiológico, clínico o bioquímico a pesar de contar el país con una elevada diversidad de artrópodos en general. Se han producido accidentes severos en la regiones costera y amazónica del país a consecuencia de la mordedura de arañas (*Phoneutria Perty*) y picadura de hormigas “congas” (*Paraponera clavata* (Fabricius) y escorpiones (*Tityus asthenes* Pocock), los cuales han pasado desapercibidos en importancia sanitaria probablemente debido a su prevalencia en áreas rurales. No se han reportado accidentes por mordedura de arañas del género *Loxosceles* Heineken & Lowe o por escolopendras (Clase Chilopoda, Orden Scolopendromorpha) o por contacto con orugas del orden Lepidoptera (familia Saturniidae) aunque existen en el país especies potencialmente tóxicas pertenecientes a estos grupos. Esta revisión contiene los resultados de un curso preparado por los estudiantes de Biología de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, con la finalidad de presentar, por vez primera, el estado del conocimiento sobre artrópodos venenosos en Ecuador pertenecientes a las clases Arachnida, Chilopoda e Insecta junto con las perspectivas de investigación sobre estos grupos de importancia médica en Biotecnología y Evolución.

Palabras claves: Arañas, Ecuador, escolopendras, escorpiones, insectos, veneno.

Abstract

Arthropods with venom glands that are capable of inflicting accidents of medical significance in humans have been poorly studied in Ecuador from epidemiological, clinical or biochemical standpoints despite the high diversity of arthropods in general in the country. Severe accidents due to envenoming by scorpions (*Tityus asthenes* Pocock), spiders (*Phoneutria* Perty) and “conga” ants (*Paraponera clavata* (Fabricius) have taken place in the coastal and Amazonian regions which have been underestimated in sanitary importance probably due to its prevalence in rural settings. Accidents derived from bites by spiders in the genus *Loxosceles* Heineken & Lowe and scolopendrids (Class Chilopoda, Order Scolopendromorpha) or by contact with venomous caterpillars (Order Lepidoptera) have not been reported in spite that several potentially toxic species inhabit Ecuador. This work reports on the results of a scientific seminar conducted at the Natural Sciences Faculty, Universidad de Guayaquil, which involved students from the School of Biology, with the goal to evaluate, for the first time, the current knowledge on selected venomous arthropods in Ecuador belonging to the classes Arachnida, Chilopoda and Insecta and including perspectives of research on these medically important taxa in Biotechnology and Evolution.

Keywords: Ecuador, insects, scolopendrids, scorpion, spider, venom.

* Correspondencia del autor:
E-mail: borges.adolfo@gmail.com



Introducción

El accidente por contacto con animales venenosos ocupa el segundo lugar entre las causas de intoxicación en Ecuador según el agente responsable, en el periodo 2008-2010 (Meneses, 2011). Mientras que los envenenamientos por ofidios en Ecuador han sido suficientemente documentados taxonómica, epidemiológica y clínicamente (Cisneros-Heredia & Touzet, 2004; González-Andrade & Chippaux, 2010), existe desconocimiento en el país acerca de la real severidad y la incidencia de accidentes debidos a artrópodos nocivos para el hombre, incluyendo arácnidos e insectos, los cuales no son causa de notificación obligatoria a las autoridades de salud pública, a diferencia del accidente ofídico (Ministerio de Salud Pública de Ecuador, 2008), a pesar de existir en Ecuador géneros y especies que en naciones vecinas han producido accidentes severos y/o fatales en humanos.

El Ecuador, con un área geográfica de 250,000 km², que corresponde en proporción apenas al 1.5% de América del Sur, es uno de los 17 países con mayor biodiversidad del planeta (Mittermeier *et al.*, 2009), particularmente en el caso de los artrópodos. Por ejemplo, Brehm *et al.* (2005) hallaron 1,420 especies de polillas de la familia Geometridae en un área de alrededor de 40 km² en la provincia de Zamora-Chichipe, cifra que es equivalente a aproximadamente el 7% de la fauna de geométridos descritas para el mundo entero (Brehm *et al.*, 2005). Ryder Wilkie *et al.* (2010) reportaron 489 especies de hormigas pertenecientes a 64 géneros en un área de apenas 0.16 km² cerca del Parque Nacional Yasuní, en la provincia de Orellana, la diversidad más elevada en hormigas reportada hasta el momento en el planeta (Ryder Wilkie *et al.*, 2010). Estudios similares acerca de la biodiversidad de artrópodos peligrosos para el hombre en Ecuador son escasos (Brito & Borges, 2015; Dupérré, 2014), por lo que es probable que cifras similares se hallen en el futuro para esta fauna, y al mismo tiempo, para las moléculas contenidas en sus venenos. En el caso de los venenos de escorpión, si se asume la producción de aproximadamente 200 péptidos bioactivos por cada especie (Possani *et al.*, 1999), la biodiversidad molecular presente en los venenos de las 47 especies que habitan el territorio ecuatoriano podría ascender a cerca de 10,000 moléculas, con potencial interés farmacológico y/o biotecnológico. Por otra parte, se necesitan mayores esfuerzos para correlacionar los accidentes en humanos con la distribución geográfica precisa de las especies involucradas con el fin de permitir el diseño de estrategias de control y prevención eficaces por parte de las autoridades de salud.

En el espíritu de que tal catalogación es necesaria, los resultados presentados en este trabajo se refieren a una revisión de la literatura sobre los artrópodos de potencial importancia médica en Ecuador, efectuada por los estudiantes de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, sobre grupos seleccionados de artrópodos,

en el marco del seminario científico titulado “Introducción al Conocimiento de los Artrópodos Venenosos de Importancia Médica”, llevado a cabo entre el 14 de noviembre y el 14 de diciembre de 2014, usando principalmente los motores de búsqueda instalados en los servidores de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) y de Google Académico (<https://scholar.google.es/>).

1. Los Arácnidos de Importancia Médica en Ecuador.

Las Arañas (Clase Arachnida, Orden Araneae Clerck, 1757).

En el Ecuador, una exhaustiva revisión sólo produjo un único reporte de envenenamiento aracnídico en una mujer de 19 años de edad ocurrido en Pompeya, provincia de Orellana (0.4427N, 76.62002W), evento en el cual no se identificó a la araña responsable del accidente, la cual inyectó veneno en la región escapular izquierda. El envenenamiento produjo fiebre, parestesias en extremidades inferiores, con la aparición de vesículas en el área de la mordedura. A las 24 horas del incidente, la paciente fue trasladada a Quito donde al ingreso en centro hospitalario al cuadro inicial se añadió paresia y disminución de la sensibilidad en hemicuerpo izquierdo, disminución de la fuerza muscular, hipoestesia de hemicuerpo izquierdo de predominio distal y reflejos osteotendinosos dismuidos, además de cuatro convulsiones tónico-clónicas generalizadas (Castro Rodríguez *et al.*, 2009).

En las Américas, las arañas de importancia médica pertenecen a las familias Ctenidae Keyserling, 1877; Sicariidae Keyserling, 1870; y Theridiidae Sundevall, 1833 (Vetter & Isbister, 2008). Los géneros presentes en Ecuador que pertenecen a las anteriores familias y que han ocasionado accidentes en países vecinos son *Phoneutria* Perty, 1833; *Latrodectus* Walckenaer, 1805 y *Loxosceles* Heinecken & Lowe, 1832. La mordedura por especies pertenecientes a estos géneros produce manifestaciones clínicas muy diferentes, producto, entre otros factores, de la composición química y actividad biológica diferencial de sus venenos, como se muestra en la Tabla 1, la cual está sujeta incluso a variaciones intraespecíficas (Herzig & Hodgson, 2009). En el caso del envenenamiento reportado en Orellana, es notable la presencia de un cuadro neurológico, el cual ha sido reportado en el caso de accidentes debidos al género *Phoneutria*, que comprende las conocidas arañas del banano, muy agresivas y de reconocida toxicidad, que habitan América del Sur y Central (Le Sueur *et al.*, 2003). La ausencia de identificación del artrópodo responsable de este envenenamiento enfatiza el hecho de lo insuficiente que han sido los esfuerzos para correlacionar la severidad de accidentes en humanos por arácnidos en Ecuador con la clasificación taxonómica de las especies de potencial importancia médica y su distribución geográfica.

El género *Phoneutria*

Para el Ecuador, en este género sólo está reportada la especie *Phoneutria boliviensis* (Pickard-Cambridge, 1897), la cual se distribuye desde Bolivia hasta Costa Rica y que presenta, al parecer, una distribución amplia en el país, al existir registros para la región costera, en Esmeraldas (cantón San Lorenzo, parroquia Carondelet: 1.12611N, 78.7622W), e Imbabura (Paramba, cantón Ibarra, parroquia Lita: 0.816667N, 78.350W), y en la región amazónica, en Los Tayos (1.9333S, 77.7928W), provincia de Morona Santiago (Simó & Brescovit, 2001). Esta especie ha sido hallada en racimos de banano provenientes de Ecuador y exportados a los Estados Unidos (Vetter *et al.*, 2014). Se han reportado mordeduras por esta araña en trabajadores de plantaciones bananeras en el golfo de Urabá, Colombia, los cuales cursaron con malestar general, dolor intenso en el sitio de la mordedura, fiebre, parálisis temporal, visión borrosa, prologándose el cuadro desde 48 a 72 horas luego del accidente y presentándose falla renal en un caso de las 31 personas estudiadas (Flórez *et al.*, 2003). En esta serie de pacientes no hubo reportes de fallecimientos o de complicaciones posteriores. Esta sintomatología moderada contrasta con la observada en el caso de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling, 1891) y *Phoneutria keyserlingi* (Pickard-Cambridge, 1897) (Vetter & Hillebrecht, 2008), especies endémicas del Brasil, cuya toxicidad se debe a la acción de neurotoxinas de bajo peso molecular (5-9 kDa) que alteran el funcionamiento de canales iónicos sensibles al voltaje y que afectan



Figura 1. Ejemplar de *Phoneutria boliviensis* proveniente de Macuma, cantón Taisha, provincia de Morona Santiago, en la típica postura defensiva de las especies pertenecientes al género (Fotografía: David Reyes).

el funcionamiento del sistema nervioso autonómico y central (Cordeiro *et al.*, 1993). Sin embargo, no debe ser descartada la variabilidad geográfica en la composición del veneno de *P. boliviensis*, producto de la existencia de poblaciones relacionadas filogenéticamente pero sujetas a diferentes presiones ambientales, distribuidas a lo largo del corredor geográfico reportado para esta especie. De hecho, se han hallado variaciones morfométricas entre las poblaciones de Ecuador-Bolivia y aquellas que habitan Colombia y América Central, cuya divergencia aún no ha sido evaluada (Simó & Brescovit, 2001). En este sentido, el veneno de *P. boliviensis* procedente de la provincia El Limón, Costa Rica, es letal en roedores (Trejos *et al.*, 1971). La Figura 1 presenta un ejemplar colectado en Macuma, cantón Taisha, provincia de Morona Santiago, preliminarmente identificado como *P. boliviensis* por el aracnólogo Miguel Simó, y que los pobladores reconocen como peligrosa.

El género *Loxosceles*

El loxocelismo es una patología secundaria a la picadura por arañas del género *Loxosceles* cuyo veneno actúa localmente, desencadenando un proceso inflamatorio intenso que puede llevar a la necrosis. El veneno contiene enzimas como hialuronidasa, fosfolipasa y fosfatasa, aunque el componente principal responsable de la dermatonecrosis es la esfingomielinasa D, enzima que lisa las membranas celulares y puede llegar a producir hemólisis, con el consecuente potencial daño renal (Vetter & Isbister, 2008). Existen dos cuadros clínicos de loxocelismo: el cutáneo y el sistémico o cutáneo-viscero-hemolítico (Hogan *et al.*, 2004) (Tabla 1). No existen reportes en la literatura acerca de envenenamientos en Ecuador por *Loxosceles* spp. La única especie registrada para el país es *Loxosceles gloria* Gertsch, 1967, cuyo material tipo proviene del occidente de la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas. Igualmente ha sido reportada para Baños de San Vicente y para una localidad ubicada 16 km al norte de Manglar Alto, ambas en la provincia de Santa Elena, así como para la isla Duncan, en el archipiélago de las Galápagos (Gertsch, 1967). *L. gloria* también habita las cercanías de la ciudad de Piura, departamento del mismo nombre, en el norte del Perú (Gertsch, 1967). Esta especie pertenece al grupo morfológico *laeta*, cuya especie nominal es *Loxosceles laeta* (Nicolet, 1849), responsable de casos severos de aracnidismo en Chile (Vetter & Isbister, 2008). En vista de que los registros de *L. gloria* para el país datan de la década de los 40 del siglo pasado (Gertsch, 1967), es de suma importancia generar un catálogo reciente de las especies de este grupo que habitan el país en preparación para el diagnóstico de casos potenciales de loxocelismo en el occidente de Ecuador. Aunque existen variaciones intra- e interespecíficas en la composición del veneno, la presencia de esfingomielinasas D, responsables del daño dermonecrótico, es ubicua a través de las especies que componen el grupo *laeta* (Oliveira *et al.*, 2005), por lo que debe evaluarse la potencial importancia médica de *L. gloria* en el país, considerando la relevancia sanitaria de especies relacionadas en Perú y Chile (Vetter & Isbister, 2008)

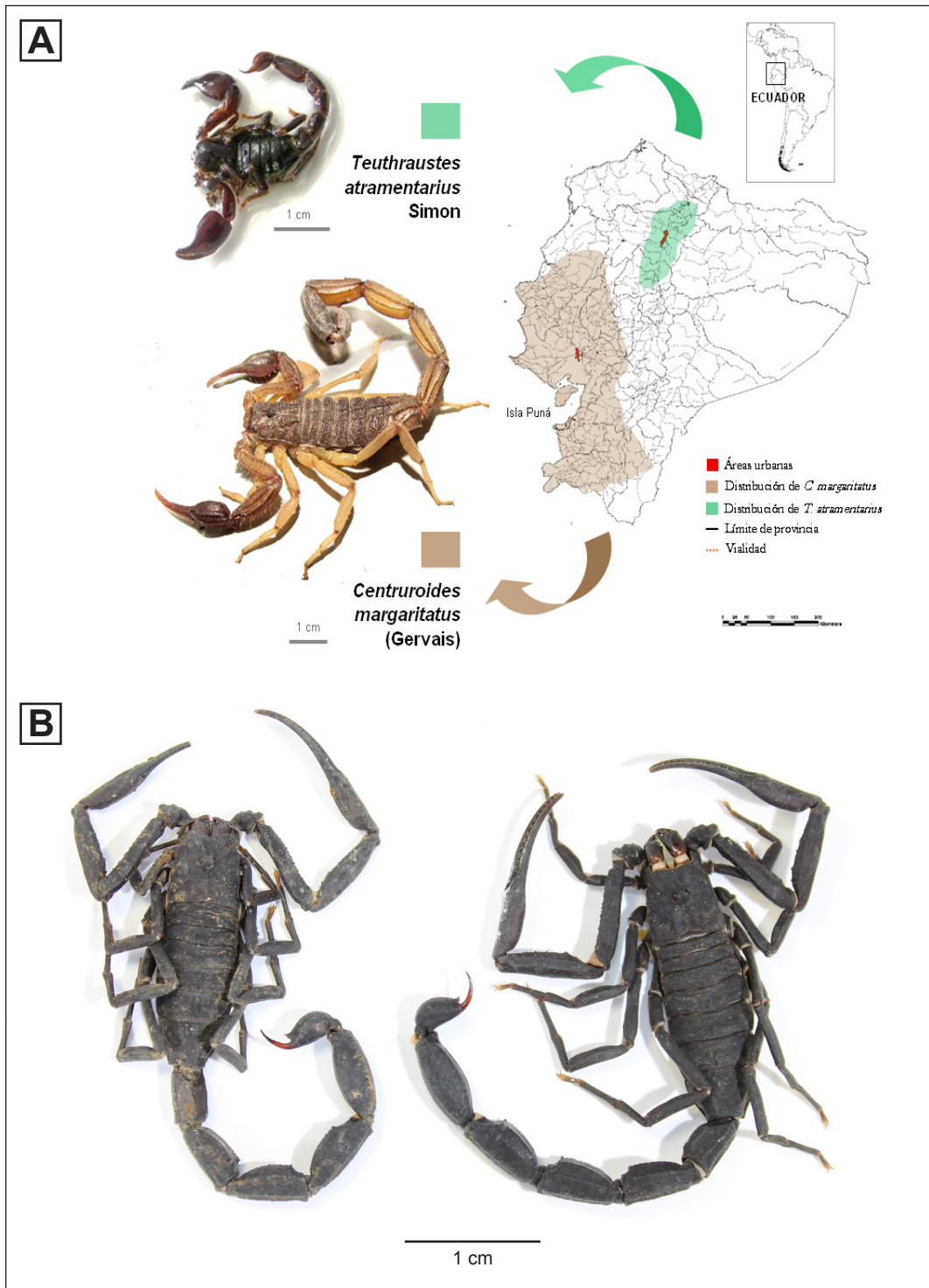


Figura 2. Escorpiones del Ecuador. (A) Distribución geográfica en Ecuador de los escorpiones *Centruroides margaritatus* y *Teuthraustes atramentarius* (modificado de Brito & Borges, 2015; reproducido con el permiso del *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*). (B) *Tityus cf. asthenes* colectado en Macuma, cantón Taisha, provincia de Morona Santiago (Fotografías: A, Xavier Cornejo y Tatiana Torres. B, Adolfo Borges).

Tabla 1. Especies de Arañas de potencial importancia médica en Ecuador y Actividad Tóxica de sus venenos.

Género	Especies presentes en Ecuador	Componentes Tóxicos	Manifestaciones Sistémicas ¹
<i>Loxosceles</i> (Araneae, Sicariidae) (> 100 especies)	<i>L. gloria</i> (Galápagos, Guayas) (Gertsch, 1967)	Esfingomielinasas D (30-40 kDa), que degradan esfingomielina y producen lisis de eritrocitos dependiente del complemento; degradan membrana de células endoteliales; responsables de dermonecrosis	Loxoscelismo cutáneo (80-90% de los casos), cursando con dermonecrosis, o loxocelismo cutáneo-visceral (15% de los casos, predominantemente pediátricos), el cual puede ser letal debido a hemólisis intravasculosa masiva. El cuadro clínico derivado de accidentes por <i>L. gloria</i> no ha sido reportado
<i>Latrodectus</i> (Araneae, Theriidae)	<i>L. cf. mactans</i> (Santa Elena?, Azuay), <i>L. geometricus</i> (Imbabura, Carchi) (Keegan, 1955; Kaslin Ulloa, 2013)	Latrotoxinas (~120 kDa), con capacidad de formar poros inespecíficos en membranas celulares, promoviendo entrada de Ca ²⁺ y liberación de neurotransmisores	Toxinas de bajo peso molecular (6-8 kDa) que activan canales de sodio sensibles al voltaje, produciendo liberación de neurotransmisores
<i>Phoneutria</i> (Araneae, Ctenidae)	<i>P. boliviensis</i> (Esmeraldas, Imbabura, Morona Santiago) (Simó & Brescovit, 2001)	Toxinas de bajo peso molecular (6-8 kDa) que activan canales de sodio sensibles al voltaje, produciendo liberación de neurotransmisores	En casos severos por <i>P. nigriventer</i> (sureste del Brasil). pueden presentarse manifestaciones cardiovasculares y neurológicas como hipertensión, taquicardia, arritmia, perturbación visual, priapismo y convulsiones tónico-clónicas. Manifestaciones asociadas a accidentes producidos por <i>P. boliviensis</i> son menos severas (Flórez <i>et al.</i> , 2003)

¹La información sobre complicaciones asociadas al envenenamiento aracnológico puede ser ampliada en la revisión de Vetter & Isbister (2008).

El género *Latrodectus*

Las arañas coloquialmente conocidas como “viuda negra”, caracterizadas por el diseño en forma de reloj de arena visible en la región dorsal de algunas especies, pertenecen al género *Latrodectus*, el cual es cosmopolita y es responsable de envenenamientos severos dependiendo del taxón involucrado. El veneno de las especies de este género contiene toxinas, denominadas latrotoxinas, con capacidad de formar poros inespecíficos en la membrana de las células excitables, promoviendo la entrada de calcio y la consiguiente descarga de neurotransmisores (Tabla 1) (Vetter & Isbister, 2008). En el caso del Ecuador, *Latrodectus mactans* había sido registrada para la provincia de Santa Elena, pero sin reporte de localidad precisa (Keegan, 1955). Recientemente, se han identificado poblaciones del grupo *mactans*, posiblemente asociadas a la especie chilena *Latrodectus thoracicus* Nicolet, 1849, en la provincia de Azuay (Kaslin Ulloa, 2013). *Latrodectus geometricus* Koch, 1841, es la segunda especie de este género reportada para Ecuador, con registros para las provincias de Imbabura y Carchi (Kaslin Ulloa, 2013). *L. geometricus* sólo produce envenenamientos leves en humanos, a diferencia de las especies del grupo *mactans*, en donde hay compromiso del sistema

nervioso autónomo (Kiriakos *et al.*, 2008). Sin embargo, se conoce al menos una fatalidad debida a envenenamiento por *L. geometricus* en Madagascar (Ramialiharisoa *et al.*, 1994).

Los Escorpiones (Clase Arachnida, Orden Scorpiones C.I. Koch, 1850).

Los escorpiones, más comúnmente conocidos en la América Hispana como alacranes, representan un grupo que contiene alrededor de 2,410 especies representadas en 14 a 18 familias, dependiendo de la posición del taxón. Los venenos producidos por los escorpiones pertenecientes a la familia Buthidae, en la cual se hallan la casi totalidad de las especies de relevancia sanitaria en el mundo, son mezclas complejas que contienen alrededor de 200 péptidos con masas moleculares entre 3 y 8 kDa, los cuales alteran el funcionamiento de varios canales iónicos, entre los cuales predominan los canales de Na⁺ y K⁺ sensibles al voltaje, produciéndose un síndrome de envenenamiento en humanos muy complejo, cuyas características dependen, entre otros factores, de la especie de escorpión responsable y de la edad y condición fisiológica de la víctima (Borges & Graham, 2015). Los efectos sistémicos de las neurotoxinas de escorpión se deben principalmente a la descarga

masiva de acetilcolina y catecolaminas, lo que puede llevar a la muerte del envenenado por falla cardiorrespiratoria en 1-2 h en casos pediátricos. La ventana de tiempo disponible para el tratamiento con antivenenos es corta, debido a la rápida cinética de difusión del veneno. La eficacia del tratamiento depende de la rapidez con que se administre el antiveneno y de la especificidad del mismo (Isbister & Bawaskar, 2014).

El envenenamiento por escorpiones del género *Tityus* Koch, 1836 (Familia Buthidae) en América del Sur, América Central y el Caribe es causa de emergencia pediátrica en diferentes áreas endémicas, las cuales coinciden con el sistema montañoso de los Andes, en Colombia y en Venezuela, y con las áreas montañosas del Sureste del Brasil y el nordeste de Argentina, así como las zonas boscosas de las Islas de Trinidad y Tobago y Panamá (Borges & Graham, 2015). La elevada biodiversidad del Ecuador se extiende a su fauna de arácnidos, incluyendo escorpiones, la cual contiene el mayor número de especies endémicas (>80%) del Neotrópico (Lourenço & Ythier, 2013). Han sido reportadas 16 especies del género *Tityus* para el país (Tabla 2).

Varias muertes han sido registradas en los últimos años en Ecuador debido a envenenamiento escorpiónico en niños menores de 8 años de edad, en las provincias de Manabí, Sucumbios, Morona Santiago y Orellana (Brito & Borges, 2015; Facultad de Ciencias Naturales Universidad de Guayaquil, 2015). Es muy posible que exista un subregistro de estos envenenamientos en otras áreas del país y que las muertes asociadas a estos accidentes hayan sido atribuidas a otras causas. La importancia médica del envenenamiento por alacranes en el Ecuador sólo ha sido notada recientemente y había sido subestimada debido a que las dos especies que se distribuyen en las zonas más pobladas e industrializadas del país producen venenos poco tóxicos para vertebrados. Desde el

siglo pasado ha sido documentada la presencia de la especie *Centruroides margaritatus* (Gervais, 1841) en las zonas pobladas de la costa ecuatoriana, en donde es muy abundante (Behr-Castillo & Correa, 1987; Campos, 1931), y cuyo veneno es pobremente tóxico para el ser humano (Marinkelle & Stahnke, 1965). Por otro lado, en el área metropolitana de Quito, en la provincia de Pichincha, el escorpión más abundante es *Teuthraustes atramentarius* Simon, 1878, cuyo envenenamiento no va más allá de manifestaciones locales (Brito & Borges, 2015). La Figura 2 presenta la distribución geográfica en Ecuador de *C. margaritatus* y *T. atramentarius*. La mayoría de las especies ecuatorianas potencialmente tóxicas del género *Tityus* se distribuye en las zonas de bosque húmedo tropical, tradicionalmente poco pobladas. En la medida en que los principales centros urbanos se han extendido hacia áreas boscosas, la acumulación de desperdicios, junto con la remoción de terreno y vegetación, han propiciado la aparición de alacranes tóxicos dentro de viviendas humanas o en sus alrededores. La lista actualizada de las especies locales del género *Tityus* se muestra en la Tabla 2 conjuntamente con su distribución geográfica.

2. Los Centípedos de Importancia Médica en el Ecuador: Las Escolopendras (Clase Chilopoda, Orden Scolopendromorpha Pocock, 1897).

El orden Scolopendromorpha contiene los centípedos más agresivos y voraces de la Clase Chilopoda, los cuales alcanzan hasta 30 cm de longitud total del cuerpo en el caso de la escolopendra neotropical *Scolopendra gigantea* Linnaeus, 1758. Existen alrededor de 800 especies descritas, las cuales han sido clasificadas en tres familias: Scolopendridae, Cryptopidae y Scolopocryptopidae (Edgecombe & Giribet, 2007). El veneno de las escolopendras contiene enzimas



Figura 3. *Scolopendra galapagoensis*, de la provincia de Manabí, ca. a 1 km de la vía de Manta a Rocafuerte, en bosque seco muy intervenido (Fotografía: Xavier Cornejo).

tales como hialuronidasas, esterasas, fosfatasas, proteasas y fosfolipasas que producen daño celular particularmente en la musculatura esquelética. En humanos, el envenenamiento se caracteriza por un dolor de intensidad variable, que puede irradiar hacia otras regiones del cuerpo de la víctima. En los casos severos, pueden presentarse isquemia miocárdica e infarto, hemoglobinuria y hematuria, hemorragia y rabiomolisis, siendo el cuadro especialmente severo en el caso de niños envenenados (Acosta & Cazorla, 2004).

Una especie de escolopendra, *Scolopendra galapagoensis* Bollman, 1889 (Figura 3), habita la costa ecuatoriana, el archipiélago de las Galápagos y la isla de Cocos (Costa Rica), distribuyéndose desde el sur del Perú, y es distinguible morfológicamente de *S. gigantea*, la cual habita el norte de Colombia y Venezuela, y algunas islas del Caribe (Shelley & Kiser, 2000). Existen registros antiguos que ubican la especie *Scolopendra morsitans* Linnaeus, 1758 en el Río Napo (Brölemann, 1904; Campos, 1926), pero ello requiere confirmación a partir de material colectado recientemente. La composición o actividad biológica del veneno de *S. galapagoensis* no ha sido investigada pero se ha reportado que este centípedo es el artrópodo más temido en el archipiélago debido a lo doloroso de su envenenamiento (Baert & Herrera, 2013; Jackson, 1993). Al igual que en el caso del resto de los artrópodos de importancia médica en Ecuador, se requiere, en el caso de los escolopéndridos, una norma nacional que haga posible el tratamiento, control y prevención de estos accidentes en el humano.

3. Los Insectos de Importancia Médica en Ecuador.

Los insectos de importancia médica están contenidos en los órdenes Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera y Lepidoptera (Bettini, 1978). No es el objeto de esta revisión el realizar un análisis exhaustivo de los insectos de importancia médica en Ecuador, cuya relevancia clínica aún no ha sido abordada en forma colectiva, sino circunscribirla a algunas especies que por la frecuencia de sus accidentes son de importancia sanitaria en países vecinos, contenidas en los órdenes Lepidoptera (familia Saturniidae) e Hymenoptera .

Los Lepidópteros urticantes de la Familia Saturniidae

Algunos insectos lepidópteros de la familia Saturniidae producen proteínas tóxicas capaces de generar dermatitis y/o trastornos de la coagulación en los humanos que accidentalmente entran en contacto con sus setas urticantes o espículas (Battisti *et al.*, 2011). Tal es el caso del género *Hylesia* Hübner, 1820, para el cual han sido reportadas 39 especies para Ecuador (Racheli & Racheli, 2005), incluyendo *Hylesia metabus* (Cramer, 1775), que habita las provincias de Napo y Morona Santiago, y es responsable de una

Tabla 2. Especies del género *Tityus* (Scorpiones: Buthidae) reportadas para Ecuador (según Brito & Borges, 2015).

Especie	Distribución por Provincia
<i>Tityus (Atreus) asthenes</i> Pocock, 1893	Esmeraldas, Napo, Sucumbios, Morona Santiago
<i>Tityus (Archaeotityus) bastosi</i> Lourenço, 1984	Napo, Orellana, Morona Santiago
<i>Tityus (Atreus) crassicauda</i> Lourenço & Ythier, 2013	Pichincha
<i>Tityus (Tityus) demangei</i> Lourenço, 1981	Morona Santiago
<i>Tityus (Tityus) ecuadorensis</i> Kraepelin, 1896	El Oro, Loja
<i>Tityus (Atreus) forcipula</i> (Gervais, 1844)	Pichincha, Santo Domingo de Tsáchilas, Cotopaxi
<i>Tityus (Tityus) gasci</i> Lourenço, 1981	Sucumbios, Napo
<i>Tityus (Archaeotityus) intermedius</i> Borelli, 1899	Ibarra
<i>Tityus (Archaeotityus) juliana</i> Lourenço, 2005	Esmeraldas
<i>Tityus (Tityus) jussarae</i> Lourenço, 1988	Napo
<i>Tityus (Atreus) pugilator</i> Pocock, 1898	Esmeraldas, Carchi, Ibarra, Pichincha
<i>Tityus (Tityus) roigi</i> Maury & Lourenço, 1987	Tungurahua
<i>Tityus (Archaeotityus) silvestris</i> Pocock, 1897	Orellana (reporte sin localidad precisa)
<i>Tityus (Tityus) simonsi</i> Pocock, 1900	Loja
<i>Tityus (Atreus) timendus</i> Pocock, 1898	Esmeraldas
<i>Tityus (Atreus) ythieri</i> Lourenço, 2007	Morona Santiago

dermatitis papulo-vesicular severa por el contacto con setas presentes en el dorso de las hembras durante el período de incubación de sus huevos. Accidentes severos por *H. metabus* han sido reportados en el nororiente de Venezuela y en la Guayana Francesa (Lundberg *et al.*, 2007). En las setas urticantes de *H. metabus* están presentes proteínas con propiedades pro-inflamatorias, vasodegenerativas y fibrinolíticas capaces de producir dermatitis severa. En el caso del género *Lonomia* Walker, 1855, las espículas presentes en el estadio larval (oruga) contienen células productoras de hialuronidasas, fosfolipasas, proteasas, y otras proteínas que activan el sistema de calicreína-cinina, así como enzimas fibri(geno) líticas que producen en el envenenado severas complicaciones asociadas a alteraciones de la cascada de coagulación (Álvarez Flores *et al.*, 2010). Tres especies de *Lonomia* han sido reportadas para Ecuador

(Racheli & Racheli, 2005), incluyendo *Lonomia achelous* (Cramer, 1777), la cual es responsable de lonomismo severo en Colombia y Venezuela (Pineda *et al.*, 2001). Esta especie habita las provincias de Napo, Pastaza y Morona-Santiago. Un antídoto antilonómico es producido por el Instituto Butantan, São Paulo, Brasil, en contra de extractos de *Lonomia obliqua*, especie que en ese país es responsable de los casos severos de lepidopterismo.

Las Hormigas de la Familia Formicidae, subfamilia Pononerinae.

A diferencia de las toxinas de escorpiones y de algunas arañas como *Phoneutria* spp., las cuales son conocidas por su alteración del mecanismo de compuerta de los canales de sodio voltaje-dependientes (véase secciones precedentes), los venenos de los insectos del orden Hymenoptera (que incluye abejas, avispas y hormigas) contienen predominantemente, péptidos degranuladores de mastocitos (produciendo liberación de histamina), enzimas y, en menor proporción, proteínas que alteran la conducción sináptica. Sin embargo, en el caso de la hormiga *Paraponera clavata* (Fabricius, 1775), conocida coloquialmente como “conga”, su veneno contiene tres fracciones tóxicas que bloquean la conducción sináptica en el sistema nervioso central de insectos. Dos de estas fracciones tienen acción potenciadora de la actividad de la musculatura lisa de mamíferos, una de las cuales es la denominada poneratoxina, la cual prolonga el potencial de acción debido a su acción sobre las corrientes de sodio (Piek *et al.*, 1991). Algunas de las etnias que habitan el oriente ecuatoriano emplean cociones preparadas con plantas de la familia Melastomataceae para tratar la mordedura agresiva de *P. clavata* (Freire Fierro *et al.*, 2002). Esta especie está ampliamente distribuida en el Neotrópico, desde Nicaragua hasta el norte de Bolivia (Murphy & Breed, 2014). No existen en Ecuador estudios que documenten la frecuencia de los accidentes debidos a la “conga”, cuya picadura en la provincia de Napo produce dolor muy intenso, temblores generalizados, sudoración y vómitos (Hermann & Blum, 1966).

Conclusión

Esta revisión compila la información disponible sobre la distribución geográfica de algunos artrópodos de potencial importancia médica en Ecuador pertenecientes a las clases Arachnida, Chilopoda e Insecta, junto con información relevante sobre la composición y acción biológica de los venenos producidos por especies relacionadas.

Es evidente en nuestra revisión que son muy escasos los trabajos que documenten la importancia médica de estos grupos en Ecuador, a pesar de la elevada incidencia de estos envenenamientos en áreas biogeográficamente similares en Brasil, Colombia y Perú, lo que probablemente sea el resultado del subregistro de este tipo de accidentes en el país. Planteamos, en consecuencia, la necesidad de una estrategia multidisciplinaria que involucre profesionales de diferentes áreas de las Ciencias de la

Vida a fin de mapear las áreas de riesgo del país para estos accidentes, incluyendo la distribución geográfica de las especies responsables, y la acción y letalidad de sus venenos, a fin de orientar a las autoridades de salud en el diseño de estrategias de control, tratamiento y prevención más efectivas. En este sentido, existen antídotos preparados en otros países latinoamericanos en contra de escorpiones (anti-*Tityus*; Argentina, Brasil y Venezuela), antilonómicos (anti-*Lonomia achelous*; Instituto Butantan, Brasil) y anti-aracnídico (anti-*Loxosceles* y anti-*Phoneutria*; Brasil, Perú y Argentina) cuya eficacia en el Ecuador se desconoce pero cuyo ensayo en el país podría ser guiado con la ayuda del antedicho mapa de riesgo. El presente trabajo constituye un primer eslabón en la consumación de esa propuesta.

Por otra parte, el potencial uso biotecnológico de las moléculas producidas por los artrópodos venenosos del Ecuador es incalculable, si se toma en consideración que el país pertenece a un área biogeográfica que posiblemente es hábitat del mayor número de especies de artrópodos del planeta (Brehm *et al.*, 2005; Ryder Wilkie *et al.*, 2010) y que en las secreciones venenosas de especies relacionadas existen componentes de documentado uso terapéutico. Por ejemplo, se ha demostrado que las hipotensinas, péptidos de alrededor de 25 aminoácidos de longitud, presentes en el veneno del escorpión *Tityus serrulatus*, disminuyen significativamente la presión arterial promedio e inducen vaso-relajación en ratas tanto *in vivo* como *ex vivo* simulando en potencia al captopril (Verano-Braga *et al.*, 2010). Algunas especies de escorpión también producen péptidos con actividad anticancerosa, con capacidad de inhibir metaloproteasas de membrana expresadas por células de cáncer mamario o gliomas, las cuales son cruciales para su invasividad (Wang & Guo, 2015). Diferentes especies de arácnidos, incluyendo escorpiones y arañas, también producen proteínas con actividad bactericida y fungicida (Harrison *et al.*, 2014). La utilidad de ciertas proteínas del veneno de la oruga *Lonomia obliqua* con actividad trombolítica está siendo explorada con fines terapéuticos, para la destrucción de coágulos asociados a enfermedades cardiovasculares (Prezoto *et al.*, 2002). La especialización de hábitats y la partición de nichos ecológicos, asociada a la elevada especiación de artrópodos prevalentes en Ecuador, incluyendo aquellos taxa productores de proteínas tóxicas, posiblemente ha resultado en una diversidad molecular de similar magnitud, cuya investigación abrirá nuevas perspectivas para la investigación y el desarrollo de nuevos productos biotecnológicos y para el entendimiento de la evolución del Neotrópico en general.

Agradecimientos

El financiamiento para la realización de este trabajo fue provisto por la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación, a través del programa Prometeo (a.A.B.). Agradecemos a Xavier Cornejo, Tatiana Torres, David Reyes y Alex Pazmiño el permiso otorgado para incluir las fotografías



Figura 4. *Paraponera* cf. *clavata*, colectada en la provincia de Morona Santiago (Fotografía: Alex Pazmiño).

presentadas en este trabajo. Nuestro agradecimiento va igualmente dirigido al Dr. Miguel Simó, Sección de Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, por la clasificación preliminar del espécimen de *Phoneutria boliviensis* que aparece en la Figura 1. Agradecemos el permiso del *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* para reproducir las fotografías que aparecen en la Figura 2A.

Referencias

- Acosta, M. D. & Cazorla, D. J. 2004. Envenenamiento por ciempiés (*Scolopendra* sp.) en una población rural del estado Falcón, Venezuela. *Revista de Investigación Clínica* 56: 712-717.
- Álvarez Flores, M. P., Zannin, M. & Chudzinski-Tavassi, A. M. 2010. New insight into the mechanism of *Lonomia obliqua* envenoming: toxin involvement and molecular approach. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 37: 1-16.
- Baert, L. & Herrera, H.W. 2013. The Myriapoda of the Galápagos Archipelago, Ecuador (Chilopoda, Diplopoda, Symphyla). *Belgian Journal of Zoology* 14: 1-49.
- Battisti, A., Holm, G., Fagrell, B. & Larsson, S. 2011. Urticating Hairs in Arthropods: Their Nature and Medical Significance. *Annual Review of Entomology* 56: 203-220.
- Behr-Castillo, H., & Correa, O. 1987. Identificación de los alacranes de la familia Buthidae en la Urbanización Puerto Azul, Guayaquil. *Revista Ecuatoriana de Higiene y Medicina Tropical* 37: 71-76.
- Bettini, S. (Ed.). 1978. *Arthropod Venoms*. Berlin: Springer Verlag.
- Borges, A. & Graham, M. J. 2015. Phylogenetics of Scorpions of Medical Importance. En: Gompalanokrishnanone, P., Calvete, J.J. (eds.). *Venom Genomics and Proteomics*. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 1-21.
- Brehm, G., Pitkin, L. M., Hilt, N. & Fiedler, K. 2005. Montane Andean rain forests are a global diversity hotspot of geometrid moths. *Journal of Biogeography* 32: 1621-1627.
- Brito, G. & Borges, A. 2015. A Checklist of the Scorpions of Ecuador (Arachnida: Scorpiones) with notes on the geographical distribution and medical significance of some species. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, en prensa.
- Brölemann, H. W. 1904. Catalogue des scolopendrides des collections du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, (Collection du Muséum déterminée par M. le professeur Karl Kraepelin, et collection H. W. Brölemann). *Bulletin du*

- Muséum d'Histoire Naturelle* 6: 316-324.
- Campos, F. 1926. Catálogo sistemático de los Miriápodos del Ecuador, clasificados hasta la fecha. *Revista del Colegio Nacional Vicente Rocafuerte* 8: 37-61.
- , 1931. Breve contribución al conocimiento de los Escorpiónidos (Alacranes) del Ecuador. *Revista del Colegio Nacional Vicente Rocafuerte* 13: 117-125.
- Castro Rodríguez, S., Espejo Cárdenas, H., Vásquez Villegas, G. & Espinoza, S. 2009. Síndrome neurotóxico secundario a mordedura de araña: a propósito de un caso. *Revista Médica Vozandes* 20: 52-55.
- Cisneros-Heredia, D.F. & Touzet, J.-M. 2004. Distribution and conservation status of *Bothrops asper* (Garman, 1884) in Ecuador (Squamata: Serpentes: Viperidae: Crotalinae). *Herpetozoa* 17: 135-141.
- Cordeiro, M. N., de Figueiredo, S. G. & Valentim, A. C. 1993. Purification and amino acid sequences of six Tx3 type neurotoxins from the venom of the Brazilian 'armed' spider *Phoneutria nigriventer* (Keys). *Toxicon* 31: 35-42.
- Dupérré, N. 2014. Demystifying three species of Ctenidae (Arachnida: Araneae) described by Embrik Strand. Part I, Ecuador. *Zootaxa* 3784: 67-73.
- Edgecombe, G. D., & Giribet, G. 2007. Evolutionary Biology of Centipedes (Myriapoda: Chilopoda). *Annual Review of Entomology* 52: 151-170.
- Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil. *Seminario dictado en el Oriente de Ecuador sobre picaduras de alacranes peligrosos*. http://www.fccnnguye.com/frm_contenido.aspx?modo=A&id=131. Consulta 6 Mayo 2015.
- Flórez, E., Ortiz, A., & Montoya, M. 2003. Accidentes por mordedura de la araña de las bananeras *Phoneutria boliviensis* (Araneae: Ctenidae) en la región de Urabá, Colombia. *Entomólogo* 33: 2-4.
- Freire Fierro, A., Fernández, D., & Quintana, C. 2002. Usos de Melastomataceae en el Ecuador. *SIDA Contributions to Botany* 20: 233-260.
- Gertsch, W. J. 1967. The Spider Genus *Loxosceles* in South America (Araneae, Scytodidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*; 136: 117-174.
- González-Andrade, F. & Chippaux, J. P. 2010. Snake bite envenomation in Ecuador. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104: 588-591.
- Harrison, P. L., Abdel-Rahman, M. A., Miller, K. & Strong, P. N. 2014. Antimicrobial peptides from scorpion venoms. *Toxicon*, en prensa.
- Hermann, H. R. & Blum, M. S. 1966. The Morphology and Histology of the Hymenopterous Poison Apparatus. I. *Paraponera clavata* (Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 59: 397-409.
- Herzig, V. & Hodgson, W. C. 2009. Intersexual variations in the pharmacological properties of *Coremiocnemis tropix* (Araneae, Theraphosidae) spider venom. *Toxicon* 53: 196-205.
- Hogan, C. J., Barbaro, K. C. & Wintel, K. 2004. Loxoscelism: Old Obstacles, New Directions. *Annals of Emergency Medicine* 44: 608-624.
- Isbister, G. K. & Bawaskar, H. S. 2014. Scorpion Envenomation. *New England Journal of Medicine* 371: 457-463.
- Jackson, M. H. 1993. *Galapagos: A Natural History*. Calgary: University of Calgary Press.
- Kaslin Ulloa, R. J. 2013. Distribución actual y potencial de las poblaciones del género *Latrodectus* (Araneae: Theridiidae) en Ecuador. *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas*. Quito: Pontificia Universidad Católica de Ecuador.
- Keegan, H. L. 1955. Spiders of Genus *Latrodectus*. *American Midland Naturalist* 54: 142-152.
- Kiriakos, D., Núñez, P., Parababire, Y., García, M., Medina, J. & De Sousa, L. 2008. First case of human latrodectism in Venezuela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 41: 202-204.

- Le Sueur, L., Kalapothakis, E. & da Cruz-Höfling, M.A. 2003. Breakdown of the blood-brain barrier and neuropathological changes induced by *Phoneutria nigriventer* spider venom. *Acta Neuropathologica* 105: 125-134.
- Lourenço, W. R. & Ythier, E. 2013. The remarkable scorpion diversity in the Ecuadorian Andes and description of a new species of *Tityus* C. L. Koch, 1836 (Scorpiones, Buthidae). *ZooKeys* 307: 1-13.
- Lundberg, U., Salazar, V., Tovar, M. & Rodríguez, J. 2007. Isolation and Partial Characterization of Proteins with Vasodegenerative and Proinflammatory Properties from the Egg-Nests of *Hylesia metabus* (Lepidoptera: Saturniidae). *Journal of Medical Entomology* 44: 440-449.
- Marinkelle, C. J. & Stahnke, H. L. 1965. Toxicological and Clinical Studies on *Centruroides margaritatus* (Gervais), a common scorpion in Western Colombia. *Journal of Medical Entomology* 2: 197-199.
- Meneses, C. 2011. Las intoxicaciones en el Ecuador: Rol del Centro de Información Toxicológica en el periodo 2008-2010. *EIDOS* 4: 58-68.
- Ministerio de Salud Pública de Ecuador. 2008. Manual de Normas y Procedimientos sobre Prevención y Tratamiento de Accidentes Ocasionados por Mordeduras de Serpientes. Quito: Dirección de Normalización del Sistema Nacional de Salud.
- Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Robles Gil, P., García-Urriaga, M. J., Flores de Clavé, L. & Bolívar, A. 2009. *Megadiversidad: los países biológicamente más ricos del mundo*. México: CEMEX. S.A., Agrupación Sierra Madre y Conservation International.
- Murphy, C. M. & Breed, M. D. 2014. A predictive distribution map for the giant tropical ant, *Paraponera clavata*. *Journal of Insect Science* 7: 08.
- Oliveira, K. C., Goncalves de Andrade, R. M., Piazza, F., Ferreira, J. M. C., van den Berg, C. W. & Tambourgi, D. V. 2005. Variations in *Loxosceles* spider venom composition and toxicity contribute to the severity of envenomation. *Toxicon* 45: 421-429.
- Piek, T., Duval, A. & Hue, B. 1991. Poneratoxin, a novel peptide neurotoxin from the venom of the ant, *Paraponera clavata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 99: 487-495.
- Pineda, D., Amarillo, A., Becerra, J. & Montenegro, G. 2001. Síndrome hemorrágico por contacto con orugas del género *Lonomia* (Saturniidae) en Casanare, Colombia: informe de dos casos. *Biomédica* 21: 328-332.
- Possani L. D., Becerril B., Delepiere M., & Tytgat, J. 1999. Scorpion toxins specific for Na⁺-channels. *European Journal of Biochemistry*; 264: 287-300.
- Prezoto, B. C., Maffei, F.H., Mattar, L., Chudzinski-Tavassi, A. M. & Curi, P. 2002. Antithrombotic effect of *Lonomia obliqua* caterpillar bristle extract on experimental venous thrombosis. *Brazilian Journal of Medical Biology Research* 35: 703-712.
- Racheli, L. & Racheli, T. 2005. An Updated Checklist of the Saturniidae of Ecuador. Part I: Hemileucinae (Lepidoptera: Saturniidae). *SHILAP Revista de Lepidopterología* 33: 203-223.
- Ramialiharisoa, A., De Haro, L. & Jouglard J. & Goyffon, M. 1994. Le Latroectisme à Madagascar. *Médecine Tropicale* 54: 127-130.
- Ryder Wilkie, K. T., Mertl, A. L. & Traniello, J. F. A. 2010. Species Diversity and Distribution Patterns of the Ants of Amazonian Ecuador. *PLoS ONE* 5: e13146.
- Shelley, R. M. & Kiser, S. B. 2000. Neotype designation and a diagnostic account for the centipede, *Scolopendra gigantea* L. 1758, with an account of *S. galapagoensis* Bollman 1889 (Chilopoda, Scolopendromorpha, Scolopendridae). *Tropical Zoology* 13: 159-170.
- Simó M., & Brescovit, A. D. 2001. Revision and cladistic analysis of the Neotropical spider genus *Phoneutria* Perty, 1833 (Araneae, Ctenidae), with notes on related Cteninae. *Bulletin of the British arachnological Society* 12: 67-82.
- Trejos, A., Trejos, R. & Zeledón, R. 1971. Aracnidismo por *Phoneutria* en Costa Rica (Araneae: Ctenidae). *Revista de Biología Tropical* 1971; 19: 241-249.
- Verano-Braga, T., Figueiredo-Rezende, F., Melo, M.N., Lautner, R.Q., Gomes, E.R., Mata-Machado, L.T., Murari, A., Rocha-Resende, C., de Lima, M.E., Guatimosim, S., Santos, R.A. & Pimenta, A.M. 2010. Structure-function studies of *Tityus serrulatus* Hypotensin-I (TsHpt-I): A new agonist of B2 kinin receptor. *Toxicon* 56: 1162-1171.
- Vetter, R.S. & Isbister, G. K. 2008 Medical Aspects of Spider Bites. *Annual Review of Entomology*; 53: 409-429.
- & Hillebrecht, S. 2008. Distinguishing Two Often-Misidentified Genera (*Cupiennius*, *Phoneutria*) (Araneae: Ctenidae) of Large Spiders Found in Central and South American Cargo Shipments. *American Entomologist*; 54: 88-93.
- Toxicon* 56: 1162-1171.
- , R. L. Crawford & Buckle, D. J. 2014. Spiders (Araneae) Found in Bananas and Other International Cargo Submitted to North American Arachnologists for Identification. *Journal of Medical Entomology* 51: 1136-1143.
- Wang X. & Guo, Z. 2015. Chlorotoxin-conjugated onconase as a potential anti-glioma drug. *Oncology Letters* 9: 1337-1342.

Diversidad y uso de hábitat de aves en diferentes gradientes urbanos en la ciudad de Guayaquil, Ecuador

Diversity and habitat use by birds in urban gradients in the city of Guayaquil, Ecuador

Ma. Lorena Rojas Allieri ^{a*} & Felix Man-Ging ^b

^a Egresada de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.

^b Docente de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.

Recibido 20 de octubre 2014; recibido en forma revisada 18 de noviembre 2014, aceptado 1 de diciembre 2014
Disponible en línea 5 de enero 2015

Resumen

Se determina la diversidad y la preferencia de hábitat de las diferentes comunidades de aves en 16 sitios en la ciudad de Guayaquil, estableciéndose tres gradientes de urbanización: Urbano, suburbano y periurbano. Se registra un total de 116 especies, las más abundantes fueron *Columba livia*, *Thraupis episcopus* y *Columbina buckleyi*. En la zona urbana se registró el 41% y en la periurbana el 78% del total de las especies. Aplicando el índice de Shannon, la mayor diversidad se presentó en el gradiente periurbano (3.89) y la menor en el gradiente urbano (2.57). Las medias entre los índices de diversidad y los gradientes urbanos es de $p=0.03$, aceptando que mantienen diferencias significativas. El dosel es el hábitat más ampliamente utilizado; aunque existe una clara tendencia al uso del hábitat de espacio abierto en el gradiente urbano y del espacio aéreo en el periurbano. Los resultados obtenidos demuestran que la riqueza de aves disminuye al aumentar el gradiente de urbanización y sugieren que son necesarios varios tipos de nichos dentro de un área para albergar una mayor riqueza.

Palabras claves: Antropización, aves, diversidad, Ecuador, Guayaquil, urbanización.

Abstract

This research establishes the biological diversity and habitat preference of bird communities in 16 places in the city of Guayaquil, within three different gradients: urban, suburban and periurban. A total of 116 species were identified; the more abundant were *Columba livia*, *Columbina buckleyi*, and *Thraupis episcopus*. Of the total species recorded, 41% have been found in the urban and 78% in the periurban areas, respectively. Using the Shannon index, the highest record (3.89) has been found in the suburban gradient, and the lowest (2.57) in the urban gradient. The medium between the index of diversity and urban gradient was $p = 0.03$, that means a significant difference. The canopy is the most widely used habitat; although there is a clear trend for the use of open spaces in the urban gradient and airspaces in the periurban gradient. The results show that the bird richness decrease while the urban gradient increases, and also suggest that it is necessary to have many types of habitats in the city in order to conserve a higher richness of birds.

Keywords: Anthropization, birds, diversity, Ecuador, Guayaquil, urbanization.

Introducción

El impacto de las actividades humanas sobre los sistemas ecológicos naturales queda demostrado por los cambios en los usos del suelo, derivados de la urbanización, cuyas consecuencias constituyen una seria amenaza a la conservación de la biodiversidad (McKinney, 2002). Los ecosistemas urbanos presentan bajas proporciones de áreas verdes, resultado de la fragmentación o eliminación de los hábitats naturales,

cuyo resultado es una drástica modificación de las comunidades biológicas y disminución de la riqueza original (Cam *et al.*, 2000).

Las mayores densidades de aves urbanas se encuentran en áreas arboladas y con alto grado de influencia humana, pero presentan baja diversidad; por lo contrario, la mayor diversidad se halla en lugares arbolados con poca influencia urbana, y en las áreas abiertas, es donde se encuentra la menor cantidad

* Correspondencia del autor:
E-mail: lrojas_a@hotmail.com



de aves (Luniak, 1983). La urbanización favorece solo a unas pocas especies y perjudica a muchas otras (Chace & Walsh, 2004).

El Ecuador alberga más de 1.600 especies de aves, posee más de la mitad de especies de aves de Sudamérica, ocupa el cuarto lugar en el mundo en riqueza de aves y entre los primeros en densidad de aves/km² (Mindo Cloudforest Foundation, 2006).

En la literatura no hay información publicada acerca de los efectos de la urbanización sobre la avifauna de la ciudad de Guayaquil. A pesar que es la ciudad de mayor superficie y con mayor densidad de población en el Ecuador. Este trabajo genera información de las especies ocurrentes y especies sensibles a la urbanización en la ciudad de Guayaquil, que puede ser utilizada para su manejo.

Materiales y Métodos

Área de Estudio

Santiago de Guayaquil es la ciudad con mayor densidad de población en el Ecuador, se encuentra localizada en la Región Litoral de Ecuador, consta de 16 parroquias urbanas y cinco rurales. Según el censo de Población y VI de la vivienda realizado en el 2010 indica que tiene 2'350.915 habitantes que habitan en 344,5 km² (Alcaldía de Guayaquil, 2014).

Durante los meses de Octubre 2013 hasta Febrero 2014, se visitaron un total de 16 sitios, distribuidos en tres gradientes de urbanización: Las categorías (i) urbano, y (ii) suburbano están compuestas por parques urbanos, plazas y un campus de universidad; y el (iii) periurbano, por remanentes de bosques dentro de la

ciudad (Tabla 1).

Gradientes de urbanización

Se ha clasificado a los sitios de muestreo en tres gradientes de urbanización:

Urbano: Áreas donde la mayoría del terreno está cubierta por edificios, la densidad de construcción es alta, las casas unifamiliares son raras (Lancaster & Rees, 1979).

Suburbano: Se caracterizan por presentar moderada a alta densidad de vivienda, con pocos edificios de uno o dos pisos (Lancaster & Rees, 1979).

Periurbano: Para este estudio se tomaron en cuenta a los fragmentos de áreas verdes naturales, que si bien se encuentran dentro de la ciudad, no se emplean aún para el desarrollo urbano, y el acceso se vuelve un poco limitado.

Censo de aves

En cada uno de los sitios de estudio, se realizaron siete censos mediante el método de transecto, con una duración de 20 minutos, aproximadamente 250 m lineales, registrando las aves hasta 15 m a cada lado. Se realizaron, cinco conteos en la mañana entre las 07:00 h y 09:00 h y dos en la tarde entre las 16:00 h y 18:00 h. Se registraron la presencia de las diferentes especies de aves que se encontraban, sin incluir a las que sólo pasaban sobrevolando sin alimentarse, por encima del área de muestreo.

Para las identificación de la especies se utilizó la guía de campo Aves del Ecuador (Ridgely & Greenfield, 2006). Las observaciones se realizaron con ayuda de

Tabla 1. Sitios de muestreo seleccionados (parques, jardines, plazas y fragmentos de áreas naturales), se muestra el código de cada sitio con el área y sus coordenadas respectivas.

Código	Nombre	Área (m2)	Localización geográfica	
JB	Jardín Botánico	50.000	2° 4'48.35"S	79° 54'34.59"O
PSams	Parque Samanes	105.707	2° 6'13.19"S	79° 54'25.56"O
CCNN	Facultad de C.C.N.N.	172.649	2° 8'56.75"S	79° 54'54.36"O
BPS	Bosque Palo Santo	28.116	2° 9'29.21"S	79° 54'30.97"O
PAN	Parque Antonio Neumane	10.067	2° 9'32.78"S	79° 53'38.52"O
PP	Parque del Periodista	19.926	2° 10'32.35"S	79° 53'54.19"O
PJ	Parque Jerusalén	9.695	2° 10'35.09"S	79° 54'17.90"O
CP	Cerro Paraíso	1'198.614	2° 10'40.71"S	79° 54'50.42"O
PLS	Parque Lineal del Salado	43.121	2° 10'47.71"S	79° 54'9.42"O
PRBM	Plaza Rodolfo Baquerizo Moreno	19.866	2° 11'10.20"S	79° 53'49.70"O
CC	Cerro del Carmen	181.104	2° 10'54.84"S	79° 53'9.14"O
M2000	Malecón 2000	20.210	2° 11'16.82"S	79° 52'38.52"O
PC	Parque Centenario	29.613	2° 11'25.56"S	79° 53'13.57"O
PS	Parque Seminario	8.153	2° 11'42.11"S	79° 53'0.75"O
PF	Parque Forestal	113.424	2° 12'41.10"S	79° 53'43.01"O
PUN	Parque de Urdesa Norte	2182	2° 9'34.50"S	79° 54'12.46"O

binoculares de 8 x 42 mm, marca Opticron Discovery PC. Los cantos fueron analizados y comparados con grabaciones de www.xeno-canto.org

Evaluación del uso del hábitat

Los hábitats fueron definidos de la siguiente manera (González, 2004):

Dosel: El estrato más alto de la vegetación, sobre 2 m.

Arbustos: Vegetación entre 0.5 m y 2 m de alto.

Hierba: Vegetación herbácea, constituida en su mayoría por pasto.

Espacio abierto: Superficie del suelo compuesta por tierra, piedra o baldosa.

Cuerpos de agua: En orillas de ríos, esteros y lagunas.

Espacio aéreo: Aves que vuelan sin posarse, alimentándose en el aire

Análisis de datos

La abundancia relativa de las aves, se la define como la suma de los individuos de los sitios de muestreo dividido para el número de tratamientos por gradiente.

$$A_{Relativa} = \frac{A_1 + A_2 + A_3 \dots}{X_{Tratamientos}}$$

La densidad relativa responde a un cálculo realizado con la abundancia de cada sitio de muestreo dividido para el área cubierta. Para encontrar el área de cada sitio de muestreo se multiplicó la longitud del transecto (en metros) por 30, ésta es la distancia en la cual el observador reconoce las especies. Luego se realizó la conversión a hectáreas.

$$D_r = \text{Número} \frac{\text{individuos totales}}{\div} A_r \text{ hectáreas}$$

Se calcularon los datos de frecuencia, según la fórmula $F = n/N$, donde n = número de jornadas en las cuales se observa cada especie y N = número total de jornadas de observación (Tabla 2).

Tabla 2. Los diferentes porcentajes corresponden a las cuatro frecuencias: Muy Comunes, Comunes, Poco Comunes y Raras.

Frecuencias	Porcentajes
Muy Comunes	100-70%
Comunes	69.9%-30%
Poco Comunes	29.9%-10%
Raras	< 9.9%

Para los análisis, se tomaron los datos del registro más abundante por especie, entre todas las observaciones realizadas en el estudio. Los valores de abundancia se los obtuvieron con el número de individuos totales registrados.

El índice de diversidad se obtuvo utilizando el índice H' de Shannon, este análisis se realizó con la ayuda del software Species Diversity and Richness 2006 (Pla, 2006).

También se cotejó la muestra por medio del análisis de varianza de un factor. La cual permite probar la hipótesis nula (H_0) que asume que todas las medias

de la muestra son iguales, contra la hipótesis alterna (H_A). Los valores $P \leq 0.05$ establecen una distribución diferenciada. Este análisis estadístico fue elaborado con ayuda del software PASW STATISTICS 12.

Resultados

Durante cinco meses de monitoreo Octubre 2013 a Febrero 2014, se contabilizaron e identificaron un total de 2.828 individuos pertenecientes a 116 especies, 95 géneros, 36 familias y 18 órdenes. Las especies más abundantes fueron la Paloma doméstica *Columba livia* con 310 individuos, Tangara azuleja *Thraupis episcopus* con 296 individuos y Tortolita ecuatoriana *Columbina buckleyi* con 248 individuos (Fig. 1). Estas son especies generalistas y adaptadas a hábitats degenerados que podrían tener un potencial indicador en áreas en procesos similares. *Columbina buckleyi* está catalogada como una de las endémicas de la región tumbesina, lo cual demuestra su capacidad de adaptación a los cambios del hábitat. Esta especie podría ser un muy buen indicador para la adaptabilidad de las especies nativas de la región.

Se presentaron tres especies introducidas para el Ecuador: La Paloma Doméstica (*Columba livia*) con 310 individuos, Perico Aliblanco (*Brotogeris versicolurus*) y Periquito Australiano (*Melopsittacus undulatus*). En general estas especies estuvieron distribuidas en las zonas de muestreo, no obstante el 59% de los individuos se encontró en la zona urbana, el 35% en la zona suburbana y el 6% en la zona periurbana. Entre los nuevos registros, se observaron un individuo del Perico Cabecioscuro (*Aratinga weddellii*), especie del Oriente Ecuatoriano y tres individuos del Loro Cabeciazul (*Pionus menstruus*), especie no registrada para la ciudad de Guayaquil.

En el estudio se localizaron 15 especies endémicas de la región tumbesina, y seis especies de estas que se encuentran en diferentes categorías de amenaza según la Lista Roja de la UICN 2014 (Tabla 3, Fig. 2).

Las familias que presentaron el mayor número de especies fueron Tyranidae con 17 especies, Columbidae con ocho especies, Psittacidae con ocho especies, Ardeidae con siete especies y Traupidae, Emberizidae e Icteridae, con seis especies cada una.

Los sitios de muestreo mantienen especies similares en porcentajes del 10% al 40% lo cual se confirma que comparten de 12 a 44 especies en el ensamble de 116 especies para este estudio. El alto porcentaje de las especies raras representadas en el estudio demuestran una baja colonización de los sitios de muestreo.

La zona urbana presentó una riqueza de 47 especies (41% de las especies totales registradas), siendo esta la riqueza menor expresada entre los gradientes de urbanización. La zona suburbana obtuvo 86 especies (74%) y la zona periurbana fue la más abundante con 91 especies registradas (78%).

En el gradiente urbano se registró 197 individuos y según el área muestreada se obtuvo una densidad relativa de 240 individuos por hectárea. En el gradiente suburbano se obtuvo la menor abundancia con 161 individuos y la densidad relativa de 295 individuos por ha. El gradiente periurbano con el mayor número de individuos 196 y 256 individuos por ha.

Tabla 3. Especies de aves endémicas de la Región Tumbesina, encontradas durante el estudio y las especies en categoría de amenaza según la Lista Roja de la UICN 2012.

Nombre Común	Nombre Científico	Endémica	Categoría
Loro Caretirroja	* <i>Psittacara erythrogenys</i> (<i>Aratinga erythrogenys</i>)	X	NT
Reinita Grisidorada	<i>Basileuterus fraseri</i>	X	
Perico Cachetidris	<i>Brotogeris pyrrhopterus</i>	X	EN
Jilgero Azafrañado	<i>Carduelis semiradzki</i>	X	VU
Tortolita Ecuatoriana	<i>Columbina cruziana</i>	X	
Tinamú Cejiblanco	<i>Crypturellus transfasciatus</i>	X	NT
Periquito del Pacífico	<i>Forpus coelestis</i>	X	
Mosquero de Baird	<i>Myiodynastes bairdii</i>	X	
Elenita del Pacífico	<i>Myiopagis subplacens</i>	X	
Estrellita Colicorta	<i>Myrmia micrura</i>	X	
Cabezón Pizarroso	<i>Pachyramphus spodiurus</i>	X	EN
Pinzón Pechicarmesí	<i>Rhodospingus cruentus</i>	X	
Batará Collarejo	<i>Sakesphorus bernardi</i>	X	
Mirlo Ecuatoriano	<i>Turdus maculirostris</i>	X	
Lora Frentirroja	* <i>Amazona lilacina</i> (<i>Amazona autumnalis</i>)	X	EN

Legenda: Categorías de Amenaza: Casi amenazado (NT), Vulnerable (VU), En Peligro (EN).

* A mediados del 2014 del Hoyo y Collar recategorizaron estas especies: *Psittacara erythrogenys* antes considerada con el género de *Aratinga erythrogenys* y a *A. lilacina*, a nivel de especie previamente agrupada como *A. autumnalis* (BirdLife International, 2015).

La mayor frecuencia en el gradiente de urbano fue la de especies raras que presentaron un 36,2% (17 especies), la menor frecuencia corresponde a muy común, con un 15% (7 especies). En el gradiente

suburbano la mayor frecuencia fue la de rara con 54,2% (45 especies) y la menor del grupo muy común 8.4% (7 especies). Por último, en el gradiente periurbano el porcentaje mayor lo obtuvo la categoría poco común, con 37.5% (33 especies) y el menor muy común con 5.7% (5 especies) (Fig. 3).

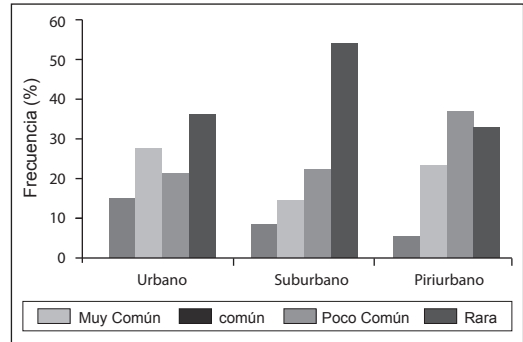


Figura 3. Frecuencia de las especies de aves registradas en los diferentes gradientes de urbanización.

El mayor índice de diversidad de Shannon se presentó en el gradiente periurbano, con 3.89, seguido del suburbano con 3.49 y el menor índice obtenido se presentó en el gradiente urbano con 2.57, calculados con un intervalo de confianza del 95%.

Además, las relaciones entre los gradientes gracias a

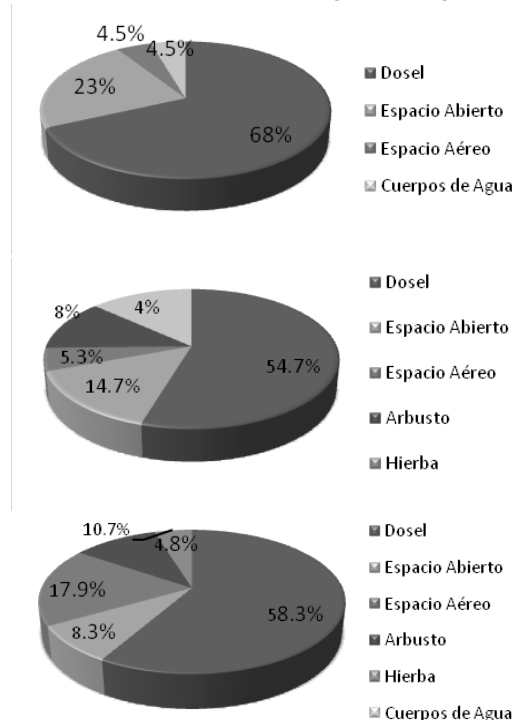


Figura 4. Proporción de las especies de aves en los diferentes hábitats según los gradientes urbanos en la ciudad de Guayaquil.

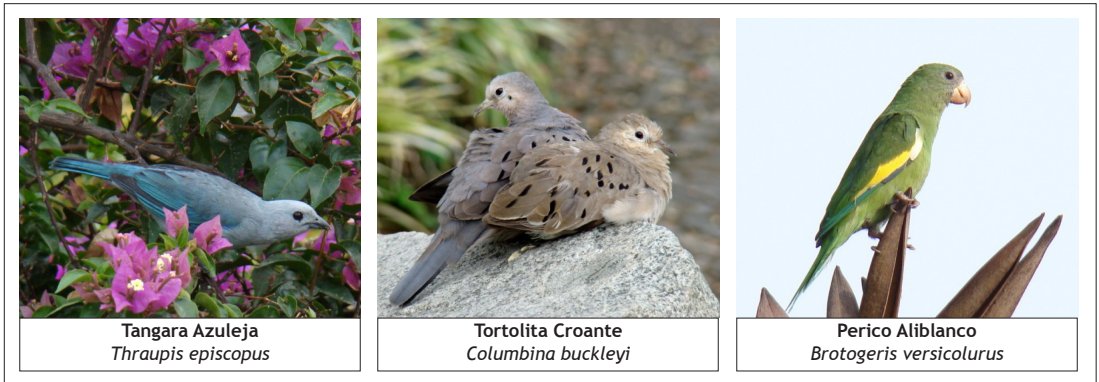


Figura 1. Especies más abundantes observadas en la ciudad de Guayaquil.

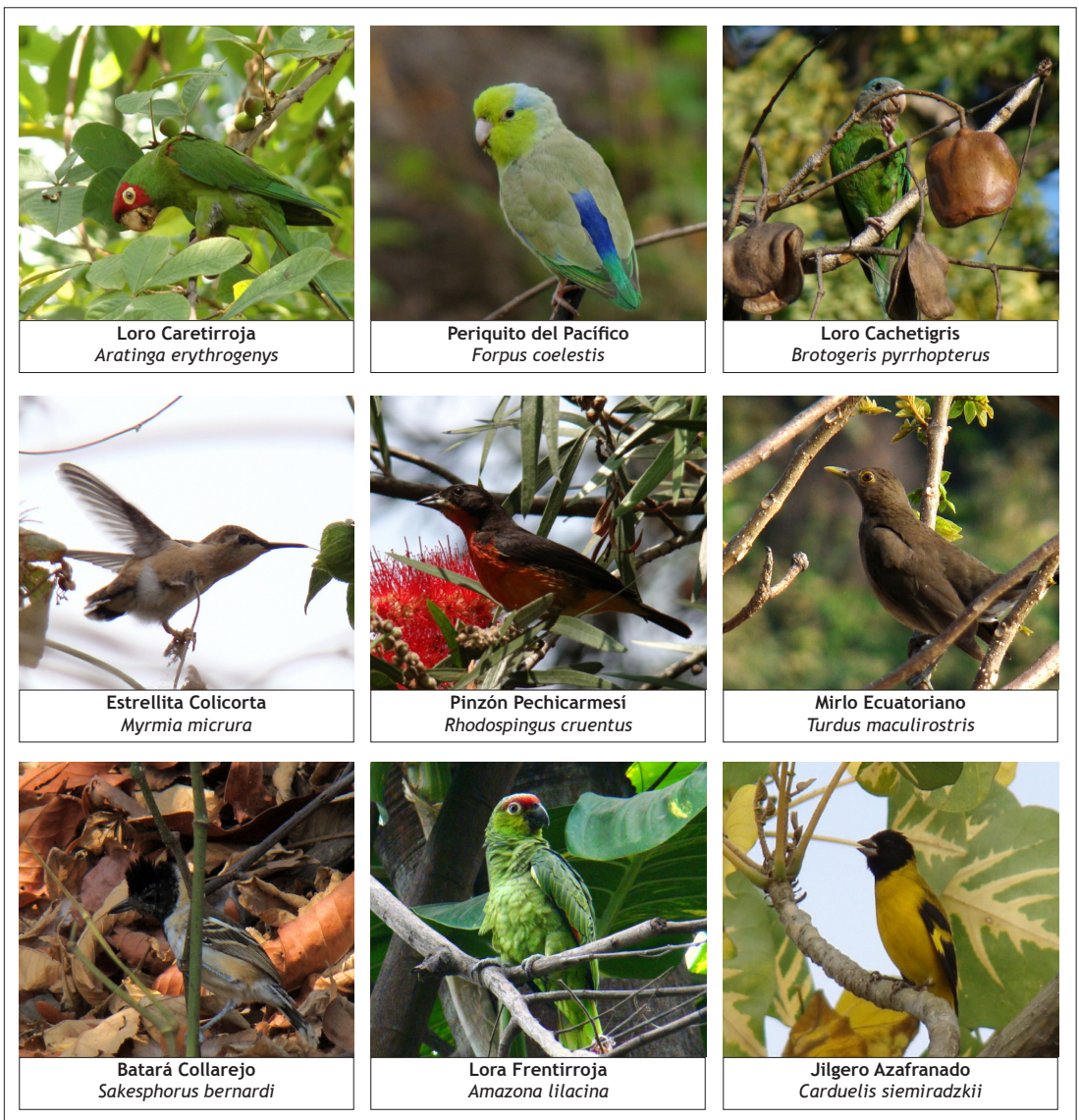


Figura 2. Diferentes especies de aves endémicas de la Región Tumbesina y algunas especies en categoría de amenaza según la Lista Roja de la UICN 2014.

la prueba de *Tukey*, muestra similaridad al relacionar el urbano con el suburbano, $p=0.03$, mostrando diferencia significativa en sus medias. Al relacionar el suburbano con el periurbano obtenemos $p=0.07$, que señala semejanza en sus medias, el gradiente urbano con el periurbano tenemos $p=0.02$, lo que indica una diferencia significativa entre las muestras. La prueba de ANOVA realizada a los gradientes asume que las medias entre los tratamientos es diferente por obtener el valor de Sig. 0.003, con grados de libertad 2.

En el área Urbana el hábitat de Dosel presento el mayor porcentaje de especies que lo utilizaron con 68.2%, y los menores fueron espacio aéreo con 4.5%, al igual que cuerpos de agua. En el área Suburbana, el mayor porcentaje se presentó en dosel con 54.7%, y el menor en arbusto con un 4%. El área Periurbana mostró el mayor porcentaje en dosel 58.3%, y el menor en arbusto con un 2.4%. (Fig. 4).

Descripción de sitios de muestreo

La mayor abundancia entre los sitios monitoreados se observó en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil con 340 individuos, seguida por el Jardín Botánico con 233 individuos, el Cerro Paraíso con 222 individuos y el Malecón 2000 con 216 individuos. El Parque Samanes y la Plaza Rodolfo Baquerizo Moreno mostraron las menores abundancias con 100 y 105 individuos, respectivamente. La mayor riqueza se obtuvo en el Jardín Botánico con 62 especies, el Cerro Paraíso con 56 especies y el Cerro del Carmen con 51 especies. La menor riqueza se registró en el Parque Seminario con 17 especies y en el Parque Centenario con 23 especies (Tabla 4).

Tabla 4. Datos de abundancia, riqueza e índice de diversidad H' de Shannon en las diferentes zonas muestreadas.

	Abundancia	Riqueza	Diversidad
M2000	216	43	3.108
PC	205	23	1.686
PS	172	17	1.508
Psams	100	32	3.178
CCNN	340	46	2.849
PF	176	33	2.959
PAN	165	30	2.521
PP	96	24	2.631
PJ	137	31	2.96
PUN	172	35	2.87
PLS	155	43	3.277
PRBM	105	25	2.798
CC	185	51	3.587
JB	233	63	3.707
CP	222	56	3.527
BPS	149	44	3.131

Los mayores valores de los índices de diversidad en los sitios muestreados se los determinó en el Jardín Botánico con un 3.7 (alto), y en el Cerro del Carmen con 3.6 (alto). Los menores índices de diversidad se obtuvieron en el Parque Seminario con 1.5 (bajo) y en Parque Centenario con 1.7 (bajo), se los calculó con el intervalo del 95% de confiabilidad.

Discusión

Lancaster y Rees (1979) mencionan que la diversidad de aves, disminuye al incrementar la de diversidad de hábitats aportados por las construcciones humanas, estos ambientes altamente urbanizados proveen hábitat y alimento favoreciendo a las especies de aves granívoras o a las omnívoras que se alimentan en el suelo, esta tendencia a es similar si la comparamos con los resultados obtenidos donde se aprecia la gran abundancia y dominancia de *Columba livia*, en los parques con mayor grado de urbanización del estudio, como son el Parque Seminario y Parque Centenario, además que estos parques presentaron la menor riqueza frente a los demás sitios de muestreo.

Según Agreda (2010) en el Área Nacional de Recreación Isla Santay, la familia Tyrannidae se presentó como la más abundante con 11 especies, al igual que en nuestro estudio que obtuvimos como la familia mejor representada con 17 especies. *Brotogeris pyrrhoptera*, no se lo encontró en estudio de Agreda, en las zonas de nuestro trabajo en gradientes urbanos se reporta con una frecuencia de común a esta especie.

La riqueza encontrada durante el estudio en el Bosque Cerro Paraíso fue 56 especies, siendo esta inferior a la encontrada por Félix (2014) que posee 109 especies identificadas. Pero cabe recalcar que este estudio sólo se enfocó en un área cercana a la población humana. Además en el estudio se pudo encontrar individuos de la especie Semillero Gorjicastaño (*Sporophila telasco*), no reportada aún por el Félix. Ambos trabajos concuerdan que el *Brotogeris versicolurus* es común de observar en el bosque a pesar de ser una especie introducida originaria de la región amazónica de Brasil que parece haberse adaptado a las condiciones de diferentes lugares donde ha sido reportada.

Lancaster y Rees (1979), indican que la diversidad, y número de especies se incrementan con la diversidad de la altura del follaje y la vegetación total, el Malecón 2000 concuerda con lo que ellos indican ya que este sitio se encuentra dentro del Gradiente Urbano, y a pesar de ello por sus propias características del área y de la vegetación que lo componen, presenta la diversidad más alta a los otros parques que también conforman el gradiente Urbano.

Conclusiones

Los valores medios de diversidad están distribuidos homogéneamente en la zona suburbana y los más altos en la zona periurbana. Gracias al análisis de varianza

se conoce que existe variabilidad significativa del índice de diversidad al largo de los gradientes de la ciudad de Guayaquil.

La diferencia de la diversidad de las zonas muestreadas sugiere la existencia de tres comunidades diferentes, por lo cual cada una merece especial atención, también demuestra que la zona urbana se encuentra muy inestable en cuanto a la composición de los individuos. Aunque esta diferencia entre los gradientes no es muy evidente, es de notar que el gradiente periurbano brinda mayor posibilidad a los individuos que el urbano y suburbano, esto se debe a la cantidad de especies que mantienen y a la complejidad del ensamble. La riqueza, densidad relativa y abundancia en el gradiente suburbano podría ser un punto focal en el desarrollo de actividades turísticas como la observación de aves, además ser útil para investigaciones o pensar en la conservación de muchas especies en la ciudad de Guayaquil.

Las aves nativas prevalecen en áreas menos perturbadas, mientras que las aves introducidas predominan en las disturbadas, el proceso de urbanización causa que la diversidad y la riqueza original disminuyan, solo las especies que pueden tolerar este tipo de impacto se ven beneficiadas aumentando sus poblaciones, favoreciendo la dominancia de pocas especies.

La Paloma Doméstica especie introducida, se encuentra de manera abundante en áreas altamente urbanizadas; de esta manera podemos evidenciar los niveles adaptativos a sitios con mayor grado de perturbación humana, otros ejemplos de especies son Tangara Azuleja, Perico Cachetigris, Negro Matorralero, Martín Pechigris, Garrapatero Piquiestriado, Periquito del Pacífico, Clarinero Colilargo, Tortolita Ecuatoriana, entre otras. Son especies con mayor abundancia en el gradiente urbano, en el gradiente suburbano y periurbano también se presentan con una abundancia elevada, por lo que se puede decir que pueden tolerar cambios en su ecosistema natural.

En general las especies prefieren usar el dosel lo que demuestra la importancia de la conservación de la cobertura vegetal de las zonas estudiadas, mientras que las especies generalistas que usan el espacio aéreo mantienen su presencia más o menos equilibrada.

Recomendaciones

El grado de urbanización tiene una influencia directa en la riqueza y abundancia de la avifauna, su manejo es prioritario para crear las condiciones apropiadas y mejorar la calidad de vida de las especies que lo conforman.

Se recomienda que las áreas verdes presentes en la ciudad de Guayaquil aumenten en número y extensión, además de diversificar los ecosistemas que en la actualidad se mantienen en las áreas urbanas. Con una adecuada planificación, éstas áreas podrían llegar a convertirse en importantes corredores biológicos y además ser de utilidad para el desarrollo de la educación ambiental.

Se sugiere trabajar en el sur y en el extremo nororiente de la urbe para ampliar el registro de especies, muchas de ellas acuáticas y de importancia para completar el estudio de las comunidades de aves en Guayaquil.

Referencias

- Ágreda, A. 2010. Plan de Manejo del Área Nacional de Recreación Isla Santay y Gallo. Ministerio del Ambiente, 61-274 pp.
- Alcaldía de Guayaquil. 2014. M. I Municipalidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. Disponible en: <http://www.guayaquil.gov.ec/mi-guayaquil/BirdLife> International. 2015. IUCN Red List for birds. Disponible en: <http://www.birdlife.org>.
- Cam, E., J. Nichols, J. Sauer, J. Hines & C. Flather. 2000. Relative species richness and community completeness: Birds and urbanization in the Mid - Atlantic States. *Ecological Applications* 10(4): 1196-1210 pp.
- Chace, J. F. & J. J. Walsh. 2004. Urban effects on native avifauna: a review. *Landscape and Urban planning* 74: 46-79 pp.
- Félix, F. 2014. Aves del Bosque Protector Cerro Paraíso. Versión digital 3. Guayaquil, Ecuador. 58 pp.
- González, O. 2004. Ecología de Aves Urbanas en un Parque de la Ciudad de Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis de Magister. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad del Perú. 101 pp.
- Lancaster, R. K., & Rees, E. E. 1979. Bird communities and the structure of urban habitats. *Canadian journal of zoology* 57(12): 2358-2368 pp.
- Luniak, M. 1983. The avifauna of urban green areas in Poland and possibilities of managing. *Acta Ornithologica (Warsaw)* 19(1-6): 3-62 pp.
- Mckinney, M. L. 2002. Urbanization, biodiversity, and conservation. *Bioscience* 52: 883-890 pp.
- Mindo Cloudforest Foundation. 2006. Estrategia Nacional de Aviturismo. CORPEI. Quito, Ecuador. 156 pp.
- Pla, L. 2006. Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interiencia* 31(8). 583-590 pp. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000800008&lng=es&nrm=iso. ISSN 0378-1844.
- Ridgely, R. S. & P. J. Greenfield. 2006. Aves del Ecuador. Fundación Jocotoco y Academia de Ciencias de Philadelphia, Quito. 812 pp.
- UICN. 2012. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Segunda edición. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: UICN. vi + 34pp. Originalmente publicado como IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. Second edition. (Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN, 2012).
- Website © 2005-2014, Xeno-canto Foundation. Disponible en: www.xeno-canto.org.

Contribución al conocimiento de la fauna entomológica de los manglares: *Olla roatanensis* Vandenberg y *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius, dos nuevos registros de Coleoptera: Coccinellidae para Ecuador y Perú

Contribution to knowledge of the Entomologic Fauna of Mangroves: *Olla roatanensis* Vandenberg and *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius, two new records of Coleoptera: Coccinellidae for Ecuador and Peru

Xavier Cornejo^{a*} & Guillermo González^b

^aHerbario GUAY, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil.
Casilla 09-01-10634, Guayaquil, Ecuador.

^bLa Reina, Santiago, Chile, website: www.coccinellidae.cl.

Recibido 16 de octubre 2014; recibido en forma revisada 27 de noviembre 2014, aceptado 1 de diciembre 2014
Disponible en línea 5 de enero 2015

Resumen

Se reporta por primera vez la presencia de las mariquitas *Olla roatanensis* Vandenberg y *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius en Ecuador y Perú, ambas Coleoptera: Coccinellidae han sido encontradas en ecosistemas de manglares. Además, se describe por primera vez la morfología y el comportamiento durante el estadio final de la fase larvaria y las fases de pupa y adulto de *Olla roatanensis*.

Palabras claves: *Cheilomenes sexmaculata*, Ecuador, mangroves, nuevos registros, *Olla roatanensis*, Perú.

Abstract

The lady bugs *Olla roatanensis* Vandenberg (Coccinellidae, Coleoptera) and *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius are reported for first time from Ecuador and Peru, both Coleoptera: Coccinellidae have been found on mangrove ecosystems. The morphology and behavior of final larval stage, pupa and adult of *Olla roatanensis* are described.

Keywords: *Cheilomenes sexmaculata*, Ecuador, mangroves, new records, *Olla roatanensis*, Peru.

Introducción

Durante la elaboración de una publicación sobre las plantas de los manglares de Colombia, Ecuador y Perú (Cornejo, 2014), ha sido notoria la ausencia de libros, artículos o videos sobre la fauna entomológica de los manglares en la región. El descubrimiento de *Hattena rhizophorae* Faraji & Cornejo (2006), una nueva especie de ácaro en las flores del mangle rojo (*Rhizophora* spp.), con abundantes poblaciones en un manglar de fácil acceso, como es el caso del estuario del Río Chone en la provincia de Manabí, evidencian un pobre conocimiento en esta área y que además existe un gran campo para el desarrollo de la investigación entomológica en la región. Por observaciones realizadas durante 5 horas distribuidas en tres días durante la estación lluviosa (29, 30 Ene y 3 Feb de

2014) en una sola localidad en la Reserva de Producción Faunística Manglares del Salado, en la provincia del Guayas, se ha registrado que las flores del mangle negro, *Avicennia germinans* (L.) L. (Acanthaceae), son visitadas al menos por unas 25 especies de insectos, y las del mangle blanco, *Laguncularia racemosa* (L.) F. C. Gaertn. (Combretaceae), por un mínimo de 15 especies. Entre los visitantes de las flores de ambas especies de mangles se registra a *Olla roatanensis* Vandenberg, una mariquita que se reporta aquí formalmente por primera vez para Ecuador y Perú.

Olla Casey es un género del orden Coleoptera, familia Coccinellidae, que se encuentra ampliamente distribuido desde Estados Unidos y México hasta Argentina y Chile, también en las Antillas, en las Bahamas, Jamaica y Puerto Rico y en el Océano

* Correspondencia del autor:
E-mail: xcornejoguay@gmail.com



Pacífico en las islas Galápagos e isla de Pascua. *Olla* comprende cinco especies: i) *O. v-nigrum* Mulsant, originaria de América del Norte y ampliamente distribuida hasta Argentina y Chile y también en las Antillas. Esta especie ha sido introducida en Hawai, Oceanía y Australia por ser un predador natural clave de áfidos, cocoideos, psílicos y aleuródidos, el cual es utilizado en programas de control biológico en cultivos comerciales de pecanes, cereales y cítricos (Vandenberg, 1992; Michaud, 2001). En América del Sur, Machado (1982), Bado & Rodríguez (1997), Kato *et al.* (1999), Massaruet *al.* (1999), Nakajo (2006) y Solano *et al.* (2010), estudiaron la ingesta de *Olla v-nigrum*, basada en diferentes especies de áfidos y psílicos. ii) *O. timberlakei* Vandenberg, distribuida desde México hasta Venezuela. iii) *O. hageni* Vandenberg; y, iv) *O. lacrimosa* Vandenberg, ambas endémicas de las islas Galápagos. Y, v) *O. roatanensis* Vandenberg, una especie descrita originalmente por ejemplares procedentes de la isla Roatán en Honduras, a la que debe su nombre y desde donde era conocida solamente por individuos maduros; su presencia en Ecuador y Perú no había sido previamente documentada (Vandenberg, 1992, 2004). Entre el 29 y 30 de Enero del 2014 se colectaron seis individuos adultos de *O. roatanensis* mientras visitaban las flores de los mangles *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa*, en un ramal localizado en los predios de la Universidad de Guayaquil (2° 11' S 79° 53' W), que pertenece a la Reserva de Producción Faunística Manglares del Salado, en la provincia del Guayas. Los especímenes fueron preservados en alcohol al 50 % y enviados para determinación por genitalia al Systematic Entomology Lab-USDA del Instituto Smithsonian de Washington, DC (NMNH).

El 1 de Septiembre del 2014, se colectaron tres individuos de *O. roatanensis* en estadio larvario encontrados sobre las hojas de *Laguncularia racemosa*, en la misma localidad donde previamente se colectaron los adultos. Esas larvas fueron puestas dentro de un frasco de vidrio cerrado junto con una hoja de *Laguncularia racemosa* para observar sus fases hasta llegar a adulto y así establecer con certeza si pertenecen a *O. roatanensis*. Esos individuos adultos y sus exuvias respectivas han sido preservados en alcohol al 50 % y depositados en el Museo (MUGT) de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil.

Descripción de *Olla roatanensis*

Fase larvaria:

Planta sustrato: Las larvas de *Olla roatanensis* se encontraban solamente en las hojas del mangle blanco, *Laguncularia racemosa*.

Descripción: Los especímenes fueron encontrados durante el 4^{to} estadio de su fase larvaria. En este estadio *O. roatanensis* tiene una longitud entre 7 a 9 mm y presenta un color negro con marcas amarillas en la porción dorsal. La cabeza es de color café oscuro,

el pronoto presenta 4 manchas amarillas distribuidas en los ángulos de manera equidistante entre sí y una delgada línea clara longitudinal al centro; el meso y el metanoto presentan cada uno una mácula amarilla central sobre la línea dorsal. Todos los segmentos abdominales presentan una mácula amarilla central sobre la línea dorsal y un par de máculas amarillas localizadas una a cada lado de cada segmento, dando la apariencia de líneas laterales. Adicionalmente presentan un aclaramiento en posición dorso-lateral, la que configura una mancha amarilla en el primer segmento y en menor medida en el cuarto (fig. 1: A). Esta pupas son muy similares a las larvas de cuarto estadio de *Olla v-nigrum* y *O. hageni* ilustradas por Vandenberg (1992) y Najako (2006).

Desarrollo: Las larvas observadas permanecieron mayormente inmóviles, con movimientos más bien escasos, éstas ocasionalmente se alimentaron del parénquima clorofílico de la lámina de la hoja y de restos orgánicos. También se observó desplazamiento en caso de peligro. El último día de la fase larvaria el individuo se curva sobre sí en forma de "U" y permanece sin movimiento en estado de pre-pupa (fig. 1: B), hasta transformarse en una pupa. La alimentación ocasional de parénquima vegetal es excepcional en coccinélidos predadores.

Fase pupa:

Duración: 3 días.

Descripción: Presentan un color blanco a cremoso con manchas negras subcirculares dispuestas en pares en la porción dorsal, de tamaño variable, excepto en el pronoto donde se encuentran hasta ocho manchas negras y en los segmentos abdominales 2 y 3 donde se encuentran dos pares de manchas a cada lado, mientras en el primer segmento están ausentes (fig. 1: C). Adicionalmente, sobre los élitros se encuentran tres manchitas en cada uno, consistentes con las dos manchas basales y la mancha discal del adulto. Estas pupas son muy similares a las ilustradas para *Olla v-nigrum* por Najako (2006), a pesar de que éstas corresponden a la forma melánica de esa especie, las cuales sin embargo presentan una mayor extensión y cantidad de las manchas incluyendo manchas dorso laterales y laterales en todos los segmentos abdominales.

Comportamiento: Las pupas permanecen en un estado de aparente reposo, realizando pulsaciones esporádicas. La base de la pupa es sésil sobre la superficie de la lámina de una hoja. Al final de esta fase emerge un individuo adulto de la parte anterior de la pupa y queda una exuvia sésil sobre la hoja sustrato, la cual posee color transparente con manchas negras (fig. 1: D).

Fase adulto:

Descripción: Poseen forma semicircular hasta semicircular-ovoide, con una longitud estimada entre 4.6 a 5.1 mm. Cada élitro posee cinco manchas negras,



Figura 1. *Olla roatanensis* Vandenberg, (Coleoptera: Coccinellidae). A. Estadio final de la fase larvaria. B. Larva previa a la fase de pupa. C. Pupa, vista lateral (arriba) y vista dorsal (abajo). D. Exuvia. E. Adulto recién salido de la exuvia. F. Adulto, aspecto final.

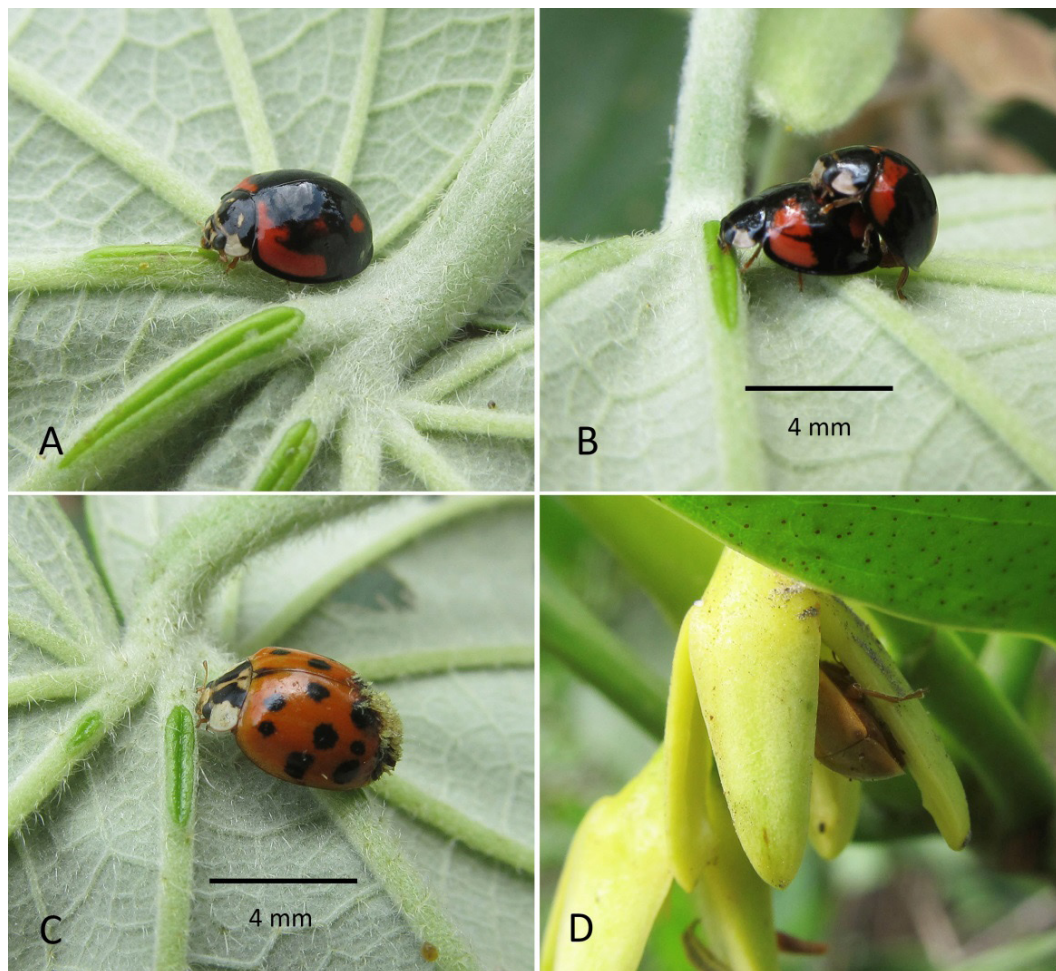


Figura 2. *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius sobre una hoja de *Talipariti tiliaceum* var. *pernambucense* (Arruda) Fryxell: A. Adulto alimentándose de un nectario foliar. B. Cópula mientras la hembra se alimenta de un nectario foliar. *Harmonia axyridis* Pallas: C. Adulto alimentándose de un nectario foliar de la mencionada variedad. D. Adulto visitando las flores en post-floración de mangle rojo, *Rhizophora mangle* L., para preñar a *Hattena rhizophorae*.

las dos primeras basales cerca del escutelo y del ángulo humeral, las dos siguientes a los 2/5 del largo y más laterales que las anteriores, la quinta cerca del borde lateral a los 2/3 del largo. El pronoto se encuentra decorado con nueve manchas negras: cinco mayores y cuatro menores. Inicialmente, los adultos presentan una coloración general amarillo claro y las manchas negras de los élitros al principio son de color café (fig. 1: E), las que se tornan negras dentro de un período de tres horas. Después de unas 10 horas los élitros presentan una coloración gris claro, mientras que el pronoto continúa amarillo claro (fig. 1: F). En el sitio de colección, durante un lapso de tres días se ha observado variabilidad en el color de los élitros desde blanco hasta gris claro y en el de los pronotos, desde blanco hasta amarillo claro.

Comportamiento: Los adultos son muy activos, han sido observados visitando el interior de las corolas de *Laguncularia racemosa* y mayormente las de *Avicennia*

germinans, de las que podrían ser polinizadores secundarios. Un video de *O. roatanensis* visitando las flores del mangle salado, *Avicennia germinans*, se encuentra disponible en el siguiente enlace: https://www.youtube.com/watch?v=dad_ILLB8lo&list=UUyJ1snlbZWczExxAQHsbQAg, donde la especie puede observarse a partir del minuto 3:26.

Nuevos registros de *Olla roatanensis* para Ecuador y Perú

ECUADOR. Guayas: Reserva de Producción Faunística Manglares del Salado, ramal de manglar en predios de la Universidad de Guayaquil, 2° 11' S 79° 53' W, 29 y 30 Ene 2014, X. Cornejo s.n. (NMNH); ibídem, Sep 2014, X. Cornejo s.n. (MUGT).

PERU. Tumbes: manglares de Puerto Pizarro, ca. 3° 29' S 80° 22' W, 13 Sep 1997, P. Castillo s.n. (MEUT). Según su colector la especie se encuentra en Tumbes

(Perú) sobre mangle blanco, *Laguncularia racemosa* (Pedro Castillo, com. pers.).

Debido a que *Laguncularia racemosa* también se encuentra en la isla de Roatán, es posible que en la localidad del tipo *O. roatanensis* use ésta especie de mangle como su hospedero vegetal y además que ahí también busque su alimento en las flores de la simpátrica *Avicennia germinans*, a diferencia de otras especies del género *Olla* que son más bien generalistas en la selección del hospedero vegetal. Sin embargo, más observaciones y colecciones son necesarias para sustentar la especificidad o generalidad de *O. roatanensis* en cuanto a hospederos y hábitats. Información general e imágenes adicionales de *Olla roatanensis* de Ecuador y Perú se encuentran disponibles en este enlace: http://www.coccinellidae.cl/paginasWebPeru/Paginas/Olla_sp_02_Peru.php

Nuevos registros de *Cheilomenes sexmaculata* para Ecuador y Perú

ECUADOR. Guayas: Área de Recreación Nacional Isla Santay y Gallo, manglar de la Isla Santay, ca. 200 metros desde el puente hacia Durán, 2° 13' S 79° 52' W, 29 y 30 Dic 2014, X. Cornejo s.n. (MUGT).

PERU. Ica: Nazca, 10 Nov 2010, C. León (SENASA).

Esta es una especie originaria de Asia, también ha sido registrada en Oceanía y ha sido introducida en varios países de América del sur, como Venezuela, Perú y Chile. En Ecuador, *Cheilomenes sexmaculata* ha sido encontrada en el envés de las hojas tiernas de *Talipari titiliaceum* var. *pernambucense* (Arruda) Fryxell (Malvaceae), donde busca protección de la fuerte radiación solar, se reproduce y alimenta de los nectarios lineares que se encuentran en la porción basal sobre los nervios de las hojas de la mencionada variedad (fig. 2: A-B). Este hábito alimenticio de *Cheilomenes sexmaculata* como un herbívoro ocasional en los nectarios foliares de *Talipari titiliaceum* var. *pernambucense* también ha sido observado varias veces en la misma localidad y en las mismas fechas de colección en otras especies simpátricas de Coccinellidae, como la introducida *Harmonia axyridis* (fig. 2: C), que también visita los mangles rojos, *Rhizophora mangle* L. y *R. racemosa* G. Mey (Rhizophoraceae), para preñar diminutos insectos y ácaros de las flores, como la endémica *Hattena rhizophorae* (fig. 2: D).

Agradecimientos

A Natalia J. Vandenberg, (NMNH) por realizar las determinaciones de los especímenes de *Olla roatanensis* de Ecuador. A Pedro Castillo (MEUT) y a Pedro Lozada (SENASA, Lima) por el envío al segundo autor de los ejemplares de *Olla roatanensis* y *Cheilomenes sexmaculata* colectados en Perú.

Referencias

- Bado, S. G. & S. M. Rodríguez. 1997. Aspectos morfológicos, biológicos y de ingesta de *Olla v-nigrum* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) en Buenos Aires (Argentina). *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas* 23:201-207.
- Faraji, F. & X. Cornejo. 2006. A new *Hattena* Domrow (Acari, Amerosiidae) from Ecuadorian mangroves and a new generic record for South America. *International Journal of Acarology* 32(3):287-291.
- Kato, C., A. M. Aued & V. H. P. Bueno. 1999. Aspectos biológicos y etológicos de *Olla v-nigrum* (Mulsant, 1866) (Coleoptera: Coccinellidae) sobre *Psylla* sp. (Homoptera: Psyllidae). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras 23:19-23.
- Machado, V. L. R. 1982. Morfología e aspectos biológicos de *Cycloneda conjugata* Mulsant, 1866 y *Olla v-nigrum* (Mulsant, 1866) (Coleoptera, Coccinellidae) predadores de *Psylla* sp. (Homoptera, Psyllidae) em sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth.) (Tesis-Mestrado Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, Brasil).
- Massaru K, V. L. R. Machado & V. H. Paes. 1999. Aspectos biológicos e etológicos de *Olla v-nigrum* (Mulsant, 1866) (Coleoptera: Coccinellidae) sobre *Psylla* sp (Homoptera: Psyllidae). *Ciências e Agrotecnologia*, 23(1):19-23.
- Michaud. J. P. 2001. Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestation of *Asian citrus* Psyllid (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. *Florida Entomologist* 84(4):608-612
- Nakajo, J. C. 2006. Aspectos morfológicos e biológicos de *Olla v-nigrum* (Mulsant, 1866) (Coleoptera, Coccinellidae) alimentados com *Platycorypha nigrivirga* Burckhardt, 1987 (Hemiptera: Psyllidae). Curitiba, 66pp. (Dissertação de Mestrado, UFPR).
- Solano Y. A., N. Valera & C. Vásquez. 2010. Aspectos biológicos de *Olla v-nigrum* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) alimentándose sobre *Aphis craccivora* (Koch) (Hemiptera: Aphididae). *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, Maracaibo, Venezuela, 44(1):251-260.
- Vandenberg, N. J. 1992. Revision of the New World lady beetles of the genus *Olla* and description of a new allied genus (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals of Entomological Society of America*, Lanham 85(4):370-392.
- Vandenberg, N. J. 2004. Contributions to the knowledge of *Olla* Casey (Coleoptera, Coccinellini): new species from the Galapagos Islands, updates on the distribution of *O. v-nigrum* (Mulsant). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 106:619-626.

Detección de cadmio y plomo en leche de vaca comercializada en la ciudad de Guayaquil, Ecuador

Cadmium and lead levels in cow's milk marketed in the city of Guayaquil, Ecuador

Beatriz Pernía^{1*}, Mariuxi Mero², Kenya Bravo³, Nelson Ramírez³, David López³, Jorge Muñoz³ & Fidel Egas⁴

¹ *Prometeo SENESCYT, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador*

² *Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador*

³ *Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil*

⁴ *Facultad de Economía, Universidad de Guayaquil, Ecuador*

Recibido 18 de septiembre 2014; recibido en forma revisada 24 de octubre 2014, aceptado 6 de noviembre 2014
Disponibile en línea 5 de enero 2015

Resumen

El cadmio (Cd) y el plomo (Pb) son metales pesados tóxicos capaces de generar enfermedades en humanos. El objetivo del presente trabajo fue detectar la posible presencia de Cd y Pb en leche de vaca ultrapasteurizada, pasteurizada y en polvo, comercializada en la ciudad de Guayaquil, Ecuador. Para ello, se muestrearon distintas presentaciones de leches de varias marcas: pasteurizadas (3 marcas), ultrapasteurizadas (8 marcas) y en polvo (5 marcas). Las muestras fueron digeridas con ácido nítrico: peróxido de hidrógeno y la concentración del metal pesado se detectó mediante un Espectrofotómetro de Absorción Atómica (Perkin-Elmer). En las leches líquidas y ultrapasteurizadas no se hallaron los metales pesados. Sin embargo en la leche en polvo, se detectó altas concentraciones de Pb ($5,450 \pm 2,474$ ppm) y Cd ($0,333 \pm 0,176$ ppm). Los valores de Pb están 272 veces por encima del valor máximo permitido para leche según el *Codex alimentarius* (0,02 ppm) y en el caso del Cd no existen valores máximos permisibles, por lo que se propone la generación de una norma de valor máximo para Cd en leche para el Ecuador.

Palabras claves: cadmio, Ecuador, leche, plomo.

Abstract

The Cadmium (Cd) and lead (Pb) are toxic heavy metals able to cause diseases in humans. The aim of this study was to detect the presence of Cd and Pb in ultra-pasteurized, pasteurized and powdered cow milk marketed in the city of Guayaquil. For this purpose, different presentations and brands of milk were sampled: pasteurized (three brands), ultra-pasteurized (eight brands) and powdered milk (five brands). The samples were digested with nitric acid: hydrogen peroxide and the heavy metal concentration was detected using an Atomic Absorption Spectrophotometer (Perkin-Elmer). Heavy metals were not detected in liquid and ultra-pasteurized milk. However, in powdered milk, high concentrations of Pb (5.450 ± 2.474 ppm) and Cd (0.333 ± 0.176 ppm) were detected. The Pb values are 272 times higher than the permitted maximum level for milk according to *Codex Alimentarius* (0.02 ppm). As a permitted maximum level of Cd for milk does not exist, the generation of a maximum allowed value is proposed in Ecuador.

Keywords: cadmium, Ecuador, lead, milk.

Introducción

La leche de vaca es un alimento completo para el ser humano, ya que contiene proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales y se ha encontrado que ésta puede estar contaminada con bacterias, pesticidas y metales pesados (Magariños,

2000; Alais, 2003; FAO y OMS, 2007). Dentro de los metales pesados el cadmio (Cd) y el plomo (Pb) son unos de los más tóxicos.

Se ha demostrado que el Cd es capaz de bioacumularse y bioamplificarse en la cadena alimenticia (Pernía *et al.*, 2008). La exposición a Cd está asociada con

* Correspondencia del autor:
E-mail: beatrizpernia@gmail.com



un incremento en la incidencia de enfermedades renales (Åkesson, 2012), hipertensión (Gallagher & Meliker, 2010), anemia, osteoporosis (Järup & Alfvén, 2004), osteomalacia (WHO, 2010), diabetes (Schwartz *et al.*, 2013), anosmia, rinitis crónica y eosinofilia (Henson & Chedrese, 2004). Además, ha sido considerado por la Agencia de Investigación en Cáncer (IARC, siglas del inglés Agency for Research on Cancer) como un compuesto cancerígeno, capaz de generar leucemia (Henson & Chedrese, 2004) cáncer de mama (McElroy *et al.*, 2006), páncreas, pulmones (Henson & Chedrese, 2004) y próstata (Julin *et al.*, 2012).

El uso generalizado del Pb en actividades humanas ha traído como consecuencia la contaminación del medio ambiente y graves problemas de salud pública (OMS, 2014). El Pb una vez ingerido, se distribuye en el organismo acumulándose en diversos tejidos: cerebro, hígado, riñones y huesos, generando 143.000 muertes al año y 600.000 casos de discapacidad intelectual en niños (OMS, 2014).

Son numerosos los efectos del Pb en la salud humana, ya que inhibe la síntesis de hemoglobina, generando anemia (ATSDR, 2007; Counter *et al.*, 2012) incrementa la presión sanguínea, genera daño renal (Batuman *et al.*, 1981; Poma, 2008), perturbaciones en el sistema nervioso central (ATSDR, 2007) y cáncer de estómago y pulmones (Mushak, 2011). Además, los niños son muy sensibles al Pb, el cual genera retraso en el desarrollo mental e intelectual. Existen estudios que demuestran que el plomo disminuye el coeficiente intelectual (Poma, 2008). Además, en niños la exposición al plomo se ha asociado con ausentismo en las escuelas, menor rendimiento escolar (American Academy of Pediatrics Committee on Environmental Health, 1993), con agresividad y tendencia a la violencia (Needleman *et al.*, 2002).

Los posibles orígenes de la contaminación por Cd y Pb en leche son: contaminación de los alimentos y agua que ingiere la vaca, manipulación inapropiada durante el ordeño, almacenamiento y transporte de la leche (Magariños, 2000). Según González-Montaña (2009), la aplicación de fertilizantes, estiércol de ganado, agroquímicos y el riego con aguas contaminadas son actividades que contaminan los suelos agrícolas y de pastoreo, lo que trae como consecuencia la transferencia de los metales pesados a las plantas y de allí a las vacas y a la leche. Una vez que las vacas ingieren los metales pesados, una porción de estos pasa a la leche uniéndose a la grasa y a las proteínas como la caseína y las proteínas del suero (Magariños, 2000; Alais, 2003).

En países como México, Egipto, Italia y Pakistán, se han hallado valores elevados de Cd y Pb en leche (Licata, 2004; Rodríguez *et al.*, 2005; Enb *et al.*, 2009; Kazi *et al.*, 2009). Sin embargo, en Ecuador no existen publicaciones donde se registren los niveles de estos metales pesados en leche. Sumado a ello, en Ecuador existen evidencias de contaminación

por Cd y Pb en agua, suelos, alimentos, y en leche materna (IIRN, 2014). En leche materna se realizó un estudio en la ciudad de Guayaquil, donde se hallaron valores de $70 \pm 50,00$ ppb de Cd, con valores máximos de 159 ppb proveniente de la leche de una madre en la ciudadela Kennedy en Guayaquil (IIRN, 2014). Es por ello, que el objetivo del presente trabajo fue detectar la posible presencia de Cd y Pb en leches de vaca comercializadas en la ciudad de Guayaquil.

Materiales y Métodos

Para este estudio se colectaron muestras de leche de las 11 marcas más comercializadas en la ciudad de Guayaquil, 3 pasteurizadas ($n=30$), 8 ultrapasteurizadas ($n=80$) y 5 en polvo ($n=50$). Las leches se obtuvieron en tiendas departamentales y abastos, con fecha de caducidad vigente, condiciones de refrigeración apropiadas y sin detección de alteraciones sobre el color, aspecto y olor. De cada marca de leche según su presentación se procesaron 10 muestras provenientes de diferentes lotes, a fin de verificar si existía alguna diferencia. Las muestras fueron trasladadas al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, donde fueron procesadas.

Las leches fueron codificadas de L1 a L14 como se muestra en la Tabla 1, junto con los contenidos de proteínas, carbohidratos, grasas, calcio y sodio, reportados por el comerciante.

Para la digestión de las muestras se utilizó la metodología validada por D'Illo *et al.*, (2008). A 10 mL de leche se añadieron 5 mL de ácido nítrico 65% (Merck) y 1 mL de peróxido de hidrógeno 40% (Merck), se realizó una digestión en calor, se filtró con papel Whatman N° 40 y se ajustó a un volumen de 50 mL con agua bidestilada. La cuantificación de los metales se realizó por absorción atómica utilizando un espectrofotómetro de llama Perkin Elmer modelo AAnalyst100, según metodología interna del Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales. Las muestras se leyeron a 228,8 nm para el Cd y 217,0 nm para el Pb, con un límite de detección de 0,002 ppm y 0,045 ppm, respectivamente. Para generar las curvas de calibración se utilizaron estándares comerciales de Cd y Pb (AccuStandard).

Análisis estadísticos

Los resultados se muestran como medias \pm desviación estándar ($n=10$). Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas en la concentración de metales para las distintas marcas comerciales, se realizó una comparación de medias utilizando una prueba ANOVA de una vía, tomando $p < 0.05$ como valor significativo y un test a posteriori de Tukey. Finalmente, para estudiar si existía una correlación entre las propiedades de la leche y los metales pesados se calcularon Coeficientes de Correlación de Pearson. Todas las pruebas se realizaron utilizando el Programa estadístico Minitab versión 17.

Tabla 1. Contenidos de proteínas, carbohidratos, grasas, calcio y sodio en 250 mL de leches enteras (reportadas por el comerciante)

Código	Tipo	Proteínas (g)	Carbohidratos Totales (g)	Grasa total (g)	Colesterol (mg)	Grasa saturada (g)	Calcio (%)	Sodio (mg)
L1	Ultrapasteurizada	8	10	8	34	5	25	80
L2	Ultrapasteurizada	6	10	6	23	3	28	130
L3	Ultrapasteurizada	8	13.74	8	NR	NR	25	NR
L4	Ultrapasteurizada	6	11	8	31	5	25	125
L5	Ultrapasteurizada	7	11	8	30	5	30	95
L6	Ultrapasteurizada	6	10	6.2	NR	NR	NR	125
L7	Pasteurizada	8	11	8	35	6	30	120
L8	Pasteurizada	4	8	5	13	4	13	180
L9	Pasteurizada	8	8	8	22	5	NR	230
L10	Polvo	5	14	8	28	4	44	95
L11	Polvo	8	12	8	24	5	30	95
L12	Polvo	6	14	8	26	5	34	110
L13	Polvo	6	18	6	11	2	50	105
L14	Polvo	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

NR= no reportan

Resultados

Las muestras de leches comercializadas en la ciudad de Guayaquil fueron analizadas y no se detectaron metales pesados en las leches líquidas, ni en las ultrapasteurizadas, ni en las pasteurizadas (Tabla 2). Por el contrario, en las leches en polvo se obtuvieron altos niveles de Cd y Pb, en dos de las marcas estudiadas: L10 y L11 (Figura 1). Por otro lado, las leches en polvo L12, L13 y L14 no presentaron valores detectables de metales pesados.

Tabla 2. Concentración de Cd y Pb en leches líquidas comercializadas en la Ciudad de Guayaquil (n=3).

Código	Tipo	Cd (ppm)	Pb (ppm)
L1	Ultrapasteurizada	<0.002	<0.045
L2	Ultrapasteurizada	<0.002	<0.045
L3	Ultrapasteurizada	<0.002	<0.045
L4	Ultrapasteurizada	<0.002	<0.045
L5	Ultrapasteurizada	<0.002	<0.045
L6	Ultrapasteurizada	<0.002	<0.045
L7	Pasteurizada	<0.002	<0.045
L8	Pasteurizada	<0.002	<0.045
L9	Pasteurizada	<0.002	<0.045

La leche en polvo L10 fue la que presentó los mayores valores de ambos metales (Figura 1), con un promedio

de $5,450 \pm 2,474$ ppm de Pb y $0,333 \pm 0,176$ ppm de Cd, llegando a valores máximos de 7,77 ppm de Pb y 0,46 ppm de Cd. La leche L11 presentó valores aparentemente menores a L10 de $2,350 \pm 1,051$ ppm y $0,100 \pm 0,047$ ppm, para Pb y Cd, respectivamente. Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de metales pesados para las marcas L10 y L11 ($p > 0,05$). Es importante destacar que no todos los lotes de ambas leches presentaron Cd y Pb. En el caso de L10, 2 de 3 lotes presentaron contaminación con los metales pesados, mientras que para L11 solo 1 de 3 lotes.

Con la finalidad de detectar si existía alguna correlación entre los contenidos de metales y pesados y los contenidos de proteínas, grasas y calcio, se realizó un análisis de correlación de Pearson, donde se observó correlación entre ambos metales pesados ($r^2 = 0,989$) y entre estos y el calcio, Pb vs Ca ($r^2 = 0,748$) y Cd vs Ca ($r^2 = 0,838$). Lo que indica que probablemente a mayor concentración de Ca en la leche, mayor concentración de metales pesados. Por otro lado, no se observó correlación entre la concentración de los metales y los contenidos de proteína y grasas.

Discusión

Luego de realizar los análisis de las leches comercializadas en la ciudad de Guayaquil, se determinó que en las líquidas tanto pasteurizadas como ultrapasteurizadas, los niveles de metales pesados no fueron detectables. Por el contrario, se hallaron altas concentraciones de Cd y Pb en leches

Tabla 3. Análisis de correlación de Pearson entre el contenido de metales pesados en las leches en polvo y los contenidos de proteínas, carbohidratos, grasas, colesterol, calcio y sodio.

	Pb	Cd	Proteínas	Carbohidratos	Grasa total	Colesterol	Calcio	Sodio
Pb	1,000	0,989	-0,401	0,079	0,000	0,567	0,748	-0,824
Cd	0,989	1,000	-0,532	0,225	0,000	0,682	0,838	-0,731

Tabla 4.- Concentración máxima de Cd y Pb en ppm reportados para varios países y límites máximos permitidos (LMP) según el Codex Alimentarius, la Norma de la Unión Europea, la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012 y la Norma de Rumania.

País	Valor máximo reportado de Cd (ppm)	Valor máximo reportado de Pb (ppm)	Referencia
Ecuador	0,46	7,77	Presente trabajo
Egipto	0,11	0,960	Enb <i>et al.</i> , 2009
Italia	0,02	1,32	Licata <i>et al.</i> , 2004
México	0,29	0,74	Rodríguez <i>et al.</i> , 2005
Pakistán	0,06	0,058	Kazi <i>et al.</i> , 2009
LMP Codex Alimentarius	-	0,02	FAO y OMS, 2007
LMP NTE INEN 9:2012	-	0,02	NTE INEN 0009, 2012
LMP Unión Europea	-	0,02	González-Montaña, 2009
LMP Rumania	0,01	-	-

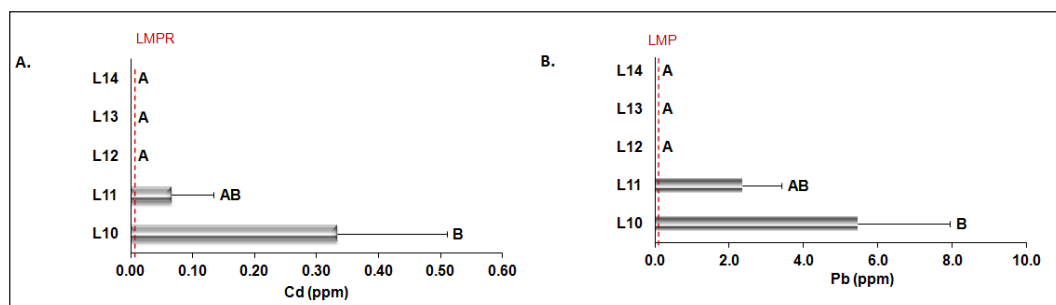


Figura 1. Valores de metales pesados en tres marcas de leche en polvo comercializadas en la ciudad de Guayaquil (L10, L11 y L12). A. Cd, B. Pb. Los resultados se muestran como medias±desviación estándar (n=3). Letras iguales señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias, según ANOVA de 1-vía ($p < 0.05$) y test de Tukey. LMP: límite máximo permitido según el Codex Alimentarius (FAO y OMS, 2007). LMPR: límite máximo permitido según la Norma de Rumania.

en polvo. Una posible explicación, es que en la leche líquida los metales se encuentran diluidos y a bajas concentraciones no logran ser detectados por el equipo. Otra posible explicación, es que las leches en polvo contienen aditivos tales como maltodextrina, azúcar, carbonato de calcio, pirofosfato de hierro y en algunos casos lecitina de soya, y de estos aditivos podría provenir la contaminación.

Por otro lado, en el análisis de correlación, no se observó una correspondencia entre los valores de metales y los de proteínas y lípidos, que según Magariños (2000) es a los que se unen los metales pesados en la leche. Este hecho podría apoyar la hipótesis de que la contaminación podría estar asociada a los aditivos químicos añadidos a las leches o podría proceder de los tanques de transporte de la leche, ya que pudieran presentar soldaduras con Pb. Al comparar los valores de metales pesados con las con los límites máximos permitidos para leche de bovino, en normas internacionales de la Unión Europea, Rumania, el Codex Alimentarius (OMS/FAO, 2007) y la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN

9:2012, se observó que el Pb y el Cd se encuentran muy por encima de los valores máximos permitidos. Los valores de Pb están 272 veces por encima del valor máximo permitido (0,02 ppm) para leche según el Codex alimentarius y la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012 y en el caso del Cd ni en el Codex Alimentarius ni en las normas ecuatorianas existe un límite máximo. Sin embargo, las Normas de Rumania si consideran un valor máximo para Cd en leche de 0,01 ppm, lo que implica que los niveles de este metal están 33 veces por encima del límite permitido. Esta situación pone en riesgo a los consumidores, en especial a los niños, que podrían ser más afectados. Se ha documentado que el Pb en los niños afecta al sistema nervioso central, generando una disminución de las funciones cognitivas, en la atención y genera impulsividad e hiperactividad (Lassiter *et al.*, 2015). Comparativamente, las concentraciones de metales halladas en leche, fueron muy superiores a las encontradas en otros países tales como Egipto, Italia, México y Pakistán (Tabla 4). Por lo que se recomienda realizar un estudio sobre el origen de la contaminación por Cd y Pb en la leche en Ecuador, i) analizando los

niveles de estos metales en el agua y alimento de las vacas, así como ii) realizar una inspección en los tanques de transporte de la leche, ya que pudieran presentar soldaduras con Pb, iii) realizar un análisis de metales a los aditivos de las leches en polvo iv) realizar monitoreos permanentes de los niveles de Pb y Cd en estiércol de ganado vacuno, fertilizantes, agroquímicos y aguas contaminadas, en relación con los suelos agrícolas y de pastoreo y, finalmente, v) hacer un estudio o seguimiento con datos estadísticos de la correlación de los consumidores de leche en polvo en Ecuador con las concentraciones de Pb y Cd en sus organismos versus las enfermedades relacionadas a las excesivas concentraciones de Pb y Cd.

Si bien las cantidades de Cd que se acumulan en el cuerpo humano son pequeñas, al ser su eliminación del organismo muy lenta, deben restringirse la ingesta diaria para no llegar a valores tóxicos que afecten la salud de los seres humanos (FAO/WHO, 2000). Ni en el *Codex Alimentarius* (FAO y OMS, 2007), ni en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012 existe un límite máximo para Cd. Dados los resultados obtenidos en el presente trabajo se sugiere a las autoridades de Salud generar un límite máximo para este metal pesado en leche en Ecuador.

Conclusiones

La concentración de metales pesados en leche líquida no fue detectable, pero los valores para leche en polvo, superan significativamente los límites máximos permisibles por las normas nacionales e internacionales, encontrándose valores superiores a los hallados en otros países.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Humberto Díaz y al Biól. Xavier Cornejo por la revisión del manuscrito y al Programa Prometeo de SENESCYT por el financiamiento de los reactivos.

Referencias

Åkesson, A. 2012. Cadmium Exposure in the Environment: Renal Effects and the Benchmark Dose. *Encyclopedia of Environmental Health*, 465-473.

Alais, C. 2003. *Ciencia de la Leche: principios de técnica lechera* (4ta Edición ed.). Barcelona: Editorial Reverté, S.A.

American Academy of Pediatrics Committee on Environmental Health. 1993. Lead poisoning: from screening to primary prevention. *Pediatrics*, 9(2), 176-183.

ATSDR. 2007. *Case studies in environmental medicine. Lead toxicity*. Atlanta: US Department of Health and Human Services.

Batuman, V., Maesaka, J., Haddad, B., Tepper, E., Landy, E., & Wedeen, R. 1981. The role of lead in gout nephropathy. *N Engl J Med*, 304, 520-523.

Counter, S., Buchanan, L., & Ortega, F. 2012. Association of hemoglobin levels and brainstem auditory evoked responses in lead-exposed children. *Clinical Biochemistry*, 45(15), 1197-1201.

D'Ilio, S., Petrucci, F., D'Amato, M., Di Gregorio, M., Senofonte, O., & Violante, N. 2008. Method validation for determination of arsenic, cadmium, chromium and lead in milk by means of dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 624(1), 59-67.

Enb, A., Donia, M., Abd-Rabou, N., Abou-Arab, A., & El Senaity, M. 2009. Chemical composition of raw milk and heavy metals behavior during processing of milk products. *Global Vet*, 3, 268-275.

FAO/WHO. 2000. Evaluation of certain food additives and contaminants (Fifty-fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 901, 2001. [2000, TRS 901-JECFA 55].

FAO y OMS. 2007. *Codex Alimentarius*. Roma.

Gallagher, C. & J. Meliker. 2010. Blood and Urine Cadmium, Blood Pressure, and Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Environ Health Perspect*, 118(12), 1676-1684.

González-Montaña, J. 2009. *Metales pesados en carne y leche y certificación para la Unión Europea (UE)*. Obtenido de Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias: file:///C:/Users/IIRN/Downloads/Dialnet-MetalesPesadosEnCarneYLecheYCertificacionParaLaUni-3238123%20(1).pdf

Henson, M., & Chedrese, P. 2004. Endocrine Disruption by Cadmium, a Common Environmental Toxicant with Paradoxical Effects on Reproduction. *Exp. Biol Med.*, 229, 383-392.

IIRN. 2014. *Informe técnico sobre concentraciones de Cd en agua, sedimento, alimentos y organismos*. Guayaquil.

Järup, L., & Alfvén, T. 2004. Low level cadmium exposure, renal and bone effects--the OSCAR study. *Biometals*, 17(5), 505-509.

Järup, L., Berglund, M., Elinder, C., Nordberg, G., & Vahter, M. 1998. Effects of cadmium exposure--a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health*, 24(1), 1-51.

Julin, B., Wolk, A., Johansson, J., Andersson, S., Andrén, O., & Akesson, A. 2012. Dietary cadmium exposure and prostate cancer incidence: a population-based prospective cohort study. *Br J Cancer*, 107(5), 895-900.

Kazi, T., Jalbani, N., Baig, J., Kandhro, G., Afridi, H. A., & Jamali, M. 2009. Assessment of toxic metals in raw and processed milk samples using electrothermal atomic absorption. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9), 2163-2169.

Lassiter, M. G., Owens, E. O., Patel, M. M., Kirrane, E., Madden, M., Richmond-Bryant, J., Dubois, J.-J. 2015. Cross-species coherence in effects and modes of action in support of causality determinations in the U.S. Environmental Protection Agency's integrated science assessment for lead. *Toxicology*. doi:10.1016/j.tox.2015.01.015

Licata, P., Trombetta, D., Cristani, M., Giofrè, F., Martino, D., Calò, M., & Naccari, F. 2004. Levels of "toxic" and "essential" metals in samples of bovine milk from various dairy farms in Calabria. *Environment International*, 30(1), 1-6.

Magariños, H. 2000. *Producción higiénica de la leche cruda*. Calzada Mateo, Guatemala: Producción y Servicios Incorporados S.A.

McElroy, J., Shafer, M., Trentham-Dietz, A., Hampton, J., & Newcomb, P. 2006. Cadmium exposure and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst*, 98(12), 869-873.

Mushak, P. 2011. Chapter 17 - Carcinogenic and Genotoxic Effects of Lead in Human Populations. *Trace Metals and other Contaminants in the Environment*, 10, 635-670.

Needleman, H., McFarland, C., Ness, R., Fienberg, S., & Tobin, M. 2002. Bone lead levels in adjudicated delinquents: A case control study. *Neurotoxicology and Teratology*, 24(6), 711-717.

OMS. 07 de Octubre de 2014. *Intoxicación por plomo y salud*. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs379/es/>

Pernía, B., De Sousa, A., Reyes, R., & Castrillo, M. 2008. Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. *Interciencia*, 33(2), 112-119.

Poma, P. 2008. Intoxicación por plomo en humanos. *An. Fac. med.*, 69(2), 120-126.

Rodríguez, H., Sánchez, E., Rodríguez, M., Vidales, J., Acuña, K., Martínez, G., & Rodríguez, J. C. 2005. *Metales pesados*

en leche cruda de bovino. Obtenido de Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición: <http://www.respyn.uanl.mx/vi/4/articulos/metales.html>

Schwartz, G., IL'Yasova, D., & Ivanova, A. 2013. Urinary cadmium, impaired fasting glucose, and diabetes in the NHANES III. *Diabetes Care*, 26(2), 468-470.

WHO. 2010. *Preventing disease through healthy environments exposure to cadmium: a major public health concern*. Obtenido de <http://www.who.int/entity/ipcs/features/cadmium.pdf>.

Evaluación del efecto de la salinidad y concentración de nitrógeno en la producción de lípidos totales de *Dunaliella* sp.

Assesment of the effect of salinity and nitrogen concentration in the
total lipids production of *Dunaliella* sp.

Shirley Moncayo Baño

Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Laboratorio de Biotecnología.
Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo (Campus Mapasingue)

Recibido 5 de agosto 2014; recibido en forma revisada 16 de septiembre 2014, aceptado 6 de noviembre 2014
Disponible en línea 5 de enero 2015

Resumen

La capacidad de la microalga *Dunaliella* de incrementar su contenido lipídico bajo condiciones de estrés impuestas por estímulos físicos o químicos, la convierte en uno de los géneros más estudiados para la producción de lípidos. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de diferentes concentraciones de NaCl (0,1 M y 2 M) y nitrógeno (2mM y 20 mM) en relación con un medio control (NaCl 0,5 M y 10 mM NO₃⁻) en la producción de lípidos de una cepa nativa de *Dunaliella* sp. Las mayores densidades celulares se obtuvieron con la salinidad 0,5 M (2,7 ± 0,15 x10⁷ cel/mL) y con la concentración de nitrógeno 20 mM (3,29 ± 0,21 x 10⁷ cel/mL). El mayor porcentaje de lípidos por gramo de biomasa (13,99%) y por litro de cultivo (7,83%) entre los tratamientos de salinidad se alcanzaron con 2 M NaCl. Entre los tratamientos de nitrógeno, el mayor porcentaje de lípidos por gramo de biomasa (16,88%) y por litro de cultivo (8,10%) se alcanzaron con 20 mM NO₃⁻. Los resultados sugieren que las altas salinidades y concentraciones de nitrógeno influyeron en la producción de lípidos de *Dunaliella* sp.

Palabras claves: *Dunaliella*, lípidos, nitrógeno, salinidad.

Abstract

The ability of *Dunaliella* to increase the lipid content under stress conditions imposed by physical or chemical stimuli, makes it one of the most studied genera for lipid production. The aim of this study was to establish the influence of different concentrations of sodium chloride (0,1 M and 2 M) and nitrogen (2 mM and 20 mM) in relation to a control medium (0,5 M NaCl and 10 mM NO₃⁻) in the production of total lipids from a native strain of *Dunaliella* sp. The highest cellular density was obtained with the salinity 0,5 M (2,7 ± 0,15 x10⁷ cel/mL) and the nitrogen concentration 20 mM (3,29 ± 0,21 x 10⁷ cel/mL). The high lipid per gram of biomass (13,99%) and liter of culture (7,83%) among salinity treatments were obtained with the molarity 2 M NaCl. Among nitrogen treatments, the highest lipids per gram of biomass (16,88%) and per liter of culture (8,10%) were reached in 20 mM NO₃⁻. The obtained results suggest that the high salinities and nitrogen concentrations influence the lipid production of *Dunaliella* sp.

Keywords: *Dunaliella*, lipids, nitrogen, salinity.

Introducción

Las microalgas son organismos unicelulares fotosintéticos que están constituidas por diversos componentes químicos, entre los que se encuentran los carotenoides, ficobilinas, proteínas, lípidos, polisacáridos, vitaminas, minerales, esteroides y otros compuestos biológicamente activos (Fimbres, 2010). Los lípidos han recibido una creciente atención, puesto que algunas microalgas sintetizan ácidos grasos apropiados para la producción de biodiesel (Alvear et

al., 2011) y ácidos grasos poli-insaturados como el ácido araquidónico (AA,20:4ω-6), eicosapentaenoico (EPA, 20:5ω-3), docosahexaenoico (DHA,20:6ω-3), entre otros, los cuales se consideran importantes en la dieta y salud de animales y humanos (López et al., 1998).

La producción de lípidos a partir de cultivos de microalgas presenta una serie de ventajas sobre otras fuentes vegetales oleaginosas tradicionales. Sus

* Correspondencia del autor:
E-mail: shirmoncayob@hotmail.com



cultivos pueden utilizar terrenos estériles, requieren menores cantidades de agua y son flexibles ante el tipo y la calidad de ésta, por lo que prosperan convenientemente en aguas marinas, dulces, salobres y residuales. No necesitan herbicidas o pesticidas químicos (Garibay et al., 2009). La producción de aceites de microalgas por hectárea de cultivo (136 900 Litros/Ha) (Alvear et al, 2010), supera a los obtenidos de cultivos tradicionales de plantas oleaginosas convirtiéndose en una alternativa a los requerimientos de aceites necesarios para la producción de biocombustibles.

Uno de los géneros de microalgas más investigados es *Dunaliella*, una microalga clorofícea halotolerante, cuyo contenido de lípidos pueden constituir entre el 6 al 28% del peso seco celular según las condiciones del hábitat (Mohapatra, 2006). *Dunaliella* presenta características que facilitan su cultivo. Su crecimiento óptimo en altas concentraciones de salinidad impide la contaminación de los cultivos con microorganismos predadores y competidores como bacterias, hongos y otras especies de microalgas (Ben-Amotz et al., 1991). Además se puede utilizar para su cultivo agua de mar evitando la competencia por el agua dulce (Sánchez, 2000).

El estudio de cepas nativas de microalgas es importante, pues están mejor adaptadas a condiciones climáticas locales como temperatura, luminosidad y salinidad, facilitando su cultivo a gran escala, disminuyendo así los costos de producción. Además poseen resistencia a microorganismos regionales lo que permite que los cultivos posean una mayor tolerancia a la contaminación.

La presente investigación tiene como finalidad aportar con estudios sobre el potencial biotecnológico de una cepa nativa de *Dunaliella* en la producción de lípidos y determinar si las concentraciones de nitrógeno y la salinidad influyen en el contenido lipídico celular, haciéndola una fuente viable de materia prima para la industria.

Materiales y Métodos

Área de Estudio

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil.

Material Biológico

Se utilizó la cepa UGB-SE-3001 de *Dunaliella* sp. (Fig. 1) aislada de una piscina de Ecuatoriana de Sal y Productos Químicos C. A. (ECUASAL) de Monteverde en la provincia de Santa Elena y que pertenece a la colección de cepas microalgales del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil

Condiciones Generales de Cultivo

Los cultivos fueron de tipo discontinuo, a una temperatura de 25 °C ± 2 °C, pH 7,5, con una agitación

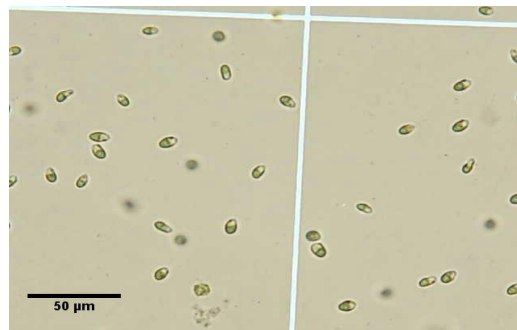


Figura 1. *Dunaliella* sp. vista al microscopio óptico aumento 40X.

por aireación constante y una intensidad lumínica bilateral de 285 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, generada por lámparas fluorescentes de luz blanca y con un fotoperiodo 12:12 luz: oscuridad.

Medio de Cultivo

Se utilizó como control el medio Johnson (Johnson, 1968) con una concentración de cloruro de sodio 0,5 M y 10 mM de nitrato de potasio como fuente de nitrógeno. La salinidad fue elegida por resultar óptima para el crecimiento de *Dunaliella* sp. en estudios previos (García y Moncayo, 2013). La concentración de nitrato (10mM) utilizada corresponde a la molaridad de nitrato de potasio del medio Johnson original. A partir de este medio control se eligieron dos valores por encima y debajo del control. Para los ensayos de salinidad se utilizaron las concentraciones de Cloruro de Sodio (NaCl) 0,1 M y 2,0 M con una concentración de nitrato de potasio (KNO_3) 10 mM (1,0 g/L). Para los ensayos de nitrógeno se utilizaron las concentraciones de KNO_3 2 mM (0,2 g/L) y 20 mM (2,0 g/L) con una salinidad de 0,5 M de cloruro de sodio. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Caracterización fisiológica de los cultivos

Crecimiento

Se cultivó *Dunaliella* sp. en botellas de vidrio de 500 mL de capacidad con 250 mL de medio de cultivo Johnson modificado a cada variable a evaluar por triplicado, inoculadas con $5,0 \times 10^5$ cel/mL, en las condiciones previamente explicadas.

La densidad celular se estimó cada 48 horas por conteo celular usando una cámara de Neubauer. La velocidad de crecimiento (μ) y tiempo de duplicación (td) se estimaron en la fase exponencial de los cultivos utilizando las siguientes fórmulas (Becker, 1994):

$$\mu = (\text{Ln } X_1 - \text{Ln } X_0) / (t_1 - t_0),$$

donde t_1 , t_0 corresponden al tiempo final e inicial de la fase exponencial y X_1 , X_0 corresponde a la densidad celular final e inicial de la fase exponencial

$$t_d = \text{Ln } 2 / \mu, \text{ donde Ln } 2 = \text{Logaritmo natural de } 2.$$

Producción, cosecha y secado de biomasa

Se realizaron cultivos de 4000 mL de *Dunaliella* sp. en botellones plásticos transparentes, bajo las mismas condiciones utilizadas en los ensayos de crecimiento. La biomasa se cosechó mediante centrifugación luego de 40 días de cultivo, excepto los tratamientos 0,1 M de NaCl y 2 mM de KNO₃ que se cosecharon a los 10 días y a los 33 días respectivamente debido a que presentaron fase de muerte celular. La biomasa se lavó con una solución de NaCl al 1% (Takagi et al., 2006) y se secó en estufa a 60°C. La concentración y productividad de la biomasa seca obtenida se determinó mediante las siguientes ecuaciones. (Alvear et al., 2011).

$$CB = \frac{PB}{V_{cultivo}}$$

Donde: CB= Concentración de biomasa (mg/L), PB= Peso biomasa seca (mg) y V =Volumen del cultivo (L)

$$PB = \frac{CB}{t_{cultivo}}$$

Donde: PB= Productividad de biomasa (mg/L.día), CB= Concentración de biomasa (mg/L), t_{cultivo} = Días de cultivo

Extracción y productividad de lípidos

Los lípidos totales fueron extraídos empleando el método modificado de Bligh & Dyer (1959) por triplicado, utilizando metanol, cloroformo y agua como solventes en una relación 2:2:1. La fase orgánica formada por los lípidos extraídos se cuantificó gravimétricamente y se expresó en miligramos. Posteriormente se determinó la cantidad de lípidos producidos por célula expresada en picogramos (pg), el porcentaje de lípidos obtenido por litro de cultivo y por gramo de biomasa y la productividad de los lípidos mediante la siguiente fórmula (Alvear et al. 2011).

$$PL = \frac{LT}{V_{cultivo} \times T_{cultivo}}$$

Donde:

PL= Productividad de lípidos (mg/L.día), LT= Lípidos totales (mg), V_{cultivo}= Volumen del cultivo para muestra Bligh & Dyer (L), t_{cultivo} = Días de cultivo

Análisis estadístico

Para determinar diferencias significativas entre tratamientos se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía y el test de comparaciones múltiples de Tukey con un rango de significancia de 95%.

Resultados

Crecimiento

Cinéticas de crecimiento: variables de salinidad

El mayor crecimiento de *Dunaliella* sp. la produjo la concentración control (0,5 M) con una densidad celular máxima de 2,7 ± 0,15 x10⁷ cel/mL, seguida

de la concentración 2 M, con una densidad celular máxima de 1,5 ± 0,21 x10⁷ cel/mL. El crecimiento de *Dunaliella* sp. en la concentración salina 0,1 M fue casi nulo, alcanzando una densidad celular máxima de 0,19 ± 0,03 x 10⁷ cel/mL (Fig. 2).

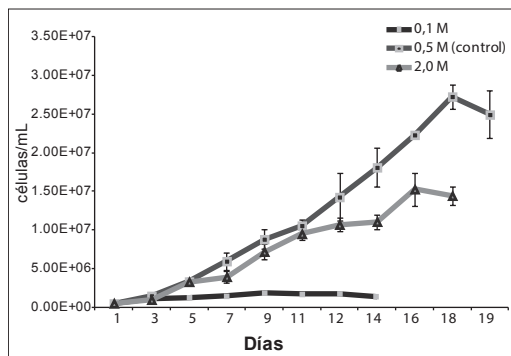


Figura 2. Crecimiento de *Dunaliella* sp. en diferentes concentraciones de cloruro de sodio

Los parámetros de crecimiento obtenidos en la fase exponencial de los cultivos evaluados a diferentes salinidades determinaron que la menor velocidad de crecimiento (0,17 ± 0,01 div/día) y el mayor tiempo de duplicación (4,15 ± 0,46 días) fueron conseguidos por el tratamiento 0,1 M de NaCl. La mayor velocidad de crecimiento (0,24 ± 0,003 div/día) y el menor tiempo de duplicación (2,94 ± 0,04 días) se alcanzaron con el tratamiento 0,5 M (p<0.05) (Tabla 1).

Estadísticamente se encontraron diferencias significativas solo entre las salinidades 0,1 M y el medio control 0,5 M (p<0.05).

Tabla 1. Velocidades de crecimiento (μ) y tiempos de duplicación (td) de *Dunaliella* sp. en diferentes concentraciones de cloruro de sodio. (p<0,05)

Tratamiento	μ (div/día)	td (días)
0,1 M	0,17 ± 0,01 ^a	4,15 ± 0,46 ^a
0,5 M	0,24 ± 0,003 ^b	2,94 ± 0,04 ^b
2,0 M	0,23 ± 0,009 ^b	3,04 ± 0,12 ^b

Cinéticas de crecimiento: variables de nitrato

Los cultivos presentaron un crecimiento inicial homogéneo los primeros días de cinética. El cultivo con el tratamiento 2 mM de nitrato presentó la menor densidad celular obteniendo una máxima de 1,57 ± 0,27 x10⁷ cel/mL. El tratamiento control (10 mM) alcanzó una densidad celular máxima de 2,7 ± 0,15 x10⁷ cel/mL. A diferencia de los cultivos anteriores, el cultivo evaluado en la concentración de KNO₃ 20 mM no presentó fase de muerte celular, y su fase exponencial continuó hasta alcanzar la densidad celular de 3,29 ± 0,21 x 10⁷ cel/mL (Fig. 3).

La máxima velocidad de crecimiento (0,24 ± 0,003 div/día) y el menor tiempo de duplicación (2,94 ±

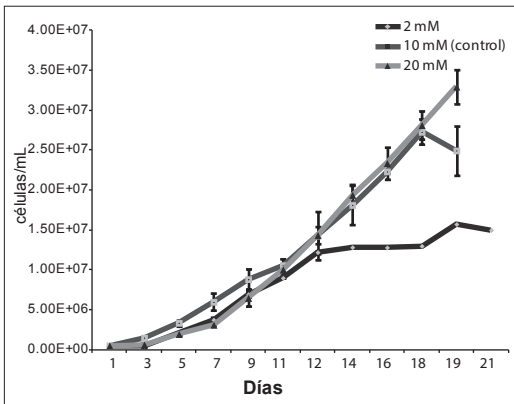


Figura 3. Crecimiento de *Dunaliella* sp. en diferente concentraciones de nitrato de potasio

0,04 días) se alcanzaron con el tratamiento control y la menor velocidad de crecimiento ($0,19 \pm 0,01$ div/día) y el mayor tiempo de duplicación ($3,62 \pm 0,20$ días) se consiguió con el tratamiento 2 mM de KNO_3 ($p < 0,05$) (Tabla 2).

Tabla 2. Velocidades de crecimiento (μ) y tiempos de duplicación (td) de *Dunaliella* sp. en diferentes concentraciones de nitrato de potasio.

Tratamiento	μ (div/día)	td (días)
2 mM	$0,19 \pm 0,01^a$	$3,62 \pm 0,20^a$
10 mM	$0,24 \pm 0,003^b$	$2,94 \pm 0,04^b$
20 mM	$0,22 \pm 0,004^b$	$2,98 \pm 0,04^b$

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre las densidades celulares y las velocidades de crecimiento alcanzadas con el tratamiento 2 mM y los demás tratamientos ($p < 0,05$). El crecimiento de *Dunaliella* sp. con los tratamientos 10 y 20 mM fue estadísticamente igual.

Caracterización de biomasa

Variables de salinidad

La mayor concentración de biomasa seca obtenida de los cultivos de *Dunaliella* sp. en diferentes salinidades de NaCl se obtuvo en el tratamiento 2 M con $560,07 \pm 128,6$ mg/L y la menor concentración ($198,78 \pm 25,10$ mg/L) se consiguió con el tratamiento 0,1 M. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de biomasa obtenidas en los tratamientos evaluados ($p > 0,05$) (Tabla 3, Fig.4).

Variables de nitrato

El tratamiento 10 mM produjo la mayor concentración de biomasa con $532,62 \pm 134,05$ mg/L y la menor concentración con el tratamiento de KNO_3 20 mM con $482,56 \pm 96,94$ mg/L. Estadísticamente no se

Tabla 3. Concentración y productividad de biomasa seca y duración de los cultivos de *Dunaliella* sp. en concentraciones de cloruro de sodio.

Tratamiento	Concentración de biomasa (mg/L)	Productividad de biomasa (mg/L.día)	Días de cultivo
0,1 M	$198,78 \pm 25,10^a$	$22,08 \pm 2,51^b$	10
0,5 M	$532,62 \pm 134,05^a$	$13,32 \pm 6,70^b$	40
2,0 M	$560,37 \pm 128,6^a$	$14,01 \pm 3,21^b$	40

encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de biomasa en los tratamientos evaluados ($p > 0,05$) (Tabla 4, Fig.4).

Tabla 4. Concentración y productividad de biomasa seca y duración de los cultivos de *Dunaliella* sp. en concentraciones de nitrato de potasio.

Tratamiento	Concentración de biomasa (mg/L)	Productividad de biomasa (mg/L.día)	Días de cultivo
2mM	$500,07 \pm 15,41^a$	$15,15 \pm 0,46^b$	33
10 mM	$532,62 \pm 134,05^a$	$13,32 \pm 6,70^b$	40
20mM	$482,56 \pm 96,94^a$	$12,06 \pm 2,42^b$	40

Productividad de biomasa

El tratamiento 0,1 M NaCl obtuvo la mayor productividad de biomasa entre tratamientos de salinidad ($22,08 \pm 2,51$ mg/L.día) (Tabla 3) y el tratamiento 2 mM obtuvo la mayor productividad entre los cultivos a diferentes concentraciones de nitrato ($15,15 \pm 0,46$ mg/L. día) (Tabla 4). Las pruebas estadísticas no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados ($p > 0,05$).

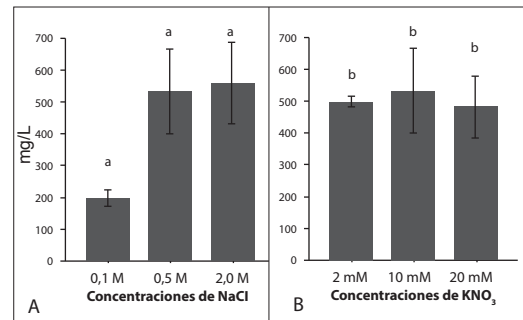


Figura 4. Concentraciones de biomasa seca obtenidas de *Dunaliella* sp. cultivadas en diferentes concentraciones de (A) cloruro de sodio y (B) nitrato de potasio ($p > 0,05$) $n=3$.

Caracterización de Lípidos

Variables de salinidad

Las concentraciones de NaCl influyeron en la producción de lípidos de *Dunaliella* sp., observándose

un incremento del porcentaje lipídico al aumentar la salinidad de los cultivos. La concentración salina que produjo el mayor porcentaje de lípidos por gramo de biomasa ($13,93 \pm 0,96\%$) y por Litro de cultivo ($7,83 \pm 0,54\%$) fue 2,0 M, presentando valores estadísticamente iguales ($p > 0,05$) con el tratamiento control 10 mM el cual obtuvo $13,46 \pm 1,04\%$ por gramo de biomasa y $7,22 \pm 0,55\%$ por litro de cultivo. El tratamiento 0,1 M presentó el menor porcentaje de lípidos por gramo de biomasa ($4,73 \pm 0,21\%$) y por litro de cultivo ($0,93 \pm 0,04\%$) siendo diferente estadísticamente con los otros tratamientos ($p < 0,05$). (Fig.5).

La producción de lípidos por célula estuvo en un rango de entre $6,68 \pm 0,30$ pg (0,1 M) y $5,58 \pm 0,39$ pg (2,0 M) (Tabla 5) presentándose similitudes entre los tratamientos evaluados ($p > 0,05$). La mejor productividad de lípidos se obtuvo con el tratamiento 2,0 M ($1,96 \pm 0,14$ mg/L.día) el cual resultó estadísticamente similar ($p > 0,05$) a la productividad alcanzada con la salinidad 0,5 M ($1,80 \pm 0,14$ mg/L. día). La concentración 0,1 M alcanzó la menor productividad con $0,94 \pm 0,04$ mg/L.día siendo diferente estadísticamente con los otros tratamientos ($p < 0,05$) (Tabla 5).

Variables de nitrógeno

La mayor concentración de nitratos evaluada (20 mM) promovió un incremento en la producción de lípidos en *Dunaliella* sp. reportando un porcentaje lipídico de $16,88 \pm 0,47\%$ por gramo de biomasa y un $8,10 \pm 0,22\%$ por Litro de cultivo, siendo significativamente superior a los demás tratamientos ($p < 0,05$). El menor porcentaje de lípidos por gramo de biomasa ($13,46 \pm 1,04\%$) se obtuvo con el tratamiento control 10 mM, el cual tuvo un porcentaje de lípidos similar ($p > 0,05$) al tratamiento 2 mM ($14,22 \pm 0,61\%$). Esta molaridad obtuvo el menor porcentaje de lípidos por litro de cultivo entre los tratamientos evaluados ($7,13 \pm 0,30\%$) (Fig.5).

La mayor cantidad de lípidos producidos por célula ($8,79 \pm 0,38$ pg) se obtuvo con el tratamiento deficiente de nitrógeno 2 mM siendo significativamente superior a los demás tratamientos ($p < 0,05$) (Tabla 6). La mejor productividad lipídica ($2,17$ mg/L.día) la presentó el cultivo con la molaridad 2 mM siendo estadísticamente diferente ($p < 0,05$) solo con la productividad alcanzada con la molaridad 10 mM ($1,80 \pm 0,14$ mg/L.día) (Tabla 6).

Conclusiones

Crecimiento

Influencia de la salinidad

Los parámetros de crecimiento muestran que la salinidad influye en el crecimiento celular de los cultivos de *Dunaliella* sp. La baja salinidad del cultivo 0.1 M de NaCl inhibió el crecimiento celular, comportamiento que pudo deberse a que la cepa estudiada está adaptada a las altas concentraciones de NaCl de las salinas donde fue aislada. Se produjo una decoloración de este cultivo, tornándose amarillento, este comportamiento también ha sido observado en otras microalgas como respuesta a condiciones de estrés (Becker, 1994).

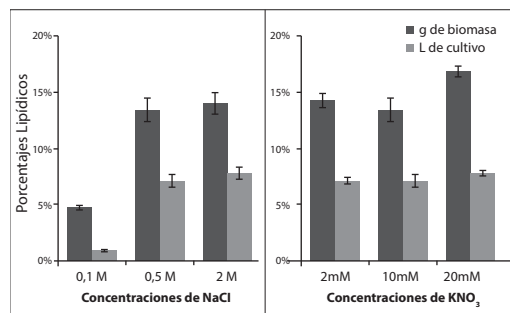


Figura 5. Porcentajes lipídicos presentados por *Dunaliella* sp. cultivada en distintas concentraciones de (A) cloruro de sodio y (B) nitrato de potasio, n=3.

Tabla 5. Caracterización de lípidos en los cultivos de *Dunaliella* sp. en concentraciones de cloruro de sodio ($p < 0,05$) n=3.

Tratamiento	Lípidos por g de biomasa (mg)	Lípidos por L de cultivo (mg)	Productividad de lípidos (mg/L.día)	Lípidos por célula (pg*)
0,1 M	$47,3 \pm 2,12^a$	$9,40 \pm 0,42^a$	$0,94 \pm 0,04^a$	$6,68 \pm 0,30^b$
0,5 M	$134,6 \pm 10,48^b$	$72,23 \pm 5,58^b$	$1,80 \pm 0,14^b$	$6,39 \pm 0,50^b$
2,0 M	$139,9 \pm 9,6^b$	$78,41 \pm 5,41^b$	$1,96 \pm 0,14^b$	$5,58 \pm 0,39^b$

*1 pg = 1×10^{-9} mg

Tabla 6. Caracterización de lípidos en los cultivos de *Dunaliella* sp. en las concentraciones de nitrato de potasio evaluadas ($p < 0,05$).

Tratamiento	Lípidos por g de biomasa (mg)	Lípidos por L de cultivo (mg)	Productividad de lípidos (mg/L.día)	Lípidos por célula (pg*)
2 mM	$142,2 \pm 6,10^a$	$71,39 \pm 3,05^a$	$2,17 \pm 0,09^{**}$	$8,79 \pm 0,38^a$
10 mM	$134,6 \pm 10,48^a$	$72,23 \pm 5,58^a$	$1,80 \pm 0,14^{**}$	$6,39 \pm 0,50^b$
20 mM	$168,8 \pm 4,75^b$	$81,45 \pm 2,29^b$	$2,03 \pm 0,06^a$	$7,44 \pm 0,20^b$

*1 pg = 1×10^{-9} mg

^a estadísticamente diferentes

La mayor densidad celular de los cultivos de *Dunaliella* sp. se registró a 0,5 M, sin embargo, disminuyó cuando la salinidad aumentó a 2,0 M. Este comportamiento se compara con el observado por Takagi et al. (2006) donde la concentración celular decreció al aumentar la concentración salina de 1 M a 2 M, decrecimiento que no se observó en concentraciones de NaCl menores a 1 M, como los evaluados en la presente investigación 0,1 M y 0,5 M.

El aumento de salinidad produce una disminución en el crecimiento celular debido a que la elevada salinidad incrementa en *Dunaliella* la producción de solutos (especialmente glicerol) necesarios para su osmorregulación, lo que limita su energía para su crecimiento (Serpa y Calderón, 2005).

A pesar de las diferencias mostradas entre las densidades celulares de los tratamientos 0,5 M y 2 M, la velocidad de crecimiento entre ellos fue similar, demostrando que el rango de crecimiento de la cepa de *Dunaliella* sp. evaluada se encuentra entre estas salinidades.

Influencia del nitrógeno

La concentración de nitratos limita el crecimiento de *Dunaliella* sp. e influencia la duración de los cultivos. Las cinéticas mostraron un crecimiento constante y ascendente al inicio de los cultivos, pero a medida que el nitrógeno se asimiló, el crecimiento celular decreció. El cultivo 2 mM de KNO_3 por su baja concentración de nitrógeno fue el primero en entrar en fase de latencia y muerte celular. Los ensayos 10 mM y 20 mM continuaron su crecimiento exponencial con una densidad celular similar hasta el agotamiento del nitrógeno del medio 10mM. El crecimiento continuo del cultivo 20 mM podría deberse a la suficiencia de nitrógeno del medio. El crecimiento de *Dunaliella* sp. en la presente investigación se compara con el de Weldy y Huesemann (2007) que reportaron crecimientos semejantes en los cultivos de *Dunaliella* salina a molaridades 2 mM y 20 mM de nitratos en los primeros días de cinética seguido de un decrecimiento celular del cultivo a 2 mM y un incremento celular continuo en el cultivo 20 mM.

La similitud en las velocidades de crecimiento entre las concentraciones 10 mM y 20 mM puede deberse a que las microalgas utilizan la cantidad de nutrientes necesaria para su crecimiento independientemente de la cantidad de nutrientes del medio (Bermúdez et al., 2004).

Producción de biomasa

A pesar de que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, la concentración 0,1 M de NaCl no es la recomendada para la producción de biomasa debido a la baja calidad de biomasa (despigmentación) y menor concentración alcanzada. La concentración 2 M produjo la mayor concentración de biomasa. Este resultado concuerda con lo reportado por Hounslow en 2010 que obtuvo una concentración de biomasa

de 540 mg/L similar a los 560 mg/L de la presente investigación.

La cantidad de biomasa obtenida de las distintas concentraciones de nitrato no presentó diferencias entre tratamientos, apenas un ligero incremento con el tratamiento control 10 mM. A pesar de que el cultivo con una concentración 20 mM obtuvo una mayor densidad celular, su concentración de biomasa fue la menor entre tratamientos, probablemente porque la energía se canaliza hacia la reproducción y no a la acumulación de productos bioactivos.

El medio con deficiencia de nitrógeno 2 mM produjo una concentración mayor de biomasa que el tratamiento con suficiencia de nitrógeno 20 mM, a pesar de presentar una menor densidad celular. Esto pudo deberse a que *Dunaliella* tiende a producir compuestos que protegen su integridad celular al encontrarse en condiciones de estrés de nutrientes.

La productividad de biomasa está relacionada inversamente con el tiempo de cultivo. Así se observa que los ensayos que tuvieron menor duración obtuvieron las mayores productividades. Sin embargo, hay que tomar en cuenta otros factores como calidad de biomasa y mayor producción celular que justifiquen la masificación de dichos cultivos.

Producción de lípidos

Influencia de la salinidad

Los resultados de la presente investigación muestran que *Dunaliella* sp. incrementó el contenido de lípidos al aumentar la salinidad de 0,1 M a 0,5 M; sin embargo, la producción lipídica es similar entre las salinidades de 0,5 M y 2 M. Este comportamiento pudo deberse a que ambas salinidades resultaron idóneas para el crecimiento celular de la cepa estudiada, no generándose ninguna condición de estrés que pudiera ocasionar un incremento significativo en la producción de lípidos. Esta similitud concuerda con los resultados de Hounslow (2010), que reportó solo un 3% de diferencia entre los lípidos producidos en ambas salinidades. De igual forma, la cantidad de lípidos por célula reportados por Hounslow en la salinidad 2,0 M (5,64 pg) resultaron similares a los de la presente investigación (5,58 ± 0,39 pg).

El aumento en el porcentaje de lípidos debido a un incremento de salinidad concuerda con autores como Abd El-Baky et al. (2004), Takagi et al. (2006) y Hounslow (2010), sin embargo, los porcentajes obtenidos en sus investigaciones fueron mayores que los encontrados en la presente investigación debido quizás a que las especies de *Dunaliella* evaluadas por ellos fueron *D. salina* y *D. tertiolecta*, que han reportado porcentajes de lípidos por encima del 25%. La baja salinidad de la concentración 0,1 M, provoca un descenso significativo en la productividad de lípidos en los cultivos, sin embargo, produce un aumento en la cantidad de lípidos a nivel celular, debiéndose tal vez a un modo de autoprotección de la célula frente a la condición de estrés. La caracterización de lípidos

en el presente estudio determinó que la concentración salina 2,0 M resulta ideal para la producción de lípidos entre las concentraciones salinas evaluadas, ya que, además de alcanzar los mayores porcentajes de lípidos tanto por peso seco de biomasa evaluada y por volumen de cultivo, tiene la ventaja de que evitaría la contaminación de los cultivos por su elevada salinidad.

Influencia del nitrógeno

Los resultados indican que la concentración de nitrógeno en los cultivos de *Dunaliella* sp. no influyeron de manera significativa en la producción de lípidos entre los tratamientos 2 mM y 10 mM (las menores evaluadas) observándose diferencias entre estas molaridades y el tratamiento 20 mM.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Gordillo et al. (1998) donde no se encontraron diferencias en la cantidad de lípidos totales producidos por *Dunaliella viridis* en las bajas molaridades de nitrato por él evaluadas (0,5 mM y 5 mM). Además, reporta una producción de lípidos a nivel celular (1,83 pg - 2,58 pg) menor que la del presente trabajo (6,39 pg - 8,79 pg) debido a que sus cultivos se mantuvieron en luminosidad constante, la cual causa, según Gordillo (op. cit.), una fotoinhibición celular que produce una baja producción lipídica.

Weldy y Huesemann (2007) y Abd El-Baky et al. (2004) reportaron mayores porcentajes de lípidos en cultivos de *Dunaliella* con bajas concentraciones de nitratos, en comparación con cultivos con suficiencia de nitrógeno, lo que no coincide con la presente investigación, donde se consiguió un mayor porcentaje de lípidos con la mayor concentración evaluada (20 mM), aunque en el trabajo de Weldy y Huesemann (2007), esta molaridad produjo las mayores productividades lipídicas (mg/L. día) debido a las altas concentraciones de biomasa que provocan la suficiencia de nitrógeno en el medio, situación que pudo influenciar en los altos porcentajes de lípidos en los cultivos con dicha concentración en la presente investigación. La deficiencia de nitrógeno del medio 2 mM originó un incremento significativo en la cantidad de lípidos por célula, incremento que no se refleja en los porcentajes lipídicos generales pero sí en la productividad de lípidos.

Generalmente, la disminución del nitrógeno en los cultivos promueve la acumulación de lípidos pero provoca una baja producción de biomasa. De igual forma, la mayor concentración de nitrógeno origina un mayor crecimiento celular pero genera menores cantidades de lípidos por célula. Por lo anterior expuesto, a nivel de producción, las altas concentraciones de nitrato producirían mayores cantidades de lípidos, debido que originan una mayor densidad celular y por consecuencia, altas concentraciones de biomasa. Así, la concentración 10 mM de nitratos sería la adecuada para la producción de lípidos pues promovió una concentración de biomasa mayor y su porcentaje lipídico fue solo un

2% menor que la concentración 20 mM que produjo la mayor cantidad de lípidos.

Recomendaciones

Investigar el crecimiento y productividad de lípidos de *Dunaliella* sp. en otras concentraciones de cloruro de sodio y de nitratos a fin de buscar la combinación que resulte óptima para la producción de lípidos.

Identificar la composición de los lípidos obtenidos de *Dunaliella* sp. para determinar su aplicación en la producción de biocombustibles o en la industria alimenticia como fuente de ácidos grasos esenciales.

Analizar nuevas técnicas de extracción de lípidos para probar su eficiencia.

Evaluar distintas microalgas nativas para establecer su contenido de lípidos.

Referencias

- Abd El-Baky, H., K. F. El-Baz & S. G. El-Baroty. 2004. Production of Lipids Rich in Omega 3 Fatty Acids from the Halotolerant Alga *Dunaliella salina*. *Biotechnology* 3 (1):102-108. DOI: 10.3923/biotech.2004.102.108
- Alvear, M., C. Castillo, & D. Henao. 2010. Obtención y comparación de los aceites obtenidos de las microalgas *Dunaliella salina* y *Chlorella nativa* como materia prima para la producción de biodiesel. *World Congress & Exhibition Engineering*. Argentina
- , ----- & -----, 2011. Evaluación del Ph y concentración de nitrógeno en el cultivo de las microalgas *Dunaliella salina* y *Chlorella nativa* como fuente de aceite vegetal para la producción de biodiesel. Tesis de grado para la obtención del título Ingeniero Químico. Universidad de Cartagena. Colombia
- Becker, E.W. 1994. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ben-Amotz, A., A. Shaish, & M. Avron. 1991. The biotechnology of cultivating *Dunaliella* for production of b-carotene rich algae. *Bioresource Technology* 38 (2-3): 233-235
- Bermúdez, J., N. Rosales, C. Loreto, B. Briceño & E. Morales. 2004. Exopolysaccharide, pigment and protein production by the marine microalga *Chroomonas* sp. in semicontinuous cultures. *World journal of microbiology & biotechnology*, 20: 179-183.
- Bligh, E. G. & W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Journal Biochemical Physiology*. 37 (8): 911-917.
- Fimbres, D., L. Mercado, A. Murguía, L. López. 2010. Crecimiento y biomasa de *Dunaliella* sp. cultivada en medios limitantes en nitrógeno. *BIOTecnica*, 11(3): 58-66.
- García, L. & S. Moncayo. 2013. Aislamiento de *Dunaliella* sp. proveniente de las salinas de ECUASAL y caracterización de sus carotenoides por espectrofotometría. Informe no publicado. Laboratorio de Biotecnología. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil.
- Garibay, A., R. Vázquez-Duhalt, M. Sánchez, L. Serrano, & A. Martínez. 2009. Biodiesel a partir de microalgas. *BioTecnología* 2009,13(3):38-61. http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Biodiesel.pdf
- Gordillo, F., M. Goutx, F. Figueroa & F. X. Niell. 1998. Effects of light intensity, CO₂ and nitrogen supply on lipid class composition of *Dunaliella viridis*. *Journal of Applied Phycology* 10 (2): 135-144
- Hounslow, E. 2010. Optimum salinity conditions for producing

- lipids from *Dunaliella salina* for biofuels production. Energy Futures DTC. University of Sheffield. 8pp. http://efutures.group.shef.ac.uk/publications/pdf/44_13.%20Emily%20Hounslow%20P.pdf
- Johnson, M., E. Johnson, R. Mac Elroy, H. Speer & B. Bruff. 1968. Effects of salts on the halophilic alga *Dunaliella viridis*. *Journal Bacteriology*. 95 (4):1461- 1468.
- López, D., J. Belarbi, C. Segura & A. Giménez. 1998. Acyl lipids of three microalgae. *Phytochemistry*, 47 (8):1473-1481.
- Mohapatra, P. 2006. Biotechnological approaches to microalga culture. *Textbook of environmental biotechnology*. IK International Publishing House Pvt. Ltd. New Delhi, India. pp. 167-200.
- Sánchez-Varo, R.M. 2000. Producción de carotenos por *Dunaliella salina*. *Biología de microalgas*. Monografía. Universidad de Málaga, España. 36 p.
- Serpa, R. & A. Calderón. 2005. Efecto del estrés por salinidad en cuatro cepas de *Dunaliella salina* Teod. en el Perú. *Ecología Aplicada*. 4(2):127-133. <http://estudiosterritoriales.org/articulo.oa?id=34100217>> ISSN 1726-2216.
- Takagi, M., Karseno & T. Yoshida. 2006. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* Cells. *Journal of Bioscience and bioengineering*. 101(3): 223-226.
- Weldy, C. & M. Huesemann. 2007. Lipid production by *Dunaliella salina* in batch culture: effects of nitrogen limitation and light intensity. *U.S. Department of Energy Journal of Undergraduate Research*. pp. 115-122.

Normas para la publicación de artículos “Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales”

Guidelines for publishing articles “Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales”

La Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales, es una revista científica-académica de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Su objetivo es contribuir a la producción científica, su socialización y debate, en el ámbito de las Ciencias Naturales y Ambientales. La publicación es semestral en los meses de julio y diciembre.

Los autores pueden someter sus trabajos a la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales, en español o inglés. Deben asumir los siguientes lineamientos, los artículos que no lo sigan serán rechazados o devueltos para que se realicen las correcciones pertinentes:

Tipos de artículos

1. La Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales publicará artículos sobre diversos aspectos de las Ciencias Naturales, pudiendo ser de cuatro tipos:

- De investigación, que reportan investigación básica original relacionada con los campos de las ciencias antes descritas, usando enfoques cualitativos, cuantitativos o mixtos.
- De revisión, que contribuyan al progreso de la producción de conocimiento en alguno de los campos de las ciencias antes descritas. Se trata de manuscritos orientados a sintetizar investigación científica previa, a discutir problemas metodológicos o conceptuales.
- De discusión, que contribuyan a la discusión de los diversos aspectos de las Ciencias antes descritas.
- De ensayo.

No se publicarán artículos que expresen exclusivamente opiniones, anécdotas o interpretaciones no fundamentadas.

Originalidad

2. Los trabajos deben ser originales e inéditos. No deben haber sido presentados en otra editorial simultáneamente.

Componentes de los escritos

3. La estructura de los documentos presentados contendrán los siguientes apartados:

a) Título

- b) Resumen
- c) Palabras clave
- d) Introducción
- e) Materiales y métodos
- f) Resultados
- g) Discusión
- h) Conclusiones
- i) Recomendaciones
- j) Referencias

4. El “Título” debe incluir la siguiente información:

- a) Título del artículo, éste debe estar en Español e Inglés.
- b) Nombre completo del autor o de los autores; éste debe tener un sólo apellido, en caso de incluir el apellido materno los dos apellidos deben estar unidos con un guión, por ejemplo: Torres-Pinto.
- c) Nombre y dirección completa de la institución, centro de estudio o trabajo actual a la que pertenece y posición que desempeña, incluyendo números telefónicos y correo electrónico.

Los datos personales facilitados por los autores a esta revista se usarán exclusivamente para los fines declarados por la misma, no estando disponibles para ningún otro propósito.

- 5. El resumen debe estar escrito en español e inglés y no debe superar las 200 palabras. Éste debe resumir la información sobre el propósito, objetivos e hipótesis del trabajo, así como su procedimiento, resultados y conclusión.
- 6. Después del resumen se indicarán cuatro palabras clave en español e inglés, esas deben de estar escritas en orden alfabético según cada idioma. Con este fin se utilizará el Tesoro de la UNESCO (Consulte en: <http://databases.unesco.org/thesp/>).
- 7. Las referencias deben de incluirse todas y únicamente las publicaciones citadas en el texto.

Normas de estilo

- 8. Los trabajos deben ser compatibles con Microsoft Word. La extensión no debe superar las 7.000 palabras, incluyendo el título, el resumen, las referencias bibliográficas, tablas y figuras.
- 9. Deben estar configurados en formato A4, con letra Times New Roman de 12 puntos con interlineado de 1,5.

* Correspondencia de la revista:

E-mail: revistacienciasnaturales@ug.edu.ec



10. Para la entrega inicial del documento, las figuras (incluye fotografías, gráficos, ilustraciones) deben tener una resolución de 150 dpi y deben estar insertadas en el documento.
11. Para la entrega final de las imágenes, las fotografías en blanco y negro deben tener una resolución mínima de 400 dpi, las fotografías a color deben tener una resolución mínima de 500 dpi y las ilustraciones o dibujos en blanco y negro deben tener una resolución de 1.200 dpi.
12. Se recibirán un máximo de 5 figuras y 5 tablas por artículo, salvo resolución editorial para casos particulares.
13. Toda tabla y figura debe estar citada en el texto del manuscrito.
14. Las leyendas de las figuras se ubicarán en la parte inferior y las de las tablas en la parte superior.
15. Los cuadros y tablas deberán ser presentados en formato editable (preferentemente word, excel, .pdf, .eps, ilustrator).
16. Para la redacción de los trabajos los autores deberán apegarse a las pautas del Manual de Estilo de la American Psychology Association (APA -6° edición). Consulte: <http://www.apastyle.org/>. de acuerdo con los siguientes ejemplos:

Cuando se haga referencia de manera general a una obra, se escribirá el apellido del autor, el año de publicación y el número de página, dentro de un paréntesis: (Alberti, 2002), o en el caso de dos autores (Rodríguez y García: 1998); si son más de dos autores se anotará (Sánchez *et al.*, 2003).

En el caso de citar obras del mismo autor publicadas en el mismo año, esas se ordenarán alfabéticamente y se les distinguirá con una letra minúscula después del año: "La poesía no puede sacar partido del arrepentimiento, pues no bien se plantea este último, el escenario es interno" (Kierkegaard, 1992a)... "Un momento así exige tranquilidad, no debe ser perturbado por la reflexión" (Kierkegaard, 1992b).

La bibliografía debe estar escrita en el mismo sistema, ordenada alfabética y cronológicamente según corresponda. No usar mayúsculas continuas. Los apellidos y nombres de los autores deben estar completos, es decir, no deben anotarse solo abreviaturas. Como norma general, los títulos de libros se reseñarán en cursiva; y los títulos de artículos con tipografía normal; véanse los siguientes ejemplos:

Para revistas:

- Van Beusekom, C. F. 1971. Revision of *Meliosma* (Sabiaceae) section *Lorenzanea* excepted, living and fossil, geography and phylogeny. *Blumea* 19: 355-529.
- Johnson, L. A. S. & B. G. Briggs. 1975. On the Proteaceae: The evolution and classification of a southern family. *Bot. Jour. Linnean Soc.* 70:83-182.

Para libros:

- Holdridge, L. R. 1967. *Life zone ecology*. Edición revisada. Tropical Science. Center. San José, Costa Rica.

- Pennington, T. D. 1997. *The genus Inga, Botany*. The Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom.
- Jørgensen, P. M. & S. León-Yáñez. 1999. *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 75: 1-1181.

Para series monográficas:

- Berg, C. C. 1998. Moraceae (excl. *Ficus*). *Flora of Ecuador* 60: 1-128.
- Henderson, A. 2000. *Bactris* (Palmae). *Flora Neotropica Monograph* 79: 1-181.

Para capítulos de libros:

- Herrera, W. 1985. Clima de Costa Rica. En: L. D. Gómez (ed.). *Vegetación y clima de Costa Rica*. Vol. 2. Editorial Universidad Estatal a Distancia, San José, Costa Rica.
- Herrera-MacBryde, O., T. R. Maldonado, V. Jiménez & K. Thomsen. 1997. Osa Península and Corcovado National Park Costa Rica. En: S. D. Davis, V. H. Heywood, O. Herrera-MacBryde, J. Villa-Lobos & A. C. Hamilton (eds.). *Centres of Plant Diversity. A guide and strategy for their conservation* Vol. 3, World Wildlife Fund, International Conservation Union.

Para referencias a sitios web:

Para publicaciones disponibles en línea:

- Bestland, E. A. & G. Retallack. 1994. *Geology and paleoenvironments of the Clarno unit, John Day Fossil Beds National Monument, Oregon. Final report*. http://www.nps.gov/history/history/online_books/joda/besttland-retallack1/index.htm Consulta Agosto 2014.

Para publicaciones disponibles en línea que están en permanente actualización:

- Stevens, P. F. 2001, en adelante. Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008 [en actualización continua]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

Para páginas web de instituciones:

- The New York Botanical Garden (NYBG). Consulta 2010. *The C. V. Starr Virtual Herbarium* <http://sciweb.nybg.org/science2/VirtualHerbarium.asp> The New York Botanical Garden, Bronx, New York.

En caso de haber dos o más publicaciones de un mismo autor:

- Cornejo, X. 2009. Two new species of *Pentagonia* (Rubiaceae, Hippotidae) from Colombia and Ecuador. *Novon* 19:25-31.
- . 2010. *Pentagonia lanciloba*: A new Rubiaceae (Hippotidae) from northwestern Ecuador. *Brittonia* 62:7-11.

En caso de haber dos o más publicaciones de un mismo autor y durante el mismo año, agregar un literal después del año:

Cornejo, X. & H. H. Ittis. 2008a. The reinstatement of *Cappariastrum* (Capparaceae). *Harvard Pap. Bot.* 13:229-236.

---- & ----. 2008b. A revision of the American species of the genus *Crateva* (Capparaceae). *Harvard Pap. Bot.* 13:121-135.

Proceso editorial

17. El documento recibido por el editor responsable pasa por dos procesos de selección:
 - a) El primero se lleva a cabo en el Consejo Editorial Interno, quien determinará la pertinencia y solvencia científica del manuscrito.
 - b) El segundo proceso lo realiza el Consejo Editorial Externo, según el sistema de revisión por pares (doble ciego). En el caso de resultados discrepantes se remitirán a un tercer dictamen, el cual será definitivo.
18. El Consejo Editorial notificará a los autores la decisión de los evaluadores en cuanto a la aceptación, solicitud de revisión o rechazo del artículo.
19. Si el artículo es aceptado para la publicación, los editores combinarán los comentarios de los revisores con sus propias observaciones editoriales y regresarán el manuscrito al autor principal para su revisión final. Para su aceptación final, el autor debe entonces realizar las correcciones y cambios necesarios. Usualmente el tiempo dado para los cambios no será mayor a dos semanas.
20. La coordinación editorial de la revista se reserva el derecho de hacer corrección de estilo y cambios editoriales que considere necesarios para mejorar el trabajo.
21. Una vez diagramado el texto, se enviará una prueba de composición del artículo para corregir errores y su aprobación. En este punto no será posible hacer cambios en el manuscrito, sino solamente corregir errores. El autor debe retornar la prueba de impresión a los editores máximo una semana después de haberla recibido.
22. Si un artículo es publicado en la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales, el primer autor recibirá tres ejemplares de la revista en la que ha sido publicado su trabajo.

Declaración de responsabilidad

23. Como parte del proceso de envío, se requiere que los autores indiquen si sus envíos cumplen con las siguientes indicaciones:
 - a. El envío no ha sido publicado previamente ni se ha enviado previamente a otra revista (o se ha proporcionado una explicación al Editor responsable).
 - b. El fichero enviado está en formato Microsoft Word o compatible, y no tiene una extensión superior a 7.000 palabras.
 - c. El texto tiene interlineado 1.5; el tamaño de fuente es 12 puntos y el tipo es Times New Roman; y todas las ilustraciones, figuras y tablas están dentro del texto en el sitio que les corresponde y no al final.
 - d. El texto cumple con los requisitos bibliográficos y de estilo de la American Psychology Association (APA).
 - e. La página "Título" incluye todos los datos identificativos de los autores.

Derechos de autor

24. Las obras que se publican en esta revista están sujetas a los siguientes términos:
 - a. El Servicio de Publicaciones de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil (la editorial) conserva los derechos patrimoniales (copyright - © 2014, Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, Ecuador) de las obras publicadas, y favorece y permite la reutilización de las mismas bajo la licencia de uso indicada en el literal b.
 - b. Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales se publica en versión escrita bajo una licencia <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/ec/>. Se pueden copiar, usar, difundir, transmitir y exponer públicamente, siempre que: i) se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista e editorial); ii) no se usen para fines comerciales; iii) se mencione la existencia y especificaciones de esta licencia de uso.

Presentación

25. Los artículos deben ser enviados mediante archivos adjuntos al e-mail: revistacienciasnaturales@ug.edu.ec, con copia al editor responsable: carmenbonifaz@hotmail.com.

Contenidos de la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales 8(2)

Los Artrópodos Venenosos de Importancia Médica en Ecuador: Estado del Conocimiento y Perspectivas de Investigación / Venomous arthropods of medical significance in Ecuador: state of knowledge and perspectives of research.....	
Adolfo Borges, David Anchundia, Yazmín Cedillo, Lissette Gamboa, Marlon Luzardo, Diana Macías, Daniel Medina, Marcia Méndez, Patricia Mero, Erick Meza, Eva Moncada, Ghislaine Mora, Viveky Morán, Dayanara Moyano, Karla Naranjo, Alex Pazmiño, Jorge Peñaherrera, Antonio Pillajo, Jordy Soledispa, Jonathan Totoy, Sophie Vasquez, Diana Zabala	59
Diversidad y uso de hábitat de aves en diferentes gradientes urbanos en la ciudad de Guayaquil, Ecuador / Diversity and habitat use by birds in urban gradients in the city of Guayaquil, Ecuador.....	Ma. Lorena Rojas Allieri & Felix Man-Ging..... 69
Contribución al conocimiento de la fauna entomológica de los manglares: <i>Olla roatanensis</i> Vandenberg y <i>Cheilomenes sexmaculata</i> Fabricius, dos nuevos registros de Coleoptera: Coccinellidae para Ecuador y Perú / Contribution to knowledge of the Entomologic Fauna of Mangroves: <i>Olla roatanensis</i> Vandenberg and <i>Cheilomenes sexmaculata</i> Fabricius, two new records of Coleoptera: Coccinellidae for Ecuador and Peru.....	Xavier Cornejoa & Guillermo González 76
Detección de cadmio y plomo en leche de vaca comercializada en la ciudad de Guayaquil, Ecuador / Cadmium and lead levels in cow's milk marketed in the city of Guayaquil, Ecuador.....	Beatriz Pernía, Mariuxi Mero, Kenya Bravo, Nelson Ramírez, David López, Jorge Muñoz & Fidel Egas 81
Evaluación del efecto de la salinidad y concentración de nitrógeno en la producción de lípidos totales de <i>Dunaliella</i> sp. / Assesment of the effect of salinity and nitrogen concentration in the total lipids production of <i>Dunaliella</i> sp.....	Shirley Moncayo Baño 87
Normas para la publicación de artículos en la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales / Guidelines for publishing articles in the Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales	