

ISSN 0016-531X

GAYANA

VOLUMEN 64

NUMERO 2

2000



PUBLICADO POR UNIVERSIDAD DE CONCEPCION-CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
CHILE

DIRECTOR DE LA REVISTA:

Andrés O. Angulo

REEMPLAZANTE DEL DIRECTOR

Oscar Matthei J.

EDITOR GAYANA

Andrés O. Angulo

EDITOR EJECUTIVO GAYANA

Ciro Oyarzún G.

REPRESENTANTE LEGAL

Sergio Lavanchy Merino

PROPIETARIO

Universidad de Concepción

DOMICILIO LEGAL

Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

La Revista Gayana es una versión moderna de Gayana Oceanología y Gayana Zoología y, por lo tanto, procede a reemplazarlas.

La Revista Gayana está relacionada con todos los aspectos de la investigación zoológica y oceanológica. Los tópicos específicos cubiertos en la Revista Gayana se basan en trabajos e investigaciones originales y revisión de artículos en taxonomía, sistemática, filogenia, biogeografía y oceanología.

Se considerarán los aspectos evolutivos dentro de estos tópicos basados en morfología, fisiología, ecología, etología y paleontología.

COMITE EDITORIAL

Patrick Arnaud. Station Marine d'Endome, Marsella, Francia. **Ariel Camousseight,** Museo de Historia Natural, Chile. **Wolf Arntz.** Alfred-Wegener-Institut für Polar-und Meeresforschung Bremerhaven, Alemania. **C. Sergio Avaria.** Universidad de Valparaíso, Chile. **Jan Owe Bergström.** Kristineberg Marine Biologiske Station, Kristineberg, Suecia. **Ramón Formas,** Universidad Austral de Chile. Chile. **Alberto P. Larrain,** Universidad de Concepción. Chile. **Joel Millet.** Muséum National d'Histoire Naturelle. Francia. **Víctor Marín.** Universidad de Chile, Chile. **Roberto Meléndez,** Museo de Historia Natural. Chile. **Julián Monge-Nájera.** Universidad de Costa Rica, Costa Rica. **Carlos Moreno.** Universidad Austral de Chile. Chile. **Hugo I. Moyano.** Universidad de Concepción, Chile. **Germán Pequeño,** Universidad Austral de Chile. Chile. **Linda M. Pitkin,** Natural History Museum of London, Inglaterra. **Gilbert T. Rowe,** Texas A & M University, College Station, Texas, USA. **Nelson Silva,** Universidad Católica de Valparaíso, Chile. **Raúl Soto,** Universidad Arturo Prat, Chile. **Haroldo Toro,** Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

Subscripción:

Subscripción anual en cada serie: US\$ 23.60 (dos volúmenes al año)

Números atrasados US\$ 17.70 cada uno, excepto los números de más de 100 pp, para lo cual se deberá consultar a: gayana@udec.cl

Información en Internet:

Revista Gayana tiene su página Web en <http://www.udec.cl/publicaciones/>

Dirección:

Revista Gayana. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción. Chile. Teléfono: 56-41-203059, Fax: 56-41-244805, E-mail: gayana@udec.cl

Indexado en Bulletin Signaletique (Abstract, CNRS, Francia); Pascal Folio (Abstract, CNRS, Francia); Periodica (Index Latinoamericano, México); Marine Sciences Contents Tables (MSCT, Index FAO); Biological Abstract (BIOSIS); Entomology Abstract (BIOSIS); Zoological Records (BIOSIS); Ulrich's International Periodical Directory; Biological Abstract.

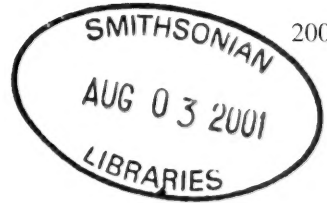
GAYANA

VOLUMEN 64

NUMERO 2

2000

CONTENTS



Terrestrial environments

- ALAMIRI, Z.** Oviposition behaviour in four species of *Drosophila* 123
- CHIAPPA, E., SH. RODRÍGUEZ & R. BASCUÑÁN.** Floral preference and manipulation of *Centris rodophthalma* Perez (Hymenoptera: Anthophoridae) 133
- IANNACONE, J., L. ALVARIÑO, C. CABALLERO & J. SÁNCHEZ.** Four ecotoxicological assays to evaluate lindane and chlorpyrifos 139
- LOUIS-MALDONADO, M. & R. BADILLA.** Description of preimaginal stages of *Hemieuxoa conchidia* (Butler) 147
- RODRÍGUEZ, M.A., T.S. OLIVARES & A.O. ANGULO.** A new genus and new species from high andean *V. tenera* Rodríguez & Angulo n.gen. v/s akin genera (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae) 155
- ROMERO, F., E. ALTIERI, C. QUIÑEHUAL & A. CAYUQUEO.** Contraction activity of the papillar muscle and vas deferent of a rat induced to poison from the *Latrodectus mactans* spider of Chile 161
- STUARDO, J.R. & P. VARGAS-ALMONACID.** Land mollusca of Chile. Synonymies and related problems: 1. Families Veronicellidae, Pupillidae and Achatinellidae (Gastropoda: Pulmonata) 171

Aquatic environments

- JARA-SEGUEL, P., S. PEREDO, C. PALMA-ROJAS, E. PARADA & G. LARA.** Quantitative karyotype of *Diplodon chilensis* (Gray 1828) (Bivalvia: Hyriidae) 189
- SALAMANCA, M.A., A. CAMAÑO, B. JARA & T. RODRÍGUEZ.** Cu, Pb and Zn distribution in nearshore waters in San Jorge bay, northern Chile 195

Review

- OLABUENAGA, S.E.** Fish immune system 205
- RODRÍGUEZ, L. & L. CASTRO.** Studies on the ecology of larval myctophids (Pisces, Myctophidae): A proposal for new research lines in the Humboldt Current 219

Short communications

- CASANUEVA, M.E. & H.I. MOYANO.** *Ixodes uriae* White 1852 (Acari: Ixodidae) associated with the papua penguin, *Pygoscelis papua* (Forster), in the antarctic peninsula 235
- OLIVARES, T.S. & A.O. ANGULO.** A mistook paratype of *Pareuxoa koehleri* Olivares (Lepidoptera: Noctuidae) 237
- OLIVARES, T.S.** *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell 1890): The blue gum psyllid in Chile (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psylloidea: Spondylaspininae) 239

GAYANA

VOLUMEN 64

NUMERO 2

2000

CONTENIDO

Ambiente terrestre

- ALAMIRI, Z.** Conducta de oviposición en cuatro especies de *Drosophila* 123
- CHIAPPA, E., S. RODRÍGUEZ Y R. BASCUÑÁN.** Preferencia y manipulación floral de *Centris rodophthalma* Pérez (Hymenoptera: Anthophoridae) 133
- IANNACONE, J., L. ALVARIÑO, C. CABALLERO Y J. SÁNCHEZ.** Cuatro ensayos ecotoxicológicos para evaluar lindano y clorpirifos 139
- LOUIS-MALDONADO, M. Y R. BADILLA.** Descripción de los estados preimaginales de *Hemieuxoa conchidia* (Butler) 147
- RODRÍGUEZ, M.A., T.S. OLIVARES Y A.O. ANGULO.** Nuevo género y nuevas especies de nótuidos altoandinos V. *Tenera* Rodríguez & Angulo n. gen. v/s géneros afines (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae) 155
- ROMERO, F., E. ALTIERI, C. QUIÑEHUAL Y A. CAYUQUEO.** Actividad contráctil de músculo papilar cardíaco y conducto deferente de rata inducida por veneno de la araña *Latrodectus mactans* de Chile 161
- STUARDO, J.R. Y P. VARGAS-ALMONACID.** Moluscos terrestres de Chile. Sinonimia y problemas relacionados: 1. Familias Veronicellidae, Pupillidae y Achatinellidae (Gastropoda: Pulmonata) 171

Ambiente acuático

- JARA-SEGUEL, P., S. PEREDO, C. PALMA-ROJAS, E. PARADA Y G. LARA.** Cariotipo cuantitativo de *Diplodon chilensis* (Gray 1828) (Bivalvia: Hyriidae) 189
- SALAMANCA, M.A., A. CAMAÑO, B. JARA Y T. RODRÍGUEZ.** Distribución de Cu, Pb y Zn en aguas costeras de bahía San Jorge en el norte de Chile 195

Revisión

- OLABUENAGA, S.E.** Sistema inmune en peces 205
- RODRÍGUEZ, L. Y L. CASTRO.** Estudios en ecología de larvas de mictófidios (Pisces, Myctophidae): Una propuesta para nuevas líneas de investigación en la Corriente de Humboldt 219

Comunicaciones breves

- CASANUEVA, M.E. Y H.I. MOYANO.** *Ixodes uriae* White 1852 (Acari: Ixodidae) asociado con el pingüino papua, *Pygoscelis papua* (Forster), en la península antártica 235
- OLIVARES, T.S. Y A.O. ANGULO.** Un paratipo errado de *Pareuxoa koehleri* Olivares (Lepidoptera: Noctuidae) 237
- OLIVARES, T.S.** *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell 1890): El psilido del eucalipto en Chile (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psylloidea: Spondyliaspinae) 239

“Los infinitos seres naturales no podrán perfectamente conocerse sino luego que los sabios del país hagan un especial estudio de ellos”.

CLAUDIO GAY, Hist. de Chile, 1:14 (1848)

Portada:

Claudio Gay Mouret nació el 18 de marzo de 1800 en Draguignan, departamento de Yar, Francia. Fue director del Museo Nacional de Historia Natural de Santiago de Chile. Fallece el 29 de noviembre de 1873 en Deffens, Yar, a la edad de 73 años. La presente revista lleva el nombre de “GAYANA” en su homenaje.

Dr. Andrés O. Angulo
DIRECTOR REVISTA GAYANA

ESTA REVISTA SE TERMINÓ DE IMPRIMIR
EN LOS TALLERES DE IMPRESOS ANDALIÉN
CONCEPCIÓN, CHILE,
EN EL MES DE DICIEMBRE DE 2000,
QUE SÓLO ACTÚA COMO IMPRESORA
PARA EDICIONES UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN



OVIPOSITION BEHAVIOUR IN FOUR SPECIES OF *DROSOPHILA*¹CONDUCTA DE OVIPOSICION EN CUATRO ESPECIES DE *DROSOPHILA*

Zaid Alamiri*

ABSTRACT

Oviposition site selection plays a central role in the evolutionary ecology of *Drosophila*, due to its high relation with the pre-adults fitness since the site selection determines the interactions between the species sharing common resources. *Drosophila subobscura* Collin which was detected in Chile for the first time in 1978, was found coexisting in the wild, as adults, over apple and raspberry, with *D. hydei*, *D. immigrans* and *D. melanogaster*. It was observed that raspberry has been used only by *Drosophila subobscura* as a breeding site; meanwhile sharing apple with the others. Our principal purpose was to shed light on the ecological significance of the new species oviposition behaviour; analysing also some of the preference-performance relationship. Two experiments of non-choice and choice, were carried out. The results showed that all species used both substrates as a breeding site. However, *D. subobscura* and *D. melanogaster* chose significantly raspberry, whereas *D. immigrans* and *D. hydei* preferred apple. In relation to preference-performance, only *D. melanogaster* expressed that positively in terms of short development time and high viability. The physical characters of the substrate could explain the oviposition preference. These results constitute the first empirical evidence that *D. subobscura* is constantly colonising new breeding sites, if it is known that raspberry has been cultivated for one decade.

KEYWORDS: Oviposition behaviour, *D. subobscura*, colonisation, preference - performance relationship, and substrate physical characters.

RESUMEN

Debido a su importancia en la eficacia de los estadios preadultos, la elección del sitio de oviposición ocupa un lugar esencial en la ecología evolutiva de *Drosophila*, pues ella determina las interacciones entre especies que comparten recursos comunes. *Drosophila subobscura* Collin, que fue detectada en Chile por primera vez en 1978, se había encontrado en la naturaleza, coexistiendo con *D. hydei*, *D. immigrans* y *D. melanogaster*, sobre frambuesa y manzana. La frambuesa ha sido usada solamente por *D. subobscura* como sitio de crianza; mientras tanto ella compartía la manzana con las otras especies. El objetivo principal de este trabajo fue investigar la implicancia ecológica de conducta de oviposición de la especie nueva; analizando algunos aspectos de la relación preferencia-eficacia. Se han realizado dos experimentos con elección y sin elección del sitio de oviposición. Los resultados han demostrado que todas las especies usaron ambos sustratos; sin embargo *D. subobscura* y *D. melanogaster* han preferido ovipositar en frambuesa, mientras *D. hydei* y *D. immigrans* lo hicieron en manzana. En cuanto a la relación preferencia-eficacia, solamente *D. melanogaster* mostró dicha relación en términos del tiempo de desarrollo y viabilidad. Los factores físicos del sustrato podrían haber sido involucrados en la preferencia. Estos resultados constituyen la primera prueba empírica de que *D. subobscura* está constantemente colonizando nuevos sitios de crianza.

PALABRAS CLAVES: Conducta de oviposición, colonización de *D. subobscura*, relación preferencia-eficacia y factores físicos del sustrato.

INTRODUCTION

The oviposition site selection in *Drosophila*, among many other ecological and behavioural factors, plays a central role in the community structure. Being immobile, pre-adults instars are directly influenced by the decision taken by their mothers where to lay their eggs because it

¹The present paper is part of a MS Thesis at the Universidad Austral de Chile.

*Department of Entomology, University of California Riverside, CA 92521, U.S.A

determines their fitness especially when sharing resources with other species. The species of *Drosophila* are generally selective in their selection of breeding site. As a species in process of colonisation of a new habitat, *Drosophila subobscura* Collin (Diptera: Drosophilidae) is using new breeding sites in Chile to avoid competitive interactions in nature, a strategy proposed by Budnik and Brcic (1983) who found in experiments of competition performed in the laboratory, using artificial culture medium, that *D. subobscura* interferes with *D. simulans*, *D. immigrans*, *D. pavani* as well as with *D. melanogaster*. *D. subobscura* is a typically Palearctic species distributed all over Europe, North Africa and Asia Minor, with the exception of the northern parts of Scandinavia and Finland (Lakovaara and Saura 1982). The species was detected in Chile for the first time in Puerto Montt (41°60'S) in 1978 (Brcic and Budnik 1980). In the next year the insect expanded its range from Puerto Montt to La Serena (29°55'S) where its frequency in relation to the total collected drosophilids was 49.09 and 0.45%, respectively (Budnik and Brcic 1982). The species was found far southern as Punta Arenas (54°40'S), with a frequency of 1.4 (Budnik and Brcic 1982). The insect has also crossed the Andes mountain range and was detected in the Pacific coast of North America, where it has now become established (Prevosti *et al.* 1982).

Samples of *Drosophila* collected in southern Chile (Temuco and Valdivia) by Videla *et al.* (1994) showed that adults of *D. hydei*, *D. immigrans*, *D. melanogaster* and *D. subobscura* coexist over decayed fruits of apple, peach, plum, and raspberry; however, in the laboratory, it was seen that from the first three fruits, emerged all the four species while from raspberry only *D. subobscura* did. So, considering these findings, the aim of this paper was to shed light on the ecological significance of oviposition site selection by *D. subobscura* as a new species colonising Chile, as well as *D. hydei*, *D. immigrans*; and *D. melanogaster* in two natural substrates of raspberry and apple.

Furthermore, the study aims to evaluate preference - performance relationship in terms of the time needed to reach the adult stage and the viability.

This work would try to find answer to the two specific questions; does raspberry offer a suitable breeding site for *D. subobscura*? Should other females lay their eggs on raspberry, would the egg-

to-adult development time and viability be affected in comparison to other substrate where they breed?

MATERIALS AND METHODS

Two oviposition experiments were conducted without and with substrate choice. The populations of the four species used in the study were derived from flies captured in the university experimental station located at the north of Valdivia (39°45'S; 73°14'W). The species were reared in 250-cm glass bottles using 50 cc of Burdick culture medium (Burdick 1954). The fruits offered were apple (*Malus sylvestris*, CV. Granny) and raspberry (*Rubus idaeus* CV. Heritage), which were healthy and untreated, collected one day before the beginning of the experiments.

EXPERIMENT I. NON-CHOICE EXPERIMENT

Transparent acrylic population cages of 35x35x11cm, containing twenty-five 2x2 cm oviposition glass tubes arranged in five rows and five columns, were used. Variable quantity of moist river sand was added to the oviposition tubes in such a way that the substrates maintain the same height level, then 4.5 ± 0.1 gr. of apple piece or 2.5 ± 0.1 gr. of raspberry fruit was placed on the sand. A sterilised filter paper was added to the sand to avoid that females lay eggs on the sand. Afterwards, the fruit surface was sprayed with Nipagin 1% to prevent the bacterial and fungal contamination.

After leaving 25 females of maximum fecundity age of each species, introduced without anaesthesia, for 24 h in the cage, the tubes were withdrawn and the number of eggs, if any, was examined. Those containing eggs were incubated to be checked daily for the insect presence until one week after the emergence of the last adult. The experiment starts at 10:00 A.M., and the withdrawal process is done at 10:00 A.M. the following day.

Five replicates for each species and substrate were used.

EXPERIMENT II: CHOICE EXPERIMENT

The whole procedure used was similar to that of the previous experiment, with the exception of offering simultaneously 12-apple oviposition areas and 12-raspberry oviposition ones distributed randomly in the population cage.

Five replicates for each species were carried out.

The experiments were done in a controlled room of $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 60% R.H and 12L: 12D (08:00-20:00).

RESULTS

NON CHOICE EXPERIMENT

First of all, the most remarkable fact, as can be seen from Table I, was that all species oviposited on both substrates; however, significant differences were found between species (ANOVA and a posterior Tukey's test) within each substrate. In raspberry, for

example, *D. subobscura* laid significantly more eggs than did the other three species ($F_{3,16}=13.3$; $P<0.001$) and occupied more available oviposition areas ($F_{3,16}=13.5$; $P<0.001$). Meanwhile, in apple, the situation is completely opposite in the sense that *D. subobscura* had the less number of eggs and occupied less tubes in comparison to *D. hydei*, *D. melanogaster* and *D. immigrans*. It seems there is an apparently proportional relationship, in the case of *D. subobscura* between the number of tubes occupied and the number of eggs laid, on the contrary of the other species. As for spatial egg distribution, it was clear that all species are gregarious, since the variance-mean ratio was more than one, irrespective of the substrate, egg number, and tubes amount.

TABLE I. Number of Eggs deposited and tubes occupied and aggregation rate in the non-choice experiment (Means \pm SE).

Species	Substrate	Eggs number	Tubes number	Aggregation's rate
	Raspberry			
<i>D. hydei</i>		84.4 \pm 19.0 ^b	8.4 \pm 0.9 ^c	7.1 \pm 2.1 ^a
<i>D. immigrans</i>		171.2 \pm 35.1 ^b	12.2 \pm 1.9 ^{cb}	4.8 \pm 0.7 ^a
<i>D. melanogaster</i>		173.8 \pm 22.7 ^b	14.0 \pm 1.6 ^b	5.5 \pm 1.2 ^a
<i>D. subobscura</i>		342.4 \pm 37.5 ^a	20.4 \pm 0.8 ^a	7.1 \pm 1.4 ^a
	Apple			
<i>D. hydei</i>		233.8 \pm 43.7 ^a	17.8 \pm 1.6 ^a	9.7 \pm 1.4 ^a
<i>D. immigrans</i>		153.0 \pm 29.5 ^{ab}	18.2 \pm 3.9 ^a	4.6 \pm 0.5 ^b
<i>D. melanogaster</i>		191.4 \pm 44.1 ^{ab}	18.8 \pm 1.1 ^a	5.5 \pm 1.8 ^{ab}
<i>D. subobscura</i>		81.0 \pm 14.9 ^b	11.8 \pm 0.9 ^b	2.8 \pm 0.7 ^b

Values in each column with the same letter are not significantly different at the 5% level.

CHOICE EXPERIMENT

D. subobscura as well as *D. melanogaster* preferred ovipositing on raspberry ($\chi^2=47.0$;

$\chi^2=426.0$; 1 df; $P<0.001$, respectively), meanwhile *D. hydei* and *D. immigrans* laid their eggs on apple ($\chi^2=51.5$; $\chi^2=118.8$; 1 df; $P<0.001$, respectively).

TABLE II. Chi-square test for the oviposition preference behaviour (Means \pm SE).

Species	Raspberry	Apple	χ^2 d.f=1
<i>D. hydei</i>	42.0 \pm 15.9	77.0 \pm 22.6	51.5***
<i>D. immigrans</i>	40.0 \pm 15.6	177.0 \pm 9.8	118.8***
<i>D. melanogaster</i>	201.0 \pm 16.9	53.6 \pm 8.9	426.0***
<i>D. subobscura</i>	130.5 \pm 24.6	85.4 \pm 27.2	47.0***

With regards to the two parameters used to measure, if any, the preference-performance relationship, i.e., development time of egg-to-adult and mortality; Table III indicates significant

differences between species in both substrates and sexes as *D. melanogaster* being the species that reached the adult stage in short time (ANOVA and a posterior Tukey's test). In raspberry, for example,

D. melanogaster took less development time expressed in days ($F_{3,118}=136.3$; $P<0.0000$ and $F_{3,92}=55.7$; $P<0.0000$, for females and males, respectively). It is worthy to mention that only *D. melanogaster* ($F=3.64$, with 4 df; $P<0.04$

and $F=3.19$, with 4 df; $P<0.03$, for females & males, respectively) had the positive preference-performance relationship when raspberry was used as a breeding site.(Table III, T-test).

TABLE III. Development time of females and males (in days) showing the relationship of preference - performance (Means \pm SE).

Species	Females development time		T-test	Males development time		T-test
	Raspberry	Apple		Raspberry	Apple	
<i>D. hydei</i>	20.8 \pm 1.5 ^b	19.7 \pm 0.3 ^a	n.s	18.0 \pm 0.0 ^{ab}	19.5 \pm 0.4 ^a	n.s
<i>D. immigrans</i>	15.6 \pm 0.7 ^b	16.8 \pm 0.2 ^b	n.s	15.3 \pm 0.7 ^b	17.3 \pm 0.3 ^b	n.s
<i>D. melanogaster</i>	11.9 \pm 0.2 ^c	14.9 \pm 0.9 ^c	3.64*	12.5 \pm 0.8 ^c	16.3 \pm 2.2 ^b	3.19*
<i>D. subobscura</i>	18.8 \pm 0.2 ^a	18.7 \pm 0.3 ^a	n.s	9.1 \pm 0.3 ^a	18.6 \pm 0.3 ^a	n.s

Values in each column with the same letter are not significantly different at the 5% level.

It is interesting to observe from graphics 1 and 2 that *D. melanogaster* was the only species that had the high percent of emerging individuals (females and males) in both substrates, i.e., the preferred as well as

the non-preferred. On the other hand, *D. subobscura* and *D. hydei* showed their high percentage of individuals in the preferred substrate only; while *D. immigrans* did that in the non-preferred substrate.

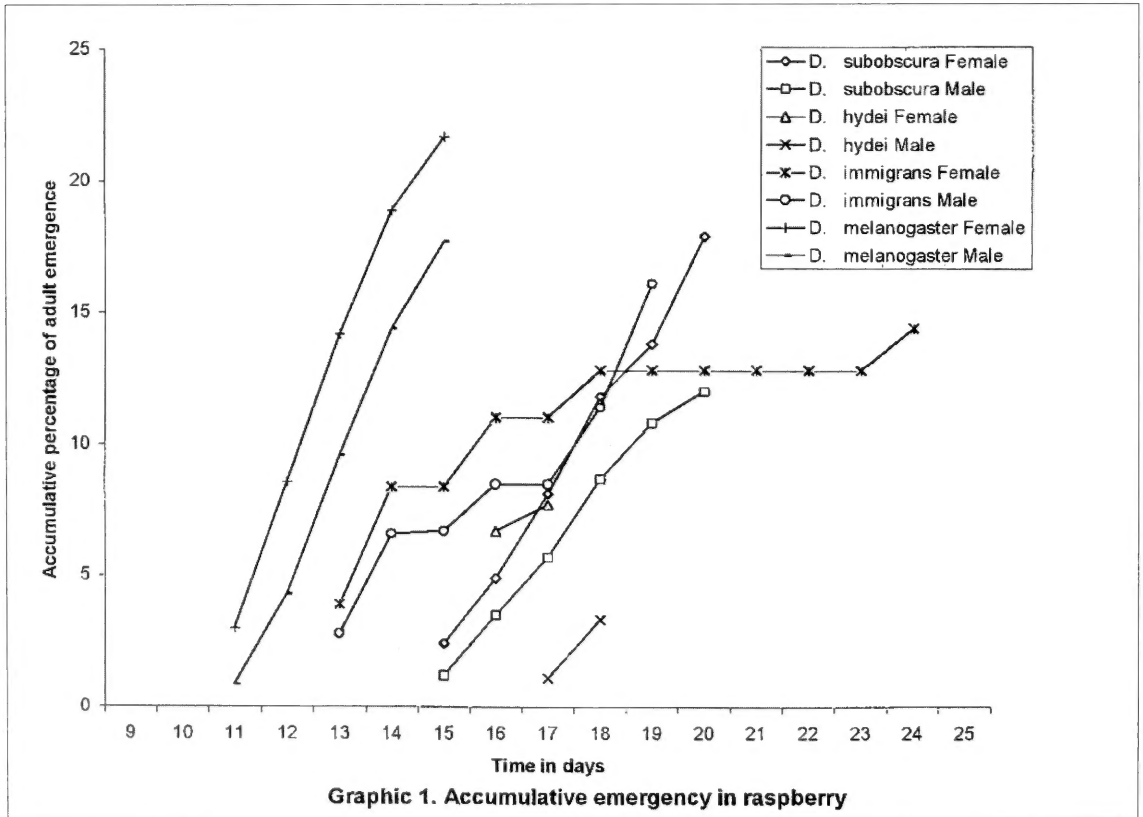


FIGURE 1. Accumulative emergency in raspberry.

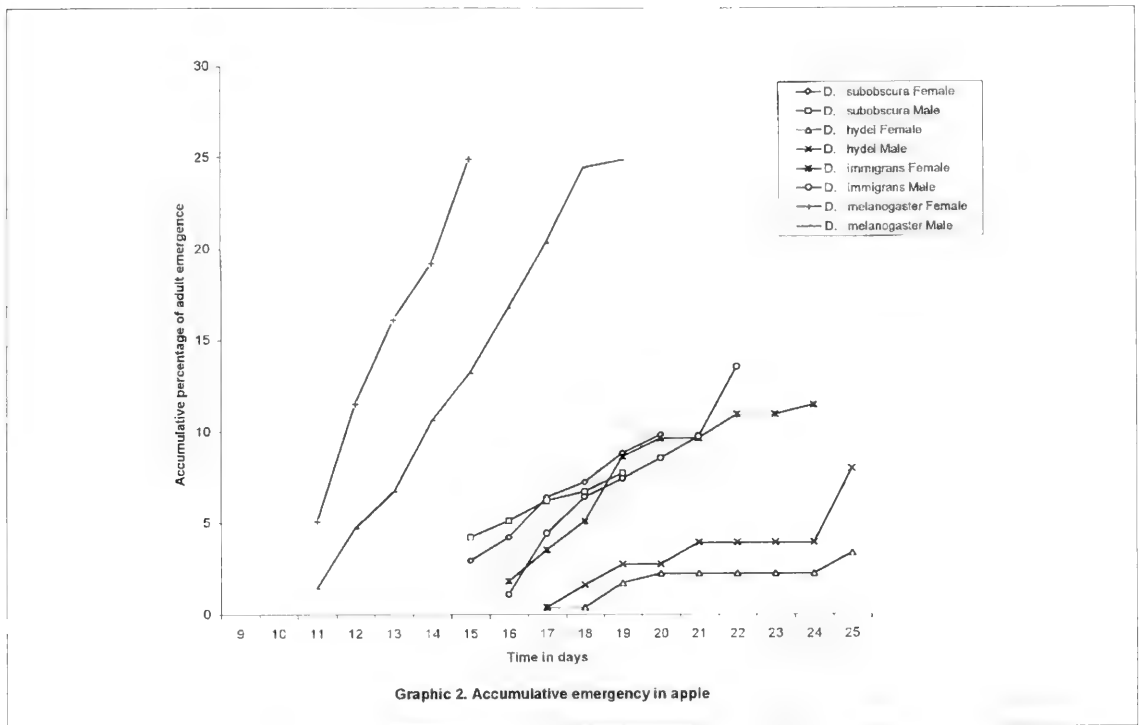


FIGURE 2. Accumulative emergency in apple.

With regards to mortality, both *D. melanogaster* in raspberry and *D. immigrans* in apple, had such relationship (Table IV, T-test), as

the ANOVA and a posterior Tukey's test indicate significant differences between species only in raspberry ($F_{3,16}=5.1$; $P<0.01$).

TABLE IV. Percentage of total mortality between species expressed by ANOVA and T-test (Means \pm SE).

Species	Raspberry	Apple	T-test
<i>D. hydei</i>	65.5 \pm 16.5 ^a	53.9 \pm 5.3 ^a	n.s
<i>D. immigrans</i>	77.3 \pm 5.8 ^a	50.1 \pm 5.6 ^a	2.97*
<i>D. melanogaster</i>	29.8 \pm 1.8 ^b	62.1 \pm 10.9 ^a	2.73*
<i>D. subobscura</i>	57.1 \pm 2.4 ^a	53.2 \pm 5.8 ^a	n.s

Values in each column with the same letter are not significantly different at the 5% level.

DISCUSSION

The results of choice experiment will be discussed first because of its relevance to the ecology of the colonising species, i.e., *D. subobscura*. This helps to get some information on some of its behaviour patterns, i.e., oviposition preference, used by the insect in the new environment which somehow will provide the necessary steps needed to establish

well. Then I proceed to deal with the first experiment. The substrate physical conditions such as shape, texture and colour could explain the results obtained. It seems that the convex shape of raspberry was used as a positive visual stimulus in comparison to the flat. Such finding was assured by Ruiz *et al.* 1994, that *D. melanogaster*, in front of concave and convex surfaces (culture medium), preferred the later. In another work about *Chaetorellia australis* Hering

(Diptera: Tephritidae), it was observed that the insect frequently visited spherical and conic substrates, and also it was mentioned that *Ceratitis capitata* (Wied) (Tephritidae), preferred convex than plane or concave (Pittara & Katsoyannos 1992). Degen & Städler (1996) observed that *Delia antiqua* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae) did not lay significantly more eggs around the host leaf which was flat and too wide at the base rather than cylindrical and narrow like its main host plant, the onion (*Allium cepa*).

Referring to substrate texture, the structural arrangement of the fruit drupes as well as the spaces between them, had an attractive effect for *D. subobscura* to choose in the sense that the texture might provided the protection for the eggs; besides, it might help the females perceive and detect olfactory stimulus through antenna or rather by chemical ones located in the tarsus when the insect is going up and down the fruit. Once the insect landed on the fruit surface, it begins and exhibits series of preovipositional activities that lead finally to accept the substrate as a site for the deposition of eggs (Harris & Miller 1984).

Results found by Prophetou-Athanasiadou *et al.* (1993) showed that *D. subobscura* used significantly the more rough surface, out of three offered surfaces with different roughness, laying there more eggs.

Many researchers (Atkinson & Shorrocks 1981) indicated the tendency of *D. melanogaster* to exhibit a significant preference to the rough surface as a site of oviposition and this observation or fact was used then by Atkinson 1983 to argue that texture irregularity is the factor that expresses the gregarious behaviour in this species.

Chess & Ringo (1985), demonstrated that *D. melanogaster* females with amputated tarsus and antenna, continued laying eggs on the rough substrate in a proportion reached to 90% than on smooth surface. In addition, it was observed that *D. simulans*, preferred to oviposit in the centre of the culture medium which has more roughness than the border (Grossfield 1983).

Roessingh & Städler (1990), mentioned that *Delia radicum* (L.) (Diptera: Anthomyiidae) in the natural as well as in the artificial substrates, always used the irregular surface.

It was observed in this study that both *D.*

subobscura and *D. melanogaster*, frequently laid their eggs on the border and inside the fruit cavity which probably provide a suitable site that support their pre-adult instars development. Sirvastara & Singh (1983) also noticed such behaviour in four Indian species of *Drosophila*. This observation could be attributed partially to the humidity content as the border and the inside are more wet and consequently more suitable than the outside for the growth. This observation agrees with the work of Chess & Ringo (1985) that *D. melanogaster* lay more eggs on humid than on dry part of the substrate.

Another factor that might be involved in the site selection, is the colour, as there are many evidences in the *Diptera*, including *Drosophila*, indicate the preference for a certain colour. The first evidence was presented by Carfagna & Lancieri (1971), who declared that there is a cause-effect relationship between the extraretinal pigment and frequent oviposition on determined colour in *D. melanogaster*. Del Solar *et al.* (1974, 1976) found in a selection experiment that *D. melanogaster* females preferred coloured areas than non-coloured.

Anastrepha suspensa Loew (Diptera: Tephritidae) chose the coloured substrate in the choice experiment where coloured and non-coloured substrates were offered (Greany & Szentesi 1979). It has been seen also, that *D. radicum* prefers any coloured substrate (Roessingh & Städler 1990). Pittara & Katsoyannos 1992 observed that, in the laboratory, *C. australis*, preferred the yellow and orange coloured substrates.

As for the preference exhibited by *D. hydei* and *D. immigrans* to the flat and smooth substrate that is similar to the culture medium where they were cultivated; Del Solar & Ruiz (1979) noted that *D. melanogaster* females prefer to lay eggs on the area similar to that one where they had been reared in relation to colour and superficies. These species in the nature emerged frequently from apple (Videla *et al.* 1994).

With relation to non-choice experiment where all species laid eggs on raspberry as well as on apple, the following explanation could account for the results obtained. The insect will lay its eggs on a certain host when the stimulus received from the potential host plant exceeds some threshold since this threshold is variable and decreases as the search time increases and for that reason the insect will accept the less preferred host, although this will

affect development of the insect (Jaenike 1990 and references therein).

In this regards, it is necessary to take into consideration, on analysing such complicated behaviour, the multiple stimulus and not to overestimate one factor per se (Deither 1982).

PREFERENCE - PERFORMANCE RELATIONSHIP.

Only *D. melanogaster*; both females and males, showed positive relationship in the parameters used, development time as it took short time to the adult stage as well as the high viability. This could be principally explained by the fact that in raspberry, the feeding rate due to the liquid content of the fruit is so high and the insect has a fast search capacity (Burnet *et al.* 1977) and then getting the food more easily without spending more effort. Besides, *D. melanogaster* as a species, is known by its evolutionary history to decrease its body size in order to lessen as possible the mortality even if it encounters intraspecific conditions (Miller 1964). Many researchers had indicated that development time in drosophilids, depends principally on food consumed as insects need to reach the minimum size required during the third instar, before completing growth to become pupa (Robertson 1963; Miller 1964; Budnik 1977; Barker 1992). On the other hand, in the case of *D. immigrans*, this relationship is partially expressed by the relatively low mortality in apple in comparison to raspberry as might be explained by the insect large size. The other species, *D. hydei* and *D. subobscura*, failed to display this tendency. It is worthy to mention that this relation is not a direct consequence of plant-insect relationship, for example, Kearney (1983), found that *D. subobscura* although preferred *Rubus fruticosus* L. (blackberry) but relationship was observed partially in terms of body size which the present study did not measure.

This relationship range from positive (Singer 1983; Singer *et al.* 1988; Criage *et al.* 1989; Dodge *et al.* 1990; Ryoo & Cho 1992; Waddell & Mousseau 1996) to negative (Courtney 1981; Karban & Courtney 1988; Auerbach & Simberloff 1989; Fox & Lalonde 1993; Ahman & Lovgren 1995), as for example Larson and Strong (1992) had revealed that *Dasineura marginemtorquens* (Diptera: Cecidomyiidae) preferred oviposit on *Salix viminalis*, in spite of being resistant to the attack to the extent that at the sixth day of development, the insect survival was in the terms of just 6%.

Finally, it would be necessary to explain some of the ecological significance of oviposition behaviour showed by *D. subobscura* in the sense of implications that could be drawn about the insect process of colonisation which implicitly include the probable interactions with other species in terms of utilising food resources (including breeding sites) and consequences that might result from such interactions in the long run. The results presented here agree well with those observed in the nature, which indicate that as a new species, the insect is always seeking new sites not used by other, specially if we know that raspberry has been a recently introduced and cultivated in southern Chile. As Budnik & Brncic (1983) postulated that *D. subobscura*, being inferior in its competitive ability, and to avoid or escape the negative effects it should use new habitats in its new environment.

For example it was found in the wild native trees like *Berberis buxifolia*, *Maytenus magellanica*, *Embothrium coccineum* and various species of *Nothofagus*. So, the results of this study represent as far as it is concerned to the ecological implication of the insect behaviour, the first empirical findings supporting and confirming the above-mentioned hypothesis, and also confirm its poor competitive ability, since the development time, body size and viability as fitness components, were negatively affected in competition experiment with the established species in Chile in the culture medium experiments (Budnik & Cifuentes 1989, 1993) as well as in natural substrates (Alamiri 2000).

As a successful coloniser, the insect must be less adapted to the particular local environments of the territories, i.e., be able to occupy a contrasting climates where there may be an association between the level of chromosome polymorphism and ecological phenotypes. (Parsons 1982 and references therein). This is clearly evident as the insect had extended its distribution on 3000 km north-south gradient ranging from semi-arid zones to wet and cold zones (Budnik & Brncic 1982), beside other characters such as the rapid differentiation of its populations here in Chile as compared to the European populations which was proved by analysis of chromosomal and enzymatic polymorphism (Brncic *et al.* 1981; Brncic & Budnik 1987; Prevosti *et al.* 1985, 1987) and quantitative characters relevant to the microdifferentiation process, such as sexual isolation, i.e., interpopulation differences in mating (Brncic & Budnik 1984).

ACKNOWLEDGMENTS

I would like to thank Prof. Dolly Lanfranco from Universidad Austral de Chile, Instituto de Silvicultura and an anonymous reviewer for their constructive comments on an earlier draft of this paper.

BIBLIOGRAPHY

AHMAN, L. & L. LOVGREN. 1995. Host relationships of *Dasineura ingeris*, oviposition preference and juvenile survival on clones of *Salix viminalis*, other *Salix* species and hybrids. *Entomol. exp. appl.* 77:23-30.

ALAMIRI, Z. 2000. Preadult interactions between the colonizing *Drosophila subobscura* and the established species of *D. hydei*, *D. immigrans* and *D. melanogaster* in Chile using natural substrates. (in press).

ATKINSON, W.D. 1983. Gregarious oviposition in *D. melanogaster* is explained by surface texture. *Austral. J. Zol.* 31:925-929.

——— & B. SHORROCKS. 1981. Competition on a divided and ephemeral resource: a simulation model. *J. Anim. Ecol.* 50:461-471.

AUERBACH, M. & D. SIMBERLOFF. 1989. Oviposition site preference and larval mortality in a leaf-mining moth. *Ecol. Entomol.* 14:131-40.

BARKER, J.S.F. 1992. Genetic variation in cactophilic *Drosophila* for oviposition on natural yeast substrates. *Evolution* 46:1070-1083.

BRNCIC, D. & M. BUDNIK. 1980. Colonization of *Drosophila subobscura* Collin in Chile. *Drosophila Information Service* 55:20.

———. 1984. Experiments on sexual isolation between Chilean and European strains of *Drosophila subobscura*. *Experientia.* 40:1014-1016.

———. 1987. Chromosomal polymorphism in *Drosophila subobscura* at different elevations in central Chile. *Genetica.* 75:161-166.

———, A. PREVOSTI, M. BUDNIK, M. MONCLUS & J. OCAÑA. 1981. Colonization of *Drosophila subobscura* in Chile. 1. First population and cytogenetic studies. *Genetica* 56:3-9.

BUDNIK, M. 1977. Influencia de la constitucion genética, temperatura y competencia interespecifica sobre el desarrollo larval de *Drosophila pavani*. *Medio Ambiente* 2:22-34.

——— & D. BRNCIC. 1982. Colonización de *Drosophila subobscura* Collin en Chile. *Acta V Congr. Latinoam. Genetica.* 177-188.

——— & D. BRNCIC. 1983. Preadult competition between colonizing populations of *Drosophila subobscura* and established populations of *Drosophila simulans* in Chile. *Oecologia* 58:137-140.

——— & L. CIFUENTES. 1989. Larval interactions between a colonizing populations of *Drosophila subobscura* and their established species of *Drosophila* in

Chile. *Rev. Brasil.Genet.* 12:499-504.

——— & L. CIFUENTES. 1993. Effects of larval biotic products on preadult viability in European and Chilean stocks of *Drosophila subobscura*. *Evolución Biológica* 7:303-311.

BURDICK, A.B. 1954. New medium of reproductive quality stable at room temperature. *Drosophila Information Service* 28:170.

BURNET, B., D. SEWELL & M. BOS. 1977. Genetic analysis of larval feeding behavior in *Drosophila melanogaster*. *Genet. Res. Camb.* 30:149-161.

CARFAGNA, M. & M. LANCIERE. 1971. Colour vision and the choice of substrate during oviposition in *D. melanogaster*. *Biological Abstracts.* 55(39). 1979.

COURTNEY, S.P. 1981. Coevolution of Pierid butterflies and their Cruciferous foodplants iii. *Anthocharis cardamines* (L.) survival, development and oviposition on different hostplants. *Oecologia* 51:91-96.

CRUAG, T.P., J.K. ITAMI & P.W. PRICE. 1989a. A strong relationship between oviposition preference and larval performance in a shoot-galling sawfly. *Ecology* 70:1691-1699.

CHESS, K.F. & J.M. RINGO. 1985. Oviposition site selection by *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. *Evolution* 39:869-877.

DEGEN, TH. & E. STADLER. 1996. Influence of natural leaf shapes on oviposition in three phytophagous flies: a comparative study. *Entomol. Exp. Appl.* 80:97-100.

DEL SOLAR, E. & G. RUIZ. 1979. Behavior changes in *Drosophila melanogaster* in the choice of colored substrates for oviposition. *Boll. Zool.* 46:17-22.

———, A.M. GUIÓN & L. WALKER. 1974. Choice of coloured substrates for oviposition in *Drosophila melanogaster*. *Boll. Zool.* 41:258-260.

———, L. WALKER & A.M. GUIÓN. 1976. Elección del sitio de oviposición en substratos coloreados por diferentes mutantes de *D. melanogaster*. *Bol. Soc. Biol. (Concepción)* 50:5-14.

DETHIER, V.G. 1982. Mechanisms of host-plant recognition. *Entomol. Exp. Appl.* 31:49-56.

DODGE, K.L., P.W. PRICE, J. KETTUNEN & J. TAHVANAINEN. 1990. Preference and performance of the leaf beetle *Disonycha pluriligata* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Arizona and comparisons with beetles in Finland. *Environ. Entomol.* 19:905-910.

FOX, C.H. & J.L. LALONDE. 1993. Host confusion and the evolution of insect diet breadths. *Oikos* 67:577-581.

GREANY, P.D. & A. SZENTESI. 1979. Oviposition behavior of laboratory-reared and wild caribbean fruit flies (*Anastrepha suspensa*. Diptera: Tephritidae): ii. Selected physical influences. *Entomol. Exp. Appl.* 26:239-244.

GROSSFIELD, J. 1983. Non-sexual behavior of *Drosophila*. In: ASHBURNER, M. & T.R. WRIGHT (Eds.). *The genetics and biology of Drosophila* Academic Press. London. vol.2b. pp. 1-126.

HARRIS, M.O. & J.R. MILLER. 1984. Foliar form influences ovipositional behavior of the onion fly *Delia antiqua* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae).

- Physiological Entomology 9:145-155.
- JAENIKE, J. 1990. Host specialization in phytophagous insects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21:243-273.
- KARBAN, R. & S. COURTNEY. 1988. Intraspecific host plant choice: lack of consequence for *Streptanthus tortuosus* (Cruciferae) and *Euchloe hyanthis* (Lepidoptera: Pieridae). *Oikos* 48:243-248.
- KEARNEY, J.N. 1983. Selection and utilization of natural substrates as breeding sites by woodland *Drosophila* spp. *Entomol. Exp. Appl.* 33:63-70.
- LAKOVAARA, S. & A. SAURA. 1982. Evolution and speciation in the *Drosophila obscura* group. In: ASHBURNER, M., H.L. CARSON & J.N. THOMPSON, JR. (Eds.). *The genetics and biology of Drosophila*. Academic Press, London. vol. 3b pp. 2-60.
- LARSSON, S. & D.R. STRONG. 1992. Oviposition choice and larval survival of *Dasineura marginemtorques* (Diptera: Cecidomyiidae) on resistant and susceptible *Salix viminalis*. *Ecol. Entomol.* 17:227-232.
- MILLER, R. 1964. Larval competition in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Ecology* 45:132-148.
- PARSONS, P.A. 1982. Adaptive strategies of colonizing animal species. *Biol. Rev.* 57:117-148.
- PITTARA, I.S. & B.I. KATSOYANNOS. 1992. Effect of shape, size and color on selection of oviposition sites by *Chaetorellia australis*. *Entomol. Exp. Appl.* 6:105-113.
- PREVOSTI, A., G. RIBO, M.P. GARCÍA, E. SAGARRA, M. AGUADA, L. SERRA Y M. MONCLUS. 1982. Los polimorfismos cromosómicos y aloenzimáticos en las poblaciones de *D. subobscura* colonizadoras de Chile. *Actas v Congr. Latinoam. Genética* 189-197.
- , L. SERRA, G. RIBO, M. AGUADE, E. SAGARRA, M. MONCLUS & M.P. GARCÍA. 1985. The colonization of *D. subobscura* in Chile. II. Clines in the chromosomal arrangement. *Evolution*. 39:838-844.
- , M. MONCLUS, F. MESTRES, A. LATORRE, G. RIBO & E. AGUADE. 1987. Colonización de América por *D. subobscura*. *Evolución. Biológica*. 1:1-24.
- PROPHETOU-ATHANASIADOU, D., P.J. HODGSON, N. KOULOSSIS & T.H. JONES. 1993. Oviposition behavior of *D. subobscura* and its parasitoid *Ashobara tabida* in the laboratory. *Entomol. Exp. Appl.* 67:285-291.
- ROBERTSON, F.W. 1963. The ecological genetics of growth in *Drosophila*. *Genet. Res., Camb.* 4:72-92.
- ROESSINGH, P. & E. STÄDLER. 1990. Foliar form, colour and surface characteristics influence oviposition behavior in the cabbage root fly *Delia radicum*. *Entomol. Exp. Appl.* 57:93-100.
- RUIZ, G., G.B. BURNET & K. CONOLLY. 1994. Behavioural correlates of selection for oviposition by *Drosophila melanogaster* females in a patchy environment. *Heredity* 73:103-110.
- RYOO, M.I. & H.W. CHO. 1992. Feeding and oviposition preferences and demography of rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) reared on mixtures of brown, polished and rough rice. *Environ. Entomol.* 21:549-555.
- SINGER, M.C. 1983. Determinants of multiplehost use by a phytophagous populations. *Evolution* 37:389-403.
- , D. NG & C.D. THOMAS. 1988. Heritability of oviposition preference and its relationship to offspring performance within a single insect population. *Evolution* 42:977-985.
- SRIVASTAVA, T. & B.N. SINGH. 1993. Intraspecies variation with respect to oviposition site preference in certain Indian species of *Drosophila*. *Evolución Biológica* 7:193-205.
- SZENTESI, A.P., D. GREANY & L. CHAMBERS. 1979. Oviposition behavior of laboratory-reared and wild caribbean fruitflies (*Anasterpha suspensa*. Diptera: Tephritidae) 1. Selected chemical influence. *Entomol. Exp. Appl.* 26:227-238.
- VIDELA, S., G. RUIZ & N. KOHLER. 1994. Asociación de preadultos de *Drosophila* que habitan y emergen de frutas descompuestas en el sur de Chile. *Noticiero de Biología* 2:73.
- WADDELL, K.J. & T.A. MOUSSEAU. 1996. Oviposition preference hierarchy of *Brachys tessellatus*.F. (Coleoptera: Buprestidae). *Environ. Entomol.* 25:63-67.

Fecha de recepción: 27.11.1998
Fecha de aceptación: 15.05.2000

PREFERENCIA Y MANIPULACION FLORAL DE *CENTRIS RODOPHTHALMA* PEREZ (HYMENOPTERA: ANTHOPHORIDAE)*

FLORAL PREFERENCE AND MANIPULATION OF *CENTRIS RODOPHTHALMA PEREZ* (HYMENOPTERA: ANTHOPHORIDAE)

Elizabeth Chiappa¹, Sharon Rodríguez² & Rossana Bascuñán¹

RESUMEN

Se estudió la manipulación y preferencia floral de *Centris rodophthalma* Pérez en 3 localidades de la IV Región de Chile, caracterizadas, principalmente, por representantes de la familia Fabaceae y condiciones ambientales estrictas que reducen el rango de recursos disponibles para la abeja. Se estimó la influencia de factores florales de 6 especies de plantas en la preferencia de *C. rodophthalma*, con el objeto de determinar el grado de correspondencia entre la morfología de la abeja y la elección de la flor, considerando: longitud de la lengua de la abeja; tamaño, diseño, color y estructura de la flor; profundidad de la corola; capacidad volumétrica de nectarios y medida del ángulo formado entre nectario y resto del estandarte. De estas variables, sólo las diferencias que muestra el ángulo formado entre nectario y resto del pétalo permiten discriminar entre las flores, dificultando la llegada de la lengua de la abeja al nectario, lo que podría determinar la elección floral de *C. rodophthalma*. Además se describe la manipulación de la flor por *C. rodophthalma* cuando va por polen o sólo por néctar.

PALABRAS CLAVES: *Centris*, Fabaceae, interacción insecto-planta, Chile.

INTRODUCCION

Abundante literatura y ejemplos bien documentados proponen que factores fisiológicos

ABSTRACT

In three localities of the IV Region of Chile a study on floral preference of *C. rodophthalma* was carried out. At each area, a striking feature was the stricts weather conditions and the dominance of few species of Fabaceae, that reduce the resources available to the bee.

To know the influence on the bee of floral morphological characters of 6 species of plants, the tongue's length and depth of flowers were correlated. Also, the size and structure of the flowers, nectar volume and the angle shaped between the nectaries and the rest of the petal, were measured. The results indicated that the angle is the only one that permit to explain the floral preference of *C. rodophthalma*, because of the difficulty to reach the nectar and, in spite that *C. rodophthalma* is a long-tongued bee.

In addition, the flower manipulation for nectar or pollen by the bee and pollen in brood cells are described.

KEYWORDS: *Centris*, Fabaceae, insect-plant interaction, Chile.

juegan un importante papel en la determinación de respuestas de insectos a señales asociadas con tipos particulares de recursos (Bell 1991; Barton 1993). En forma diferente, el papel de la morfología ha sido cuestionado como causa de mecanismos funcionales o reflejo de patrones ecológicos, más aún, se ha dudado de la utilidad de la morfología como indicador ecológico (Wiens & Rotenberry 1980). Sin embargo, se ha presentado evidencias de partición de recursos como producto de diferencias estructurales, las que determinarían eficiencias en el forrajeo (Schoener 1974, 1979).

*Financiado por Proyecto FONDECYT 1971141

¹Facultad de Ciencias, U. de Playa Ancha, Casilla 34-V, Valparaíso, Chile. E-mail: echiappa@upa.cl

²Instituto de Biología, U. Católica de Valparaíso, Casilla 4059, Valparaíso, Chile. E-mail: srodrigu@ucv.cl

Debido al papel fundamental en la alimentación de las abejas, la probóscide aparece como la estructura más obvia que podría afectar la elección de flor, en particular, la longitud de la glosa determina la profundidad desde la cual una abeja puede obtener néctar. El tiempo de manipulación por flor y la eficiencia en la extracción de néctar son función de la longitud de la probóscide en relación a la longitud de la corola (Harder 1983), por lo que correlaciones entre tales rasgos morfológicos han sido frecuentemente registradas (Heinrich 1976; Inouye 1980; Johnson 1986). Por lo demás, el análisis de un carácter en forma aislada no permitiría discriminar entre abejas ni explicaría el uso de diferentes especies de plantas, por lo que debiera estudiarse la interacción entre varios caracteres morfológicos que estarían afectando el uso de un recurso particular (Harder 1985).

El presente trabajo se realizó en la IV Región de Chile, en el marco del estudio de la conducta de forrajeo de *Centris rodophthalma* Pérez, planteando la importancia de ciertos rasgos morfológicos de las flores como determinantes de la elección floral de la abeja. Debido a que *C. rodophthalma* restringe sus visitas a un pequeño número de plantas, (principalmente especies del género *Adesmia* en la zona de estudio), se presenta como una especie útil para examinar la relación entre características morfológicas de esta abeja y las plantas que visita.

Con el objetivo de determinar el grado de correspondencia entre la morfología de la abeja y la elección de flor, se consideraron las siguientes variables: longitud de la lengua de la abeja, tamaño, color, diseño y estructura de la flor, profundidad de la corola, capacidad volumétrica de nectarios y medida del ángulo formado entre el nectario y el resto del estandarte.

METODOLOGIA

El estudio se llevó a cabo en 3 localidades de la IV Región del país, Varillar (29°55'31"S; 70°32'00"W), Andacollito (30°01'06"S; 70°36'28"W) y Hurtado (30°09'07"S; 70°40'06"W), durante los meses de septiembre y octubre de 1999.

Cada uno de estos sitios se caracterizó por la presencia de diferentes representantes de la familia Fabaceae visitadas por *C. rodophthalma*:

Adesmia glutinosa Hook & Arn. y *Geoffroea decorticans* (Gill. ex Hook. et Arn.) Burk. en Varillar; *A. pedicellata* Hook & Arn. en Andacollito; *A. monosperma* Clos., *A. pedicellata* Hook & Arn., más una Lamiaceae, *Stachys albicaulis* Lindl., en Hurtado. Además en Varillar y Hurtado se encontró *A. argentea* Meyen, que no era visitada por la abeja y se usó como control.

En 20 hembras y 20 machos de *C. rodophthalma*, recién muertos, fue medido el largo total desde la base del mentón al extremo de la glosa, ancho máximo del mentón, el largo de la glosa y su ancho máximo en la base, con pie de metro digital (precisión 0.3 mm).

Se analizó la estructura floral, el color y diseño de las flores de las especies visitadas y la no visitada y se midió el largo (l) y ancho máximo (a) de la flor para obtener una proporción del tamaño entre el largo y el ancho máximos (l/a).

Se midió la longitud de estandarte y nectario de 20 flores de 2 especies visitadas frecuentemente por la abeja: *A. glutinosa* y *A. pedicellata*; 3 especies menos visitadas por *C. rodophthalma* en las áreas de estudio: *A. monosperma*, *Geoffroea decorticans* y *Stachys albicaulis* y 1 especie no visitada por la abeja, *A. argentea*. De estas mismas flores se midió el ángulo formado entre nectario y resto del estandarte.

Se hizo un análisis de correlación entre la longitud de las lenguas de *C. rodophthalma* y la profundidad de las corolas de las plantas visitadas y la no visitada por la abeja.

En terreno, se midió la capacidad volumétrica de los nectarios de 20 ejemplares de las distintas especies analizadas, con micropipeta Chempette (Digital Micropipettor 1-5 μ) durante 3 días, entre 10 y 18 horas, cada 2 horas, mientras los insectos fueron excluidos de las flores.

Para corroborar la preferencia floral, el polen de flores de *A. glutinosa* (Johnson 1984; da Silveira 1991) fue fotografiado desde un microscopio Leitz utilizando un aumento de 160x y aceite de inmersión, para comparar con polen obtenido desde celdillas de *C. rodophthalma* (nido de la localidad de Varillar) y, de ese modo, estimar el porcentaje de polen de *Adesmia* presente en la celdilla, en relación a otros tipos de polen. A través del área del campo visual del microscopio, se contabilizó el número de granos de polen de *A. glutinosa* y el número total de

granos de polen de otras especies de plantas (que no fueron determinados específicamente).

En terreno se realizaron observaciones sobre la manipulación de la abeja sobre la flor: a) cuando iba sólo por polen y b) cuando iba sólo por néctar.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las zonas de estudio *C. rodophthalma* se manifestó con tendencia oligoléctica y clara preferencia en las visitas a un pequeño número de especies vegetales de la familia Fabaceae, y aunque había una abundante flora acompañante en cada uno de los sitios, visitó particularmente *A. glutinosa* en la localidad de Varillar y *A. pedicellata* en Andacollito y Hurtado (Tabla I). La flora de cada uno de los sitios se detalla en un trabajo sobre nidificación de la especie.

Al examinar el polen que las hembras trasladan a las celdillas para alimentar las larvas (nido de la localidad de Varillar), se obtuvo como resultado la presencia de un 50% de polen de *A. glutinosa* versus un 50% con la suma del resto de tipos de polen, corroborando la preferencia por esa planta en Varillar.

Muy poco frecuentes fueron las visitas a *Geoffroea decorticans* en Varillar y *A. monosperma* y *Stachys albicaulis* en Hurtado. Estas observaciones concuerdan con Toro *et al.* (1993) y Arroyo *et al.* (1983), quienes describen estrechas relaciones insecto-planta en zonas de alta selectividad por condiciones ambientales estrictas, un evidente ajuste entre períodos de floración y actividad de los insectos asociados y restricciones en el rango de los recursos, tanto para abejas como para plantas.

Las Fabaceae se caracterizan por una flor papilionada en la que órganos sexuales y néctar se encuentran notoriamente protegidos por pétalos modificados, con un alto grado de ajuste en su asociación con insectos que la visitan por néctar y polen, los que deben enfrentarse a más de una barrera para obtener recompensas. En relación a este ajuste, fueron observadas conductas diferentes en *C. rodophthalma* de acuerdo al tipo de recurso explotado en *Adesmia*: en la colecta de polen (Fig. 1a), las hembras se posan en la quilla y manipulan activamente las estructuras florales, colocando las patas dentro de la flor; en cambio, al ir por néctar tanto machos como hembras asumen una posición

menos estrecha con la flor, abriendo la quilla con el propio peso y dejando las patas posteriores fuera de la flor mientras se alimentan (Fig. 1b). Estas observaciones concuerdan con lo afirmado por Westerkamp (1998), al otorgar un carácter pasivo a la relación abeja-flor papilionada cuando forrajea por néctar, y asumir una conducta más activa al visitar las flores por polen. Estas diferentes conductas, probablemente, tienen importancia en la polinización de la planta, puesto que representan vínculos más o menos estrechos con la flor, los que determinan mayor o menor contacto con los estambres, con el consecuente transporte de polen de una planta a otra.

La longitud de la lengua fue correlacionada positivamente con la profundidad de corola de todas las especies de plantas (Tabla II), por lo que no indica niveles de importancia en cuanto a selección del recurso. Tampoco el tamaño de las flores con rangos semejantes (Tabla III), ni la capacidad volumétrica de los nectarios permitió discriminar entre especies, puesto que las flores visitadas y la no visitada registraron volúmenes semejantes (0.2 - 0.4 μm^3). El color y el diseño de las flores no son variables discriminatorias, puesto que la flor no visitada es muy semejante respecto a esos caracteres con las especies más frecuentadas.

En la figura 2 se muestran las diferencias importantes que fueron registradas en relación al ángulo en que se dispone el nectario respecto del resto del estandarte en las especies estudiadas. Para las flores visitadas se registró un ángulo promedio de 160° entre nectario y extremo superior del estandarte (Fig. 2 a, b, c, e, f), en cambio para *A. argentea* (Fig. 2d), especie no visitada, se obtuvo un ángulo de 120° que, prácticamente, oculta el nectario bajo el resto del pétalo, dificultando el acceso de la probóscide de *C. rodophthalma*, a pesar de su gran longitud.

CONCLUSIONES

Estas observaciones señalan que la disposición y acceso al nectario son altamente relevantes en la preferencia floral de la abeja, determinando la elección de forrajeo de *C. rodophthalma* en nuestra zona de estudio, sobre *A. glutinosa*, *A. pedicellata*, *A. monosperma*, *G.*

decorticans y *S. albicaulis*, que comparten características morfológicas similares.

Las barreras morfológicas de este tipo presentan gran importancia en la medida que deben ser superadas por los insectos para poder obtener recompensas de las plantas y demuestran que la información de la preferencia floral no puede ser obtenida, simplemente, a través de una lista de flores visitadas por una especie de insecto en particular.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen enormemente al Dr. Emilio A. Ulibarri del Instituto de Botánica Darwinion de Buenos Aires, Argentina, quien estuvo siempre dispuesto a determinar las especies de *Adesmia*. Agradecemos, además, a dos correctores anónimos que mejoraron el manuscrito con valiosas sugerencias.

BIBLIOGRAFIA

ARROYO, M.T.K., J. ARMESTO Y R. PRIMACK. 1983. Tendencias altitudinales y latitudinales en mecanismos de polinización en la zona andina de los Andes templados de Sudamérica. *Revista Chilena de Historia Natural* 56:159-180.

BARTON, L. 1993. Physiologically induced changes in resource-oriented behavior. *Annual Review of Entomology* 38:1-25.

BELL, W.J. 1991. Searching behaviour: the behavioural ecology of finding resources. Chapman & Hall,

Londres, 358 pp.

DA SILVEIRA, F.A. 1991. Influence of pollen grain volume on the estimation of the relative importance of its source to bees. *Apidologie* 22:495-502.

HARDER, L.D. 1983. Flower handling efficiency of bumble bees: morphological aspects of probing time. *Oecologia* 57:274-280.

HARDER, L.D. 1985. Morphology as predictor of flower choice by bumble bees. *Ecology* 66: 198-210.

HEINRICH, B. 1976. Resource partitioning among some eusocial insects: bumblebees. *Ecology* 57:874-889.

INOUE, D.W. 1980. The effect of proboscis and corolla tube lengths on patterns and rates of flower visitation by bumble bees. *Oecologia* 45:197-201.

JOHNSON, M.D. 1984. The pollen preferences of *Andrena (Melandrena) dunningi* Cockerell (Hymenoptera: Andrenidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 51:34-43.

JOHNSON, R.A. 1986. Intraspecific resource partitioning in the bumble bee *Bombus ternarius* and *B. pennsylvanicus*. *Ecology* 67:133-138.

SCHOENER, T.W. 1974. Resource partitioning in ecological communities. *Science* 185:27-39.

SCHOENER, T.W. 1979. Generality of the size distance relation in models of optimal feeding. *American Naturalist* 114:902-914.

TORO, H., E. CHIAPPA, R. COVARRUBIAS Y R. VILLASEÑOR. 1993. Interrelaciones de polinización en zonas áridas de Chile. *Acta Entomológica Chilena* 18: 19-30.

WESTERKAMP, C. 1998. Bee flowers with adaptations against bees: the keel blossoms. III *Anais do Encontro sobre Abelhas*. Ribeirao Preto, SP, Brasil.

WIENS, J.A. & J.T. ROTENBERRY. 1980. Patterns of morphology and ecology in grassland and shrubsteppe bird populations. *Ecological Monographs* 50:287-308.

TABLA I. Número de visitas diarias de *C. rodophthalma* a especies de plantas de tres localidades estudiadas.

TABLE I. Number of visits per day by *C. rodophthalma* to plant species at study sites.

Especies de plantas	N° de flores visitadas por <i>Centris</i> en un día			N° de arbustos Observados
	Andacollito	Hurtado	Varillar	
<i>Adesmia argentea</i>	0	0	0	2
<i>Adesmia glutinosa</i>	0	0	1051	4
<i>Adesmia monosperma</i>	0	100	0	6
<i>Adesmia pedicellata</i>	320	978	0	6
<i>Geoffroea decorticans</i>	0	0	2	1
<i>Stachys albicaulis</i>	0	3	0	2

TABLA II. Análisis de correlación entre longitud de probóscide de *C. rodophthalma* y profundidad de corolas de plantas presentes en área de forrajeo.

Table II. Correlations between length of proboscis in *C. rodophthalma* and corolla depth of plants present at study sites.

Especie de planta	Longitud de probóscide versus a y b	
	a) estandarte + nectario	b) sólo nectario
<i>A. argentea</i>	0.935	0.983
<i>A. glutinosa</i>	0.985	0.963
<i>A. monosperma</i>	0.971	0.968
<i>A. pedicellata</i>	0.978	0.952
<i>G. decorticans</i>	0.898	0.974
<i>S. albicaulis</i>	0.988	0.983

TABLA III. Rango y largo/ancho promedio, en mm, representando el tamaño de las flores estudiadas.

TABLE III. Length/width for flowers of study species (mean and range).

Especie de planta	Rango l/a	X l/a
<i>A. argentea</i>	1.2 - 2.0	1.47
<i>A. glutinosa</i>	1.7 - 2.4	2.02
<i>A. monosperma</i>	2.5 - 3.2	3.02
<i>A. pedicellata</i>	1.3 - 1.9	1.62
<i>G. decorticans</i>	1.2 - 2.2	1.50
<i>S. albicaulis</i>	2.2 - 3.3	2.78

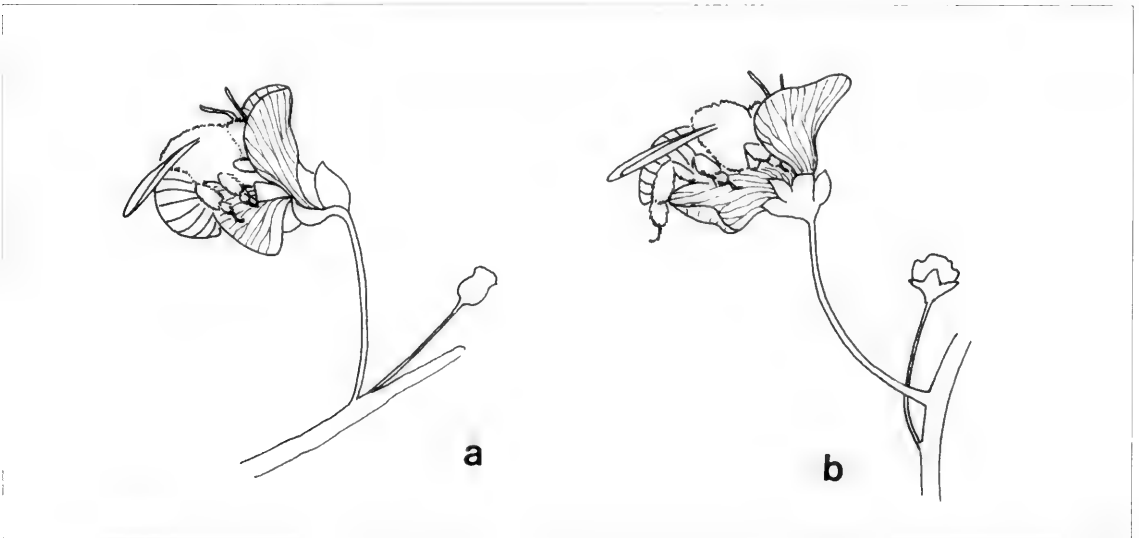


FIGURA 1. Se puede observar a *C. rodophthalma* en la flor de *Adesmia* con posiciones características cuando: a) con los 3 pares de patas dentro de la flor cuando va por polen; b) con el tercer par de patas colgando fuera de la flor cuando va por néctar.

FIGURE 1. *C. rodophthalma* visiting *Adesmia* flower, showing characteristic positions when (a) extracting pollen, with all three pairs of legs inside flower, and (b) extracting nectar, with the third pair hanging out of the flower.

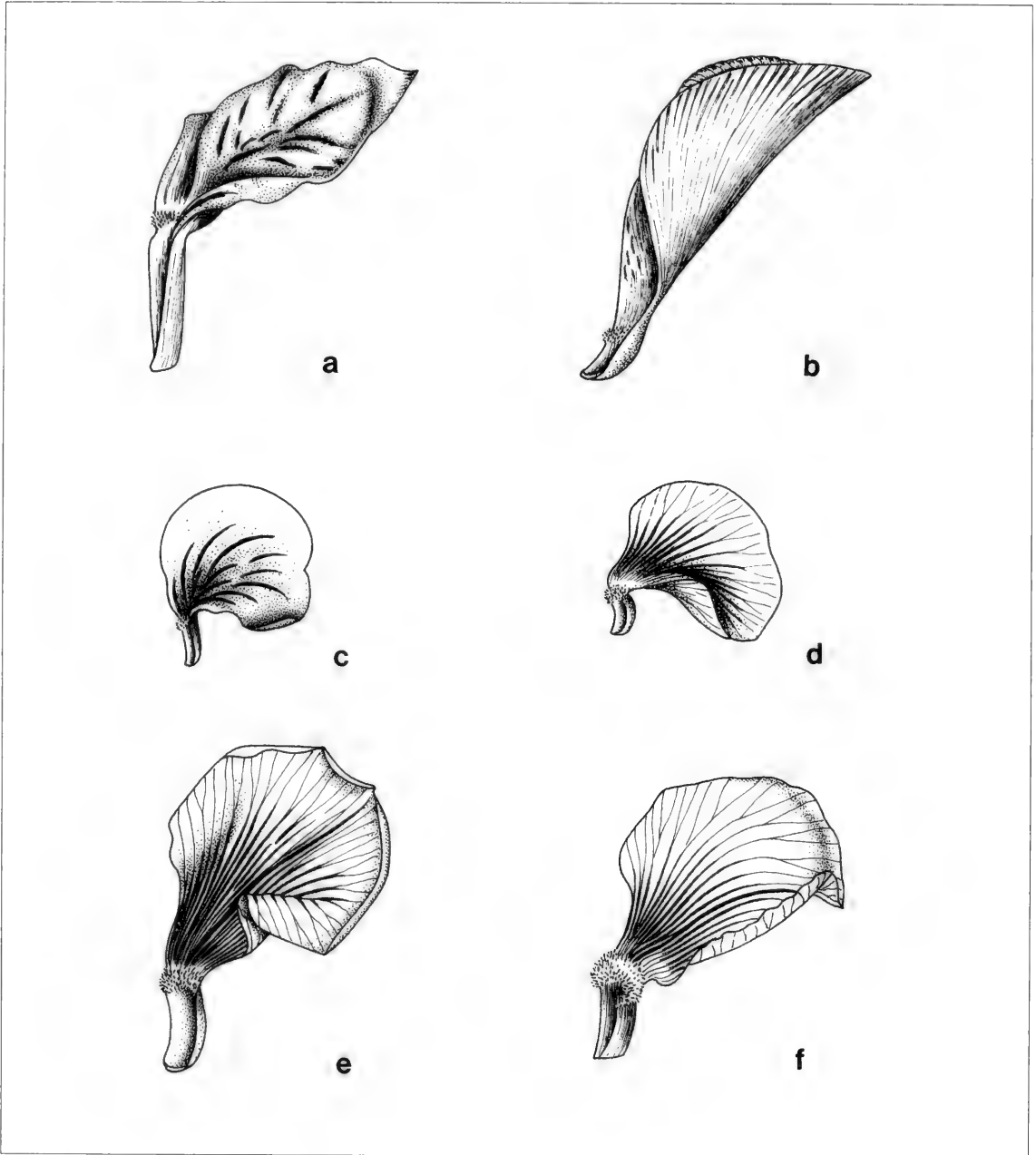


FIGURA 2. Vista lateral del estandarte y los nectarios de las flores estudiadas, donde se puede observar el ángulo que se forma, especialmente agudo en *A. argentea* (d). a) *Stachys albicaulis*; b) *Adesmia monosperma*; c) *Geoffroea decorticans*; d) *A. argentea*; e) *A. pedicellata*; f) *A. glutinosa*.

FIGURE 2. Lateral view of the nectares and banner of the studied flowers, where it can be appreciated the acute angle formed in *A. argentea* (d). a) *Stachys albicaulis*; b) *Adesmia monosperma*; c) *Geoffroea decorticans*; d) *A. argentea*; e) *A. pedicellata*; f) *A. glutinosa*.

Fecha de recepción: 06.03.2000
Fecha de aceptación: 07.08.2000

CUATRO ENSAYOS ECOTOXICOLÓGICOS PARA EVALUAR LINDANO Y CLORPIRIFOS

FOUR ECOTOXICOLOGICAL ASSAYS TO EVALUATE LINDANE AND CHLORPYRIFOS

José Iannacone*, Lorena Alvarino*, Cecilia Caballero* y Javier Sánchez*

RESUMEN

La evaluación de riesgos ambientales por productos fitosanitarios es un componente de importancia en los estudios de impacto ambiental en el sector agrícola. Se evaluó la ecotoxicidad de los plaguicidas de suelo, lindano y clorpirifos, sobre la mortalidad del oligoqueto *Limnodrilus hoffmeisteri* (CL₅₀ 24h) y tres plantas, en las cuales se observaron los siguientes efectos subletales: germinación en *Lactuca sativa* (CI₉₀ 96h), crecimiento de raíz en *Lycopersicon esculentum* (CI₅₀ 96h) y clorosis, necrosis, ruptura y formación de hojas nuevas en la lenteja de agua, *Lemna minor* (CE₅₀ 48h). En ambos agroquímicos se observó en general el siguiente orden de ecotoxicidad decreciente: *Lycopersicon* > *Lemna* > *Lactuca* > *Limnodrilus*. En los tres ensayos con plantas se observó una mayor toxicidad del organofosforado clorpirifos. Se analizan las perspectivas de empleo, en el Perú, de estas herramientas ecotoxicológicas para la evaluación de riesgos ambientales por productos fitosanitarios.

PALABRAS CLAVES: Ensayo ecotoxicológico, evaluación de riesgos ambientales, agroquímico, lindano, clorpirifos, *Limnodrilus*, *Lemna*, *Lycopersicon*, *Lactuca*.

INTRODUCCION

Cada año se aplican globalmente aproximadamente tres millones de toneladas de plaguicidas para el control de plagas (Pimentel 1998). Algunos químicos agrícolas persistentes, con un elevado

*Laboratorio de Ecofisiología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima- Perú. Calle San Marcos 383, Pueblo Libre, Lima 21- Perú. Telefax: 0514600930. E-mail: joselorena@terra.com.pe

ABSTRACT

The environmental risk assessments of phytosanitary products is a main subject in the studies of the impact assessment in the agriculture areas. The ecotoxicity of the soil pesticides lindane and chlorpyrifos was performed with: the mortality in tubifids worm *Limnodrilus hoffmeisteri* (LC₅₀ 24h) and in three plants: seed germination assay in *Lactuca sativa* (IC₉₀ 96h), root elongation assay in *Lycopersicon esculentum* (IC₅₀ 96h) and the duckweed test in *Lemna minor* (EC₅₀ 48h) (chlorosis, necrosis, colony breakup and new fronds increased) sublethal effects were analyzed. Both agrochemistries in general showed a decrease order of ecotoxicity: *Lycopersicon* > *Lemna* > *Lactuca* > *Limnodrilus*. In the three plant bioassays were seen a high toxicity to the organophosphate chlorpyrifos. The perspectives of use of these phytosanitary products in Perú, was analyzed for environmental risk assessment.

KEYWORDS: Ecotoxicological assay, environmental risk assessment, agrochemistry, lindane, chlorpyrifos, *Limnodrilus*, *Lemna*, *Lycopersicon*, *Lactuca*.

coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}), alcanzan los cuerpos de agua y son transportados a todos los niveles tróficos (Heckman 1982).

Una gran cantidad de literatura concerniente a contaminación accidental de cursos de agua con plaguicidas muestra la predominancia de reportes relacionados con vertebrados, sin embargo, es escasa la información disponible relacionada con los efectos sobre los organismos no destinatarios, es decir, que no son objetivos del control químico, como la fauna de invertebrados, las macrófitas acuáticas y las plantas terrestres (Kime 1996).

El plaguicida organoclorado lindano y el organofosforado clorpirifos afectan a las comunidades biológicas planctónicas, como los copépodos y cladóceros, y a las comunidades bentónicas acuáticas y del suelo que no son destinatarios del control químico (Racke 1992; Van Wijk & Hutchinson 1995; Barron & Woodburn 1995; Fliedner & Klein 1996; Iannacone & Gutiérrez 1999).

En Perú, la Resolución Ministerial N° 15-95-AG para el registro, comercialización y control de plaguicidas y sustancias afines indica en su artículo 21 inciso f, que para el registro de un plaguicida se requieren ensayos de toxicidad biológica en organismos acuáticos y terrestres (SENASA 1995).

En Perú, el lindano presenta registro para ocho productos comerciales y el clorpirifos igualmente para 27 (SENASA 1995). Ambos agroquímicos son usados principalmente en el control de plagas del suelo y se encuentran entre los cinco plaguicidas de mayor uso en Perú durante 1996 a 1998 (De la Rosa, Alicia, comunicación personal). En los últimos diez años, el clorpirifos cada vez se está empleando más en sanidad vegetal y está reemplazando en su uso al lindano.

Por estas razones, es importante determinar el nivel de riesgo ambiental de los plaguicidas lindano y clorpirifos sobre diversos representantes del ecosistema epicontinental acuático y del ambiente terrestre utilizando bioensayos ecotoxicológicos (Calleja *et al.* 1994; Fliedner & Klein 1996; Iannacone & Gutiérrez 1999). Entre ellos el oligoqueto dulce-acuícola bentónico *Limnodrilus hoffmeisteri*, conocido por ser muy resistente a la contaminación por metales pesados (Brkovic-Popovic & Popovic 1977; Lucan-Bouché *et al.* 1999), las semillas de las plantas terrestres *Lactuca sativa* (lechuga) y *Lycopersicon esculentum* (tomate), especies representativas de los agroecosistemas hortícolas y con la macrófita acuática *Lemna minor* (lenteja de agua), especie usada frecuentemente para remover sólidos suspendidos, nutrientes y metales pesados de cuerpos de agua contaminados (Wang 1990, 1991; Lewis 1995; Arambasic *et al.* 1995). Sin embargo, el efecto de los plaguicidas lindano y clorpirifos sobre estas cuatro especies no es bien conocido (WHO 1991; Racke 1992).

La determinación de algunos aspectos de la ecotoxicidad del lindano y clorpirifos empleando bioensayos sencillos y prácticos para catalogar toxicológicamente muestras ambientales contaminadas por plaguicidas contribuirá, en Perú, a tomar medidas para disminuir la problemática del uso de agroquímicos (Bodestein 1972; Kendall 1992).

Los objetivos específicos planteados en la presente investigación fueron determinar la toxicidad del lindano y clorpirifos sobre la mortalidad del invertebrado *Limnodrilus hoffmeisteri* (CL₅₀ 24h) y tres plantas, en las cuales se observaron los siguientes efectos subletales: ensayo de germinación en *Lactuca sativa* (CI₅₀ 96h), crecimiento de raíz en *Lycopersicon esculentum* (CI₅₀ 96h) y el ensayo con lenteja de agua, *Lemna minor* (CE₅₀ 48h) (clorosis, necrosis, ruptura y formación de hojas nuevas).

MATERIALES Y METODOS

Limnodrilus hoffmeisteri

Las formas juveniles del oligoqueto tubificido, *Limnodrilus hoffmeisteri*, se obtuvieron de cultivos masivos de los acuarios "Cleo" – Lima-Perú. La especie fue identificada a nivel del estadio adulto usando las ilustraciones de Streble & Krauter (1987). *L. hoffmeisteri* se crió masivamente en el laboratorio en placas petri grandes de 20 cm x 20 mm en un medio a base de hojas de cereal@ (Cereal Leaves), siguiendo la metodología descrita por APHA (1995), con el fin de obtener juveniles con tallas menores de 20 mm, por su mayor sensibilidad, siguiendo las recomendaciones de Fargasova (1994) para otro oligoqueto *Tubifex tubifex*. El agua usada para el ensayo biológico consistió en un medio con agua desionizada y una solución amortiguadora fosfato a pH 7. Las pruebas ecotoxicológicas con los oligoquetos se realizaron con cohortes de 240 especímenes de *L. hoffmeisteri* de 20 ± 2 mm de longitud que se obtuvieron del envase de cultivo masivo y se realizaron bajo condiciones de oscuridad para evitar el efecto de fotólisis (Calow 1993). Las lecturas se realizaron en placas de petri de 100 x 15 mm en ensayos estáticos a 24 h de exposición. El indicador de la prueba de mortalidad fue la inmovilización de los especímenes al ser pinchados con un alfiler entomológico, durante 10 segundos de observación bajo la acción del microscopio estereoscópico, según el criterio estándar propuesto por Fargasova (1994).

Lactuca sativa y *Lycopersicon esculentum*

Las semillas de *Lactuca sativa* y *Lycopersicon esculentum* fueron obtenidas en sobres de 500 semillas de la Feria Agropecuaria de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima-Perú. Las semillas de *L. sativa* variedad Capitata y *L. esculentum* variedad Rio Grande, antes de su empleo

en ensayos ecotoxicológicos fueron mantenidas en condiciones de oscuridad y a temperaturas de 6°C para inhibir su germinación y mantener su fertilidad, según el criterio propuesto por Wang (1991). Se descartaron las semillas dañadas y se utilizaron las de un mismo lote y tamaño. Para la desinfección de las semillas, se realizó un pretratamiento con una solución de lejía Clorox® diluida al 3,33 g OCl₂/L, 20 min (APHA 1995). *L. sativa* y *L. esculentum* se evaluaron en bioensayos estáticos utilizando un total de 5 semillas/envase, con cuatro repeticiones. El agua utilizada para los ensayos biológicos consistió en una solución hidropónica con las características descritas en la Tabla I. La prueba fue realizada bajo condiciones de oscuridad. Los envases de experimentación utilizados fueron placas de petri de 100 x 15 mm con papel filtro Whatman #1. Se agregaron 5 ml del plaguicida/envase. La duración de la prueba fue de 96 h. Los indicadores para el control fueron la germinación de semilla con crecimiento de radícula de 5 mm o más.

Lemna minor

La lenteja de agua *Lemna minor* se colectó de la laguna terciaria de 1 ha de la Planta de Aguas Residuales domésticas de San Juan de Miraflores, ubicado a 14 km al sur del departamento de Lima-Perú. En esta agua se determinaron los niveles de metales pesados, encontrándose en todos los casos valores muy por debajo de los límites máximos

permisibles de la legislación peruana vigente (Ley 17752). La lenteja de agua *L. minor* se crió masivamente durante dos semanas antes del inicio de la prueba (Wang & Williams 1990), en un acuario de 60 cm largo x 30 cm de ancho x 30 cm de alto con sales nutritivas, según recomendaciones de APHA (1995). Para 10 L de la solución de cultivo de "lentejas de agua" en agua destilada se prepararon las soluciones nutritivas A, B y C (Tabla I). Se agregó 1 ml de cada solución madre a 100 ml de agua desionizada. Posteriormente se ajustó el pH entre 7,7 a 8,0. En el acuario se usó una profundidad del agua mayor de 60 mm y se proveyó de un fluorescente de luz blanca de 4300 lux. La temperatura para las crías se mantuvo a 28 ± 1°C (Taraldsen & Norberg-King 1990).

La lenteja de agua *L. minor* se evaluó en bioensayos semiestáticos utilizando un total de 12 especímenes/envase, con cuatro repeticiones. Los especímenes utilizados contenían dos hojitas de aproximadamente el mismo tamaño. Las pruebas se realizaron bajo condiciones de luz continua de 4300 lux. Los envases de experimentación utilizados fueron vasos de vidrio de 80 x 50 mm. Se agregaron 25 ml del plaguicida/envase disuelto en solución nutritiva. La duración de la prueba fue de 48 h. Las lecturas finales de los cuatro efectos subletales, que incluían formación de hojitas nuevas, clorosis (50% de pérdida de pigmento), necrosis (50% de tejido muerto) y ruptura de colonias, fueron realizadas bajo el microscopio estereoscópico a 4x de aumento para la evaluación de síntomas.

TABLA I. Componentes de la solución nutritiva para el cultivo de *Lemna minor* y los bioensayos de las semillas terrestres con las plantas estudiadas.

TABLE I. Compounds of nutritive solution for culture *Lemna minor* and terrestrial seeds bioassays with the plants studied.

Solución	Concentración de la Solución Stock	Elemento Final	Concentración
NaNO ₃	25,5 g/L	N	42,0 mg/L
NaHCO ₃	15,0 g/L	Na	110,0 mg/L
K ₂ HPO ₄	1,04 g/L	K	4,69 mg/L
		P	1,86 mg/L
CaCl ₂ ·2H ₂ O	4,41 g/L	Ca	12,0 mg/L
MgCl ₂	5,7 g/L	Mg	29,0 mg/L
FeCl ₃	0,096 g/L	Fe	0,33 mg/L
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0,3 g/L		
MnCl ₂	0,264 g/L	Mn	1,15 mg/L
MgSO ₄ ·7H ₂ O	14,7 g/L	Si	9,1 mg/L
H ₃ BO ₃	0,186 g/L	B	325 µg/L
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	7,26 mg/L	Mo	28,8 µg/L
ZnCl ₂	3,27 mg/L	Zn	15,7 µg/L
CoCl ₂	0,78 mg/L	Co	3,54 µg/L
CuCl ₂	0,009 mg/L	Cu	0,04 µg/L

FÍSICO-QUÍMICA DEL AGUA

El oxígeno disuelto se determinó usando el método Winkler al inicio del ensayo (APHA 1989) y los valores pH se midieron en dos réplicas al inicio del ensayo, estandarizándose a $7 \pm 0,5$. Los bioensayos se realizaron a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

SUSTANCIAS QUÍMICAS

Los plaguicidas empleados fueron lindano 1,5% P (Kuro wañuchi[®]) y clorpirifos 2,5 PS (Lorsban[®]). El lindano presentó las siguientes propiedades fisicoquímicas (solubilidad en agua= 7300 µg/L a 25°C; presión de vapor= 5,6 mPa a 20°C; tiempo de vida media en el suelo= 15 meses; $\log K_{ow} = 4,82$; $\log K_{oc} = 2,96$) y lo mismo para el caso del clorpirifos (solubilidad en agua= 2000 µg/L a 25°C; presión de vapor= 2,5 mPa a 20°C; tiempo de vida media en el suelo= 12 meses; $\log K_{ow} = 4,99$; $\log K_{oc} = 4,13$). Las dos sustancias químicas se disolvieron al 1% en agua desionizada (pH= 7,12; conductividad específica= 70 µmhos/cm), usando como solvente acetona al 99%, grado analítico (0,5% v/v) (Calleja & Persoone 1993). Para todos los bioensayos se incluyó una concentración con la máxima cantidad de acetona empleada. En el caso de *L. hoffmeisteri* para el ensayo definitivo con lindano se emplearon las siguientes concentraciones 150 µg/L, 300 µg/L, 600 µg/L, 1200 µg/L y 2500 µg/L y para el clorpirifos 50 µg/L, 100 µg/L, 500 µg/L y 1250 µg/L y 2500 µg/L. Para el ensayo definitivo con lindano con ambas semillas terrestres, se emplearon las siguientes concentraciones 25 µg/L, 250 µg/L y 2500 µg/L y para el clorpirifos 15 µg/L, 150 µg/L y 1500 µg/L. Finalmente, en el bioensayo con *L. minor* para el lindano, se emplearon las siguientes concentraciones definitivas 9,375 µg/L, 37,5 µg/L, 150 µg/L, 600 µg/L y 2400 µg/L y para el clorpirifos 3,9 µg/L, 15,62 µg/L, 62,5 µg/L, 250 µg/L y 1000 µg/L.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Las pruebas de toxicidad aguda para *L. hoffmeisteri* y las respuestas subletales para *L. minor* se evaluaron en cinco concentraciones nominales con cuatro réplicas, más el control, en un Diseño en

Bloque Completamente Randomizado (DBCR): 6 x 4. La eficacia de los tratamientos se evaluó a través de un Análisis de Varianza (ANDEVA) de una vía, previa transformación de los datos a raíz cuadrada del arcoseno. En el caso de existir diferencias significativas entre las réplicas se realizó una prueba de Tukey (Norman & Streiner 1996). Para el caso de *L. minor* se calculó la respuesta subletal promedio de los cuatro parámetros evaluados. Las $CL(E)_{50s}$ se calcularon usando un programa computarizado de la EPA Probit (EPA, Environmental Protection Agency de los EE.UU. versión 1.5). El modelo de regresión fue verificado usando el estadístico Chi-cuadrado (Martin & Holdich 1986).

Para el caso de las semillas de “tomate” y “lechuga” se usó un DBCR: 4x4. Para los ensayos fitotóxicos con semillas se empleó el método de interpolación lineal para toxicidad subletal, calculando la concentración de inhibición (CI_{50} y CI_{90}) con el paquete estadístico de la EPA (versión 2.0, 1993).

RESULTADOS

La Tabla II muestra los valores comparativos para los puntos finales en los cuatro ensayos ecotoxicológicos, observándose en los tres ensayos con plantas: *L. sativa*, *L. esculentum* y *L. minor* (respuesta promedio), que el clorpirifos es más tóxico que el lindano, a excepción del ensayo con *L. hoffmeisteri*. Para ambos plaguicidas, en general, se observó el siguiente orden de ecotoxicidad decreciente: *Lycopersicon* > *Lemna* (respuesta subletal promedio) > *Lactuca* > *Limnodrilus*. Si sólo se toma el parámetro en *L. minor*, de formación hojas nuevas en una secuencia de ecotoxicidad decreciente, entonces esta última pasa a ser el bioensayo más sensible. La respuesta subletal de ruptura de colonia en *L. minor* es muy diferente entre lindano y clorpirifos, siendo este último agroquímico 1496 veces más tóxico que el lindano. Estas mismas diferencias se observan en la inhibición del crecimiento de raíz de *L. esculentum*, siendo el clorpirifos 36 veces más tóxico que el lindano (Tabla II).

TABLA II. Valores comparativos de CL(E)I para cuatro ensayos ecotoxicológicos para la evaluación del lindano y clorpirifos.

TABLE II. Comparative values of L(E)IC for four ecotoxicological assays to evaluate lindane and chlorpyrifos.

Ensayo ecotoxicológico:	Lindano ($\mu\text{g/L}$)				Clorpirifos ($\mu\text{g/L}$)			
	CI ₉₀ (96h)	CI ₅₀	CL ₅₀ (24h)	CE ₅₀ (48h)	CI ₉₀ (96h)	CI ₅₀	CL ₅₀ (24h)	CE ₅₀ (48h)
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (mortalidad)			1501				1703	
<i>Lactuca sativa</i> (germinación)	1750				1050			
<i>L. esculentum</i> (96h) (crecimiento de raíz)		960				26,78		
<i>Lemna minor</i> (48h) (formación de hojas nuevas)		14,64				10,41		
<i>Lemna minor</i> (48h) (clorosis)				150				212
<i>Lemna minor</i> (48h) (necrosis)				437				662
<i>Lemna minor</i> (48h) (ruptura)				4907				3,28
<i>Lemna minor</i> (48h) (respuesta promedio)				1377				222

DISCUSION

Los oligoquetos se encuentran entre los invertebrados bentónicos más comunes en los ecosistemas dulceacuícolas. Muchas de estas especies son reconocidas como indicadores de calidad ambiental. En ambientes acuáticos altamente contaminados, los oligoquetos dominan la fauna bentónica, alimentándose principalmente de bacterias (APHA 1995). Entre los oligoquetos dulceacuícolas los tubificidos como *L. hoffmeisteri*, *T. tubifex* y *Branchiura sowerbyi* han sido utilizados en pruebas de ecotoxicidad (Khangarot 1991; Fargasova 1994). En nuestro caso, de los cuatro ensayos comparados, *L. hoffmeisteri* fue en general menos sensible para ambos plaguicidas (Tabla II). Meller *et al.* (1998), empleando *L. hoffmeisteri* y *T. tubifex* en ensayos agudos de 72 h con lindano, encontró poca sensibilidad de esta especie al ser comparado con otros organismos componentes del bentos dulceacuícola y por lo tanto altamente tolerable a los efectos letales del lindano. *L. hoffmeisteri*, en ensayos de toxicidad aguda de 96 h de exposición con lindano, ocupó el último lugar entre 13 ensayos con invertebrados ($CL_{50} = 430 \mu\text{g/L}$) (WHO 1991). En nuestro caso, la respuesta fue aguda a 24 h de exposición y por lo tanto, una menor sensibilidad a ambos plaguicidas ($CL_{50} = 1501 \mu\text{g/L}$) (Tabla II). Sin embargo, Keddy *et al.* (1995) y Sibley *et al.* (1997) recomiendan los tubificidos para la evaluación de sedimentos dulceacuícolas en ensayos reproductivos crónicos de 28 días de duración a bajas

concentraciones de los contaminantes. Barron y Woodburn (1995), al evaluar la ecotoxicología del clorpirifos, señalan que los organismos acuáticos, como los tubificidos, son tolerantes a este agroquímico. Un parámetro detectado durante las lecturas de mortalidad en *L. hoffmeisteri* es que en las más altas concentraciones se presentó una gradual estrangulación de los últimos segmentos corporales, lo cual ha sido observado en *T. tubifex*, como un mecanismo de adaptación a medios altamente contaminados (Lucan-Bouche *et al.* 1999).

Las pruebas de fitotoxicidad empleando plantas terrestres no son frecuentemente usadas en ecotoxicología (Wang 1991). Las tres características más importantes de los ensayos con plantas terrestres son: que se les puede usar con muestras coloreadas o turbias, en ensayos estático, semiestático y de flujo continuo y con un mínimo costo de mantenimiento en el laboratorio (Wang 1991). El empleo del tomate *Lycopersicon esculentum* y de la lechuga *Lactuca sativa* como herramientas ecotoxicológicas es ventajoso, por requerirse poco volumen de muestra (5-7 mL/envase), comparado con otros organismos acuáticos que requieren de 50 a 200 mL/envase (Arambasic *et al.* 1995). Los ensayos de fitotoxicidad con semillas son simples, versátiles y útiles para evaluar la toxicidad de aguas y sedimentos (Walsh *et al.* 1991). Ambas especies han sido recomendadas por la USEPA y por la FDA (Administración de Drogas y Alimentos), encontrándose entre las más sensibles, en comparación con otras seis especies de semillas de plantas terrestres (Wang 1991).

El ensayo ecotoxicológico con semillas de tomate presenta algunas ventajas sobre el de lechuga, debido a que el tomate germina más rápido y presenta un mayor crecimiento de raíz, lo que permite usar cuantitativamente este parámetro. Wang (1991) indica que el crecimiento de raíz como punto final de lectura es más sensible a la toxicidad que la germinación de semillas. Además, el tomate es más sensible a los tóxicos que las semillas de lechuga. Calow (1993) presenta un resumen de los protocolos de bioensayos de germinación de semilla y de elongación de raíz con diferentes especies de plantas, siendo comparables a nuestro protocolo, con una variante en la duración de las pruebas que son de 120 h y en nuestro caso, de 96 h, lo que podría acortar en un día el bioensayo ecotoxicológico. Además, las evaluaciones de compuestos orgánicos como los plaguicidas empleados en el presente estudio es preferible realizarlos en condiciones de oscuridad para evitar su rápida fotodegradabilidad (Calow 1993). La sensibilidad de las especies al clorpirifos varía considerablemente a través de reinos y filas, siendo las plantas ligeramente más tolerantes (Barron & Woodburn 1995).

L. minor es una pequeña macrófita ampliamente distribuida en ambientes dulceacuícolas en zonas tropicales y temperadas (APHA 1995). Debido a que presenta un crecimiento más rápido en comparación con otras plantas fanerógamas y presenta un rol fundamental en los ecosistemas acuáticos como productora de oxígeno, en los ciclos biogeoquímicos, en el control de la calidad del agua, en la estabilización de nutrientes, en ser un soporte físico para una variedad de invertebrados y en proveer habitats para la vida acuática, principalmente peces (Lewis 1995). Esta especie ha sido empleada por su sensibilidad y simplicidad en bioensayos en el laboratorio, así como por emplear un método simple y no destructivo (Taraldsen & Norberg-King 1990; Wang & Williams 1990; Bengtsson & Triet 1994). Calow (1993) presenta un resumen de las características experimentales en varias pruebas de toxicidad con lenteja de agua, cuyas condiciones son muy semejantes a las nuestras, pero con tiempos de exposición entre 96 h a 168 h, sin embargo, en nuestro caso, la duración del bioensayo fue de 48 h, ya que experimentalmente se observaron en ese tiempo los efectos subletales esperados. Wang (1991) indica que el tiempo de duplicación del número de hojas de *L. minor* es aproximadamente de

1,4 días, por lo que el tiempo de 48 h es suficiente para este parámetro de lectura final. El punto final subletal es de cuatro parámetros, cuya sensibilidad en orden decreciente sigue la siguiente secuencia para el lindano: formación de hojas nuevas > clorosis > necrosis > ruptura de colonia. En contraste, este último parámetro de evaluación en el caso del clorpirifos pasa a ser el más sensible con la siguiente secuencia en orden de ecotoxicidad decreciente: ruptura de colonias > formación de hojas nuevas > clorosis > necrosis. Calow (1993) señala como parámetro de efecto más sensible en *Lemma* spp., el número de nuevas hojas formadas, el cual en nuestro caso mostró una alta sensibilidad (Tabla II). De los cuatro parámetros evaluados para el ensayo con *L. minor*, el lindano mostró un mayor efecto tóxico en la clorosis y la necrosis; en cambio, el clorpirifos en la formación de hojas nuevas y la ruptura de colonias (Tabla II). Esto indica efectos y mecanismos de acción diferentes en las respuestas subletales en *L. minor* por ambos agroquímicos empleados. Iannacone y Gutiérrez (1999) muestran para el bioensayo con las raíces de *Allium cepa*, características morfológicas diferentes bajo la acción de estos dos agroquímicos. Bajo la acción del lindano se observa un ápice notoriamente grueso, raíces encorvadas y con nódulos; en cambio con el clorpirifos, las raíces son largas y delgadas y algunas encorvadas.

Los resultados obtenidos de las semillas de tomate y lechuga, y del ensayo con la lenteja de agua concuerdan con el bioensayo del nematodo *Panagrellus redivivus* y de la microalga *Chlorella vulgaris*, pero no con el ensayo de *A. cepa*, debido a que se observa una mayor toxicidad en los dos primeros al clorpirifos y en el último al lindano (Iannacone & Gutiérrez 1999).

En Perú, el reglamento sobre el registro, comercialización y control de productos fitosanitarios nos muestra que para el registro de un agroquímico se requieren datos de ensayos toxicológicos y ambientales con información científica reciente, que demuestren que estos compuestos no son peligrosos para el ambiente (SENASA 1995). La Ley de Promoción del Manejo Integrado para el Control de Plagas (Ley 26744-1997) indica, en su artículo cinco, la prohibición en uso, fabricación e importación del lindano, si es que para el año 2000 no cuenta con un Estudio de Impacto Ambiental (EIA) aprobado por la autoridad competente.

De esta forma el empleo de procedimientos estandarizados aprobados por la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU.), adaptados a las especies locales, pueden emplearse como *equivalentes ecológicos* de cada latitud, es decir especies que cumplan el mismo rol trófico en ecosistemas diferentes, lo cual es muy necesario para la protección de los recursos biológicos y evitar el deterioro ambiental (Iannacone & Alvaríño 1998).

CONCLUSIONES

Para el lindano se observó el siguiente orden de ecotoxicidad decreciente: *Lycopersicon esculentum* (CI₉₀ 96 h= 961 µg/L) > *Lemna minor* (respuesta subletal promedio) (CE₅₀ 48 h= 1377 µg/L) > *Limnodrilus hoffmeisteri* (CL₅₀ 24 h= 1501 µg/L) > *Lactuca sativa* (CI₅₀ 96 h=1750 µg/L). Para el clorpirifos se observó el siguiente orden de ecotoxicidad decreciente: *L. esculentum* (CI₉₀ 96 h= 26,78 µg/L) > *L. minor* (respuesta subletal promedio) (CE₅₀ 48 h= 222 µg/L) > *L. sativa* (CI₅₀ 96 h= 1050 µg/L) > *L. hoffmeisteri* (CL₅₀ 24 h= 1703 µg/L). Si es que se toma sólo la respuesta de formación de hojitas nuevas en el ensayo con *L. minor*, ésta es más sensible al lindano (CI₅₀ 48 h= 14,64 µg/L) y al clorpirifos (CI₅₀ 48 h= 10,41 µg/L) que los otros tres bioensayos. En los tres ensayos con plantas: *L. esculentum* (CI₉₀ 96 h), *L. minor* (respuesta subletal promedio) (CE₅₀ 48 h) y *L. sativa* (CI₅₀ 96 h) se observó una mayor toxicidad por el clorpirifos. En cambio para el oligoqueto *L. hoffmeisteri* (CL₅₀ 24 h) presentó una mayor toxicidad al lindano. En el ensayo con *L. minor*, el lindano, para la clorosis (CE₅₀ 48 h= 150 µg/L) y necrosis (CE₅₀ 48 h= 437 µg/L) resultó ser más tóxico y para la formación de hojas nuevas (CI₅₀ 48 h= 10,41 µg/L) y ruptura de colonias (CE₅₀ 48 h= 3,28 µg/L), el clorpirifos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Ing. Benjamín Rey (Agricultora SAUME) por su cooperación en la obtención de los plaguicidas. A la Dra. Jeannette Silva (Universidad de Concepción, Chile) por sus valiosas críticas al manuscrito. A la botánica M.Sc. María Isabel La Torre Acuy del Laboratorio

de Ecofisiología de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV) por la identificación de la macrófita acuática como *Lemna minor*.

BIBLIOGRAFIA

- APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION), AWWA (AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION), WPCF (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION). 1989. Standard methods for examination of water and wastewater. 17th de American Health Association. Washington, D.C.
- APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION), AWWA (AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION), WPCF (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION). 1995. Standard methods for examination of water and wastewater. 19th de American Health Association. Washington, D.C.
- ARAMBASIC, M.B., S. BJELIC & G. SUBAKOV. 1995. Acute toxicity of heavy metals (copper, lead, zinc), phenol and sodium on *Allium cepa* L., *Lepidium sativum* L., and *Daphnia magna* St., comparative investigations and the practical applications. Wat. Res. 29: 497-503.
- BARRON, M.G. & K.B. WOODBURN. 1995. Ecotoxicology of chlorpyrifos. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 144:1-93.
- BENGTSSON, B.E. & T. TRIET. 1994. Tapioca-starch wastewater toxicity characterized by Microtox® and duckweed Tests. Ambio 23:473-477.
- BODESTEIN, G. 1972. Lindane in the environment. En Lindane. Centre International D'Studies du Lindane (CIEL). Bruselles. 422 pp.
- BRKOVIC-POPOVIC, I. & N.M. POPOVIC. 1977. Effects of heavy metals on survival and respiration rate of tubificid worms: Part II- effects on respiration rate. Environ. Pollut. 13:93-98.
- CALLEJA, M.C. & G. PERSOONE. 1993. The influence of solvents on the acute toxicity of some lipophilic chemicals to aquatic invertebrates. Chemosphere 26:2007-2022.
- CALLEJA, M.C., G. PERSOONE & P. GELADI. 1994. Human acute prediction of the first 50 MEIC chemicals by a battery of ecotoxicological tests and physicochemical properties. Food Chem. Toxicol. 32:173-187.
- CALOW, P. 1993. Handbook of ecotoxicology. Blackwell Science Ltd. Vol. I. 478 pp.
- FARGASOVA, A. 1994. Toxicity of metals on *Daphnia magna* and *Tubifex tubifex*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 27:210-213.
- FLIEDNER, A. & J. KLEIN. 1996. Effects of Lindane on the planktonic community in Freshwater microcosms. Ecotoxicol. Environ. Saf. 33:228-235.
- HECKMAN, C.H. 1982. Pesticide effects on aquatic habitats. Environ. Sci. Technol. 16:48A-57A.
- IANNAcone, J.A. Y L. ALVARÍÑO. 1998. Ecotoxicidad aguda del insecticida organofosforado temephos sobre

- Chironomus calligraphus* Goeldi (Diptera: Chironomidae). Acta Ent. Chilena 22:53-55.
- IANNACONE, J.A. Y A. GUTIÉRREZ. 1999. Ecotoxicidad de los agroquímicos lindano y clorpirifos sobre el nematodo *Panagrellus*, la microalga *Chlorella* y el ensayo con *Allium*. Agricultura Técnica (Chile) 59:85-95.
- KEDDY, C.J, J.C. GREENE & M.A. BONNELL. 1995. Review of whole-organism bioassay: soil, freshwater sediment, and freshwater assessment in Canada. Ecotoxicol. Environ. Saf. 30:221-251.
- KENDALL, R.J. 1992. Farming with agrochemicals: the response of wildlife. Environ. Sci. Technol. 26: 239-245.
- KHANGAROT, B. 1991. Toxicity of heavy metals to a freshwater tubificid worm, *Tubifex tubifex*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 46:906- 912.
- KIME, D.E. 1996. In vitro effects of gamma-hexachloro-cyclohexane on in vitro biosynthesis and metabolism of steroids in goldfish *Carassius auratus*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 34:165-173.
- LEWIS, M.A. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. Environ. Pollut. 87:319-336.
- LUCAN-BOUCHE, M.L., S. BIAGIANTI & F.A. GUY. 1999. An original decontamination process developed by aquatic oligochaete *Tubifex tubifex* exposed to copper and lead. Aquatic Toxicol. 45:9-17.
- MARTIN, T.R. & D.M. HOLDICH. 1986. The acute lethal toxicity of heavy metals to peracarid crustaceans (with particular reference to freshwater asellids and gammarids). Water Res. 20:1137-1147.
- MELLER, M., P. EGELER, J. ROMBKE, H. SCHALLNASS, R. NAGEL & B. STREIT. 1998. Short-term toxicity of lindane, hexachlorobenzene, and copper sulfate to tubificid sludgeworms (Oligochaeta) in artificial media. Ecotoxicol. Environ. Saf. 39:10-20.
- NORMAN, G.R. Y D.L. STREINER. 1996. Bioestadística. Mosby/Doyma Libros. 260 pp.
- PIMENTEL, D. 1998. Environmental and economic issues associated with pesticide use. Book of abstracts International Conference on Pesticide use in Developing Countries: Impact on Health and Environment, Costa Rica. 272 pp.
- RACKE, K.D. 1992. The environmental fate of chlorpyrifos. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 131:5-52.
- SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA (SENASA). 1995. Compendio de plaguicidas agrícolas y sustancias afines registrados en el Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Ministerio de Agricultura. Lima, Perú. 170 pp.
- SIBLEY, P.K., J. LEGLER, D.G. DIXON & D.R. BARTON. 1997. Environmental health assessment of the benthic habitat adjacent to a pulp mill discharge. I. Acute and chronic toxicity of sediments to benthic macroinvertebrates. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 32:274-284.
- STREBLE, H. Y D. KRAUTER. 1987. Atlas de los microorganismos de Agua Dulce: La vida en una gota de agua. Edt. Omega (España). 357 pp.
- TARALDSEN, J.E. & T.J. NORBERG-KING. 1990. New method for determining toxicity using duckweed (*Lemna minor*). Environ. Toxicol. Chem. 9:761-767.
- VAN WIJK, D. & T. HUTCHINSON. 1995. The ecotoxicity of chlorate to aquatic organisms: A critical review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 32:244-253.
- WALSH, G.E., D.E. WEBER, T.L. SIMON & L.K. BRASHERS. 1991. Toxicity test of effluents with marsh plants in water and sediments. Environ. Toxicol. Chem. 10: 517.
- WANG, W. 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. Environ. Res. 51:7-22.
- WANG, W. & J. WILLIAMS, 1990. The use of phytotoxicity tests (common duckweed, cabbage and millet) for determining effluent toxicity. Environ. Monit. Assess. 14:45.
- WANG, W. 1991. Literature review on higher plants for toxicity testing. Water, Air and Soil Pollution 59: 381-400.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). 1991. Lindane. Environmental Health Criteria. 124:1-201.

Fecha de recepción: 15.07.1999
Fecha de aceptación: 06.04.2000

DESCRIPCION DE LOS ESTADOS PREIMAGINALES DE *HEMIEUXOA CONCHIDIA* (BUTLER)

DESCRIPTION OF PREIMAGINAL STAGES OF HEMIEUXOA CONCHIDIA (BUTLER)

Miguel Louis-Maldonado¹ y Rubén Badilla²

RESUMEN

Se describen los estados preimaginales (huevo, larva y pupa) de *Hemieuxoa conchidia* (Butler). Se ubican en las claves de Angulo y Weigert 1975 para larva y pupa y en Angulo y Weigert 1977 para huevo. Se incluyen figuras.

¹PALABRAS CLAVES: Chile, clave, *Hemieuxoa conchidia*, inmaduros, huevo, larva, pupa, Lepidoptera.

ABSTRACT

Preimaginal stages (egg, larvae and pupae) of *Hemieuxoa conchidia* (Butler) are described. Larvae and pupae are added to the key of Angulo and Weigert 1975, and eggs are added to the key of Angulo and Weigert 1977. Figures are illustrated.

KEYWORDS: Chile, key, *Hemieuxoa conchidia*, immatures, eggs, larvae, pupae, Lepidoptera.

INTRODUCCION

El imago de *Hemieuxoa conchidia* fue descrito por primera vez por Butler 1882 (Bartlett 1894) como *Hadena conchidia* Butler, incluida en la familia Hadenidae (*sensu stricto* Butler 1882). Posteriormente, Hampson en 1903 ubica en el género *Lycophotia* Hübner y la cambia a la subfamilia Agrotinae (actualmente Noctuidae), de la familia Noctuidae. Forbes 1933 hace la descripción de la genitalia del macho y la incluye en el subgénero *Hemieuxoa*, dentro del género *Peridroma* Hübner. Actualmente en el catálogo de Poole 1989 aparece en el género *Hemieuxoa* Mc. Dunningh, quedando hasta la fecha la nueva combinación como *Hemieuxoa conchidia* (Butler).

En Angulo y Weigert 1975 esta especie aparece dentro de los lepidópteros noctuidos de importancia económica en Chile. Sin embargo, la especie descrita ahí como *Pseudoleucania conchidia* (Butler) corresponde en realidad a *P. ferruginescens* (Butler) (Andrés O. Angulo com. pers. 1999). De ahí la importancia de la descripción de sus estados preimaginales debido a los hábitos fitófagos de su estado larval.

MATERIAL Y METODOS

El material utilizado para realizar las descripciones se obtuvo de oviposturas en laboratorio a partir de ejemplares provenientes del sector La Mina, Talca (900 ms.n.m.). El análisis de las microestructuras del huevo, larva y pupa fue realizado mediante fotografías obtenidas en el Microscopio Electrónico de Barrido Autoscanning ETEC, de la Universidad de Concepción. La nomenclatura utilizada para la quetotaxia larval fue la propuesta por Stehr 1987, excepto para el

¹Universidad de Alicante. Alicante. España. E-mail: mlm10@alu.ua.es

²Servicio Agrícola y Ganadero. Isla de Pascua. Chile.

labro en que se siguió a Peterson 1959.

RESULTADOS

ABREVIATURAS USADAS

A1-10	: Segmentos abdominales 1-10
A1, 2, 3	: Seta anterior 1, 2, 3
aan	: Abertura anal
abg	: Abertura genital
AF1-2	: Setas adfrontales 1-2
AFa	: Poro adfrontal
aovp	: Abertura del ovipositor
C1-2	: Setas del clípeo 1-2
cer	: Ceratoteca
cre	: Cremáster
D1-2	: Seta dorsal 1-2
epr	: Espiráculo
espp	: Espiritrompa
F1	: Seta frontal 1
Fa	: Poro frontal
fr	: Frente
L1-3	: Seta lateral 1-3
La1-3	: Setas laterales del labro 1-3
M1-3	: Setas mediales del labro 1-3
MDa	: Poro mediodorsal
MD1-3	: Setas mediodorsales 1-3
MGa	: Poro genal
MG1	: Seta genal 1
MV3	: Seta táctil ventral 3
n1-3	: Notum 1-3
o	: Ojo
p	: Poro
P1-2	: Seta posterodorsal 1-2
Pa	: Poro posterodorsal a
Pb	: Poro posterodorsal b
plb	: Palpo labial
pod	: Podoteca
PP1	: Seta primaria posterior 1
ptt	: Pteroteca
S1-2	: Sete estematal 1-2
Sa	: Poro estematal a
Sa	: Poro estematal b
sen	: Sensilas
SD1-2	: Seta subdorsal 1-2
SS1-3	: Setas subestematales 1-3
SSa	: Poro subestematal
SV1-4	: Seta subventral 1-4
T1-3	: Segmento torácico 1-3
V1	: Seta ventral 1
XD1-2	: Setas táctiles dorsales 1-2

Hemieuxoa conchidia (Butler)
(Figs. 1-2)

HUEVO (Figs. 3-5)

Forma subpiramidal desde una vista lateral, de color rosa tenue recién ovipuesto. Mide 0.47 mm de altura y 0.60 mm de diámetro aproximadamente (n=6). Costas longitudinales o radiales en número de 29 (Fig. 3), muy notorias, dispuestas regularmente, comenzando a la mitad del segmento inferior del huevo y disminuyendo en número (a menos de la mitad de las costas) al llegar a la mitad del segmento superior. Las costas longitudinales que quedan convergen hacia el polo apical del huevo. Costas transversales cortando perpendicularmente a las longitudinales, poco notorias en la mitad inferior, más marcadas las que se aproximan al polo apical. La separación entre costas transversales es más o menos constante. Aeropilas (Fig. 5) dispuestas sobre las costas longitudinales, en los nodos con las costas transversales, y limitadas a la zona apical, comenzando después de la roseta secundaria y termina en el segundo ciclo de sectores interradales. Area micropilar (Fig. 4) dispuesta en el ápice, presenta una roseta primaria bien definida, formada por 14 celdas libres e iguales, y rodeada por un reborde muy marcado que la eleva de la superficie del huevo y una roseta secundaria poco definida, formada por 18 celdas desiguales. El ancho de las rosetas secundarias es cuatro veces mayor que el de las primarias. Fórmula micropilar: 14:18.

MATERIAL EXAMINADO: 6 huevos ovipuestos en laboratorio.

LARVA (Figs. 6-10, 17-21)

PATRÓN DE COLORACIÓN: Tegumento rojizo apagado (terracota), con ornamentaciones pequeñas y tenues castaño claras. Escudo cervical con manchas castaño oscuro y dividido en la zona medio dorsal por una línea sin diseño. Escudo anal con ornamentaciones castaño oscuro. Espiráculos castaño claros rodeados de marrón muy oscuro. Cabeza castaño clara con una franja de bordes irregulares y poco definidos de color castaño oscura que se extiende, desde la parte

posterior de L1 hasta el ocelo 3; otra franja más oscura que la anterior, en el área adyacente a la sutura frontal que termina tras la seta P2. Puntos de inserción de las setas color marrón oscuro. Crochets castaño oscuros. Mandíbulas castaño muy oscuro.

MORFOLOGÍA: Longitud del cuerpo 30 mm \pm 3 mm; ancho máximo 5,4 mm (n=2). Larva con trece segmentos, los torácicos con un par de patas cada uno, y los abdominales con cuatro pares de espuripedios entre el tercer y sexto segmento y un par de espuripedios anales en el décimo segmento. Tegumento liso, sin ornamentaciones epidérmicas, no corrugado. Setas corporales y cefálicas simples. Pináculos inconspicuos o ausentes.

Cabeza hipognata (Figs. 6 y 18), con todas las setas y puncturas presentes; área ocular (Figs. 7 y 21) con los ocelos dispuestos en forma de 2 invertido. A1, A2 y A3 forman un ángulo recto y S1, S2 y S3 un triángulo equilátero. Seta ocular S1 adyacente y en posición posterior a la recta que une los ocelos 4 y 6. Ocelos 4, 5 y 6 formando un ángulo recto; el ocelo 6 junto con Sa, S3 y MGa forman una línea recta. La línea que une los ocelos 3 y 6 pasa por la base de S1. Sutura adfrontal no alcanza el seno epicraneal y es, aproximadamente, la mitad de larga que la sutura epicraneal.

Labro con todas las setas y puncturas presentes.

Mandíbula (Figs. 19-20) con 5 dientes bien diferenciados (vista externa). En la cara interna, en el borde posterior, se aprecia un sexto diente de menor tamaño. Hay dos setas en la cara dorsal y tres prominencias subglobosas, muy poco elevadas, en la cara ventral.

Primer segmento (Fig. 17) torácico, con las setas D1, D2, XD1 y XD2 en el escudo cervical, SD1 y SD2 inmediatamente bajo el escudo cervical. L1 y L2 por delante del espiráculo (Fig. 8) y en el mismo tubérculo setífero. SV2 y SV1 ubicadas en línea recta horizontal sobre la coxa y en el mismo tubérculo setífero. MV3 junto a la coxa en la región anterior y V1 en la posterior. Los dos poros entre XD2 y XD1, y entre XD1 y D1 presentes. Ausencia de L3.

Segundo y tercer segmentos torácicos con D1, D2 y SD2 en línea recta vertical. SD1, L3 y L1 forman un ángulo recto, y L2 debajo de L1. SV1 sobre la coxa, MV3 y V1 junto a ésta, en posición anterior y posterior respectivamente. Ausencia de MV1 y MV2.

En el primer y segundo segmentos abdominales D1, D2 y SD1 forman un ángulo recto. L1

en posición inmediatamente posterior al espiráculo y L2 bajo el espiráculo, de forma que una línea entre SD1 y L2 proyectada pasa por el espiráculo. SV1, SV2 y V1 forman un triángulo isósceles con el ángulo agudo en la parte superior con SV1 como vértice. Ausencia de L3.

En los segmentos abdominales tercero al sexto D1, D2 y SD1 forman un ángulo recto. L1 tras el espiráculo y L2 bajo el espiráculo. L3 en la zona posterior superior del espuripedio. SV1, SV2 y SV3 forman un triángulo con SV2 en el ángulo superior. V1 ubicada en la cara interior del espuripedio. Ausencia de MV3, SD2 y MD1.

En el séptimo segmento abdominal, D1, D2 y SD1 forman un ángulo recto. L2 bajo el espiráculo, forman con L1 una recta ligeramente oblicua, ascendente hacia atrás, que no llega a la altura del espiráculo. L3, SV1 y V1 en línea recta vertical. La recta que une L2 y SD1 pasa por el espiráculo. Ausencia de SV2 y MV3.

Octavo segmento abdominal con igual quetotaxia que el séptimo, pero con la diferencia que L1 se encuentra a la misma altura que el espiráculo.

Noveno segmento abdominal con D2, D1 y SD1 forman un ángulo recto y L1 está presente en la mitad del segmento. Las demás setas están ausentes.

En el décimo segmento abdominal, D1, D2, SD1 y SD2 forman una figura romboidal sobre el escudo anal. SV4 y V1 forman una recta vertical anterior al espuripedio anal. L3, L1 y L2 forman un ángulo recto. SV2 y SV3 se ubican en el borde anterior del espuripedio anal, y PP1 y SV1 en el borde posterior. Poro sobre L1 presente.

Espuripedios abdominales con 14 a 24 crochets (Figs. 9-10), los anales con 23 a 26 (n=3). Crochets con forma de gancho semicurvado, uniseriales, uniordinales y de disposición homoidea.

Tubérculos setíferos no siempre presentes y cuando existen varían en tamaño.

MATERIAL EXAMINADO: 3 larvas criadas en laboratorio.

PUPA (Figs. 11-16)

De tipo obteca y desnuda. Longitud 15.5 mm, ancho máximo 4.6 mm (n=3). Tegumento liso, de color amarillo pálido en el abdomen y castaño oscuro en el tórax y la cabeza.

Las pterotecas (Figs. 12-13) llegan hasta el

tercio posterior del cuarto segmento abdominal. El ápice de las ceratotecas termina antes del fin de la espiritrompa y ésta antes de las podotecas metatorácicas, las cuales asoman bajo el resto de los apéndices, llegando a sobrepasar el borde inferior del cuarto segmento abdominal. Ceratotecas y podotecas mesotorácicas terminan a la misma altura aproximadamente.

Sensilas (Fig. 14) circulares, de color castaño claro, presentes en los tercios superiores de los segmentos abdominales cinco, seis y siete, formando múltiples filas sin orden.

Espiráculos, en los segmentos abdominales segundo al octavo, de color castaño oscuro a marrón casi negro.

Apertura anal y gonoporo separados a una distancia igual a una vez y media la longitud del gonoporo en los machos (Figs. 11 y 16) y a dos veces la longitud de la apertura anal en las hembras (Fig. 15). En la hembra el borde posterior del octavo segmento abdominal se proyecta formando un ángulo agudo que llega a tocar el borde anterior del mismo segmento.

Cremáster formado por 6 espinas; dos de gran tamaño en el centro, saliendo de unas prominencias del tegumento y rodeadas por 4 espinas, dos anteriores y dos posteriores, tres veces más pequeñas y sin emerger de una prominencia.

MATERIAL EXAMINADO: 4 pupas criadas en laboratorio.

UBICACION EN LAS CLAVES TAXONOMICAS

HUEVO: En la clave de Weigert y Angulo 1977 la especie estudiada se separa en el 16'(7). Aquí se propone una modificación para incluir a *Hemieuxoa conchidia*:

- 16(7). El ancho de la mayoría de las celdas secundarias son el doble del ancho de las primarias; con 21 a 27 costas radiales; la zona aeropilar es indistincta; la relación de proporción entre la roseta primaria y la secundaria es de 1:2; fórmula micropilar: (11-15):(17-21) *Helicoverpa zea* (Boddie)
 16'. El ancho de la mayoría de las celdas secundarias son el triple o más del ancho de las primarias; con 24 a 29 costas radiales 18
 18(16'). La zona aeropilar comienza después de las celdas secundarias hasta el cuarto ciclo de sectores interradales; la relación de proporción entre la roseta primaria y secundaria es de 1:3; fórmula micropilar: (11-15):(18-22) *Pseudoleucania diana* (Butler)
 18'.- La zona aeropilar comienza después de las celdas secundarias hasta el segundo ciclo de sectores interradales; la relación de proporción entre la roseta primaria y secundaria es de 1:4; fórmula micropilar: 14:18 *Hemieuxoa conchidia* (Butler)

PUPA: En la clave de Angulo y Weigert 1975, *Hemieuxoa conchidia* (Butler) llega al punto 5 junto con *Copitarsia consueta* (Walker) y *Melipotis walkeri* (Dognin). Se propone una modificación a esta clave para separar ambas especies e incluir a *Hemieuxoa conchidia* (Butler).

- 5(4). Hembra: 8° y (10°-11°) esternites en contacto 19
 5'. Hembra: 8° y (10°-11°) esternites no están en contacto; cremáster formado por un par de espinas centrales y dos pares de menor tamaño, un par ventral y otro dorsal rodeando a las espinas centrales *Hemieuxoa conchidia* (Butler)
 19(5). Cremáster formado por un par de espinas ventrales y uno posterior *Copitarsia consueta* (Walker)
 19'. Cremáster formado por un par de espinas centrales y una espina a cada lado ... *Melipotis walkeri* (Dognin)

LARVA: Según la clave de Angulo y Weigert 1975, *Hemieuxoa conchidia* (Butler) se separa en el punto 16 de *Copitarsia consueta* (Walker) de la siguiente manera:

- 16(9'). Línea medio-dorsal del metatórax y dos primeros segmentos abdominales con simples ensanchamientos; pináculos rodeadas por áreas claras que contrastan con el resto del área *Copitarsia consueta* (Walker)
 16'. Línea medio-dorsal del metatórax y dos primeros segmentos abdominales sin ensanchamientos; pináculos inconspicuas o ausentes *Hemieuxoa conchidia* (Butler)

AGRADECIMIENTOS

Por la ayuda prestada en la realización de este trabajo, se agradece muy especialmente al Dr. Andrés O. Angulo por la acogida y útiles sugerencias, así como por la buena orientación y acertada revisión del manuscrito; a la Dra. Tania Olivares por sus frecuentes comentarios constructivos y apoyo; a la Lic. Marcela Rodríguez por los consejos, ideas y motivación aportados; al Lic. Mauricio Alarcón por sus frecuentes y útiles sugerencias; al Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Concepción (Chile) por las fotografías SEM. A todo el Departamento de Zoología de la Universidad de Concepción por el agradable ambiente de trabajo y su cálida acogida. Se agradece además al Proyecto N° PB 96/01413 del Ministerio Español de Educación y Ciencia.

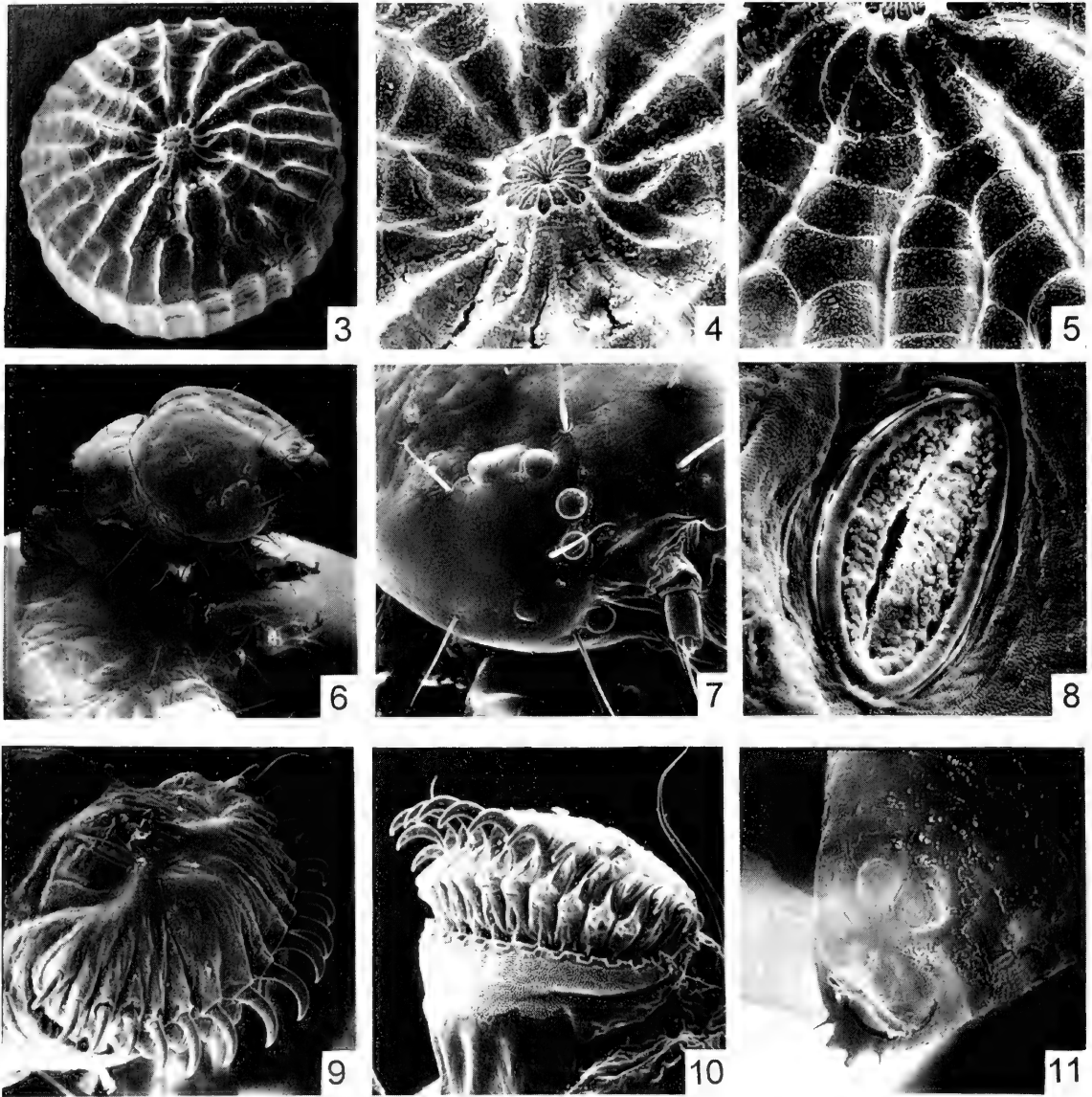
BIBLIOGRAFIA

- ANGULO, A.O. y G.TH. WEIGERT. 1975. Estados inmaduros de lepidópteros noctuidos de importancia económica en Chile y claves para su determinación (Lepidoptera: Noctuidae). Soc. Biol. Concepción. Publ. Especial N° 2. 153p.
- BARTLETT, G. 1894. Nuevos lepidópteros de Chile. Anales de la Universidad de Chile. Memorias científicas y literarias. 87: 133-182. Traducido de Butler 1882.
- FORBES, W.M.T.M. 1933. A grouping of the Agrotine genera. Entomologica Americana, 14(1).
- HAMPSON, G.F. 1903. Catalogue of the Lepidoptera Phalaenae in the British Museum. Vol. 4. London. Taylor and Francis. 689pp.
- PETERSON, A. 1959. Larvae of insects. Part I. Lepidoptera and plant infesting Hymenoptera. Edwards Bros., Ann Arbor, Michigan. 315p.
- POOLE, R.W. 1989. Lepidopterorum catalogus. 118. Noctuidae. E.J. Brill/ Flora & Fauna Publications. Part 1 (1-500), Part 2 (501-1013).
- STEHR, F.W. 1987. Immature insects. Tome I. Kendall/Hunt Publishing Company. 754p.
- WEIGERT, G.TH. y A.O. ANGULO. 1977. Nuevos huevos en noctuidos chilenos (Lepidoptera: Noctuidae). Bol. Soc. Biol. de Concepción, 51(1): 289-298.



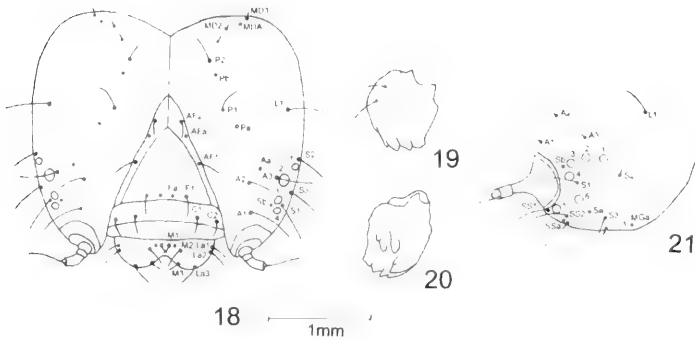
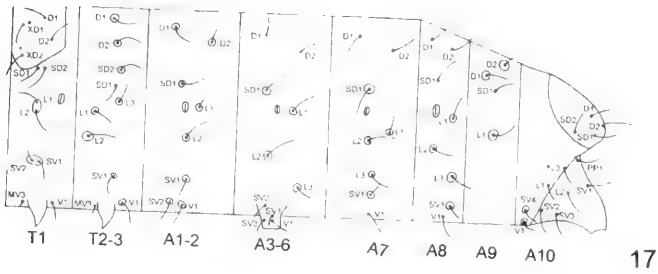
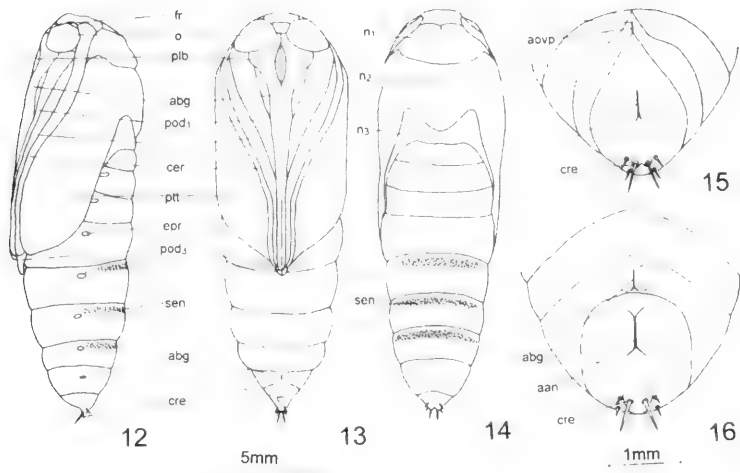
FIGURA. 1. Adulto macho de *H. conchidia* (Butler). FIGURA. 2. Adulto hembra de *H. conchidia* (Butler).

FIGURE 1. Adult male of *H. conchidia* (Butler). FIGURE 2. Adult female of *H. conchidia* (Butler).



FIGURAS. 3-11. *H. conchidia* (Butler): FIG. 3. Huevo en vista polar (120x); FIG. 4. Area micropilar: roseta primaria y secundaria (400x); FIG. 5. Aeropilas (400x); FIG. 6. Larva, cabeza (18x); FIG. 7. Area ocular (60x); FIG. 8. Espiráculo abdominal (340x); FIGS. 9-10. Espuripedios, crochets (160x). FIG. 11. Pupa, terminalia macho (30x).

FIGURES. 3-11. *H. conchidia* (Butler): FIG. 3. Polar view of egg (120x); FIG. 4. Micropylar area: primary & secondary cells (400x); FIG. 5. Aeropylas (400x); FIG. 6. Larvae, head (18x); FIG. 7. Ocular area (60x); FIG. 8. Abdominal spiracle (340x); FIGS. 9-10. Prolegs, crochets (160x). FIG. 11. Pupae, male terminalia (30x).



FIGURAS. 12-21. *H. conchidia* (Butler): FIG. 12. Pupa, vista lateral; FIG. 13. Vista ventral; FIG. 14. Vista dorsal; FIG. 15. Terminalia pupa hembra; FIG. 16. Terminalia pupa macho; FIG. 17. Larva, quetotaxia corporal; FIG. 18. Quetotaxia de la cabeza; FIG. 19. Mandíbula, vista externa; FIG. 20. Mandíbula, vista interna; FIG. 21. Quetotaxia ocular.

FIGURES. 12-21. *H. conchidia* (Butler): FIG. 12. Pupae, lateral view; FIG. 13. Ventral view; FIG. 14. Dorsal view; FIG. 15. Female pupae terminalia; FIG. 16. Male pupae terminalia; FIG. 17. Larvae, body chaetotaxy; FIG. 18. Head chaetotaxy; FIG. 19. Mandible, external view; FIG. 20. Mandible, internal view; FIG. 21. Ocular area, chaetotaxy.

Fecha de recepción: 02.11.1999
 Fecha de aceptación: 13.10.2000

NUEVO GENERO Y NUEVAS ESPECIES DE NOCTUIDOS ALTOANDINOS
V. TENERA RODRIGUEZ & ANGULO N. GEN. V/S GENEROS AFINES
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE: CUCULLINAE)

A NEW GENUS AND NEW SPECIES FROM HIGHT ANDEAN
V. TENERA RODRIGUEZ & ANGULO N. GEN. V/S AKIN GENERA
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE: CUCULLINAE)

Marcela A. Rodríguez*, Tania S. Olivares** & Andrés O. Angulo*

RESUMEN

Se realiza una revisión taxonómica del género *Albirenia* Angulo & Olivares, desprendiéndose de ésta la creación de un nuevo género, *Tenera* Rodríguez & Angulo n. gen., con dos especies. Se reubican algunas especies de los géneros *Valeria* Stephens (Cucullinae) y *Eucoptocnemis* Grote (Noctuinae), en *Albirenia* Angulo & Olivares (1999). Se redefinen algunos caracteres para *Albirenia*. Se confecciona una clave para los géneros *Albirenia* Angulo & Olivares, *Tenera* Rodríguez & Angulo n. gen. y *Curvalia* Olivares & Angulo *in litteris*.

PALABRAS CLAVES: *Albirenia* Angulo & Olivares, clave genérica, *Curvalia* Olivares & Angulo *in litteris*, *Tenera* Rodríguez & Angulo n. gen, nuevas combinaciones, nuevas especies.

INTRODUCCION

El estudio de lepidopterofauna altoandina que ha dado como resultado una serie de publicaciones (Angulo & Olivares 1999; Angulo *et. al.* 1999), nos ha llevado a la creación de nuevos taxa para especies que no tienen una ubicación dentro de los géneros neotropicales existentes. Uno de estos casos se ha dado con la subfamilia Cucullinae. Los trabajos de Koehler (1951, 1973 y 1979) presentan las descripciones de numerosas nuevas especies, sin

ABSTRACT

A taxonomic revision of the genus *Albirenia* Angulo & Olivares was done, which resulted in the creation of a new genus, *Tenera* Rodríguez & Angulo n. gen, with two species. Some species of the genera *Valeria* Stephens (Cucullinae) and *Eucoptocnemis* Grote (Noctuinae) are placed in *Albirenia* Angulo & Olivares (1999). Characters for *Albirenia* are redefined. A key for the genera *Albirenia* Angulo & Olivares, *Tenera* Rodríguez & Angulo n. gen. and *Curvalia* Olivares & Angulo *in litteris* is done.

KEYWORDS: *Albirenia* Angulo & Olivares, *Curvalia* Olivares & Angulo *in litteris*, generic key, *Tenera* Rodríguez & Angulo n. gen., new species, new combinations.

embargo, éstas fueron puestas por el autor en géneros previamente existentes pero originarios de la región Neártica, con tipos de Europa o Asia, que evolutivamente no deben tener un origen común con los géneros de la región Neotropical (Poole 1989). *Tenera* n. gen., *Curvalia* Olivares & Angulo *in litteris* y *Albirenia* Angulo & Olivares (1999), son ejemplos de lo anterior. La ubicación y formación de nuevas combinaciones estarán dadas en observaciones pertinentes después de cada caso.

MATERIALES Y METODOS

El material utilizado en esta investigación proviene de la Colección Badilla y las Colecciones Científicas de la Universidad de Concepción (UCC).

*Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

**Casilla 4040, Correo 3, Concepción, Chile.

Para el estudio de las estructuras genitales se utilizó el método de extracción de Angulo & Weigert 1977.

El material tipo será depositado en los siguientes museos: Colecciones Científicas de la Universidad de Concepción, Concepción-Chile (UCCC); Fundación e Instituto Miguel Lillo, Tucumán-Argentina (FML) y Museo Nacional de Historia Natural, Santiago-Chile (MNHN).

RESULTADOS

Tenera Rodríguez & Angulo n. gen.

ESPECIE TIPO: *Tenera andina* (Koehler)

DIAGNOSIS: genitalia del macho con valva de terminación subcuadrangular con una proyección puntiaguda en la parte dorsal, con corona débil o sin ella, provista sólo de ampulla y ésta con ubicación variable sobre la valva; vesica con comuti representado por fuertes y numerosas espinas rectas. Genitalia de la hembra, bisacular y con signa en forma de placa lineal.

ETIMOLOGÍA: (L.) *tenera*: suave, tierna.

Tenera andina (Koehler) n. comb.
(Figs. 1, 4, 7 y 10)

Bryotype andina Koehler
Xilinissa andina (Koehler)
Albirenia andina (Koehler)

ADULTO Y GENITALIA DEL MACHO: según Angulo y Olivares (1999).

HEMBRA: de acuerdo con la descripción de Koehler 1979:24.

GENITALIA HEMBRA: apófisis anteriores subiguales en tamaño que las posteriores; ductus bursae esclerosado, bursa copulatrix bisacular; corpus bursae subgloboso con signa en forma de una placa lineal notoria; lóbulos del ovipositor provistos de espinas largas y débiles.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: CHILE: VII Región: Talca, Sector La Mina; R.M.: Santiago: El Manzano.

MATERIAL EXAMINADO: 8 ejemplares: 4 ejemplares Sector La Mina; Laguna del Maule, segunda quincena, enero, 1981 (353, 354, 355, 363), Badilla Coll. (UCCC). 1 ejemplar Sector La Mina; Laguna del Maule, primera quincena, enero, 1981 (374), Badilla Coll. (UCCC); 2 ejemplares, Sector La Mina; Laguna del Maule, segunda quincena, diciembre, 1995 (299, 301), Badilla Coll. (UCCC); 1 ejemplar, El Manzano, Santiago, 12-xi-1951 (UCCC).

OBSERVACIONES: si bien esta especie cumple con algunas características del género *Albirenia*, no corresponde a esta asignación debido a que la genitalia de su hembra es bisacular con el corpus y cervix bursae subglobosos, en el trabajo de Angulo & Olivares (1999), se describe para la hembra de *Albirenia*, bursa copulatrix bisacular pero el cervix bursae es alargado y en algunas especies helicoidal. Otro carácter para ser incluida en el nuevo género es la forma y disposición de las espinas de la vésica en el macho.

Tenera purpuracea (Angulo & Olivares) n. comb.
(Figs. 2, 5, 8 y 11)

Albirenia purpuracea Angulo & Olivares (Olivares *et al.* en prensa)

MACHO: Olivares *et al.* (en prensa)

HEMBRA: Olivares *et al.* (en prensa)

OBSERVACIONES: *A. purpuracea* Angulo & Olivares *in litteris* es cambiada a este género debido a que su hembra presenta la bursa copulatrix bisacular, corpus bursae y el cervix bursae son subglobosos, corpus bursae con presencia de signum; la vésica de la genitalia del macho está cubierta por fuertes espinas rectas, lo que reafirma esta nueva designación.

Albirenia Angulo & Olivares

REDEFINICIÓN: genitalia del macho con valvas redondeadas en su ápice, corona poco desarrollada a ausente, saccus terminado en punta, presencia de ampulla única; aedeagus con numerosas espinas simples y pequeñas dispuestas a lo largo de la

vésica; genitalia de la hembra con bursa copulatrix bisacular, corpus bursae globoso, cervix bursae alargado y más o menos enrollado sobre sí, ausencia de signum; ductus seminalis se origina del ápice del cervix bursae.

Albirenia transversalis Rodríguez & Olivares n. sp.
(Figs. 6 y 9)

MACHO: cabeza con escamas blancas y negruzcas entremezcladas; palpos con escamas negruzcas externamente y en el borde interno con escamas blanquecinas mezcladas con piliformes negras; antenas plumosas (aserradas) provistas de cilios delgados y uniformemente distribuidos; vertex con escamas blanquecinas y negruzcas, las que se mezclan formando una línea negra que cruza al vertex y que destaca entre las escamas blancas restantes; tegulas cubiertas por escamas blanquecinas, negruzcas y castaño oscuro entremezcladas; patagias, de igual composición que las tégulas, pero en ésta las escamas negras forman dos líneas sobre el color de fondo, y presenta escamas piliformes negras en el borde alar; patas cubiertas por escamas blancas mezcladas por unas pocas escamas castaño claras, los segmentos tarsales con escamas castaño claras más abundantes y anillados por escamas blancas terminalmente. Alas anteriores, de color general agrisado, presenta una línea de escamas castaño oscuras a negruzcas por sobre la vena Cu₂ desde el borde anal hasta la banda subterminal donde es interrumpida; sobre la banda el color general es más claro y bajo ésta de una tonalidad notoriamente más oscura; el área basal alar está cubierta superiormente por escamas blancas, e inferiormente gris oscuro; las bandas alares sólo se manifiestan en la porción superior del ala con escamas castaño oscuro; la claviforme no se evidencia, lo mismo que la orbicular; la reniforme, subcuadrangular cubierta de escamas blanquecinas a gris claras, con su anillo de color gris oscuro; la banda subterminales doble, dentada y transversal, internamente con escamas castaño oscuro y blancas externamente; faz inferior, cubierta de escamas blancas y en el extremo costal matizado con escamas castaño claras, algunas escamas blanquecinas con escamas piliformes; presenta la reniforme claramente iden-

tificada por escamas castaño oscuras. Alas posteriores blancas con escamas piliformes blancas iridiscentes, costalmente con algunas escamas castaño oscuro; el borde del ala con algunas manchas pequeñas externamente; la discal cubierta por escamas castaño oscuras por ambas faces del ala. Abdomen, cubierto por escamas castaño claras y oscuras entremezcladas con piliformes.

EXPANSIÓN ALAR: X machos: 26.7 mm (n=4)

GENITALIA: uncus corto y de cuello grueso con espina apical; valvas anchas y cortas, de ápice redondeado y con corona muy débil; provisto solamente por ampulla curva de bordes aserrados y ápice redondeado, larga y curvada hacia el extremo dorsal de la valva pero sin sobresalir de ésta; saccus subcuadrangular y de extremo agudo; yuxta subtriangular. Aedeago provisto por una espina simple en la apófisis dorsal de la vésica y con numerosas espinas distribuidas a lo largo de ésta, al final de la vésica, las espinas son más gruesas, algunas ordenadas en hileras.

HEMERA: desconocida.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: CHILE: IV Región: Los Morongos, Los Niches, Curicó; VII Región: Sector La Mina; IX Región: Termas de Río Blanco, Cautín, Malleco.

MATERIAL EXAMINADO: 4 ejemplares machos. 1 macho, Holotipo, Chile, VII Reg. Sector La Mina, 930 ms.n.m, 24-10-1998, Badilla:coll. (UCCC). 1 macho, Termas de Río Blanco, Cautín, II. 51. (UCCC). 1 macho, Termas de Río Blanco, Malleco, 3/51, col. (UCCC). L.E. Peña; 1 macho, Chile, Los Morongos 600 m. Los Niches-Curicó, 17/19-xi-1994. (UCCC).

ETIMOLOGÍA: el nombre de esta especie *transversalis*, alude a la notoria banda subterminal dispuesta transversalmente sobre el ala anterior.

OBSERVACIONES: esta especie es muy cercana tanto en su morfología externa como en las estructuras genitales del macho a *lunatica* Koehler, el carácter tentativo de esta ubicación se debe al desconocimiento de la hembra de esta especie, sin embargo, el cornuti de su vésica sustenta esta combinación.

Albirenia murina (Koehler) n. comb.

Valeria murina Koehler 1979

MACHO: Koehler 1979.

OBSERVACIONES: el cambio de ubicación de esta especie responde a que el género *Valeria* Stephens es de la Región Paleártica, con especies de Asia y Europa, que no se relacionaría con las Neotropicales de la subregión altoandina. Los caracteres morfológicos de la estructura genital del macho sustentan su ubicación en el género *Albirenia* Angulo & Olivares.

Albirenia bicolor (Koehler) n. comb.

Valeria bicolor Koehler 1979

MACHO: Koehler 1979.

HEMERA: Koehler 1979

OBSERVACIONES: la nueva ubicación de esta especie en el género *Albirenia* Angulo y Olivares está basada en la concordancia de caracteres presentada en la diagnosis de Koehler (1979), para la genitalia del macho. *Valeria* Stephens es desestimado como asignación genérica debido a que corresponde a un género Paleártico, y esta especie es de distribución altoandina.

CLAVE PARA SEPARAR LOS GÉNEROS CONSIDERADOS (BASADA EN CARACTERES GENITALES DE MACHO Y HEMBRA)

- 1. Machos 2
- 1'. Hembras 5
- 2. Valva con proyección apical en el extremo dorsal 3
- 2'. Valva sin proyección apical 3'
- 3. Vésica con cornuti provisto de espinas pequeñas *Albirenia* Angulo & Olivares
- 3'. Vésica con cornuti provisto por grandes y fuertes espinas 4
- 4. Cornuti con espinas curvas en número variable ... *Curvalia* Olivares & Angulo *in litteris*
- 4'. Cornuti con espinas rectas en número variable *Tenera* Rodríguez & Angulo
- 5. Bursa copularix unisacular, signa ausente *Curvalia* Olivares & Angulo *in litteris*
- 5'. Bursa copulatrix bisacular 6
- 6. Corpus bursae globoso y cervix bursae enrollado sobre sí, signa ... *Albirenia* Angulo & Olivares
- 6'. Corpus y cervix bursae subgloboso, signa presente *Tenera* Rodríguez & Angulo

AGRADECIMIENTOS

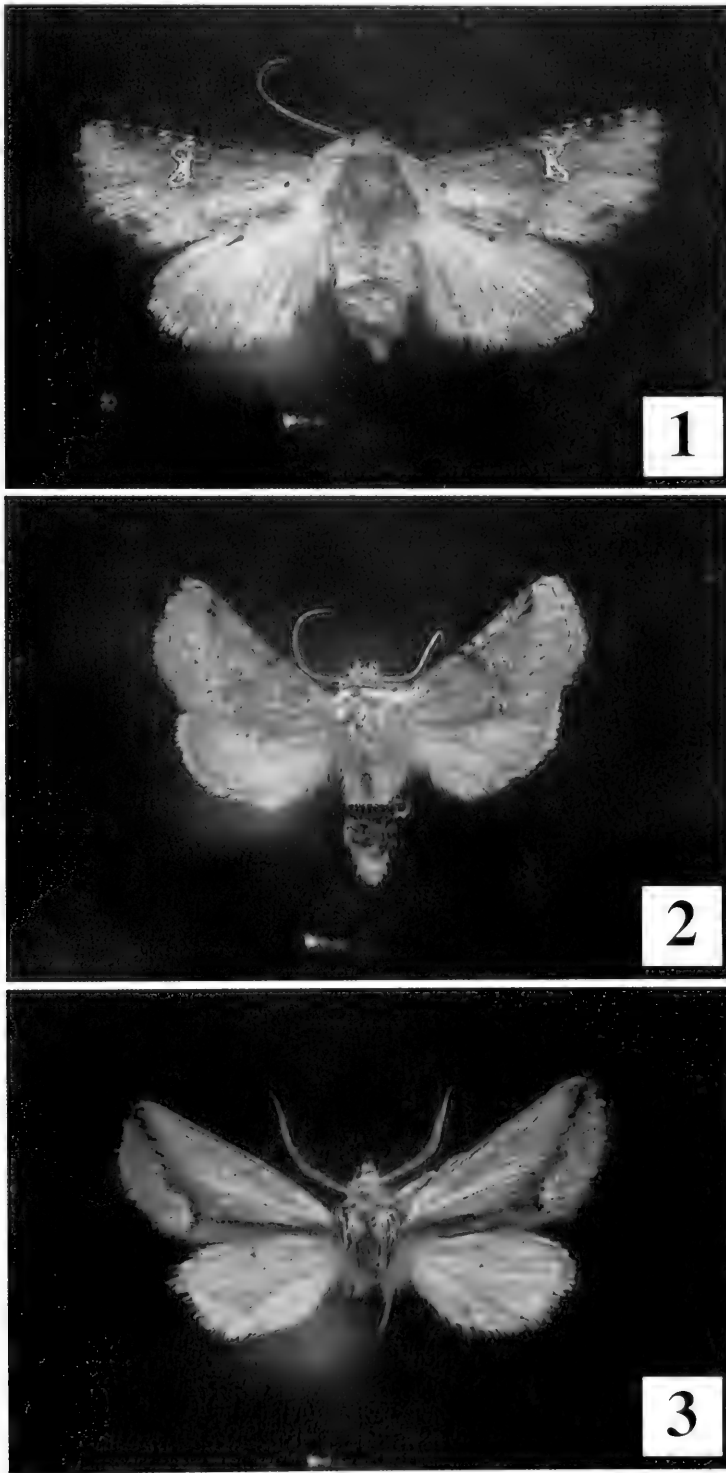
Agradecemos al proyecto N° 200.113.057-1.0 de la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción, por el apoyo económico a la presente publicación.

BIBLIOGRAFIA

ANGULO, A.O. & TH. WEIGERT. 1977. *Pseudaletia punctulata* (Blanchard) y *Pseudaletia impuncta* (Guenée): nótuidos hadeninos similares en Chile (Lepidoptera: Noctuidae). *Agrosur* 5(1):12-17.
 ANGULO, A.O & T.S. OLIVARES. 1999. Nuevo género y nuevas especies altoandinas II (Lepidoptera: Noctuidae). *Gayana* 63(2):51-61.

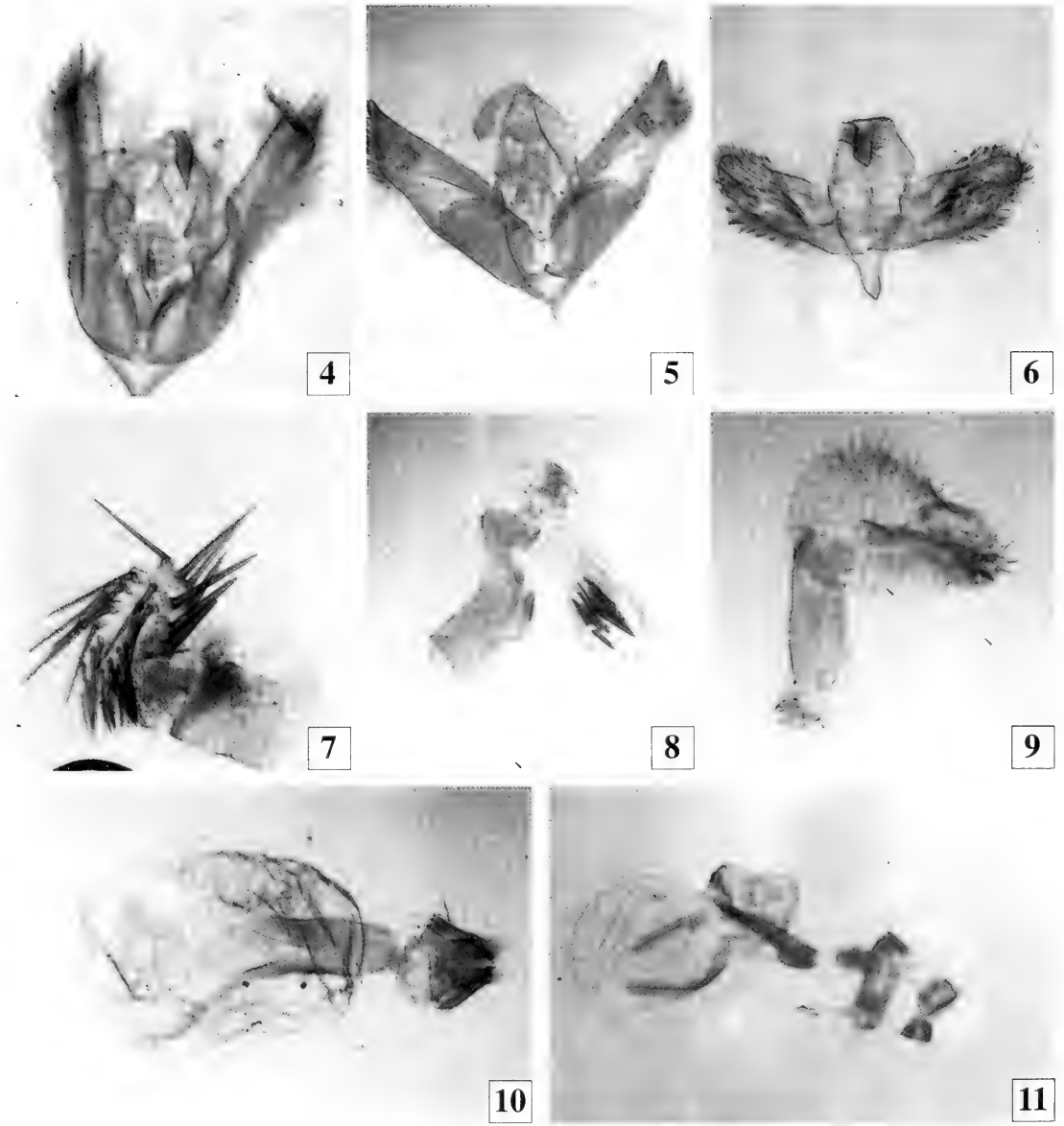
ANGULO, A.O., M.A. RODRÍGUEZ Y T.S. OLIVARES. 1999. Nuevo género y nuevas especies de nótuidos altoandinos III. *Farontia* Smith 1908 v/s *Strigania* Hampson 1905 y algunos alcances acerca de *Dargida* Walker 1856 (Lepidoptera: Noctuidae). *Gayana* 63(2):67-86.
 KOEHLER, P. 1951. Las Noctuidae Argentinas. Subfamilia Cucullinae. *Acta Zool. Lilloana* 12: 135-181.
 KOEHLER, P. 1973. Noctuidarum miscellanea V. *Acta Zool. Lilloana*. 30:1-21.
 KOEHLER, P. 1979. Noctuidarum miscellanea VI. *Acta Zool. Lilloana* 33:16-36.
 OLIVARES, T.S., M.A. RODRÍGUEZ Y A.O. ANGULO. Nuevo género y nuevas especies altoandinos IV. *Tropical Lepidoptera* (en prensa).
 POOLE, R.W. 1989. *Lepidoptera Catalogue* (New- Series). Fasc.118. noctuidae. Part.1, 500pp; Part.2, 501-1013; Part.3. 1015-1314. E.J. Brill/Flora & Fauna Publications. N.Y

Fecha de recepción: 30.08.2000
 Fecha de aceptación: 30.08.2000



FIGURAS 1-3. 1. Macho de *Tenera andina* (Koehler). 2. Macho de *Tenera purpuracea* (Angulo & Olivares). 3. Macho de *Albirenia transversalis* Rodríguez & Olivares

FIGURES 1-3. 1. Male of *Tenera andina* (Koehler). 2. Male of *Tenera purpuracea* (Angulo & Olivares). 3. Male of *Albirenia transversalis* Rodríguez & Olivares.



FIGURAS 4-11. Valvas de: 4. *T. andina* (Koehler). 5. *T. purpuracea* (Angulo & Olivares). 6. *A. transversalis* (Rodríguez & Olivares). Aedeagus de: 7. *T. andina* (Koehler). 8. *T. purpuracea* (Angulo & Olivares). 9. *A. transversalis* (Rodríguez & Olivares). Genitalia hembra de: 10. *T. andina* (Koehler). 11. *T. purpuracea* (Angulo & Olivares).

FIGURES 4-11. Valves of: 4. *T. andina* (Koehler). 5. *T. purpuracea* (Angulo & Olivares). 6. *A. transversalis* (Rodríguez & Olivares). Aedeagus of: 7. *T. andina* (Koehler). 8. *T. purpuracea* (Angulo & Olivares). 9. *A. transversalis* (Rodríguez & Olivares). Female genitalia of: 10. *T. andina* (Koehler). 11. *T. purpuracea* (Angulo & Olivares).

ACTIVIDAD CONTRACTIL DE MUSCULO PAPILAR CARDIACO Y CONDUCTO DEFERENTE DE RATA INDUCIDA POR VENENO DE LA ARAÑA *LATRODECTUS MACTANS* DE CHILE

CONTRACTION ACTIVITY OF THE PAPILLAR MUSCLE AND VAS DEFERENT OF A RAT INDUCED TO POISON FROM THE *LATRODECTUS MACTANS* SPIDER OF CHILE

Fernando Romero¹, Elena Altieri¹, Carlos Quiñehual² y Alejandra Cayuqueo³

RESUMEN

La araña *Latrodectus mactans* al morder inocula su veneno, el cual induce un cuadro clínico denominado latrodectismo sistémico, del que se desconocen sus efectos en tejidos aislados. Nuestro laboratorio ha obtenido veneno de esta especie de arácnido mediante la técnica de extracción de glándula, lo que permitió iniciar estudios de la reactividad muscular inducida por extracto de glándula y una fracción purificada bioactiva sobre músculo liso, utilizando como modelo preparaciones de músculo aislado papilar cardíaco y conducto deferente de rata. Los resultados muestran que estas toxinas generan un efecto miotónico en el tejido muscular liso del conducto deferente y en el tejido cardíaco inducen inotropismo positivo y aumento de la frecuencia de contracción. Nuestros resultados permiten demostrar que el veneno de esta araña estimula la reactividad contráctil en tejido muscular cardíaco y liso, y sugieren que el efecto principal se debe a la acción de una fracción proteica estructuralmente similar a la alfa-latrotóxina de arañas europeas y asiáticas.

PALABRAS CLAVES: Araña viuda negra, *Latrodectus mactans* de Chile, músculo cardíaco, conducto deferente, contracción.

ABSTRACT

The spider *Latrodectus mactans* inoculates its poison when biting, this induces a clinical chart named systemic latrodectism, its effects are ignored in isolated tissues. Our laboratory has obtained poison of this arachnid species by means of the gland extraction technique. This allowed us to begin studies of the muscular reactivity induced by gland extract and a purified bioactive fraction on smooth muscle, using as a pattern isolated cardiac papillar muscle and rat vas deferent. The results show that these toxins generate a miotonic effect in the smooth muscle of vas deferent, and positive inotropism and an increase in the frequency of contraction in the heart tissue. Our results demonstrate that the poison of this spider stimulates the contractile reactivity on cardiac and smooth muscular tissue, and also suggest that the main effect is due to the action of a proteinous fraction, structurally similar to the alfa-latrototoxin from european and asian spiders.

KEYWORDS: Black widow spider, *Latrodectus mactans* of Chile, heart muscle, vas deferent, contraction.

INTRODUCCION

La araña *Latrodectus mactans* de Chile pertenece al orden Araneae, sub-orden Labidognatha,

familia Theridiidae, género *Latrodectus*, especie *mactans*, de Chile (Zapfe 1959), conocida como "araña del trigo" o "viuda negra", correspondiente a la fauna ponzoñosa biocenótica de especies de fanerotóxicas. Su mordedura a humanos genera un efecto sistémico conocido como "latrodectismo" o "aracnoidismo sistémico". Se sabe que el veneno está constituido por varias neurotoxinas que inducen una sintomatología clínica que se caracteriza por dolor generalizado, dolor abdominal agudo, calofríos y/o temblor, fiebre, vómitos, taquicardia, hipertensión

¹Departamento de Ciencia Preclínicas - CEBIOR, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile. E-mail: fromero@ufro.cl

²Tesista de carreta Tecnología Médica.

³Tesista de carreta Tecnología Médica y ayudante de investigación Proyecto DIUFRO N° 9731.

arterial, secreción sudoral, lacrimal, nasal y priapismo, causando en algunos casos la muerte en adultos o niños (Scherone *et al.* 1957; Scherone 1966).

En la actualidad, el avance en los estudios de los componentes del veneno de la araña *Latrodectus mactans* se ha realizado en la subespecie euroasiática *tredecimguttatus*, existiendo ausencia de estudios sobre la composición de las toxinas presentes en el veneno de la araña *Latrodectus mactans* de Chile o de sus efectos fármaco-citofisiológicos. No obstante, estudios del efecto del extracto de glándula sobre la contractilidad del músculo papilar en corazón de rata demostraron un efecto inótropo positivo (Romero *et al.* 1996).

Las toxinas excitadoras de origen animal que inducen neuroexocitosis se conocen como neurotoxinas. Del veneno de la subespecie euroasiática se han identificado al menos tres de estas neurotoxinas de alto peso molecular: (i) la alfa-latrotoxina (α -LTX) de 130 KDa, proteína ácida no glicosilada, que actúa selectivamente sobre terminales nerviosos presinápticos de vertebrados, provocando una liberación masiva de neurotransmisores por estimulación de la fusión de vesículas sinápticas con la membrana presináptica (Frontali *et al.* 1972; Grasso 1976; Kiyatkin *et al.* 1990, 1992); (ii) la alfa-latroinsectotoxina (α -LIT) de 120 KDa, con actividad equivalente sobre insectos (Magazanik *et al.* 1992); y (iii) la alfa-(125)-latrocrustotoxina (α -LCTX) de 150 KDa, específica para crustáceos (Krasnoperov *et al.* 1991).

La α -LTX actúa en dosis nanomolares y sus efectos son causados desde el exterior celular. Aunque también es activa en ausencia de calcio, sus acciones son más rápidas en medios que contengan este catión (Hlubek *et al.* 2000). En modelos aislados de contractilidad de músculo liso de uretra de cerdo, la α -LTX produce relajación estimulada por secreción de mediadores no-adrenérgicos y no-colinérgicos en los terminales nerviosos. Efecto similar se observa en esófago de gato, pero asociado a la liberación de óxido nítrico (NO), péptido intestinal vasoactivo (VIP) y neurotransmisores de las vesículas sinápticas. En este modelo se reporta también un efecto de contracción, atribuido a intermediarios colinérgicos (Werkstrom *et al.* 1997; Ny *et al.* 1997). En músculo liso de conducto deferente de rata, la α -LTX produce exocitosis de vesículas con cuerpos densos grandes, que contienen noradrenalina y neuropéptido Y (De Potter *et al.* 1997).

El presente trabajo tiene por objetivo estudiar el efecto del veneno de *Latrodectus mactans* de Chile, obtenido de extracto de glándula y de una fracción

bioactiva, sobre respuestas de contractilidad en músculo liso y cardiaco, utilizando dos modelos de tejidos aislados: conducto deferente y músculo papilar cardiaco de rata.

MATERIALES Y METODOS

CAPTURA DE ARAÑAS

La captura de los especímenes de *Latrodectus mactans* se realizó en los meses de diciembre 1998 y enero 1999 en los sectores de La Peña y Quino, de la VIII y IX Región, de Chile (Figura 1). Los ejemplares son delicadamente inmovilizados con pinzas anatómicas de 30 cm y aislados en cápsulas plásticas (capacidad 150 ml) con su tapa oradada para permitir airear la "jaula". Es importante mencionar que nuestro equipo ha recolectado arañas en la zona mencionada los dos últimos años, realizando siempre un repoblamiento posterior con arañas jóvenes, de modo de no alterar sustancialmente el equilibrio poblacional en el área. Los especímenes son dejados en ayunas por 30 días, mantenidos con agua, para estimular la producción y concentración del veneno en las glándulas.

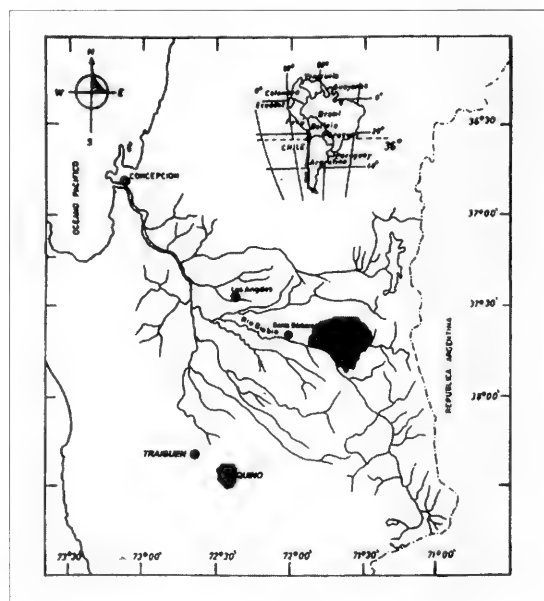


FIGURA 1. Sitios de muestreo de la VIII y IX regiones, sector de Quino y La Peña (Santa Bárbara).

FIGURE 1. Sample sites of the 8th and 9th regions Quino and La Peña sectors (Santa Barbara).

OBTENCIÓN DE VENENO

El extracto de glándula venenosa se obtuvo retirando los quelíceros de un total de 65 arañas, previa muerte por inmersión de 1 min. en nitrógeno líquido. Luego se sumergieron unos segundos en buffer fosfato salino (PBS) 0,1 M, pH 7,4, a 4°C y se seccionó la membrana que adhiere a los quelíceros en su base, procediendo a retirarlos. Cada quelíceros con su glándula de veneno se depositó en un tubo con el buffer mencionado (25 pares de glándulas por 100 µl de PBS), siendo homogeneizados e inmediatamente centrifugados a 1060 g por 15 min. El sobrenadante alicuotado, que es denominado extracto de glándula (EG), se congeló de inmediato a -20°C, hasta su utilización.

REGISTRO DE CONTRACCIÓN ISOMÉTRICA DE MÚSCULO LISO Y CARDIACO

Se utilizaron 22 ratas Sprague-Dawley machos, de un peso aprox. de 250 g. sacrificadas por decapitación. Se removió rápidamente el corazón y conductos deferentes, para obtener los segmentos de tejidos que se utilizaron en los ensayos experimentales, los que colocados en solución Tyrode (baño de 6 ml) se mantuvieron a 30°C, conteniendo (concentración en mM): NaCl 137, KCl 5,4, CaCl₂ 2,7, MgCl₂ 0,5 NaHCO₃ 11,9, NaH₂PO₄ 0,45 y glucosa 5,55, a pH 7,4, oxigenando con una mezcla de 95% O₂ y 5% CO₂. La adición de veneno total o de la fracción purificada en el baño es en volúmenes de 40 µl con micropipeta en concentración proteica final de 20 ng/µl y de 0,5 ng/µl respectivamente.

Los registros de contracción isométrica se realizaron a través de un transductor de fuerza Gilson T 1030 de alta sensibilidad (el extremo inferior se conecta a un portaelectrodo y el superior al transductor), acoplado a un micromanipulador. La preparación de tejido aislado recibe una tensión de reposo basal de 1 g. El transductor de fuerza se conectó a un polígrafo Gilson modelo 5/6H. Luego de un período de estabilización de 60 min, se registró la actividad basal o de control.

La preparación de segmento (3 cm) de conducto deferente se estimuló con una intensidad de 3 a 12 mV, a frecuencia de 5 Hz y 5 ms duración. Se realizaron 6 series experimentales en curvas intensidad-respuesta, en ausencia (control) y 6 series experimentales en presencia de extracto de glándula, más 6 series experimentales en presencia de fracción proteica purificada bioactiva.

El estudio de la respuesta contráctil de músculo papilar de ventrículo izquierdo de rata se realiza en seis

series experimentales de segmentos de tejido muscular (aprox. 1 cm) que se conecta al fisiopolígrafo a través de un amplificador IC-MP, para registrar la tensión desarrollada y por interconexión a un amplificador IC-DIFF se obtiene la primera derivada de la función contráctil (dP/dt), como también el valor del tiempo en que se alcanza la máxima tensión desarrollada (t). La preparación se estimuló, con una intensidad del doble de su umbral, a una frecuencia de 5 Hz y 5 ms de duración, en ausencia (control) y en presencia de extracto de glándula de veneno de la *Latrodectus mactans* de Chile.

Los resultados fueron analizados estadísticamente por el método de ANOVA en el software PRIMER y se graficaron en INPLOT versión 4.0.

SEPARACIÓN DE FRACCIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE INMUNOAFINIDAD

Para obtener una fracción proteica del veneno de *L. mactans* chilena, se utilizó un método de separación por inmunofinidad (Schneider *et al.* 1982; Scheer & Meldolesi 1985) (ver Anexo I para el procedimiento detallado): proteína A-Sefarosa CL-4B (Farmacia Biotech), hidratada con buffer borato, fue incubada con 12,5 µg del anticuerpo anti α -LTX, con agitación suave durante 1 hora en cámara fría a 4°C. Luego de centrifugada, se lavó con dietanolamina 0,1 M, pH 8 (DEA) y se resuspendió en 7,5 ml de dimetilsuberi-midato (DMSD, Pierce) preparado en DEA, mezcla que se agitó suavemente durante 45 min a 4°C. A esta matriz sefariosa-proteína A-anticuerpo anti α -LTX, se agregaron 7,5 ml de buffer borato conteniendo 40 µl de EG (de esta dilución se reservaron 500 µl para determinar la concentración de proteínas) con agitación suave. La elución de la fracción ligada al anticuerpo se realizó con 2 ml de glicina 0,2 M, pH 2,7, neutralizando de inmediato con 100 µl de Tris-HCl 1 M, pH 8,0. La fracción se almacenó en alicuotas a -20°C.

DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE PROTEÍNAS

Se utilizó la técnica de Lowry (1951) con leves modificaciones. Las lecturas se obtuvieron en un espectrofotómetro Shimadzu, mod. EBA 3S, a 660 nm, y se compararon con una curva de referencia (solución de albúmina sérica bovina) realizada previamente por triplicado.

ANÁLISIS ELECTROFORÉTICO

Se analizó el EG mediante electroforesis en gel de poli(acrilamida) en condiciones denaturantes (SDS-

PAGE)(Laemli 1970), junto con un patrón de pesos moleculares. La técnica se aplicó fundamentalmente de acuerdo al protocolo modificado por Sambrook *et al.* (1989). Se utilizó un aparato de electroforesis BioRad mod. Mini-Protean II Cell y una fuente de poder BIO-RAD mod. Power-Pac 300. Se usó una solución de acrilamida/bis-acrilamida (BioRad) al 10%. Se depositaron 10 µl de cada muestra en buffer de depósito (ver Anexo I para detalle de todos los buffers utilizados) después de llevarla a ebullición por 5 min. La corrida se realizó a voltaje constante (50 V) por 15 min y 60 V el resto de la corrida. El gel se fijó durante 2 h o toda la noche. La tinción de los geles se realizó con nitrato de plata (Sambrook *et al.* 1989; Sammons *et al.* 1981). Se lavaron los geles con etanol 30% tres veces durante 20 min cada vez. A continuación fueron pretratados con 0.2 gr/l de Na₂S₂O₃ x 5 H₂O (Sigma) durante 1 min lavados y teñidos con AgNO₃ 2 gr/l (Merk) más 0.75 ml/l de formaldehído 37%, durante 30 min. Se reveló con Na₂CO₃ (60 gr/l), HCHO 37% (0.5 ml/l), y Na₂S₂O₃ X 5 H₂O (4 mg/l) durante 10 min o hasta aparición de las bandas. Los geles se sumergieron inmediatamente en EDTA 0.05 M (Sigma) para su almacenamiento y posterior digitalización mediante scanner UMAX ASTRA 610 P.

ANÁLISIS MEDIANTE DOT IMMUNOBINDING ASSAY (DIA)

Para determinar la existencia de epitopes comunes entre la molécula de α-LTX de *L. mactans tredécimguttatus* (*Lmt*) y algún componente del EG de *L. mactans chilena* (*Lm*), se utilizó la técnica de DIA, fundamentalmente de acuerdo a Hawkes *et al.* (1982). Membranas de nitrocelulosa fueron sembradas con distintas

diluciones de α-LTX de la subespecie euroasiática (Figura 2, segundo, tercer y cuarto recuadro de izquierda a derecha); extracto de glándula de la subespecie *Lm* (quinto recuadro); y PBS como control negativo (primer recuadro). Brevemente, se usaron tiras de membrana de nitrocelulosa (Inmobilon NC Pure, Sigma) y las muestras (1.5 µl) fueron: (i) α-LTX (Calbiochem) en concentraciones de 0.75, 1.5, 3 (x10⁻⁷M). (ii) EG, obtenido como se indicó arriba; y (iii) PBS como control. Luego de bloquear y lavar, se incubó cada NC en concentraciones (µg/ml) de 0.5, 1, 2, 3 del anticuerpo primario (anti α-LTX desarrollado en conejo, Calbiochem). El anticuerpo secundario fue un anti inmunoglobulina de conejo desarrollado en cabra, conjugado a peroxidasa, 1:15.000 (Sigma). Se reveló con tetrahidrocloruro de 3,3' diaminobencidina (DAB) a 0.5 mg/ml en TPBS, más 0.01% de peróxido de hidrógeno y 0.4 mg/ml de cloruro de níquel.

RESULTADOS

RESPUESTA CONTRÁCTIL ISOMÉTRICA DE CONDUCTO DEFERENTE DE RATA

Las respuestas de registros típicos de contracción de músculo liso, al aplicar intensidades de estímulos eléctricos crecientes, fueron observadas en las preparaciones aisladas de conducto deferente de rata, como se presentan en la Figura 2. En (a) corresponde a respuesta tónica control, en (b) la contractilidad aumenta en presencia de fracción purificada del veneno de *Lm*, y en (c) el efecto fásico-tónico basal es incrementado cuando se adiciona al baño extracto de glándula.

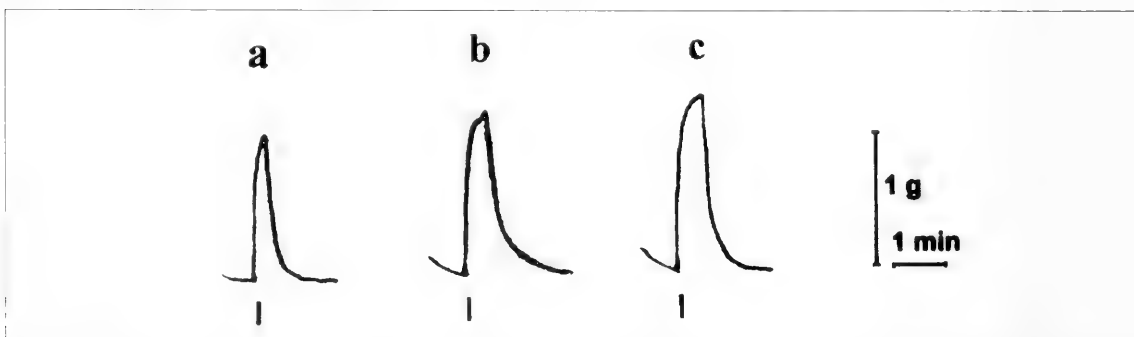


FIGURA 2. Registro típico de contracciones tónicas de conducto deferente de rata inducida por estímulo máximo eléctrico (↑=12mV) 5 Hz y 5 ms de duración: (a) respuestas basal control y en presencia de extracto de glándula 20 ng/µl; (b) y por adición de fracción proteica 0.5 ng/µl; (c). calibración 1 g de tensión y velocidad de registro 1 min.

FIGURE 2. Typical registration of tonic contractions of the rat's vas deferent induced by maximum electric stimulus of (↑=12mV) 5Hz and 5 ms duration: (a) control responses and in the presence of glandular extract of 20 ng/µl; (b) and for the addition of protein fractions 0.5 ng/µl; (c) the tension basal of 1 g and registered velocity of 1min.

La reactividad muscular del conducto deferente, en la Figura 3, se muestra en las curvas de porcentaje de respuestas máximas a estímulos eléctricos de intensidad creciente de 3-12 mV, 5 Hz. El valor de E_{max} obtenido para el control fue de 100 ± 1.3 , el que aumenta en presencia de EG (20 ng/ μ l) a 107.6 ± 0.5 , y al adicionar al baño la fracción proteica (0.5 ng/ μ l) de veneno el valor alcanza a 122.7 ± 2.5 . Todas las series experimentales son

significativamente diferentes al control ($p < 0.05$). También se determina que el extracto de glándula y la fracción proteica inducen un aumento de la sensibilidad de la curva de intensidad-respuesta determinada por el valor de ED_{50} del control (mV) que es 7.76 ± 0.11 , en tanto la respuesta de sensibilidad en (mV) presencia del EG es 7.33 ± 0.075 y de la fracción purificada (mV) es 7.07 ± 0.57 . Ambas curvas son significativamente diferentes al control.

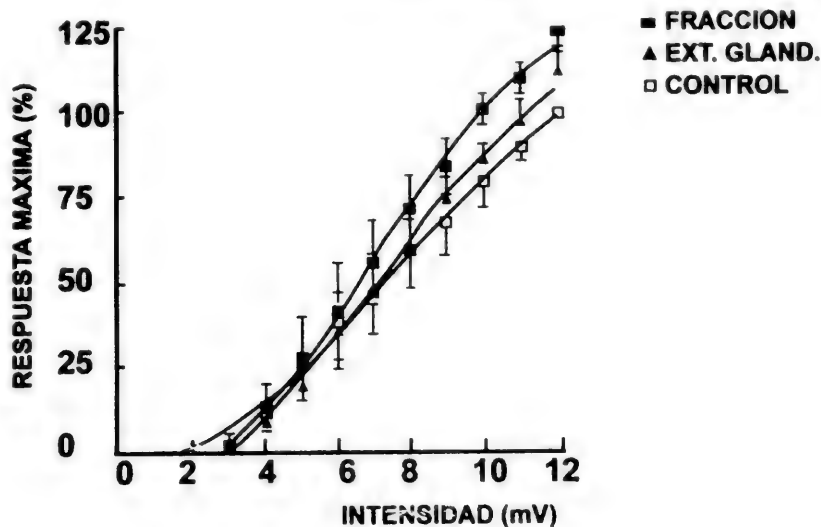


FIGURA 3. Dependencia intensidad-respuesta contráctil del conducto deferente de rata, inducida por estímulos eléctricos variables de 3 a 12 (mV), frecuencia 5 Hz y 5 ms de duración. La respuesta máxima está expresada en porcentaje del efecto fásico-tónico del registro isométrico, control, puntos llenos (■); extracto de glándula, puntos (▲); fracción, puntos (□). Cada punto representa la media, y su ES en trazos verticales, de 3 series experimentales con 5 puntos normalizados por ajuste de la función de Hill.

FIGURE 3. Dependent intensity-contraction response of the rat's vas deferent, induced by variables of electric stimulus of 3 to 12 (mV), duration of 5 Hz and 5 ms frequency. The maximum response is expressed in a percentage of stage-tonic registered isometric effect. Control, full points (■); glandular extract, points (▲) fraction, points (□). Each point represents the medium and the ES in vertical lines of 3 experimental series with 5 normalized points adjusted according to the Hill function.

RESPUESTA CONTRÁCTIL ISOMÉTRICA DE MÚSCULO PAPILAR DE CORAZÓN DE RATA

En el estudio de los efectos inotrópicos y frecuencia contráctil del músculo papilar de rata, como se muestra en la Tabla I, al adicionar EG (20 ng/ μ l en concentración final en el baño, 6 ml), aumentaron significativamente los efectos máximos obtenidos para parámetros estudiados (máxima tensión desarrollada, la primera deri-

vada de la función contráctil y tiempo) del músculo papilar aislado de rata y son concordantes con los registros de contractilidad de la máxima tensión y efecto sobre la frecuencia contráctil de este tejido .

Los cambios de las respuestas isométricas obtenidas en la presencia de neurotoxinas fueron reversibles, ya que en ausencia de ellas se observó que la recuperación de los diferentes parámetros no se modificó en relación con los controles.

TABLA I. Efectos inducidos por la adición de extracto de glándula sobre músculo papilar cardíaco de rata.

TABLE I. Effects induced by the addition of the glandular extract concerning the papillar muscle of the rat.

Parámetro	Control	Efecto max	Recuperación	(n)	p<
MTD (mg/mg)	73.0±0.9	91.0±2.9	75.0±1.7	6	0.05
dP/dt (g/cmxs)	37.0±4.1	49.3±5.2	37.8±5.4	6	0.05
t (ms)	113.0±6.0	105.0±3.8	112.0±5.2	6	0.05

EPITOPES COMUNES ENTRE EG DE *L. MACTANS* CHILENA Y α -LTX DE *L. MACTANS TREDECIMGUTTATUS*

Al utilizar la técnica del DIA para determinar la existencia de epitopes comunes entre algún componente del EG de la subespecie chilena de *L. mactans* y la α -LTX de la subespecie euroasiática,

se observó una reacción positiva con ambas fracciones (Figura 4). Esto demuestra la existencia de epitopes comunes entre las proteínas, por lo cual fue factible utilizar el anticuerpo anti- α -LTX euroasiática en la matriz de inmunoafinidad que separó una fracción del extracto de glándula de *Lm* con posible actividad α -LTX.

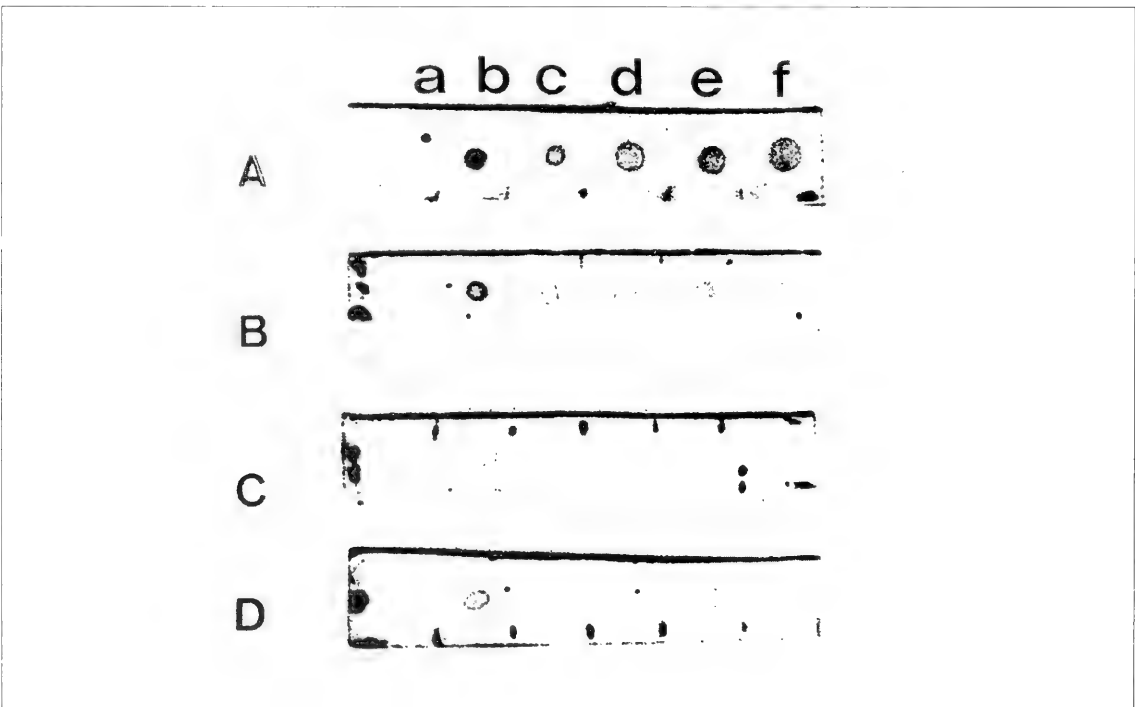


FIGURA 4. Membranas de nitrocelulosa incubadas con distintas concentraciones de anticuerpo primario (0.5, 1, 2, 3; mg/ μ l, marcadas de A, B, C, y D). En el recuadro a se observa el control negativo (PBS). En los recuadros b y c se observa el extracto de glándula, diluido 1:2 y 1:4, respectivamente. La α -LTX euroasiática se observa en los recuadros d, e y f, en concentraciones de 0,75; 1,5 y 3 ($\times 10^{-7}$ M) respectivamente.

FIGURE 4. Nitrocellulose membranes incubated with different concentrations of primary antibodies (0.5, 1, 2, 3; mg/ μ l, marked to A, B, C and D). In the chart a negative control can be observed. In the b and c charts the extracted glandula can be observed, diluted 1:2 and 1:4, respectively. The euroasian α -LTX can be observed in charts d, e and f in concentrations of 0,75; 1,5 and 3 ($\times 10^{-7}$ M) respectively.

CONTENIDO PROTEICO Y BANDAS ELECTROFORÉTICAS

Las alícuotas congeladas, EC y el producto de la separación por inmunoafinidad, fueron estudiadas por el método de Lowry (1951) para determinar su concentración proteica. Los resultados, que se aprecian en la Tabla II, indican la presencia de una alta concentración proteica en el EG (4.99 mg/ml), la mayoría de la cual no se unió a la matriz de inmunoafinidad (3,4

mg/ml), es decir, no presentó epitopes comunes con la α -LTX de *Lmt*. Sólo 2.95×10^{-3} mg/ml de proteína se eluyeron de la fracción unida al anticuerpo anti- α -LTX de *Lmt*. Esta fracción proteica presentó alta actividad tipo α -LTX en los modelos fisiológicos estudiados. En el análisis electroforético (figura 5), se observa para EG un patrón de bandas similar al reportado por Grasso (1976) para el extracto de glándula de la subespecie euroasiática.

TABLA II. Resultados de la determinación de proteínas. Se muestran los valores de concentración de proteínas obtenidas (muestra total de 65 arañas).

TABLE II. Results of determined proteins. The following demonstrates the values of obtained protein concentrations (total sample of 65 spiders).

Muestra	Concentración proteica (μ g/ml)
Extracto de glándula (EG)	4993.9
EG no unido a matriz	3144.4
Fracción proteica	2.95
Blanco de reactivo	

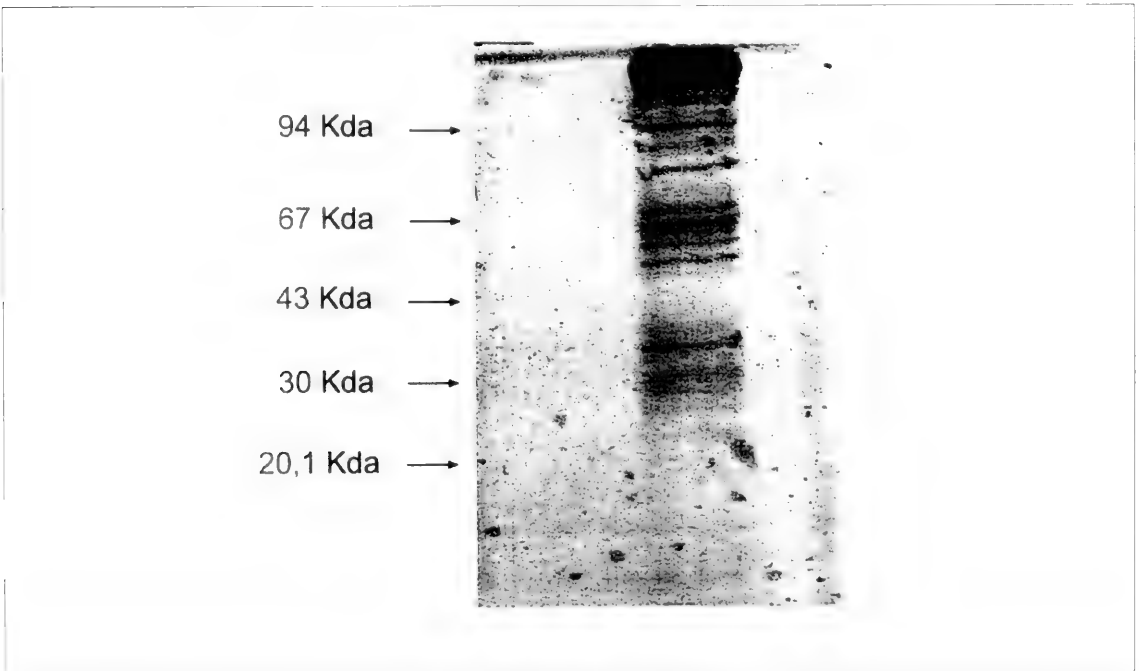


FIGURA 5. Gel de poliacrilamida al 10%, sometido a electroforesis en condiciones denaturantes. Se indica la ubicación de las bandas del marcador de pesos moleculares (94, 67, 43, 30 y 20.1 KDa.). Se observan las bandas correspondientes al extracto de glándula (EG) de la araña *Ln*, que presentan un patrón similar al obtenido por Grasso (1976) al analizar el EG de la araña *Lmt*.

FIGURE 5. Polyacrilamide gel of 10% submitted to electroforesis in denaturing conditions. The location of the zones of the signal lines of the molecular weight is indicated (94, 67, 43, 30 y 20.1 KDa.). The zones corresponding to the glandular extract (EG) of the *Ln* spider are observed, which present a similar pattern obtained by Grasso (1976) when analysing the EG of the *Lmt* spider.

DISCUSION

En preparaciones de tejido muscular con innervación intacta, las respuestas a extractos de glándulas y fracciones purificadas de α -LTX del veneno *Lmt* pueden atribuirse a estímulo de secreción de neurotransmisores en las terminales nerviosas (Grasso 1976; Magazanik *et al.* 1992; Ny *et al.* 1997).

En nuestros resultados, la respuesta contráctil del conducto deferente de rata aumentó la actividad de tensión desarrollada en presencia de la fracción purificada, como también su afinidad, lo que nos indica que estamos en presencia de un incremento de la actividad específica en la fracción en comparación con el extracto de glándula. De esto se desprende la necesidad de dilucidar los mecanismos fármaco-receptor utilizando un agonista molecular conocido. Igualmente, nuestro equipo continúa en el trabajo de purificación y caracterización de las fracciones del veneno.

Por otra parte, en músculo papilar cardiaco, en presencia de extracto de glándula, se observó un aumento de respuesta máxima contráctil y de su frecuencia, equivalentes a las respuestas reportadas en la literatura, obtenidas en preparaciones de tejidos aislados en presencia de sustancias simpaticomiméticas con efecto inótrofo, los que pueden estar relacionados a un evidente tono simpático dependiente de la presencia de las neurotoxinas en el extracto de glándula y en la fracción purificada (Olson *et al.* 1995; Frontali 1972; Ny *et al.* 1997; Werkstrom *et al.* 1997). Los efectos observados por nuestro equipo podrían deberse a mecanismos similares inducidos por la α -LTX, que generaría posiblemente una exocitosis de terminaciones nerviosas simpáticas que son abundantes en ambos tejidos en estudio.

En modelos aislados de contractilidad de músculo liso de uretra de cerdo, que estudian la fracción α -LTX obtenida de la subespecie euroasiática *Latrodectus mactans tredecimguttatus*, se reporta un efecto de relajación, el cual se atribuye a una posible secreción de mediadores no-adrenérgicos y no-colinérgicos en los terminales nerviosos (Werkstrom *et al.* 1997). En músculo liso de esófago de gato, Ny *et al.* (1997) igualmente observan efecto de relajación inducida por α -LTX, el cual asociaron a la liberación de óxido nítrico (NO), péptido intestinal vasoactivo (VIP) y neurotransmisores de las vesículas sinápticas. Sin embargo, también reportan un efecto de contracción, atribuido a intermediarios colinérgicos. Esto nos permite indicar que el aumento de la sensibilidad de la respuesta contráctil de los

diferentes tejidos en nuestros modelos está asociado a mecanismos de membrana y/o intracelulares, directos o mediados por exocitosis de algún neurotransmisor que se active por las neurotoxinas del veneno de la especie *Latrodectus mactans* de Chile.

El estudio de los venenos animales ponzoñosos demuestra que presentan estructuras moleculares proteicas muy similares en animales que son de los mismos géneros o familias (Scheer *et al.* 1985; Kiyatkin *et al.* 1990). Debido a lo anterior, resultó interesante establecer en el presente trabajo la presencia de epitopes comunes entre la α -LTX de la especie euroasiática (preparado comercial) y un componente del veneno de *Latrodectus mactans* de Chile. Los epitopes comunes encontrados sugieren que la estructura molecular de alguno de los componentes del veneno es similar a la toxina de la araña euroasiática, y por lo tanto su mecanismo de acción puede ser similar. Además, el análisis electroforético del EG de *Latrodectus mactans* de Chile muestra un patrón similar al del extracto de glándula de *Latrodectus mactans* euroasiática (Grasso 1976). Sin embargo, una comparación más exhaustiva requerirá la utilización del extracto de glándula de ambas especies en un mismo gel de electroforesis.

Es interesante notar que la actividad específica de la fracción purificada, que modifica el "efecto máximo" en conducto deferente y músculo papilar es mayor que la presentada por el extracto de glándula. En conclusión, nuestros resultados sugieren que la molécula responsable de parte importante del efecto observado sería precisamente aquella que presenta epitopes comunes con la α -LTX europea.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos los financiamientos recibidos de la Dirección de Investigación de la Universidad de la Frontera (DIUFRO), Proyecto 9731 y del Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBOIR) perteneciente al proyecto de Mejoramiento de la Calidad de la Educación Superior MECE-SUP98 UFRO "Programa fortalecimiento de la capacidad científica tecnológica y productiva regional".

BIBLIOGRAFIA

DE POTTER, W.P., P. PARTOENS, A. SCHOUPS, I. LLONA & E.P.

- COEN. 1997. Noradrenergic neurons release both noradrenaline and neuropeptide Y from a single pool: the large dense core vesicles. *Synapse* 25(1):44-45.
- FRONTALI, N., E. GRARRATA & P. PARISI. 1972. Effects of black widow spider venom on acetylcholine release from rat cerebral slice "in vitro", *Biochem. Pharmacol.* 21:969-974.
- GRASSO, A. 1976. Preparation and properties of a neurotoxin purified from the venom of black widow spider (*Latrodectus mactans tredecimguttatus*). *Biochem. Biophys. Acta* 439:406-412.
- HLUBEK, M.D., E.L. STUENKEL, V.G. KRASNOPEROV, A.G. PETRENKO & R.W. HOLZ. 2000. Calcium-independent receptor for alpha-latrotoxin and neurexin H facilitate toxin-induced channel formation: evidence that channel formation results from tethering of toxin to membrane. *Mol. Pharmacol.* 57(3):519-528.
- KIYATKIN, N., Y. DULUBOVA, Y.Y. CHEKHOVSKAIA & E. GRISHIN. 1990. Cloning and structure of cDNA encoding α -latrotoxin from black widow spider venom. *Febs Lett.* 270:127-131.
- KIYATKIN, N., I. DULUBOVA, I. CHEKHOVSKAIA, A. LIPKIN & E. GRISHIN. 1992. Structure of the low molecular weight protein copurified with α -latrotoxin. *Toxicon* 30:771-774.
- KRASNOPEROV, V.G., O.G. SHAMOTIENKO & E.V. GRISHIN. 1991. Interaction of alpha-(125) latrocrustotoxin with nerve cell membranes from the river crab *astacus astacus*. *Bioorg. Khim.* 17(5):716-718.
- LAEMMLI, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685.
- LOWRY, O.H., N.J. ROSENBROUGH, A. FARR & R.J. RANDALL. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemical.* 193:265-275.
- MAGAZANIK, L.G., I.M. FEDOROVA, G.I. KOVALEVSKAYA, V.N. PASHKOV, O.V. BULGAKOV & E.V. GRISHIN. 1992. Selective presynaptic (α -latroinsectotoxin) isolated from black widow spider venom. *Neuroscience* 46:1881-1888.
- NY, L., K. WALDECK, E. CARLEMALM & K.E. ANDERSSON. 1997. Alpha-latrotoxin-induced transmitter release in feline oesophageal smooth muscle: focus on nitric oxide and vasoactive intestinal peptide. *Br. J. Pharmacol.* 120(1):31-38.
- ROMERO, F., R. SALVATICI, C. SCHULZ, M. CABEZAS, D. STANDEN Y E. ALTIERI. 1996. Efecto del veneno de *Latrodectus mactans* sobre la respuesta contráctil del músculo papilar de rata. *Revista Chilena de Cardiología* 15:3, p. 112.
- SAMBROOK, J., E. FRITSCH & T. MANIATIS. 1989. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual.* Cap. 18:47-59.
- SAMMONS, D., L. ADAMS & E. NISHIZAWA. 1981. Ultrasensitive silver based color staining of polipeptides in polyacrilamide gels. *Electroforesis.* 2:135.
- SCHEER, H. & J. MELDOLESI. 1985. Purification of the putative α -latrotoxin receptor from bovin synaptosomal membranes in an active binding form. *Embo Journal.* 4:323-327.
- SCHERONE, H., G. NIEDMANN, L. BAHAMONDE Y J. BONNEFOY. 1957. Algunas alteraciones cardiovasculares observadas en el latroductismo. *Biol.Chile. Parasit.* 12:29-35.
- SCHERONE, H. 1966. Latroductismo y loxoscelismo en Chile, incidencia, características clínicas, pronóstico, tratamientos y prevención. *Mem. Inst. Butanta. Simp. Internac.* 33:207-212.
- SCHNEIDER, C., R. NEUMAN, D. SUTHERLAND, U. ASSER & M. GREAVES. 1982. A one step purification of membrane proteins using a high efficiency immunomatrix. *The Journal Biological Chemistry.* 257:1766-1769.
- WERKSTROM, V., L. NY, K. PERSSON & K.E. ANDERSSON. 1997. Neurotransmitter release evoked by alpha-latrotoxin in the smooth muscle of the female pig urethra. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 356(2):151-158.
- ZAPFE, H. 1959. Clave para determinar familias y géneros de arañas chilenas. *Inv. Zool. Chilena.* 5:133-140.

Fecha de recepción: 03.01.2000

Fecha de aceptación: 11.10.2000

ANEXO I

PREPARACIÓN DE LA MATRIZ DE INMUNOAFINIDAD

50 mg de proteína A-sefarosa CL-4B (Pharmacia Biotech) liofilizada fueron hidratados con 7.5 ml de buffer borato pH 8.0 (0.1 M NaCl, 20 mM borato), que llamaremos buffer A, durante 30 min. Posteriormente se lavó dos veces en buffer A, centrifugando a 400 g por 5 min. Después del segundo lavado se resuspendió en 7.5 ml de buffer A, con 12.5 µg del anticuerpo anti α -LTX. Se mezcló en rotador con agitación suave durante 1 hora en cámara fría a 4°C. Luego fue centrifugada a 400 g por 5 min. Se lavó la sefarosa con dietanolamina 0.1 M, pH 8 (DEA) centrifugando a 400 g por 5 min a 4°C y luego se resuspendió en 7.5 ml de dimetilsuberimidato (DMSD, Pierce) 20 mM preparado en DEA 0.1 M con pH reajustado a 8.0. La mezcla se agitó suavemente durante 45 min a 4°C. La reacción se detuvo centrifugando a 400 g por 5 min y resuspendiendo en 7.5 ml de etanolamina 20 mM pH 8.0 durante 10 min a 4°C, agitando constantemente. Se lavó dos veces con buffer A centrifugando a 400 g, 5 min cada vez. A esta matriz sefarosa-proteína A-anticuerpo anti α -

LTX se agregaron 7.5 ml de buffer borato conteniendo 40 µl de EG (de esta dilución se reservaron 500 µl para determinar concentración proteica) con agitación suave, durante 1 h en cámara fría a 7°C. Luego de completada la incubación, se centrifugó a 400 g por 5 min (el sobrenadante fue recuperado para posteriormente determinar la cantidad de proteína no ligada al anticuerpo). Se lavó la matriz 2 veces en buffer A. La elución de la fracción ligada al anticuerpo se realizó con 2 ml de glicina 0.2M, pH 2.7, neutralizando de inmediato con 100 µL de Tris-HCl 1M, pH 8.0. La fracción aislada se almacenó en alícuotas a -20°C.

BUFFERS DE ELECTROFORESIS

Buffer de depósito: TRIS HCl 50 mM, pH 6.8, Dithiotreitol 100 mM, SDS 2%, Azul de bromofenol 0.1%, y Glicerol 10%, con DTT (dihitrioteitol) 1M.

Buffer de corrida: TRIS-Glicina 0.5 M, pH 8.8 con 10% SDS.

Fijador de gel: etanol 30%, ácido acético 12% y 0.5 ml/l de formaldehído al 37%.

MOLUSCOS TERRESTRES DE CHILE. SINONIMIA Y PROBLEMAS
RELACIONADOS: 1. FAMILIAS VERONICELLIDAE, PUPILLIDAE Y
ACHATINELLIDAE (GASTROPODA: PULMONATA)

LAND MOLLUSCA OF CHILE. SYNONYMIES AND RELATED PROBLEMS:
1. FAMILIES VERONICELLIDAE, PUPILLIDAE AND ACHATINELLIDAE
(GASTROPODA: PULMONATA)

José R. Stuardo¹ y Patricio Vargas-Almonacid

RESUMEN

Se examina el *status* taxonómico de las especies chilenas de las familias Veronicellidae, Pupillidae y Achatinellidae, como parte de una serie de análisis taxonómicos sobre los moluscos terrestres de Chile que se elabora como seguimiento a la sinopsis del grupo publicada con anterioridad (Stuardo & Vega 1985). Son pocos los trabajos trascendentes publicados después de la sinopsis. En la actualidad hay descritas dos especies de Veronicellidae, dos de Pupillidae y 21 especies de Achatinellidae. De éstas, el único registro de Chile para *Heterovaginina limayana* Lesson es cuestionable y la subespecie *Pupoides (Ischnopupoides) minimus costatus* Biese, es considerada inválida. Se presenta una exhaustiva compilación de la sinonimia, junto a una discusión morfológica de los caracteres de la concha y de la distribución topotípica de cada una de las especies conocidas. Sin embargo, es ya necesario realizar estudios genéticos de especiación en los morfos del único veronicélido ampliamente distribuido en Chile central y sur, y en las especies de *Orthurethra* encontrados en Chile continental y sus islas oceánicas.

PALABRAS CLAVES: Mollusca, sinonimias, Veronicellidae, Pupillidae, Achatinellidae, Neotropical, Oceanía, Chile.

INTRODUCCION

Este artículo es parte de una revisión taxonómica, principalmente sinonímica, que se elabora

¹Departamento de Oceanografía y ²Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

ABSTRACT

The content of this paper, part of a series of taxonomic analysis of the land mollusca of Chile being written as a follow up to a synopsis published earlier (Stuardo & Vega 1985), examines the status of the Veronicellidae, Pupillidae and Achatinellidae. Only a few meaningful contributions have been published after the synopsis. So far, two species of Veronicellidae, two species of Pupillidae and 21 species of Achatinellidae have been recorded. Of these, *Heterovaginina limayana* Lesson with only one record from Chile continues being questioned and the subspecies *Pupoides (Ischnopupoides) minimus costatus* Biese, is here considered invalid. A full synonymic compilation, with a discussion of morphological distinctive shell traits and topotypic geographical distributions is given for each of these species. However, much needed taxonomic work on the genetic of speciation becomes necessary for the understanding of the morphs of the only widely distributed veronicellid species in central and south Chile and the species of *Orthurethra* found in continental Chile and the Oceanic Islands.

KEYWORDS: Mollusca, Synonymies, Veronicellidae, Pupillidae, Achatinellidae, Neotropical, Oceania, Chile.

sobre las familias de moluscos terrestres recientes presentes en el territorio nacional.

Ampliando el plan tradicional de un catálogo, se han incluido observaciones y comentarios generales sobre los diversos grupos cuando esto ha sido posible o necesario. Sin embargo, se hace especial énfasis en que la información aquí analizada sobre distintas especies no es definitiva, y deberá continuarse por los distintos especialistas ya que en algunos casos sólo

representa las fases iniciales de una taxonomía alfa. En esta misma perspectiva deberían considerarse las listas o compilaciones de moluscos chilenos publicadas que, no conteniendo ningún comentario taxonómico útil, se suponen exhaustivas, intentando evaluar la diversidad natural del grupo para ambientes tan variados como los que encierra, a su vez, la diversidad geográfica y ambiental de nuestro territorio geopolítico. De hecho, aparte de la sinopsis evaluadora del estado taxonómico de las especies descritas para Chile, y de su distribución y posible origen (Stuardo & Vega 1985), los aportes trascendentes publicados sobre el grupo son escasos, limitándose a una lista sinonímica de los Bulimúlidos chilenos (Stuardo & Valdovinos 1985), a una monografía con la revisión de la morfología, sistemática y distribución del género *Plectostylus* Beck 1837 (Valdovinos & Stuardo 1988), la descripción de nuevas especies de *Austrodiscus* Parodiz 1957 y *Biomphalaria* Preston 1910 (Valdovinos & Stuardo 1989, 1991) y, recientemente, la descripción de una nueva especie del género *Radiodiscus* Pilsbry & Ferriss 1906 perteneciente a la familia Charopidae (Vargas-Almonacid 2000). Una lista general de los moluscos chilenos recientes, valiosa desde el punto de vista de las especies descritas hasta ahora, incluye a las especies terrestres descritas (Valdovinos 1999), pero desgraciadamente no expone, a pesar de la experiencia del autor, la condición taxonómica, ni las dudas existentes sobre la validez relativa de tantas especies y grupos mal conocidos en las distintas faunas continentales e insulares oceánicas, o en las marinas.

MATERIALES Y METODOS

Para facilitar estudios futuros, la presentación de categorías superiores, familias y especies consideradas incluye observaciones sobre la clasificación de taxones supraespecíficos, listas completas de la sinonimia y de la literatura ligada a cada especie, y observaciones taxonómicas y morfológicas sobre muestras examinadas de las especies, cuando ellas han estado disponibles. Parte de este material fue estudiado por uno de nosotros (J.R.S.) en las colecciones del Museo de Zoología Comparada de la Universidad de Harvard, Cambridge, USA (MCZ); el resto se encuentra depositado en las Colecciones Científicas de la Universidad de Concepción, Chile (UCC). Gracias a la gentileza

del Dr. Sergio Letelier, curador del Museo Nacional de Historia Natural, Santiago de Chile, recibimos una lista de las muestras de *Pupoides (Ichnopupoides) minimus* (Philippi) existentes en esas colecciones.

En general, la sinonimia y distribución de las especies presta atención especial sólo a los artículos u obras que hacen referencia a Chile. En el caso de las especies introducidas, las referencias se limitan a la descripción original y las citas más relevantes sobre el grupo. Para facilitar la consulta rápida de la literatura, la sinonimia incluye el nombre de la especie citada y la referencia completa abreviada del artículo (excluido el título) u obra, siguiendo la nomenclatura utilizada en el Zoological Record (ISSN: 0144-3607) o en el World List of Scientific Periodicals. Después de cada referencia bibliográfica se indica como regla, entre paréntesis, si el nombre de la especie es sólo citado, si se incluye en un catálogo o lista de especies, o si considera información importante sobre su distribución, anatomía y sinonimia. Así, cuando las referencias no son seguidas por cualquiera de estas indicaciones, pero incluyen láminas y figuras acompañantes, se debe entender que ellas normalmente contienen descripciones o datos de valor general para el reconocimiento de las especies.

Cuando las referencias a publicaciones incluyen a dos o más autores, el último se separa por el signo &.

RESULTADOS

PLAN GENERAL DE CLASIFICACION

CLASE GASTROPODA Cuvier 1797

SUBCLASE PULMONATA Cuvier 1817

ORDEN Systellommatophora Pilsbry 1948
(= Gymnophila Baker 1955)

SUBORDEN Soleolifera Simroth 1890

Superfamilia Veronicelloidea Gray 1840
Familia Veronicellidae Gray 1840

ORDEN Stylommatophora Schmidt 1856
(= Geophila Férussac 1812)

SUBORDEN Orthurethra Pilsbry 1900

Superfamilia Pupilloidea Turton 1831

Familia Pupillidae Turton 1831

Superfamilia Achatinellacea Gulick 1873

Familia Achatinellidae Gulick 1873

ANALISIS TAXONOMICO

ORDEN Systellommatophora Pilsbry 1948

Los Veronicélidos han sido incluidos en el Orden Soleolifera junto a Onchidiidae y Rathousiidae por Boettger (1955) y Zilch (1959), y en la superfamilia Veronicellacea por Taylor & Sohl (1962). Con anterioridad, Thiele (1931) había considerado a los órdenes Soleolifera y Oncidiacea como estirpes del Orden Stylommatophora.

Concluyendo que esta familia estaría más alejada de los Stylommatophora que de los Basommatophora, Pilsbry (1948), incluyó a Veronicellidae dentro del nuevo Orden Systellommatophora y consideró a Soleolifera y Onchidiacea como sinónimos de su nuevo orden, invalidando las interpretaciones posteriores de Zilch, y Taylor & Sohl (*op. cit.*) Este nuevo taxon continuó siendo aparentemente ignorado, por lo menos, durante un par de décadas después de su proposición.

FAMILIA Veronicellidae Gray 1840

Género *Phyllocaulis* Colosi 1922

1. *Phyllocaulis gayi* (Fischer 1871)

Género *Heterovaginina* Kraus 1953

2. *Heterovaginina limayana* (Lesson 1829)

Por mucho tiempo el género *Phyllocaulis* fue incorporado dentro de la familia Vaginulidae. Sin embargo, no parece haber ya ninguna duda acerca de la prioridad del nombre *Veronicella* Blainville 1817 sobre *Vaginula* Férussac 1821, como lo demostraran Cockerell & Collinge (1893), Baker (1925a) y como fuera enfatizado por Connolly (1939). Posteriormente, la especie tipo (*Veronicella laevis* Blainville 1817) conservada en el Museo Británico de Historia Natural (Heynemann 1885; Cockerell & Collinge 1893) fue redescrita por Thomé (1975). En consecuencia, seguimos a estos autores usando el nombre Veronicellidae en lugar de Vaginulidae (Gill 1871).

Un estudio bastante completo de esta familia con una descripción más o menos detallada de la biología, anatomía, distribución y filogenia fue hecho por Hoffman en 1925. Sin embargo, su taxonomía descuidó las Reglas de Nomenclatura Zoológica, por lo que fue criticado y modificado

por Baker (1925a y b, 1928, 1931; Hoffmann 1927a y b). Las modificaciones propuestas por Baker han constituido, esencialmente, la base del tratamiento sistemático seguido hasta hoy en día, aunque los estudios parciales de la familia publicados después por Kraus (1953a y b, 1954), por Forcart (1953) con su importante estudio de los Veronicélidos africanos y más recientemente por Thomé (1975, 1976) quien examinó y redescibió gran parte de las especies Neotropicales, han permitido un mejor entendimiento del grupo.

Esta familia de distribución principalmente mundial parece estar representada en Chile a través de sólo una especie: *Phyllocaulis gayi* (Fischer 1871); otra, *Heterovaginina limayana* (Lesson 1829) ha sido registrada también para Chile, por lo que siguiendo a Thomé (1976) recomendamos un examen cuidadoso del material de América del Sur, lo que podría permitir determinar incluso la presencia del género *Veronicella* en nuestro país.

Género *Phyllocaulis* Colosi 1922

Phyllocaulis gayi (Fischer 1871)

Vaginula gayi Fischer 1871, *Nouv. Arch. Mus. Hist. nat. Paris, Méms.*, 7: 172; 1872, *J. Conchyliol.*, 20: 145; Heynemann 1885a, *Jber. dt. Malak. Ges.*, 12: 7 (lista de especies); 1885b, *Ibid.*, 12: 281 (lista de especies); Semper 1885, *Reisen Arch. Philippinen, Pt. 2, 3 (Nº 7): 294-295, pl. 26, fig. 4; Plate 1897, Verh. dt. Zool. Ges.*, 7: 187; Keller 1902, *Zool. Jahrb., Abt. Syst., Suppl.*, 5 (Fauna Chilensis, 2): 607, lám. 18 (anatomía); Simroth 1914, *Mem. Soc. neuchât. Sci. Nat.*, 5: 289.

Vaginula maillardi Fischer 1871, *Nouv. Arch. Mus. Hist. nat. Paris, Méms.*, 7: 154; 1872, *J. Conchyliol.*, 20: 144.

Vaginula decipiens Semper 1885, *Reisen. Arch. Philippinen, Pt. 2, 3 (Nº 7): 295, lám. 25, fig. 3; Simroth 1913, Mem. Soc. neuchât. Sci. Nat.*, 5: 290.

Vaginula nigra Heynemann 1885a, *Jber. dt. Malak. Ges.*, 12: 7, lám. 1, figs. 4, 5; 1885b, *Ibid.*, 12: 281 (lista de especies); Simroth 1899, *SitzBer. naturf. Ges. Leipzig*, 24-25: 2; Heynemann 1906, *Abh. Senckenb. Naturforsch. Ges.*, 30: 71.

Vaginula limayana Semper 1885, *Reisen Arch. Philippinen, Pt. 2, 3 (Nº 7): 294 (non Lesson 1829).*

Vaginula chilensis Simroth 1892, *SitzBer. Naturf. Ges. Leipzig*, 17-18(1891-92): 71, 86; 1913, *Mem.*

- Soc. neuchât. Sci. Nat., 5: 289, lám. 11, fig. 16.
- Vaginula stroebeli* (sic) Colosi 1922a, An. Mus. nac. Hist. nat. B. Aires, 31: 490.
- Vaginula strebeli* (corr.) Heynemann 1906, Abh. senckenb. naturforsch. Ges., 30: 70; Simroth 1914, Mém. Soc. neuchât. Sci. Nat., 5: 292.
- Vaginula adpersa* Hoffmann, 1925, Jena. Z. Naturw., 61 (N. F. 54): 171.
- Veronicella* sp. Strebel & Pfeffer 1882, Beitr. Fauna mexikan. Conch., 5: 128-129, lám. 19, figs. 20, 22, 24, 25 (fide Hoffmann 1925).
- Veronicella gayi* Cockerell & Collinge 1893, Conchologist, 2(8): 195 (lista de especies), 221.
- Veronicella chilensis* Cockerell & Collinge 1893, *Ibid.*: 195 (lista de especies).
- Veronicella maillardi* Cockerell & Collinge 1893, Conchologist, 2(8): 194, 216.
- Veronicella strebelii* (sic) Cockerell & Collinge 1893, Conchologist, 2(8): 194; Cockerell 1895 Nautilus, 8(12): 142.
- Veronicella adpersa* Cockerell & Collinge 1893 Conchologist, 2(8): 195; Cockerell 1895, Nautilus, 8(12): 142.
- Veronicella decipiens* Cockerell & Collinge 1893, Conchologist, 2(8): 195; Cockerell 1895, Nautilus, 8(12): 142.
- Veronicella nigra* Collinge 1897, J. Malac. London, 6: 43; Cockerell & Collinge 1893, Conchologist, 2(8): 195-221; Cockerell & Larkin 1894a: 24; 1894b: 60; Collinge 1897: 43
- Veronicella fusca* Collinge 1897, J. Malac. London, 6: 43 (non *V. Fusca* Heynemann 1885).
- Phyllocaulus* sp. Hoffmann 1925, Jena. Z. Naturw., 61 (N. F. 54): 171.
- Phyllocaulus adpersus* Hoffmann 1925, *Ibid.*, 171.
- Phyllocaulus niger* Hoffmann 1925, Jena. Z. Naturw., 61 (N. F. 54): 170, 244, 365.
- Phyllocaulus chilensis* Hoffmann 1925, Jena. Z. Naturw., 61 (N. F. 54): 169.
- Phyllocaulus strebeli* Hoffmann 1925, Jena. Z. Naturw., 61 (N. F. 54): 170, 244, 364; 1927a, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. (79): 221.
- Phyllocaulus decipiens* Hoffmann 1925, Jena. Z. Naturw., 61 (N. F. 54): 170, 244, 364; 1927a, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. (79): 209-221.
- Phyllocaulus gayi* Hoffmann 1925, Jena. Z. Naturw., 61 (N. F. 54): 169, 244, fig. 8 (rúdula), fig. 30 (distribución); lám. 6. Fig. g3 (penis); 1927, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., (79): 221; 1935, Zool. Jahrb., Abt. Syst., 67: 213.
- Vaginulus strebelii* Semper 1885, Reisen Arch. Philippinen, Pt. 2, 3 (Nº 7): 293, lám. 26, fig. 7.
- Vaginulus (Phyllocaulis) gayi* Baker 1925b, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., 77: 182; Forcart 1952, J. de Conchyliol., 92(4): 176-179 (medidas de lectotipos y paratipos); Thomé 1971, Iheringia, Zool., 40: 30-33.
- Vaginulus (Phyllocaulis) decipiens* Baker 1925b, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., 77: 160, 182.
- Vaginulus (Phyllocaulis) strebeli* Baker 1925b, Proc. Acad. Nat. Sci. Philad., 77: 160, 182-183.
- Meisenheimeria alte* Hoffmann 1925, Jena. Z. Naturw., 61(N. F. 54): 120, lám. 5, fig. 45b.
- Phyllocaulis gayi* Hoffmann 1928, Arch. Molluskenk., 60: 244, 248, 250; 1935, Zool. J., Abt. Syst., 67: 213-215; Thomé 1975, Iheringia, Zool., 48: 21-24; 1976, *Ibid.*, 49: 71-75 (redescripción y sinonimia); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotrop. Fauna. & Envir. 20(3); 126 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Valdivia, Chile (Fischer 1871).

Phyllocaulis gayi ha sido encontrada principalmente en Chile aunque algunos registros adicionales extienden su distribución presente a Lima (Perú) y Mazatlán (México) (Hoffmann 1925) donde probablemente haya sido introducida (Hoffmann 1927; Baker 1925b; Thomé 1975).

En nuestro territorio se ha encontrado desde la Isla de Chiloé (Simroth 1899) hasta al norte de Viña del Mar (Hoffmann 1935; Stuardo & Vega 1985) incluyendo las siguientes localidades: Ancud, Calbuco, Puerto Montt, Puerto Varas, Llanquihue, Corral, Valdivia (Fischer 1871; Semper 1885; Heynemann 1885a; Simroth 1892, 1893, 1913; Plate 1897; Keller 1902; Hoffmann 1925; Thomé 1975, 1976), Isla Teja (Valdivia), Coronel y Termas de Chillán (Hoffmann 1925, 1935). Hay otros registros que indican "Chile", sin localidad precisa.

Nosotros hemos podido examinar algunas muestras no catalogadas de la Isla de Chiloé (Parque Nacional Chiloé), Puerto Varas (Parque Nacional Vicente Pérez Rosales), Osorno (Parque Nacional Puyehue, Termas de Puyehue y Cascadas), Valdivia (arboleda cercana a Mehuín), Temuco (Cerro Nielol), y Concepción (Barrio Universitario, Puchacay y Parque Nacional Nahuelbuta).

La mayoría de los ejemplares se distribuyen a lo largo de las partes central y preferentemente sur del país en la denominada selva valdiviana. Se han

encontrado generalmente en bosques húmedos, bajo la hojarazca en descomposición, árboles caídos y troncos de árboles podridos, o bajo las piedras y en áreas de bosques abiertos, situación que la hace particularmente vulnerable a la destrucción del bosque nativo y la fragmentación de habitats que la caracteriza.

OBSERVACIONES: *Phyllocaulis gayi* parece ser una especie muy poco constante en relación a tamaño y colorido (con morfos oscuros y amarillos), por lo que podría corresponder a una especie politípica o a un grupo de especies estrechamente relacionadas, lo que ha determinado que las especies descritas para Chile se consideren sinónimos. Este problema deberá ser resuelto con estudios sobre su variabilidad genética.

Forcart (1952) revisando los tipos de *Vaginula gayi* y *Vaginula maillardii* descritos simultáneamente por Fischer (1872) y depositados en el Museo de Historia Natural de París, encontró que *V. maillardii* (probablemente descrita erróneamente de la isla La Réunion o Isla Bourbon) es idéntica a *V. gayi*. Da las medidas de los 6 sintipos (lectotipos y paralectotipos) de ambas especies y su conclusión fue confirmada por Thomé (1971).

Aunque la anatomía de esta especie fue tratada en detalle por Keller (1902), lo que permitió hacer buenas comparaciones (pero confundió la uretra con el pulmón), se hace necesario en nuestra opinión el estudio en serie de ejemplares de diferentes áreas geográficas y principalmente observaciones entre el colorido y su ecología general.

Basándonos en la revisión y redescipción de los tipos y en las consideraciones anatómicas de las genitalias llevadas a cabo por Thomé (1971, 1975, 1976), se pueden determinar diferencias entre los géneros *Vaginulus* y *Veronicella*, que en primera instancia fueron considerados sinónimos de *Phyllocaulis*. Al presentar espermatecas y penes con diferente morfología, parece justificado aceptar la separación de los dos géneros. Lo anterior confirmaría como combinación válida a *Phyllocaulis gayi* como lo ha propuesto Hoffmann (1928, 1935) y confirmado Thomé (1975, 1976).

Género *Heterovaginina* Kraus 1953

Heterovaginina limayana (Lesson 1829)

Vaginulus limayanus Lesson 1829, Moll. Voy. "Coquille", Zoologie: 302, Atlas, lám. 14, figs. 1, 1a;

d'Orbigny 1837, Voy. Amer. Mérid., 5 (3): 219; Hupé 1854, in Gay, Hist. Fis. Polit. Chile, Zool., 8: 88.

Vaginulus Limaianus Férussac 1832, Hist. nat. Moll., Atlas, pl. 8E, fig., 11.

Vaginulus Limayanus d'Orbigny 1835, Mag. Zool., 5: 1-2.

Vaginula Limaiana Deshayes 1851, in Férussac, Hist. Nat. Moll., 2: 966-967.

Vaginula limayana Fischer 1872, Nouv. Arch. Mus. Hist. nat. Paris, Méms., 7: 171; Heynemann 1885, Jber. dt. Malak. Ges., 12: 281 (lista de especies); Hoffmann 1925, Jena. Z. Naturw., 61 (N. F. 54): 240 (descripción), 174, fig. 30, lám. 5, fig. 2 (error, *vide* Kraus 1953).

Veronicella limayana Miller 1879, Malak. Bl., N. F. 1: 129, 130, 188 (lista de especies); Cockerell & Collinge 1893, Conchologist, 2(8): 195 (lista de especies).

Vaginina (Heterovaginina) peruviana Kraus 1953a, Arch. Mollusk., 82:(1/3): 63-65, figs. 1a-d.

Heterovaginina limayana Kraus 1954, Ibid., 83 (1/3): 82; Thomé 1969b, Arch. Mollusk., 99 (5/6): 357 (redescipción); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 126 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Colina de San Cristóbal, cerca de Lima, Perú (Lesson 1829).

Heterovaginina limayana ha sido descrita para Guayaquil (Ecuador), Lima y Cuzco (Perú). Sólo Hupé (1854) menciona su presencia en Chile; sin embargo, éste registro es de dudosa confirmación y altamente cuestionable (Stuardo & Vega 1985).

Miller (1879) citando a Fischer (1872: 171) confirma el registro, pero al parecer Fischer sólo compiló antecedentes de la distribución atribuidos a *H. limayana* y no da ninguna confirmación de si ha revisado él o los ejemplares pertenecientes a la colección de Gay, determinados por Hupé (1854). Creemos que el registro realizado por Hupé corresponde a *V. gayi* debido a que en sus comentarios de distribución dice: "esta especie esta bastante esparcida ya en el Perú, ya en Chile; la hemos hallado más particularmente en Valdivia" (*vide* Hupé in Gay, p. 88).

OBSERVACIONES: Kraus (1953a) describió una nueva especie de *Vaginina* Simroth 1897 para Perú y creó el nuevo subgénero *Heterovaginina* para incluirla. La especie tipo denominada *Vaginina (Heterovaginina) peruviana* fue recolectada en Lomas de Atocongo, Lima (Perú).

Con respecto al estado genérico de *Vaginina*, Forcart (1953: 55) en su monografía de los Veronicélidos de Africa ha mantenido que la ausencia de glándula penial (carácter considerado por Simroth (1903) de bastante valor para separar a los Veronicélidos en 2 subfamilias) no tiene importancia taxonómica. Por lo tanto, debido a que, “*Vaginina* difiere de otros subgéneros de *Pseuveronicella* sólo en los órganos copuladores masculinos”, considera a *Vaginina* como un subgénero de *Pseudoveronicella* Germain, 1908, género aparentemente restringido a la selva tropical africana (Forcart 1953: 92).

Kraus (1954) después de examinar especímenes de *Vaginulus limayanus* Lesson 1829, colectados en la misma localidad tipo de Lesson (*op.cit.*), ubicó a su nueva especie como sinónimo de la de Lesson, citándola como *Heterovaginina limayana*, habiendo previamente reafirmado el estado genérico de su nuevo grupo (Kraus 1953b).

Basado principalmente en las afinidades del pene, Kraus (1954) también incluye dentro de su nuevo género a *Vaginula odhneri* Hoffmann 1927, considerada sin localidad definida, aunque Hoffmann sugirió que probablemente era de origen africano (Forcart 1953: 60). Kraus (1953a), evaluando las similitudes con *H. limayana*, sugiere que *odhneri* podría ser de origen neotropical, lo cual fue aceptado por Forcart (1957), quien no sólo enfatizó la línea genérica de *Heterovaginina* sino que también estableció la distribución de *H. odhneri* para el sur de Perú.

No hemos tenido acceso al material tipo de *Heterovaginina limayana*, *H. odhneri* y *H. conradti*, ni a la especie tipo de *Vaginina*, sin embargo, considerando que las relaciones de *H. conradti* con el grupo *Pseudoveronicella* estarían bien establecidas (ver Forcart 1953a) y basándonos en las diferencias entre los penes de *H. conradti*, *H. limayana* y *H. odhneri*, parece justificado aceptar que se agrupe a *Vaginina* s. s. como un subgénero de *Pseudoveronicella*, dando claramente *status* genérico a *Heterovaginina*, hasta no llevar a cabo un estudio comparativo completo de las relaciones de estas especies sudamericanas.

ORDEN Stylommatophora Schmidt 1856

(= Geophila Férussac 1812)

SUBORDEN Orthurethra Pilsbry 1900

Superfamilia Pupilloidea Turton 1831

Familia Pupillidae Turton 1831

Género *Pupoides* Pfeiffer 1854

Subgénero *Ischnopupoides* Pilsbry 1926

1. *Pupoides (Ischnopupoides) minimus* (Philippi 1860)

2. *Pupoides (Ischnopupoides) minimus costatus* Biese 1960

3. *Pupoides (Ischnopupoides) paredesi* (d'Orbigny 1835)

INCERTAE SEDIS

Pupa curta Anton 1839

Pilsbry (1926, 1935) realizó un tratamiento detallado de la taxonomía y distribución de esta familia y Baker (1935) ha discutido las relaciones anatómicas entre los diversos grupos de la superfamilia Pupillacea.

Aunque es esencialmente un grupo del hemisferio norte, con Eurasia como centro principal de radiación y evolución (Pilsbry 1934: 136-160), los géneros pueden distribuirse ampliamente como ocurre en el caso de *Pupoides*. Sin embargo, el endemismo de géneros y subgéneros en las Américas es pobre comparado con otras partes del mundo.

Ischnopupoides es el único subgénero de *Pupoides* endémico en Norte y Sudamérica, mostrando, sin embargo, una distribución discontinua y un número reducido de especies. Se caracteriza por presentar una concha cilíndrica o subcilíndrica con el diámetro máximo decididamente menor que la mitad de su longitud (Pilsbry 1921, 1948).

Al crear su nuevo subgénero (de hecho, originalmente una Sección) Pilsbry incluyó dentro de él las especies siguientes: *Pupoides paredesii* (d'Orbigny), *P. chordatus* (Pfeiffer), *P. hordaceus* (Gabb) y *P. inornatus* Vanatta.

Pupa limensis Philippi 1867, fue considerada una “forma” de *P. paredesii* y *Bulimus minimus* Philippi 1860, permaneció desconocida para la mayoría de los autores hasta que Haas (1956), basándose en el material de Chile coleccionado por el Dr. W. Biese, lo ubicó propiamente en el subgénero *Ischnopupoides*.

En Chile esta familia está representada por sólo 2 especies: *P. (I.) minimus* y *P. (I.) paredesii* y una subespecie *P. (I.) minimus costatus* Biese, que no aceptamos.

Según Zilch (1959: 167), en *Ischnopupoides* sólo se incluirían conchas que miden entre 3.3 y

4.7 mm en altura; sin embargo, Biese (1969) colectó en Chile especímenes de *P. (Ischnopupoides) minimus* con una altura de 5.2 mm.

Género **Pupoides** Pfeifer 1854

Pupoides (Ischnopupoides) minimus (Philippi 1860)

Bulimus minimus Philippi 1860, Viaje al desierto de Atacama: 166, lám. 7, fig. 12 (*pro parte*) a, b; 1860, Reise W. Atacama: 184, lám. 7, fig. 12.

Pupoides (Ischnopupoides) minimus Haas 1956, Arch. Molluskenk., 85: 84; Biese 1960, Ibid., 89 (4-6): 133, lám. 13, figs. 1-4; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Paposo (Biese 1960).

Descrita originalmente para Paposo y Cachinal (Philippi 1860), se ha encontrado posteriormente en las siguientes localidades: Provincia de Antofagasta: Mina Cóndor en Guanillos Sur, 135 km al norte de Antofagasta, 800 msnm; Cobija, 200 m; Hornitos, 80 km al norte de Antofagasta, 800 msnm; Cerro Moreno, 30 km al norte de Antofagasta, 800 msnm; Quebrada La Chimba, 10 km al norte de Antofagasta, 200 msnm; Salar del Carmen, 12 km al norte de Antofagasta, 700 msnm; Quebrada de Paposo, 200 msnm; 33 km al sur de Paposo, 40 msnm, bajo piedras; Quebrada de Paposo, 200 msnm (para *minimus costatus*). Provincia de Atacama: Copiapó, Canal Ojancos, hacia el mineral de Ojancos, 700 msnm; 10 km al este de Carrizal Bajo, 200 msnm; 2 km al sur de Carrizal Bajo, 200 msnm; Mina Coquimbana, Sierra de Manganeso, 30 km al noroeste de Vallenar, 600 msnm (Biese 1960).

Existen cinco muestras colectadas por el Dr. W. Biese en las colecciones del Museo de Zoología Comparada de Harvard (MCZ): N° 203535, de Cerro Moreno; N° 203533, de Quebrada La Chimba; N° 203531, del Salar del Carmen; N° 203532, a 33 km sur de Paposo; N° 203534, de Quebrada Guanillos, 3 km al norte de Quebrada Cachina, 60 km al sur de Taltal. Todos en la provincia de Antofagasta. Tres muestras depositadas en las colecciones del Museo de Zoología de la Universidad de Concepción (UCCC), N° 1112, 1339 y 2454 provenientes de Antofagasta, Chañaral y Vallenar, respectivamente,

también fueron examinadas. En el Museo Nacional de Historia Natural, Santiago de Chile, existen ejemplares colectados por W. Biese en las mismas localidades.

El rango de distribución de esta especie ha sido discutido por Biese (1960), señalando que puede ser paralelo al presentado por *Peronaeus Albers* 1850 entre los Bulimulidae, no alcanzando más allá del sur de La Serena. Límite sur de la "Fauna-Peruana" de Biese y de las divisiones biogeográficas denominadas Atacameña o Arido-Desértica por otros autores (Stuardo & Vega 1985).

OBSERVACIONES: Debido a su tamaño diminuto, esta especie es uno de los moluscos más característicos de la fauna chilena. Buenas figuras acompañan a las primeras descripciones dadas por Philippi (1860) y Biese (1960) para este caracol. Biese (*op. cit.*) menciona que pueden distinguirse dos grupos dentro de las especies del sur, diferenciándose por la presencia o falta de una lamela tuberculiforme (tubérculo o callo angular) cerca de la inserción del labio exterior. Este rasgo encontrado en la mayoría de los pupiliformes está presente en *P. (I.) minimus*, pero falta en *P. (I.) paredesi* (d'Orbigny 1835) encontrada cerca de La Paz, Bolivia, estrechamente relacionada, sino idéntica con *P. (I.) limensis* (Philippi 1867) de Lima, Perú. Las dos especies norteamericanas, *P. (I.) hordaceus* (Gabb 1866) y *P. (I.) inornatus* Vanatta 1915, tampoco presentan este tubérculo angular, diferenciándose por la presencia o ausencia de costillas delgadas o, por estrías irregularmente desarrolladas.

Si se aceptan las descripciones de las especies de América del Sur, estas características también parecerían útiles para separar a *P. (I.) minimus* de *P. (I.) paredesi* y *P. (I.) limensis*, ya que la primera ha sido descrita como lisa (Biese 1960) además de presentar una lamela tuberculiforme, mientras que las dos últimas presentan costillas distribuidas regularmente sin la presencia de callo. Además, Biese (1960) hizo notar que *P. (I.) minimus costatus* difiere de la forma típica por la presencia de costillas axiales finas, indicando que la "subespecie" tiene además la primera una y media vuelta lisa, sin costillas, carácter también observado en otras especies que presentan costillas. A juzgar por su tabla de medidas (*op. cit.*: 134-135), el número de anfractos para *P. (I.) minimus costatus* sería de 6

1/4 (aparentemente constantes) mientras que los de *P. (I.) minimus minimus* mostrarían una variación de 5 1/2 a 6 1/2 anfractos. Sin embargo, ninguna de estas diferencias parecen ser significativas.

Philippi (1860) no declaró que su nueva especie fuera lisa, y la escultura de la concha que él describe como "striis capillaribus distantibus sculpta..." no puede ser equivalente a "Anwachsstreifen sehr fein" como las menciona Biese. En el hecho, Philippi, en su figura 12 (*op. cit.* pl. 7) muestra, al parecer, dos especies muy diferentes: una que probablemente representa un *Bulimulido* (?) con 8 a 9 anfractos, y que si se considera una figura de tamaño natural tendría aproximadamente 15 mm de altura; la otra especie sería su *Bulimus minimus*, con el tamaño máximo ya indicado.

Creemos que la figura de este último debió haber tenido el número 13 que falta en la lámina, usando la letra (a) para indicar el tamaño natural de la concha y la (b) para la vista ampliada. La otra figura (la número 12 propiamente tal) asignada por Philippi aparentemente por equivocación a *Bulimus minimus*, no es ciertamente un pupiliforme. El menciona haber encontrado las dos conchas en localidades diferentes, pero dudamos que la figura cuestionada, siendo absolutamente diferente, pudiera representar a *B. minimus*. Probablemente, Philippi intentó representar a su *Bulimulus leucostictus* [ahora *Bostryx (Peronaeus)*] descrito en 1856.

Lo anterior, indica que obviamente Biese no vio los dibujos de *B. minimus* realizados por Philippi donde las figuras a y b muestran las costillas que él describió tan claramente en su "subespecie" *minimus costatus*. Las presuntas diferencias dadas por Biese fueron probablemente debidas a un análisis incompleto de la descripción original condicionado por el análisis de las muestras que él estudió.

En las muestras de *P. (I.) minimus* examinadas por uno de nosotros (J.R.S.) en el Museo de Zoología Comparada de Harvard (MCZ), gran parte de los ejemplares presentaban conchas bastante deterioradas y corroídas, no pudiendo determinarse diferencias en forma muy precisa. Sin embargo, hay dos muestras identificadas por Biese como *P. (I.) minimus minimus* (N° 203531 y 203534) donde se pueden observar con relativa claridad conchas con costillas o una indicación débil de ellas, distribuidas regularmente. El predominio de especies con costillas se demostró más claramente en muestras mejor conservadas

depositadas en las Colecciones Científicas del Departamento de Zoología, Universidad de Concepción (UCCC), provenientes de Antofagasta, Vallenar y Chañaral, norte de Chile (N° 1112, 1339 y 2454). En estas muestras, prácticamente todos los ejemplares examinados (más de 80), salvo algunas conchas corroídas, poseen costillas tan claramente marcadas como en el pupilido norteamericano *P. (I.) ordaceus* (de hecho pueden incluso notarse las costillas de *P. (I.) minimus minimus* en las figuras 2, 3 y 4 de Biese). El número de anfractos varía entre 5 y 6°, e igualmente varió la presencia del tubérculo que, en algunos ejemplares, puede unirse a los labios o desaparecer en su totalidad.

De acuerdo con esto, nos parece que no hay ninguna justificación para separar a la especie en dos subespecies, ni aun si se considera que podría haber variación geográfica clinal, ya que los especímenes que presentan costillas se encuentran tanto en las localidades del norte (*e. g.* Salar de Atacama) como en las localidades ubicadas más al sur. Por otra parte, la variación también incluye diferencias mostradas por ejemplares juveniles con sólo 3 ó 4 anfractos, en los que no se observa un tubérculo ni labios reflejados.

Pupoides (Ischnopupoides) minimus costatus
Biese 1960

Pupoides (Ischnopupoides) minimus costatus Biese 1969, Arch. Moll., 89 (4-6): 135, lám. 13, fig. 5; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: en la costa, 30 km al norte de Paposo (Prov. de Antofagasta, Chile), a 40 msnm (Biese 1960; en la explicación de la fig. 5, pl. 13, aclara que esta localidad se da erróneamente como 20 km al norte de Antofagasta).

También se registra en Quebrada Paposo, a 200 msnm.

OBSERVACIONES: Como se ha concluido bajo *P. (I.) minimus*, esta subespecie no se considera válida.

Pupoides (Ischnopupoides) paredesi (d'
Orbigny 1835)

Helix (Cochlodon) paredesii d'Orbigny 1835, Mag. Zool.: 21, N° 115.

Pupa paredesi d'Orbigny 1837, Voy. Amer. Merid., 5, Moll.: 322, lám. 41, figs. 3-6; Pfeiffer 1848, Monogr. Helic. Vivent., 2: 309; Küster 1852, Conchyl. Cab., *Pupa* 1 (15): 133, lám. 17, figs. 11, 12; Pfeiffer 1853, Monogr. Helic. Vivent., 3: 531; 1855, Malak. Bl. 2: 176 (*Isthmia*; sólo lista); 1859, Monogr. Helic. Vivent., 4: 662 (sólo lista); 1868, *Ibid.*, 299 (sólo lista); Hidalgo 1870, J. Conchylol., 18: 65; Pfeiffer 1876, Monogr. Helic. Vivent., 8: 359; Clessing & Pfeiffer 1881, Nomenclator: 356 (Sección *Isthmia*).

Pupa (Alaea) paredesii Beck 1837, Index: 85, N° 8.

Vertigo (Isthmia) paredesii H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 143 (sólo lista).

Pupoides paredesii Kobelt, 1902 Conchyl. Cab., Buliminidae: 921, lám. 130, figs. 7, 8; Pilsbry 1921, Man. Conch., (2) 26 (102): 120, pl. 11, figs. 10-12.

Pupoides (Ischnopupoides) paredesii Pilsbry 1926, Man. Conch. 27: 250; *Ibid.* 28: 169 (sólo lista); Parodiz 1957, Nautilus, 70(4): 128; Biese 1960, Arch. Moll., 89 (4-6): 136, lám. 13, fig. 6; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Los Obrajes, cerca de La Paz, Bolivia (Pilsbry 1926).

Citada también originalmente de Lima, Perú (d'Orbigny 1835, 1837; Beck 1837; Pfeiffer 1848; Küster 1852; Kobelt 1902), se ha descrito después para Guayaquil, Ecuador y Cobija (Chile) (Hidalgo, 1870), y aparentemente por equivocación de Coquimbo, Chile e isla Opara (Cuming's Coll.); Pfeiffer 1853, 1868, 1876).

En Chile es conocido con certeza en el Cerro Orcume, 18°15'S; 9°40'W (Prov. de Tarapacá), en 3000 msnm (Biese 1960).

OBSERVACIONES: El registro de esta especie para Cobija, Chile (Hidalgo 1870) podría corresponder a *P. (I.) minimus* ya que esta última especie parece haber sido desconocida para Hidalgo. Los registros de Coquimbo y Opara Id. serían equivocados, probablemente debido a un error de H. Cumming.

P. (I.) paredesi, puede caracterizarse por su falta de lamela angular y la apariencia más voluminosa. Los especímenes determinados por

Biese como *paredesi* del Cerro Oruña, Tarapacá, tienen entre 5 y 5 anfractos y ° contra los 6 mencionados en la descripción original. Las observaciones y figuras de *paredesi* de Biese (1960) concuerdan con muestras de *P. (I.) limensis* (Philippi 1867) en las colecciones del MCZ, determinado por W. K. Weyrauch (N° 211026, 211027 y 211028).

En consecuencia, sí *P. (I.) limensis* es sólo una forma de *paredesi* como argumenta d'Orbigny; una subespecie de la misma como lo sugiere Pilsbry (1926:120), o una especie totalmente diferente, puede ser determinado solamente por una comparación detallada de material topotípico, de poblaciones intermedias y por un elaborado análisis de su variación.

INCERTAE SEDIS

Pupa curta Anton 1839

Pupa curta Anton 1839, Verz. Conch., 47, N°. 1731 (*non Pupa curta* Potiez & Michaud 1838); Pfeiffer 1842, Symbolae Hist. Helic., 2: 126 (sólo cita); 1848, Monogr. Helic. Vivent. 2: 355; 1853, *Ibid.*, 3: 554 (sólo lista); 4, *Ibid.*, 679 (sólo lista); *Ibid.*, 6: 325; *Ibid.*, 7: 395; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (dudosa).

Pupa (Alaea) annaensis Beck 1837, Index Moll.: (*nomen nudum*); Pfeiffer 1842, Symbolae, 2: 125 (sólo cita).

Vertigo curta H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 172 (sólo lista).

Gastrocopta curta Pilsbry 1916, Man. Conch., (2)24: 103.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Chile ?

OBSERVACIONES: Según Pilsbry, esta especie sería muy probablemente un ejemplar juvenil imposible de reconocer. La única descripción conocida menciona la presencia de 4 anfractos y medio, tres dentículos lameliformes, una altura de la concha de 2 mm y un diámetro de 1 1/5 mm.

Superfamilia Achatinellacea Gulick 1873

Familia Achatinellidae Gulick 1873

Subfamilia Tomatellidinae Cooke & Kondo 1960

Tribu Tomatellidini Cooke & Kondo 1960

Género *Tornatellina* Pfeiffer 1842

1. *Tornatellina aperta* Odhner 1922
2. *Tornatellina bilamellata* (Anton 1839)
3. *Tornatellina callosa* (Anton 1839)
4. *Tornatellina conica* (Anton 1839)
5. *Tornatellina minuta* (Anton 1839)
6. *Tornatellina plicosa* Odhner 1922
7. *Tornatellina reclusiana* (Petit 1843)
(*Tornatellina trochiformis* Pfeiffer 1842 = *conica*)
(*Tornatellina trochlearis* Pfeiffer 1842; es *Antonella* Cooke & Kondo 1960)

Género *Fernandezia* Pilsbry 1911

1. *Fernandezia bulimoides* (Pfeiffer 1846)
2. *Fernandezia conifera* (Reeve, 1849)
3. *Fernandezia consimilis* (Reeve 1849)
4. *Fernandezia cylindrella* Odhner 1922
5. *Fernandezia diaphana* (King 1832)
6. *Fernandezia expansa* Hyatt & Pilsbry 1911
7. *Fernandezia inornata* Hyatt & Pilsbry 1911
8. *Fernandezia longa* Hyatt & Pilsbry 1911
9. *Fernandezia philippiana* Hyatt & Pilsbry 1911
10. *Fernandezia splendida* (Anton 1839)
11. *Fernandezia tryoni* Hyatt & Pilsbry 1911
12. *Fernandezia wilsoni* Hyatt & Pilsbry 1911

Género *Ambrosiella* Odhner 1963

1. *Ambrosiella kuscheli* Odhner 1963

Género *Tornatellinops* Pilsbry & Cooke 1915

1. *Tornatellinops variabilis* (Odhner 1922)

Para el análisis de esta familia, seguimos a Cooke & Kondo (1960) quienes rebajan a Tornatellinidae a nivel de subfamilia (Tornatellidinae), aunque Odhner (1963), basándose en sus propios estudios anatómicos considera que debe restaurarse el rango de familia de Tornatellinidae, para contener los géneros *Tornatellina*, *Fernandezia*, *Elasmias* Pilsbry 1910 y *Ambrosiella*.

La familia Achatinellidae está limitada en su distribución a las islas del Océano Pacífico Central. Existen dos géneros endémicos conocidos para las Islas Juan Fernández (*Tornatellina* y *Fernandezia*) y uno (*Ambrosiella*) para la Isla San Ambrosio del grupo de las Desventuradas. No se encuentran representantes de la familia o de estos géneros en las costas de Chile continental, sin embargo, una especie de *Tornatellinops*, género que presenta una gran distribución en el Pacífico Central y que

incluye Nueva Zelandia, es conocida en Isla de Pascua. Esta especie junto a otras dos del género *Melampus* Montfort, 1810 son hasta ahora los únicos Pulmonados descritos para esta isla.

Los géneros *Tornatellina* y *Fernandezia* están representados por 7 y 12 especies respectivamente; *Ambrosiella* es monotípica, aunque muestra afinidad con algunas especies encontradas en Juan Fernández (Odhner 1963). Sería muy interesante estudiar los mecanismos que han impedido la especiación de *Ambrosiella*, particularmente si, como sugiere Odhner (*op. cit.*), los caracoles de estas dos islas provienen de un stock común.

Un estudio detallado de la anatomía y distribución de las especies de esta familia y particularmente de las especies chilenas, se encuentra en las excelentes revisiones de Cooke & Kondo (1960) y Odhner (1922).

El material disponible para el estudio de esta familia se limitó a algunos ejemplares existentes en el MCZ de Harvard (3 ejemplares de *Fernandezia* y 2 de *Tornatellina*), junto con material depositado en las UCCC, Universidad de Concepción [16 ejemplares de *Fernandezia bulimoides* (N^{os} 2105, 2106), 45 de *F. cylindrella* (N^o 2107), 4 de *F. splendida* (N^o 2108), 13 de *Tornatellina bilamellata* (N^o 2101, 2102) y 7 de *T. conica* (N^o 2103)], determinados por Dr. Y. Kondo, y a un examen breve de los tipos de Pilsbry realizado por el autor principal durante una visita a la Academia de Ciencias Naturales de Filadelfia.

Género *Tornatellina* Pfeiffer 1842

Se han descrito nueve especies del género *Tornatellina* para Juan Fernández: *T. aperta* Odhner, *T. bilamellata* (Anton), *T. callosa* (Odhner), *T. conica* (Anton), *T. minuta* (Anton), *T. plicosa* Odhner, *T. reclusiana* (Petit), *T. trochiformis* Pfeiffer y *T. trochlearis* Pfeiffer. Sin embargo, Cooke & Kondo (1960) incluyen a *T. trochiformis* Pfeiffer 1842, como sinónimo de *T. conica* (Anton 1839), y reubicaron a *T. trochlearis* bajo su nuevo género *Antonella*, no aceptando el registro de Beck (1837) para esta especie en Juan Fernández. En el hecho, Pilsbry & Cooke (1911) han sugerido, que es improbable que la especie conocida de la Isla Rapa (Opara) pueda encontrarse en ambos lugares.

Las siete especies restantes constituyen formas bastante distintas; sin embargo, *T. aperta* se

parece a algunas especies del género *Fernandezia*, principalmente en la fase adulta, aunque la armadura de la abertura la distingue inmediatamente. Por otro lado, *T. bilamellata* y *T. conica* pueden separarse fácilmente de las otras especies a causa de una costilla vertical ancha (o callo) presente en la pared paleal, y las especies *T. minuta*, *T. plicosa* y *T. reclusiana* se diferencian por presentar un alto número de anfractos lisos.

Otras dos especies descritas para Juan Fernández por Beck (1837: 79) denominadas *Leptinaria succinealis* y *L. lacryma* son *nomina nuda*.

Tornatellina aperta Odhner 1922

Tornatellina aperta Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3: 238, lám. 9, figs. 45, 46 (localidad tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández); Cooke & Kondo 1960. Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 235 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 220(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández (Odhner 1922).

Encontrada en Rabanal (300 msnm) y Puerto Inglés (400 msnm), principalmente en bosques tupidos.

OBSERVACIONES: *T. aperta* se caracteriza por presentar 5 anfractos y una altura máxima de sólo 3 mm. Presenta gran parecido con *T. callosa* pero difiere de ésta por una abertura más ancha y forma más robusta, ausencia de callo columelar y pliegue columelar delgado, y por presentar en estado juvenil (neánico) una débil lamela parietal (Odhner 1922).

Tornatellina bilamellata (Anton 1839)

Clausilia (Strobilus) bilamellatus Anton 1839, Verz. Conchyl.: 46, N°. 1694 (localidad tipo: Opara) (*non Tornatellina (Strobilus) bilamellata* Schmeltz 1874, Cat Mus. Godef., 5: 90).

Tornatellina clausa Beck 1837, Index Moll.: 80 (*nomen nudum*); Pfeiffer 1842, Symbolae Hist. Helic., 2: 55 (Localidad tipo: Opara).

Tornatellina bilamellata Pfeiffer 1848, Monogr. Helic. Vivent., 2: 393 (*Strobilus*); Küster 1852, Conchyl. Cab., (2)15(1): 147, lám. 18, figs. 3-

5; H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 140, pl. 74, fig. 4; Pfeiffer 1853, Mon. Helic. Vivent., 3: 527 (lista de especies); 1856, Malak. Blätt., 2: 170 (lista de especies); 1859, Monogr. Helic. Vivent., 4: 652 (lista de especies); Albers 1860, Die Heliceen: 259 (lista de especies); Pfeiffer 1868, Monogr. Helic. Vivent., 6: 265; 1877, *Ibid.*, 8: 319 (lista de especies); E. A. Smith 1884, Proc. Zool. Soc. London: 280 (sólo registro); Pilsbry & Cooke 1915, Man. Conch., (2), 23: 139, pl. 34, figs. 9, 10 (Sección: *Tornatellina*; Traducción de descripción de formas); Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3(2): 235, lám. 9, fig. 36 (una variedad); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 235 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Juan Fernández ? (Pfeiffer 1868).

Esta especie se describió originalmente para Opara (Opana en Anton, 1839, *error*) pero Pfeiffer (1868, 1877) cambió la localidad tipo a Islas Juan Fernández, situación confirmada después por E. A. Smith (1884). Según Pilsbry (1915) es improbable que el mismo registro de la especie se presente en ambas islas, y para Odhner (1922: 235), la localidad de Anton es ciertamente un error.

Ha sido encontrada en Masatierra (Juan Fernández) en las siguientes localidades: Pangal; Cerro Centinela (300 y 350 msnm); Quebrada Yunque; Puerto Inglés (400 msnm); Rabanal (400 y 300 msnm); bajo Damajuana (300 msnm); Quebrada Portezuelo (200 msnm). Normalmente encontrada en bosques espesos bajo las hojas y helechos.

Una variedad con tres dientes se describió para: Cerro Centinela (aproximadamente 650 y 500 msnm); Cerro Salsipuedes (350 msnm); Puerto Inglés (400 msnm); Puerto Francés (400 msnm); Valle de Piedra Agujereada y Damajuana (300 msnm).

OBSERVACIONES: *T. bilamellata* se describió con 6 a 8 anfractos y una altura máxima de 8 mm. La forma varía considerablemente (Odhner *op cit.*) pero se caracteriza principalmente por la presencia de 2 láminas palatales paralelas delicadas y una costilla palatal vertical. Estas características se confirman en el material examinado.

Tornatellina callosa Odhner 1922

Tornatellina callosa Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3(2): 238, lám. 9, figs. 13, 14; (localidad tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., 221: 236; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández (Odhner 1922).

Se conoce en Cerro Centinela (ca. 500 y 350 msnm) y Rabanal (300 msnm). Bajo helechos y hojas (Odhner 1922).

OBSERVACIONES: La descripción menciona 6 ° anfractos y una altura máxima de 3,6 a 3,8 mm. Es característica la coloración rojo-castaño del margen de la sutura (Odhner 1922).

Tornatellina conica (Anton 1839)

Clausilia (Strobilus) conicus Anton 1839, Verz. Conchyl. 46, N° 1696 (Localidad tipo: Islas Juan Fernández).

Achatina (Tornatellina) trochiformis Beck 1837, Index Moll. 80 N° 2, *nomen nudum* (Juan Fernández).

Tornatellina trochiformis Pfeiffer 1842, Symbolae, 2: 55 (localidad tipo: Opara, *error*); 1848, Monogr. Helic. Vivent., 2: 392 (localidad tipo: Isla Juan Fernández); Küster 1852, Conchyl. Cab., *Pupa*, 1(15): 154, lám. 18, figs. 28, 29; H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 140 (lista de especies); Pfeiffer 1853, Monogr. Helic. Vivent., 3: 525 (lista de especies); 1859, *Ibid.*, 4: 651 (lista de especies); von Martens 1860, in Albers, Die Heliceen: 259; Pfeiffer 1868, Monogr. Helic. Vivent., 6: 263 (lista de especies); 1877, *Ibid.*, 8: 315 (lista de especies); E. A. Smith 1884, Proc. Zool. Soc. London: 280 (sólo registro); Pilsbry & Cooke 1915, Man. Conch., (2)23: 190, lám. 53, fig. 14.

Achatina trochiformis Pfeiffer 1855, Malak. Bl., 2: 170 (*Leptinaria*: lista de especies).

Tornatellina conica Pilsbry & Cooke 1915, Man. Conch. (2)23: 189, Sección: *Elasmatina*; Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3: 236, lám. 9, fig. 37; Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., 221: 236; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández (Odhner 1922).

Encontrada en las siguientes localidades: Cerro Centinela (500 msnm); Puerto Inglés (400 msnm); Valle de Piedra Agujereada; Rabanal (300 msnm); Damajuana (300 msnm); Quebrada Portezuelo (200 msnm); Cerro Salsipuedes (300 msnm); Pangal y Puerto Francés (400 msnm) (Odhner 1922).

OBSERVACIONES: *T. trochiformis* se ha considerado como un sinónimo de *T. conica* por Cooke & Kondo (1960) probablemente debido al comentario de Pilsbry, de que para Pfeiffer (1848) *T. conica* "era un ejemplar juvenil de *trochiformis*", sin duda, por el examen del tipo de Anton. *T. trochiformis* se describió originalmente para Opara por Beck (1837) y Pfeiffer (1842); sin embargo, el último cambió el registro original en 1848 (y trabajos siguientes) a Juan Fernández. Aceptamos tanto el tipo como la localidad registrada por Odhner (1922).

Elasmatina cumingia Petit 1843 fue introducida en la sinonimia de *T. trochiformis* y *T. conica* por Pfeiffer.

T. conica presenta de 10 a 11 anfractos y una altura máxima de 5,6 a 6 mm. Puede ser caracterizada por presentar una base ancha, los anfractos bastante aplastados lisos y una costilla parietal (vertical) bastante delgada.

Tornatellina minuta (Anton 1839)

Bulimus (Achatina) minuta Anton 1839, Verz. Conchyl.: 44, N° 1592 (localidad tipo: Juan Fernández).

Achatina minuta Pfeiffer 1855, Malak Blätt. 2: 170 (*Leptinaria*).

Tornatellina minuta Pfeiffer 1842, Symbolae, 2: 130 (sólo nombre); 1848, Monogr. Helic. Vivent., 2: 392 (*Achatina*); Küster 1852, Conch. Cab., *Pupa*, 1(15): 150, lám. 18, figs. 14, 15; Pfeiffer 1853, Monogr. Helic. Vivent., 3: 524 (lista de especies); 1859, *Ibid.*, 4: 651 (lista de especies); 1868, *Ibid.*, 6: 263 (lista de especies); 1876, *Ibid.*, 8: (lista de especies); Clessin & Pfeiffer 1881, Nomenclator: 342 (lista de especies); Pilsbry & Cooke 1915, Man. Conch., (2)23: 187, lám. 40, fig. 7 (Sección: *Tornatellinops*); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 236; Stuardo & Vega 1985, Stud.

Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

Tornatellina (Leptinaria) minuta H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 141 (lista de especies).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Islas Juan Fernández (Anton 1839).

Esta localidad ha sido citada y aceptada por todos los autores.

OBSERVACIONES: Esta especie sólo se conoce a través de las descripciones originales (Anton 1839; Pfeiffer 1848; Küster 1852). Según ellas *T. minuta* tiene 5° anfractos y una altura de 3 mm. Se parece a las especies del género *Lamellidea*.

Tornatellina plicosa Odhner 1922

Tornatellina plicosa Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3: 237, lám. 9, figs. 38-42; Cook & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull. 221: 237; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 27 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández (Odhner 1922).

Encontrada en las siguientes localidades: alrededor de Portezuelo (570 msnm); Quebrada Portezuelo (300 msnm); Cerro Centinela (800 msnm); Rabanal (300 msnm); Puerto Inglés (400 msnm); Damajuana; Valle Piedra Agujereada. Encontrada sobre helechos y bajo hojas.

OBSERVACIONES: *T. plicosa* tiene una altura de 2,8 a 4 mm y 7 a 8 anfractos en la etapa juvenil (neánica). En el estado geróntico (adulto) tienen una altura máxima de 5,1 mm y 9 anfractos aplastados, ligeramente convexos, salvo las 2 ó 3 vueltas apicales. Difiere de *T. conica* (al parecer su pariente más cercano) por la ausencia de una costilla palatal (Odhner 1922).

Tornatellina reclusiana (Petit 1843)

Elasmatina reclusiana Petit 1843, Proc. Soc. London: 2 (localidad tipo: Masafuera).

Tornatellina reclusiana Pfeiffer 1848, Monogr. Helic. Vivent., 2: 393 (*Elasmatina*: lista de especies); 1853, *Ibid.*, 3: 525 (lista de especies); 1859, *Ibid.*, 4: 651; 1868, *Ibid.*, 6: 263 (lista de especies); 1876, *Ibid.*, 8: 317 (lista de especies); Clessin & Pfeiffer 1881, Nomenclator:

242 (lista de especies); Pilsbry & Cooke 1915, Man. Conch., (2) 23: 189 (Sección *Elasmatina*); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 237; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20 (3): 127 (distribución).

Tornatellina reclusiana Pfeiffer 1846, Symbolae, 3: 60 (lista de especies); H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 140 (lista de especies).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masafuera, Islas Juan Fernández (Petit 1843). Encontrada bajo musgos.

OBSERVACIONES: Esta especie no ha sido nunca dibujada y se conoce sólo a través de la descripción original. Se caracteriza por tener 9 a 10 anfractos y una longitud de 5 mm. Al parecer es muy cercana, si no idéntica, a *T. conica* y *T. plicosa*.

Género ***Fernandezia*** Pilsbry 1911

Según Pilsbry (1911: 93) las 12 especies de este género pueden diferenciarse según la longitud de la columela, la presencia de una lamela fuerte o débil, por su tamaño, y el número de anfractos. De acuerdo a estas características, Pilsbry reconoce dos grupos: uno representado por una columela corta y una lamela fuerte, donde se incluye a *F. expansa*, *F. philippiana* y *F. wilsoni*; el otro, caracterizado por especies con una columela más larga y el pliegue columelar más débil cerca de la base, se puede subdividir a su vez según la longitud de la abertura. Así, *F. limooides* y *F. consimilis* tienen una longitud de la abertura de más de la mitad de la concha; mientras que en *F. conifera*, *F. longa*, *F. splendida*, *F. tryoni* y *F. inornata* la abertura tendrá menos de la mitad de la concha.

F. cylindrella Odhner, el representante más pequeño del subgénero, difiere de las demás especies por presentar una concha muy espiralada (turritocónica, casi como *Tornatellina*) con 11° anfractos, que es un número elevado dentro del género. La descripción breve de *F. diaphana* no permite su inclusión en los grupos mencionados.

Detalles de la anatomía de estos taxa, se encuentran en el excelente trabajo de Odhner (1922) y en Cooke & Kondo (1960); descripciones de las conchas aparecen en las monografías de Pilsbry (1911) y Pilsbry & Cooke (1915-1916).

Fernandezia bulimoides (Pfeiffer 1846)

Achatina bulimoides Pfeiffer 1846, Proc. Zool. Soc. London: 116 (localidad tipo: Juan Fernández); 1848, Monogr. Helic. Vivent., 2: 271; Reeve 1849, Conch. Icon., 5, lám. 19, fig. 103.

Spiraxis bulimoides Pfeiffer 1853, Monogr. Helic. Vivent., 3: 472 (lista de especies); 1856, Malak. Bl., 2: 167 (*Nothus*: lista de especies); 1859, Monogr. Helic. Vivent., 4: 575 (lista de especies); 1868, *Ibid.*, 6: 193 (lista de especies); 1876, *Ibid.*, 8: 258 (lista de especies).

Oleacina (Nothus) bulimoides H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 105 (lista de especies).

Cionella bulimoides von Martens 1860, in Albers, Die Heliceen: 255 (*Leptinaria*: lista de especies).

Stenogyra bulimoides Clessin & Pfeiffer 1881, Nomenclator: 324 (Sección: *Spiraxis*; Subsección *Nothus*: lista de especies).

Stenogyra (Nothus) bulimoides E. A. Smith 1884, Proc. Zool. Soc. London: 280 (sólo registro).

Fernandezia bulimoides Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch., (2)21: 94, lám. 14, fig. 4; Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. J. Fernández, 3: 241, pl. 9, fig. 47; Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 238, fig. 102 a-g, 103 a-i; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández (Odhner 1922).

Encontrada en las siguientes localidades y altitudes: Rabanal (hasta 300 msnm); Puerto Inglés (200 msnm); alrededor de Portezuelo (570 msnm); Quebrada Portezuelo (hasta 200 msnm); Cerro Centinela (500 - 600 msnm); bajo Damajuana (300 msnm). Habita preferentemente en bosques espesos, bajo y sobre hojas y en helechos.

OBSERVACIONES: Especie con concha oval-cónica, columela larga, 5 a 6 anfractos y una altura máxima de 11 mm. El último anfracto es más bien ventrícoso.

Fernandezia conifera (Reeve 1849)

Achatina conifera Reeve 1849, Conch. Icon., lám. 18, fig. 98 (localidad tipo: Islas Juan Fernández); Pfeiffer 1853, Monogr. Helic. Vivent., 3: 455; 1856, Malak. Bl., 2: 168 (*Electra*: lista de especies); 1859, Monogr. Helic. Vivent., 4: 608 (lis-

ta de especies); *Ibid.*, 6: 225; 1876, *Ibid.*, 8: 281 (lista de especies).

Fernandezia conifera Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch. (2) 21: 98, lám. 14, fig. 5; Cooke & Kondo 1960; Bernice P. Bishop Mus., Bull. 221: 240.

Oleacina (Electra) conifera H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 105 (lista de especies).

Cionella conifera von Martens 1860, in, Albers, Die Heliceen: 255 (*Leptonaria*: lista de especies).

Glessula conifera "Pease" Clessin & Pfeiffer 1881, Nomenclator: 330 (lista de especies).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Islas Juan Fernández (Reeve 1849).

OBSERVACIONES: Hasta el momento es conocida sólo a través de las descripciones originales de Reeve (1849) y Pfeiffer (1853). La concha presenta una altura máxima de 12 mm y 8 anfractos. Se caracteriza por una larga espira y la columela profundamente torcida (Hyatt & Pilsbry 1911).

Fernandezia cylindrella Odhner 1922

Fernandezia cylindrella Odhner 1922, Moll., in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3: 242, lám. 9, fig. 49 (localidad tipo: Masatierra, Isla Juan Fernández); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 241 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127-128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández (Odhner 1922).

Encontrada en las siguientes localidades: Rabanal (300 y 400 msnm); bajo Damajuana (300 msnm) y Cerro Centinela (350 y 500 msnm). En bosques espesos, bajo hojas y helechos.

OBSERVACIONES: *F. cylindrella* tiene una espira como en *Tornatellina*, y 11° anfractos. Es la especie más pequeña del género con una altura máxima de 5,3 mm, características confirmadas en las muestras examinadas.

Fernandezia diaphana (King 1831)

Achatina diaphana King 1831, Zool. Journ. 5: 342; Pfeiffer 1848, Monogr. Helic. Vivent., 2: 295; 1853, *Ibid.*, 3: 520 (lista de especies);

1859, *Ibid.*, 4: 627 (lista de especies); 1868, *Ibid.*, 6: 243 (lista de especies); 1876, *Ibid.*, 8: 297 (lista de especies).

Fernandezia diaphana Pilsbry & Cooke 1915. Man. Conch. (2)23: 272; Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 241 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Islas Juan Fernández (King 1831).

OBSERVACIONES: No existen figuras de esta especie. Sólo es conocida a través de su corta descripción original.

Fernandezia expansa Hyatt & Pilsbry 1911

Fernandezia expansa Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch., 21: 95, lám. 14, fig. 1 (localidad tipo: Juan Fernández); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 241 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Islas Juan Fernández (Hyatt & Pilsbry 1911). No se conocen otros registros.

OBSERVACIONES: *F. expansa* se caracteriza por presentar una lamela columelar muy fuerte y una periferia subangular. Su altura máxima conocida es de 10,5 mm, aunque, según la descripción original, las conchas no serían totalmente adultas.

Fernandezia inornata Hyatt & Pilsbry 1911

Fernandezia inornata Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch. (2)21: 97, lám. 14, figs. 14, 15 (localidad tipo: Juan Fernández); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 241 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Islas Juan Fernández (Hyatt y Pilsbry 1911). No existen otros registros.

OBSERVACIONES: Descrita como una especie estrechamente relacionada con *F. philippiana*, con una

altura máxima de 9 mm y 6 $\frac{1}{2}$ anfractos.

Fernandezia longa Hyatt & Pilsbry 1911

Fernandezia longa Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch., (2)21: 99, lám. 14, fig. 6 (localidad tipo: Juan Fernández); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 241 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Islas Juan Fernández (Hyatt & Pilsbry 1911). No hay otros registros conocidos.

OBSERVACIONES: *F. longa* se caracteriza por presentar 7 anfractos y $^{\circ}$ con una altura máxima de 9,9 mm. La columela ha sido descrita como recta arriba y ligeramente plegada hacia abajo. Debido a su parecido con *F. splendida* Anton podría ser un sinónimo de ella (Hyatt & Pilsbry 1911).

Fernandezia philippiana Hyatt & Pilsbry 1911

Fernandezia philippiana Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch., (2)21: 96, lám. 14, figs. 2, 3 (localidad original: Juan Fernández); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 241 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Islas Juan Fernández (Hyatt & Pilsbry 1911).

OBSERVACIONES: *F. philippiana* tiene una longitud de 9 mm y 6 $\frac{1}{2}$ anfractos, el último de los cuales es redondeado. Presenta gran parecido con *F. inornata* pero se distingue por una columela corta y una fuerte lamela columelar.

Fernandezia splendida (Anton 1839)

Bulimus (Achatina) splendida Anton 1839, Verz. Conchyl.: 44, N° 1590 (localidad original: Opana; error por Opara).

Achatina splendida Pfeiffer 1847, in Philippi, Abbild. Besch. Conch., 2: 214, lám. 1, fig. 11 (localidad original corregida: Islas Juan Fernández (Cumming)); 1848, Monogr. Helic. Vivent., 2: 271; Reeve 1849, Conch. Icon., 5:

lám. 19, sp. 100; Pfeiffer 1863, Conchyl. Cab., *Bulimus*, etc. 1 (13): 339, pl. 37, figs. 10-12.

Spiraxis splendida Pfeiffer 1853, Monogr. Helic. Vivent., 3: 472; 1856, Malak. Bl., 2: 167 (*Nothus*; lista de especies); 1868, *Ibid.*, 6: 193 (lista de especies); 1876, *Ibid.*, 8: 258 (lista de especies).

Fernandezia splendida Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch., (2)21: 98, pl. 14, figs. 9, 10; Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3: 241, lám. 9, fig. 48; Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 242; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

Oleacina (Nothus) splendida H. & A. Adams 1853, Gen. Rec. Moll., 2: 105 (lista de especies).

Stenogyra splendida Clessin & Pfeiffer 1881, Nomenclator: 324 (Sección *Spiraxis*; Subsección *Nothus*; lista de especies).

Stenogyra (Nothus) splendida E.A. Smith 1884, proc. Zool. Soc. London: 280 (sólo registro).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masatierra, Islas Juan Fernández (Odhner 1922).

Conocida en las siguientes localidades: Cerro Salsipuedes (350 msnm); Valle Piedra agujereada; Quebrada Portezuelo (200 msnm); alrededor de Portezuelo (520 msnm); Pangal; bajo Damajuana (300 msnm).

Se ha encontrado en bosques espesos, bajo hojas y sobre helechos; también al remecer arbustos.

OBSERVACIONES: Según Hyatt & Pilsbry (1911: 98-99) *F. splendida* es una especie incierta debido a que no está claro si la concha descrita y dibujada por Pfeiffer es idéntica o no con la de Anton. Sin embargo, Odhner (1922) encontró a esta especie en varios lugares de Masatierra y su descripción y figuras concuerdan bien con la de Pfeiffer.

La concha de esta especie tiene una altura máxima de 7 mm, 5 a 6 anfractos y es característica por la presencia de un fuerte pliegue columelar.

Fernandezia tryoni Hyatt & Pilsbry 1911

Fernandezia tryoni Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch., (2)21: 97, lám. 14, figs. 12, 13 (localidad original: Juan Fernández); Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3: 242; Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop

Museum, Bull., 221: 242 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Masatierra, Isla de Juan Fernández (Odhner 1922).

Conocida en dos localidades: El Puente y Cerro Centinela (500 msnm). Encontrada en helechos y bajo hojas.

OBSERVACIONES: *F. tryoni* es una de las especies más pequeñas del género, caracterizada por tener 5 ó 6 anfractos, una altura máxima de 6,6 mm y un pliegue columelar pequeño. Tiene un tamaño similar a *F. cylindrella* de Odhner, la otra especie pequeña del género, pero ésta es más espiralada.

Fernandezia willsoni Hyatt & Pilsbry 1911

Fernandezia willsoni Hyatt & Pilsbry 1911, Man. Conch., (2)21: 96, lám. 14, figs. 7, 8 (localidad original: Juan Fernández); Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 242 (lista de especies); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Islas Juan Fernández (Hyatt & Pilsbry 1911).

OBSERVACIONES: Esta especie es representante del grupo *expansa*. Presenta una lamela columelar fuerte y estriaciones finas, 7 ° anfractos, y una altura máxima de 10.5 mm.

Género *Tornatellinops* Pilsbry & Cooke 1915

Tornatellinops variabilis (Odhner 1922)

Pacificella variabilis Odhner 1922, in Skottsberg, Nat. Hist. Juan Fernández, 3(2): 249, lám. 8, figs. 15-17 (localidad original: Isla de Pascua).

Tornatellina impresa normalis Pilsbry & Cooke 1915, Man. Conch., 23: 175 (*pars*; Sección: *Tornatellinops*).

Lamellidea variabilis Pilsbry & Cooke 1933, Nautilus 47(2): 60, note 3 (Sección: *Tornatellinops*); Cooke 1934, Bernice P. Bishop Mus., Occ. Papers, 10(11): 9.

Tornatellinops variabilis Cooke & Kondo 1960, Bernice P. Bishop Mus., Bull., 221: 172, fig. 76

a-h.; Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 128 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Isla de Pascua (Odhner 1922).

También ha sido encontrada en Isla Rapa e Isla de Palmira (Cooke & Kondo 1960).

OBSERVACIONES: *T. variabilis* fue descrita originalmente por Odhner (1922) como el único representante del nuevo género *Pacificella*. Sin embargo, Cooke & Kondo (1960) han reconocido una amplia distribución de *T. variabilis* en más de 67 islas del Pacífico, desde Isla de Pascua en el este a las Carolinas por el oeste. Estos autores mencionan una gran variedad de formas distintas o subespecies de *T. variabilis* (pág. 173), pero no entregan ninguna explicación acerca de su grado de diferenciación.

Género *Ambrosiella* Odhner 1963

Ambrosiella kuscheli Odhner 1963

Ambrosiella kuscheli Odhner 1963, Proc. Malac. Soc. London, 35: 207 (localidad tipo: Isla San Ambrosio, Archipiélago de las Desventuradas); Stuardo & Vega 1985, Stud. Neotr. Fauna & Envir., 20(3): 127 (distribución).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Localidad Tipo: Isla San Ambrosio, Archipiélago de las Desventuradas (Odhner 1963). Encontrada sobre 400 msnm (punto más alto de la isla).

Se ha recolectado en agujeros y grietas en la tierra, bajo troncos caídos, alrededor de las raíces y entre las hojas y ramas del arbusto *Thamnosericis*, y también en *Ctenopodium*.

OBSERVACIONES: *A. kuscheli* posee una concha pequeña turrítico-cónica, con rayas transversales de color café oscuro; presenta 6 a 7 anfractos convexos y una altura máxima de 6 mm.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las instituciones que permitieron la revisión de algunas muestras estudiadas y las observaciones de los revisores anónimos. En particular, se agradece el apoyo de

la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción para financiar esta publicación.

BIBLIOGRAFIA

(Se consideran, salvo excepciones importantes, sólo referencias que no están incluidas en las sinonimias.)

- BAKER, H.B. 1925a. Nomenclature of Veronicellidae (Vaginulidae). Nautilus Philad., 39:13-18.
- BAKER, H.B. 1928. North American Veronicellidae. Nautilus Philad., 42:43-47.
- BAKER, H.B. 1931. Notes on West Indian Veronicellidae. Nautilus Philad., 44(4):131-138.
- BAKER, H.B. 1935. Review of the anatomy of Pupillidae and Pleurodiscidae. Manual. Conch. (2) 28(112): 191-209.
- BOETTGER, C.R. 1955. Die Systematik der euthyneuren Schnecken. Verh. Dtsch. Zool. Ges., 1954:253-280, 1 fig.
- CONNOLLY, M. 1939. A monographic survey of South African non-marine Mollusca. Ann. S. Afr. Mus., 33(1), 660 pp., 19 pls.
- FORCART, L. 1953a. The Veronicellidae of Africa (Mollusca, Pulmonata). Ann. Mus. Congo Belg., 23:1-110, 5 pls.
- FORCART, L. 1967. Studies on the Veronicellidae, Aperiidae and Urocyclidae (Mollusca) of southern Africa. Ann. Natal Mus., 18(3):505-570, 46 figs.
- PILSBRY, H.A. 1911. Part V, Non-marine Mollusca of Patagonia. Rept. Princeton Univ. Exp. Patagonia, 1846-1899, 3(5):513-633, figs. 1-38, pls. 38-47 +5.
- PILSBRY, H.A. 1934. Geographic distribution of Pupillidae, Strobilopsidae, Valloniidae and Pleurodiscidae. Manual. Conch. (2) 28(111):97-137.
- PILSBRY, H.A. 1935. Geographic distribution of Pupillidae, Strobilopsidae, Valloniidae and Pleurodiscidae. Manual. Conch. (2) 28(112):161-226, figs. 9-12, i-xii, pls. 24-31.
- PILSBRY, H.A. 1948. Land Mollusca of North America (North of Mexico), Monogr. ANSP., 3:i-xxlvii, 521-1113, figs. 282-585.
- PILSBRY, H.A. & C.M. COOKE. 1915-1916. Appendix to Amastridae, Tornatellinidae. Manual of Conchology, A. N. S. Philadelphia, (2) 23: 302 pp.
- SIMROTH, H. 1913. Ueber eine Reihe von Vaginula Anton. S. B. Naturf. Ges. Leipzig, Jahrg., XVII-XVIII (1811-1892): 58-73, 84-86.
- STUARDO, J. & R. VEGA. 1985. Synopsis of the Land Mollusca of Chile. With Remarks on Distribution. Studies on Neotropical Fauna and Environment, 20(3):125-146.
- STUARDO, J. & C. VALDOVINOS. 1985. A synonymic list of Chilean Bulimulids (Mollusca: Pulmonata). Bol. Soc. Biol. Concepción, Chile. 56:55-58.
- TAYLOR, D.W. & N.F. SOHL. 1962. An outline of Gastropod classification. Malacologia, 1(1):7-32.

- THIELE, J. 1931. Handbuch der Systematischen Weichtierkunde. Zweiter Teil. pp. 377-778, figs. 471-783.
- THOMÉ, J.W. 1976. Revisão do gênero *Phyllocaulis* Colosi, 1922 (Mollusca; Veronicellidae). Iheringia, Ser. Zool., 49:67-90.
- VALDOVINOS, C. 1999. Biodiversidad de moluscos chilenos: Base de datos taxonómica y distribucional. Gayana Zool., 63(2):111-164.
- VALDOVINOS, C. & J. STUARDO. 1988. Morfología, sistemática y distribución del género *Plectostylus* Beck 1837 (Pulmonata: Bulimulidae). Gayana Zool., 52(1-2):115-195.
- VALDOVINOS, C. & J. STUARDO. 1989. *Austrodiscus* (*Zilchogyra*) *solemi* spec. nov. Nuevo gastrópodo húmico de Chile. Bol. Soc. Biol. Concepción, Chile. 60:239-245.
- VALDOVINOS, C. & J. STUARDO. 1991. Planórbidos altoandinos del Norte de Chile y *Biomphalaria ayмара* spec. nov. (Mollusca: Basommatophora). Studies on Neotropical Fauna and Environment. 26(4):231-234.
- VARGAS-ALMONACID, P. 2000. Nueva especie de microgastrópodo húmico para Chile, *Radiodiscus quillajicola* spec. nov. (Stylommatophora: Charopidae). Gayana. Zool., 64(1):103-108.
- ZILCH, A. 1959/1960. Gastropoda, Teil 2: Euthyneura. In: O.H. SCHINDEWOLF, Handbuch der Paleozoologie, v. 6, pt. 2.

Fecha de recepción: 02.05.2000

Fecha de aceptación: 24.07.2000

AMBIENTE ACUÁTICO / AQUATIC ENVIRONMENTS

QUANTITATIVE KARYOTYPE OF *DIPLODON CHILENSIS* (GRAY 1828)
(BIVALVIA:HYRIIDAE)

CARIOTIPO CUANTITATIVO DE *DIPLODON CHILENSIS* (GRAY 1828)
(BIVALVIA:HYRIIDAE)

Pedro Jara-Seguel², Santiago Peredo¹, Claudio Palma-Rojas², Esperanza Parada¹ y
Gladys Lara¹

ABSTRACT

The karyotype of a freshwater population of *Diplodon chilensis* located in La Poza area of the Villarrica Lake (39°18'S; 72°05'W), Southern Chile, was studied. The chromosomes were obtained by squash of cleaving embryos, previously treated with colchicine and fixed in ethanol-acetic acid 3:1 at 4°C and stained using the Feulgen reaction. *Diplodon chilensis* showed a diploid karyotype of $2n = 34$, with metacentric and submetacentric chromosomes. This work is the first approach to cytogenetic characterization of Chilean populations of this species.

KEYWORDS: Hyriidae, *Diplodon chilensis*, karyotype, freshwater bivalves, Southern Chile.

RESUMEN

Se estudió el cariotipo de una población dulceacuícola de *Diplodon chilensis* ubicada en el sector La Poza del Lago Villarrica (39°18'S; 72°05'O), sur de Chile. Los cromosomas fueron obtenidos por aplastado de embriones en segmentación, pretratados con colchicina, fijados en etanol-ácido acético 3:1 a 4°C y teñidos mediante la reacción de Feulgen. *Diplodon chilensis* presenta un cariotipo diploide $2n = 34$, constituido por cromosomas metacéntricos y submetacéntricos. Este trabajo es el primer aporte a la caracterización citogenética de poblaciones chilenas de esta especie.

PALABRAS CLAVES: Hyriidae, *Diplodon chilensis*, cariotipo, bivalvos dulceacuícolas, sur de Chile.

INTRODUCTION

Diplodon chilensis (Gray 1828) is a freshwater bivalve, widely distributed in lakes and rivers from central and southern Chile.

However, information of this species are restricted to ecological studies reported by Peredo & Parada (1986), Parada *et al.* (1987, 1989 a, b, 1990), and Parada & Peredo (1994). Therefore, it is fundamental to understand processes such as evolution,

phylogenetic relationships and the current taxonomic classification, which are still under discussion in *D. chilensis*.

In Chile and the Argentinean Patagonia have been described 25 species of *Diplodon* Spix 1827, named as *D. chilensis* by Haas (1930-31). This author (1969) used shell features to recognise two subspecies: *D. chilensis chilensis* distributed from Valparaíso to Chiloé and *D. chilensis patagonicus* inhabiting in Austral Región (Chile) and the Argentinean Patagonia with Futralauquén Lake as meridional argentinean border. Moreover, evolutive relationships of the Chilean hyriids was proposed by Parodiz (1977) based on morphology, shell features of fossils and biogeographical data. At present, no accurate and reliable genetic information has been published.

¹Departamento de Ciencias Biológicas y Físicas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de Temuco, Casilla 15-D, Chile. E-mail: speredo@uctem.cl

²Laboratorio de Citogenética, Departamento de Biología, Universidad de La Serena, Casilla 599, La Serena, Chile.

Karyotypes are known for most marine bivalve mollusks (Palma-Rojas *et al.* 1997). However, in freshwater bivalves, only have been reported the karyotypes of the unionids *Unio pictorum* and *U. tumidus* and *Dreissena polymorpha* (Dreissenidae) (Barsienè 1994).

This paper was carried out to investigate karyotypical characteristics of a freshwater population of *D. chilensis* from Villarrica Lake, Southern Chile. The aim is to improve our knowledge on genetic data of Chilean and South American hyriids.

MATERIALS AND METHODS

During January 1998, adult specimens of *D. chilensis* were collected in La Poza area, Villarrica Lake (39°18'S; 72°05'W), Southern Chile.

Cleaving embryos were removed from the inner demibranchs of gravid females and used to study the karyotype. Chromosomes were obtained from embryos using the squash method, previously treated with colchicine at 0.05% for 3 hours. The samples were fixed in ethanol-acetic acid 3:1 at 4°C, and stained using the Feulgen reaction (Navarrete *et al.* 1984) and acetocarmine.

Sixty metaphase plates were counted, and the best 10 plates were photographed. Chromosome morphology was established according to the centromeric index (CI) Levan *et al.* (1964). Total chromosome relative length, as a percentage, and the relative lengths of short arm (SA) and long arm (LA) over total length of the haploid complement, were also obtained. SA and LA lengths were used to elaborate a karyo-ideogram to analyse chromosome differences within as well as between karyotypes (Spotorno 1985).

RESULTS

Cleaving embryos of *Diplodon chilensis* showed a diploid karyotype $2n = 34$, with 9 pairs of metacentric chromosomes (m) and 8 pairs of submetacentric chromosomes (sm). Two chromosomes (pairs 1 and 2) are twice more longer as pairs 16 and 17 (Figures 1-3). Chromosomes lengths range between 2.5 and 6.5 μm (Table I).

The mean relative arm length of the short arm (SA) and long arm (LA) for each chromosomal pair together with its confidence intervals are summarized in Table I.

DISCUSSION

Diplodon chilensis presents symmetrical karyotype according to Stebbins (1971). Likewise, morphometric characteristics agrees with previous reports for other species such as *Unio pictorum* and *U. tumidus* (Barsienè 1994). However, the diploid chromosome number of *D. chilensis* ($2n = 34$) is lower than *Unio* species ($2n = 38$).

Due to the staining method used in this study it was not possible to show any secondary constrictions within the chromosomes that could indicate the amount and location of nucleolar organizer regions (NOR) within the karyotype. Nevertheless, in interphasic embryonic cells it was observed a number of nucleoli that ranged between 1 and 2 per nucleus, which, probably, indicate two active NOR in the karyotype of this species.

Karyotype characteristics of *D. chilensis*, such as the number and size of chromosomes, and symmetry, emphasise the relevance to increase cytogenetic studies in the genus. Parada *et al.* (1990) and Parada & Peredo (1994) proposed that variability on morphological and life strategies in *D. chilensis* should be caused by environmental factors. Future studies on chromosome banding such as C- banding, silver staining of NORs and G banding procedures in lentic and lotic populations will provide cytological information to dilucidate whether the variability on morphological and life strategies in *D. chilensis* are related to differences of genetic type and also to understand chromosomal divergence and evolutionary significance in the genus *Diplodon*.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by Dirección de Investigación, Catholic University of Temuco-Chile (Proyect: 99-4-03). The authors wish to thank Dr. Elisabeth von Brand for the critical review of the manuscript.

LITERATURE CITED

- BARSIENÈ, J. 1994. Chromosome set changes in molluscs from highly polluted habitats. pp:434-447. In: Genetics and Evolution of Aquatic Organism. A.R.BEAUMONT (Ed.). Madras. 539 pp.
- HAAS, F. 1930-31. Versuch einer kritischen Sichtung der

- südamerikanishen Najaden. Senckenbergiana 12(4-5):175; 13(1): 30; 13(2): 87.
- HAAS, F. 1969. Superfamilia Unionacea. Das Tierreich (Berlin) Lieferung 88, seite i-x:1-663.
- LEVAN, A., K. FREDGA & A. SANDBERG. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52:201-220.
- NAVARRETE, M., E. SECADAS & S. MARTIN. 1983. Análisis citofotométrico de las condiciones óptimas de la tinción de Feulgen. Morfología Normal y Patológica. Sección A 7(2):239-247.
- PALMA-ROJAS, C., R. GUERRA, D. BROWN & E. VON BRAND. 1997. Quantitative karyotype of *Choromytilus chorus* (Mollusca: Bivalvia: Mytilidae). The Veliger 40(3):259-262.
- PARADA, E., S. PEREDO & C. GALLARDO. 1987. Esfuerzo reproductivo en *Diplodon chilensis chilensis* (Gray 1828) (Bivalvia: Hyriidae). Una proposición para su determinación. Boletín Sociedad de Biología de Concepción 58:121-126.
- PARADA, E., S. PEREDO, G. LARA & I. VALDEBENITO. 1989a. Growth, age and life span of the freshwater mussel *Diplodon chilensis chilensis* (Gray 1828). Archiv für Hydrobiologie 115(4):563-573.
- PARADA, E., S. PEREDO, G. LARA & F. ANTONIN. 1989b. Contribución al conocimiento de los Hyriidae chilenos. Boletín Sociedad de Biología de Concepción 60:173-182.
- PARADA, E., S. PEREDO & C. GALLARDO. 1990. Tácticas reproductivas y dinámica poblacional de *Diplodon chilensis chilensis* (Gray 1828) (Bivalvia: Hyriidae). Revista Chilena de Historia Natural 63: 23-35.
- PARADA, E. & S. PEREDO. 1994. Un enfoque ecológico evolutivo de las estrategias de historia de vida de los híridos chilenos (Mollusca, Bivalvia). Boletín Sociedad de Biología de Concepción 65:71-80.
- PARODIZ, J. 1977. Mollusca. In: Biota Acuática de Sudamérica Austral. San Diego State University, San Diego, Ca. S.H. HULBERT (Ed.). 320-329.
- PARODIZ, J.J. & A.A. BONETTO. 1963. Taxonomy and Zoogeographic relationship of the South American Naiades (Pelecypoda: Unionacea and Mutelacea). Malacologia 1(2):179-213.
- PEREDO, S. & E. PARADA. 1986. Reproductive cycle in the freshwater mussel *Diplodon chilensis chilensis* (Mollusca: Bivalvia). The Veliger 28(4):418-425.
- SPOTORNO, A. 1985. Conceptos y métodos en cariología descriptiva y comparada. En: El núcleo, los cromosomas y la evolución. FERNÁNDEZ-DONOSO (Ed.). UNESCO:135-163.
- STEBBINS, L. 1971. Chromosomal Evolution in the Higher Plants. Edward Arnold (Publishers) Ltd. London. Great Britain. 216 pp.

TABLE I. Relative mean length in μm (\pm confidence interval (CI) at 95%) of the short arm (SA) and long arm (LA) of each chromosome pair, chromosome size (CS), and chromosome shape (SH) of *Diplodon chilensis*, located in La Poza area Villarrica Lake, Southern Chile (n = 10).

Chromosome pair	SA	CI	LA	CI	CS	SH
1	5.37	0.60	5.90	0.19	6.5	m
2	3.20	0.28	5.10	0.63	4.8	m
3	3.25	0.35	3.92	0.37	4.1	m
4	2.55	0.52	3.80	0.25	3.7	m
5	2.40	0.58	3.70	0.51	3.5	m
6	2.47	0.26	3.25	0.54	3.3	m
7	1.85	0.31	3.62	0.32	3.2	sm
8	1.90	0.45	3.45	0.51	3.1	sm
9	2.00	0.46	3.12	0.51	3.0	m
10	2.05	0.20	3.10	0.16	3.0	m
11	1.85	0.48	3.15	0.47	2.9	m
12	1.72	0.32	3.22	0.14	2.9	sm
13	1.65	0.36	3.10	0.31	2.8	sm
14	1.35	0.20	3.40	0.16	2.8	sm
15	1.70	0.32	2.92	0.44	2.6	sm
16	1.34	0.29	3.20	0.29	2.6	sm
17	1.25	0.25	3.07	0.17	2.5	sm

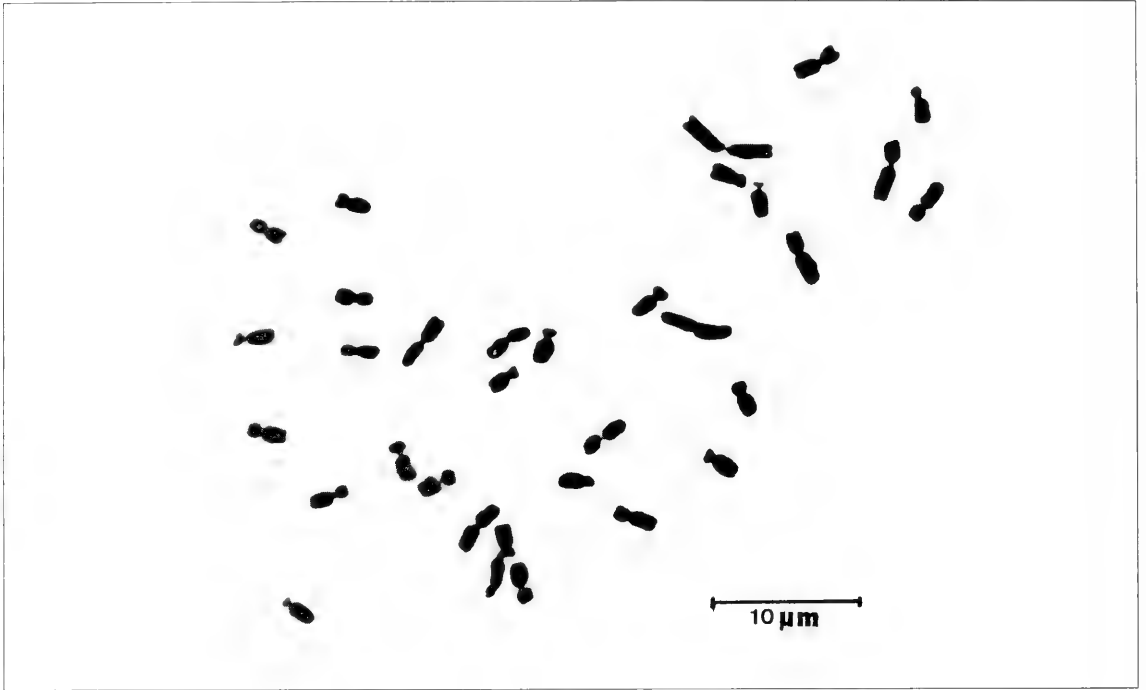


FIGURE 1. Metaphase plate from embryos of *Diplodon chilensis* (Feulgen reaction stain).

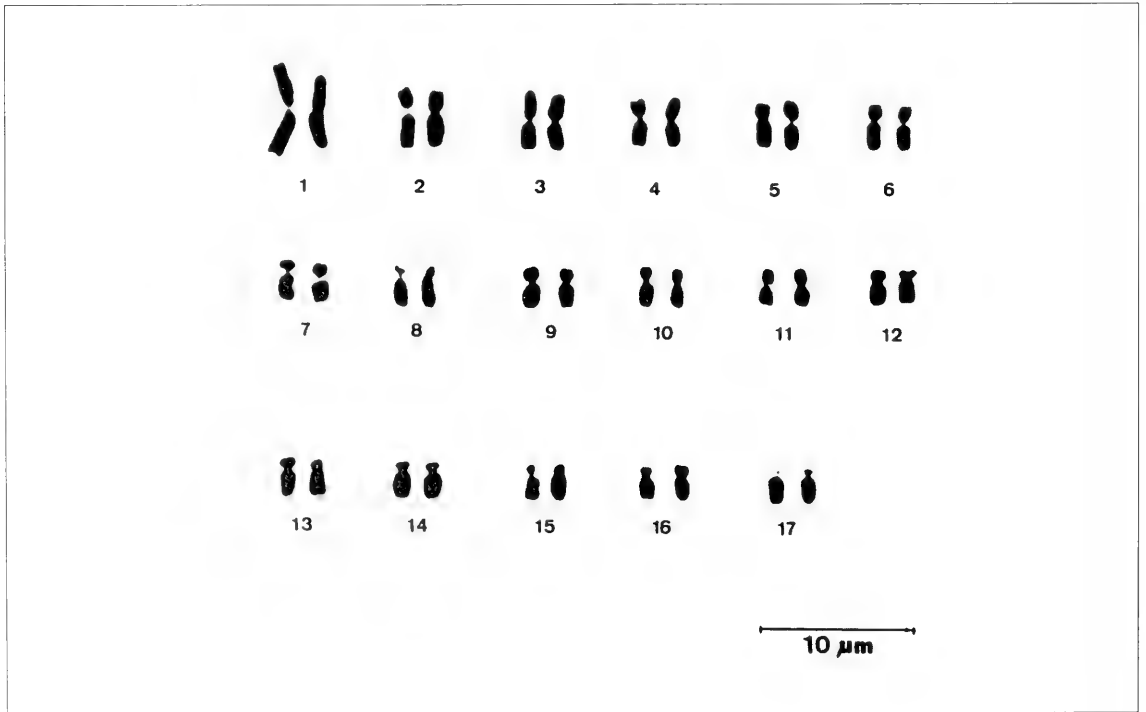


FIGURE 2. Karyotype of *Diplodon chilensis*, from La Poza area, Villarrica Lake, Southern Chile.

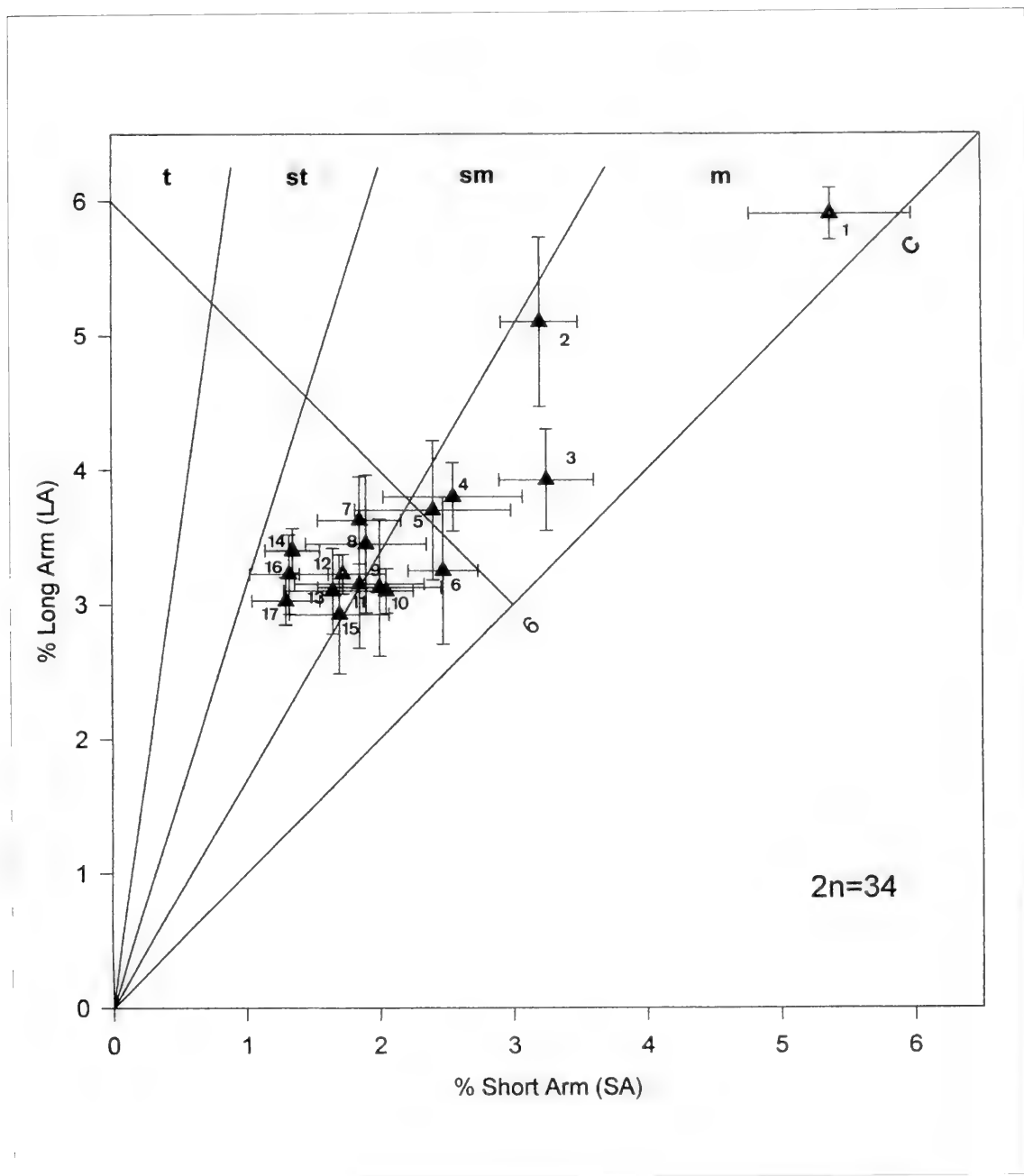


FIGURE 3. Karyo-ideogram of *Diplodon chilensis*. (t = telocentric; st = subtelocentric; sm = submetacentric; m = metacentric; LA = long arm; SA = short arm; CS = chromosome size).

Fecha de recepción: 03.01.2000
 Fecha de aceptación: 20.04.2000



Cu, Pb AND Zn DISTRIBUTION IN NEARSHORE WATERS IN SAN JORGE BAY, NORTHERN CHILE

DISTRIBUCION DE Cu, Pb Y Zn EN AGUAS COSTERAS DE BAHIA SAN JORGE EN EL NORTE DE CHILE

Marco A. Salamanca¹, Andrés Camaño², Bibiana Jara¹ & Tatiana Rodríguez³

ABSTRACT

An extensive spatial survey metal content to study the spatial distribution of Cu, Pb and Zn concentration in nearshore waters of San Jorge Bay, along the coast of Antofagasta City, Chile was carried out located near the Atacama desert, which represent the largest populated urban settlement in northern Chile (~ 260,000 inhabitants). The coastal zone of this area is under an intensive use as discharge location of pollutants of different sources. Dissolved Cu varies between 0.97 to 1.65 $\mu\text{g l}^{-1}$, in the southern part of the study area and in front of an industrial discharge, respectively. The dissolved Pb shows a narrow concentration range (0.019 to 0.029 $\mu\text{g l}^{-1}$) and Zn content varies between 1.7 $\mu\text{g l}^{-1}$ in the northern part of the study area to 2.0 $\mu\text{g l}^{-1}$, in front of the industrial discharge zone. The particulate Cu fraction pattern is similar to that of dissolved Cu, with concentrations varying between 126.8 $\mu\text{g g}^{-1}$ and 467.2 $\mu\text{g g}^{-1}$. Particulate Pb ranges between 9.8 to 33.8 $\mu\text{g g}^{-1}$, and Zn 149.7 to 403.5 $\mu\text{g g}^{-1}$. The spatial distribution of both, dissolved and particulate Cu, Pb and Zn results from local industrial sources located within Antofagasta City and San Jorge Bay current system that dilutes them as the water moves to the north. The particulate fraction is the dominant form of the metals, probably due to the dust coming from the Atacama desert, representing an important natural source of these metals to the water of the bay, particularly in those locations far from local inputs.

KEYWORDS: Trace metal distribution, coastal waters, desert areas.

RESUMEN

En este estudio se realizó una investigación espacialmente extensiva para conocer la distribución de Cu, Pb, y Zn en el agua de la zona intermareal del sector costero de Bahía San Jorge, cerca de la ciudad de Antofagasta, que representa la mayor densidad poblacional (~ 260.000 habitantes), en el norte de Chile. La zona costera de esta bahía es intensamente utilizada como área de descarga de diferentes fuentes de contaminación. Los resultados indican que el Cu disuelto varía entre 0.97 y 1.65 mg l^{-1} , al sur del área de estudio y frente a la zona industrial de la ciudad, respectivamente. El Pb disuelto varía entre 0.019 y 0.029 mg l^{-1} y el contenido de Zn entre 1.7 mg l^{-1} en la parte norte del área de estudio y 2.0 mg l^{-1} , frente a la descarga de la zona industrial. La distribución de la fracción particulada de Cu es similar a la disuelta, con concentraciones que varían entre 126.8 mg g^{-1} y 467.2 mg g^{-1} . El Pb particulado presenta un rango entre 9.8 y 33.8 mg g^{-1} , y el Zn entre 149.7 y 403.5 mg g^{-1} . La distribución espacial encontrada es el resultado de los diferentes aportes locales y del sistema de corrientes litorales que diluyen los aportes así como el agua se mueve hacia el norte. La fracción particulada es la forma más abundante de los metales, probablemente debido al aporte del polvo atmosférico proveniente del desierto de Atacama, representando una fuente natural de metales a las aguas de la bahía.

PALABRAS CLAVES: Distribución de metales traza, aguas costeras, áreas desérticas.

¹Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

²Gerencia de Medio Ambiente, Minera Escondida Ltda., Casilla 690, Antofagasta, Chile.

³Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta, Casilla 170, Antofagasta, Chile.

INTRODUCTION

Coastal areas near urban and industrial areas are affected by the waste products of both activities which, in many cases, change the natural trends of substances that have natural and

anthropogenic sources. Usually, these sources are multiple and variable in nature, supplying different kinds of wastes, and thus changing the composition, distribution and abundance of pollutants in these areas (Luoma 1990; Giordano *et al.* 1992; French 1993).

In this context, trace metals have been one of the main group of elements whose abundance in the environment has been extensively studied, because of their toxicity and because trace metals are also produced in significant amounts, both in urban and industrial processes. These metals have natural source that reaches the coastal zone by the same biogeochemical pathways used by anthropogenic sources, mixing both signals, which complicates the understanding of their spatial distribution patterns (Chester & Murphy 1990). On the other hand, many trace elements are considered as essential for organisms and thus their relative abundance is influenced significantly by biological processes. In fact, it is well known that several trace metals such as Cd, Ni, Cu and Zn have a similar distribution pattern as algae micronutrients (Bruland 1980; Danielsson 1980; Boyle *et al.* 1981; Jickells & Burton 1988; Hunter & Ho 1991). This is to be interpreted as these trace elements are involved in biological cycling, and thus its distribution and abundance can reflect biological activity (Kudo *et al.* 1996).

In Chile the studies of trace metals in the marine system are scarce and basically shows the existence of areas of high metal concentration such as Chañaral Bay in northern Chile (Castilla 1983; Olivares & Ruiz 1991) and San Vicente Bay in central south Chile (Salamanca *et al.* 1986). On the other hand, the history of heavy metals in Caleta Coloso (northern Chile), Concepción Bay (central south Chile) and in Chacabuco Bay (fjords area) has been established (Salamanca & Camaño 1994; Salamanca 1996). In all these locations, anthropogenic trace metals signals has been clearly detected, indicating an alteration of metal natural supply processes. Finally, sediments cores from the fjord and Strait of Magellan area has been analyzed for heavy metals, showing natural Cd, Cu, Pb and Zn vertical distributions in sediment column (Ahumada 1996).

The present study was carried out in San Jorge Bay, along the coast of Antofagasta City, located in the Atacama desert, which represents the largest populated area in northern Chile (~ 260,000 inhabitants). The coastal ocean waters receive several discharges from municipal and industrial

activities, including eight domestic effluents, three oil loading terminals, two non treated industrial discharges (one of them is the Fiscal Port where mineral concentrate is loaded) and one treated (Minera Escondida effluent). These discharges are mainly concentrated in the northern side of the city, being the Minera Escondida port facilities the only industrial activities to the south of Antofagasta City (Fig. 1).

The oceanographic conditions of San Jorge Bay are not well characterized, but the bay is dominated mostly by cold waters of the Humboldt current and by an intermittent upwelling process (Marin *et al.* 1993; Escribano *et al.* 1997; Rodriguez *et al.* 1996). The temperature range vary between 13.13 and 21.07°C.

The coastal zone of the study area is under intensive and extensive use as discharge location of different sources of pollutants, so in this research an extensive spatial survey of metal content was carried out to verify the current status of Cu, Pb and Zn content in the nearshore waters of this area, both in the particulate and dissolved fractions.

METHODOLOGY

SAMPLING

One liter seawater samples from seven locations behind the surf zone, along the coastal area of San Jorge Bay in Antofagasta, northern Chile (Fig. 1), were collected manually in narrow mouth low density polyethylene bottles (Nalgene) in June, October and December of 1996. The bottles were exhaustively cleaned involving soaking in detergent solution (2% v/v) Extran 300 for 24 h, rinsing with abundant deionized water and then a acid treatment with 3 M Merck Suprapur HCl for another 24 h, rinsing with deionized water and soaked with HNO₃ for another 24 h followed by rinsing with copious quantities of Milli-Q water. Each bottle was stored separately in re-sealable polyethylene bags. The samples were collected in triplicate and are reported as average values.

ANALYSIS

The dissolved metals fraction was obtained by pressure filtration using 0.45 µm acetate cellulose membranes pretreated with deionized water and a 3M HCl solution and rinsed with

abundant Milli-Q water. A total of 1.5 l of sample were filtered, discarding the first 500 ml. A separate subsample (250 ml) was taken for Zn analysis and another subsample (500 ml) was considered for Cu and Pb determination. These samples were acidified with 0.03 M HCl and concentrated HNO_3 , respectively using Merck Suprapur acids.

The solid material retained by the membrane was analyzed for particulate metals, rinsing the filters with Milli-Q water and stored frozen until analysis. These samples were digested in concentrated HNO_3 using clean teflon bombs heated for 1 h at 160°C. After cooling the residue was made up to 25 ml with Milli-Q water to be analyzed for Cu, Pb and Zn.

Trace metals were analyzed by Anodic Stripping Voltametry (ASV) using a ISS-820 Radiometer Polarograph in the Chemistry Department of the Antofagasta University, Chile. The accuracy and precision of the analytical method were assessed using CASS-3 (National Research Council of Canada) certified standard coastal seawater. Quality appraisal data are given in Table I.

RESULTS

The accuracy analytical results obtained for the reference material CASS-3 vary between less than 1% (Zn) to 6.3% (Pb), with a precision about 5% (Table I), indicating an acceptable accuracy and precision of the analytical techniques.

The average trace metals and total suspended solids (TSS) data obtained in the study area are presented in Table II. The average TSS does not show large variability between sampled locations. On the contrary, trace metal present a clear spatial distribution showing higher concentrations within Antofagasta City limits, being Station 5, near by the industrial sector, the zone that present the highest metal concentrations.

Figure 2 presented the annual average concentration of the dissolved (upper) and particulate (lower) fractions of Cu, Pb and Zn for each sampled location. These results show a clear spatial trend in the particulate fraction where Sta. 5 (Antofagasta Industrial Park) present the highest metal content. The dissolved fraction this location also showed the highest content of Cu and Zn, but in the case of Pb the highest concentration was presented in Sta. 3 to the south of Antofagasta city.

Particulate copper distribution is characterized by uniform concentration along the coast with values between 100 ~ 150 $\mu\text{g g}^{-1}$ except in Sta. 5 where there is a clear increase up to 450 $\mu\text{g g}^{-1}$. The dissolved Cu, on the other hand, shows a pattern characterized by lower concentration in the southern side of the study area, increasing towards the north, reaching a maximum in Sta. 5, to decrease again in Sta. 6 and 7. However this decrease does not reach the level of southern locations.

Lead present a different spatial distribution pattern when compared with that of Cu. Particulate lead showed two locations with high concentrations, both located between Antofagasta City limits. Further south or north, the concentration decrease by about 50% (Fig 2). However, the dissolved fraction spatial distribution pattern exhibits a uniform concentration along the coast, except in Sta. 3 where there is a clear increase of this metal in sea water.

Finally, particulate Zinc showed a spatial distribution pattern comparable to that of lead, *i.e.*, high concentration within city limits (Sta. 3, 4 and 5) and lower values to southern and northern limits of the study area. The highest concentrations corresponded to Sta. 5. On the other hand, the dissolved fraction of Zn showed large variability in its spatial distribution with increasing concentration station in Sta. 3 relative to southern stations, to decrease again in Sta. 4 again, to reach a maximum in Sta. 5, decrease again in Sta. 6, to finally reach the lowest level in Sta. 7, far to the north of study area.

DISCUSSION

SPATIAL DISTRIBUTION

The spatial distribution of Cu, Pb and Zn along the waters the coastal zone of San Jorge Bay is clearly affected by the inputs from local sources and the hydrodynamic of area. In fact, a predominant current moving towards the North running along the San Jorge Bay, in response to wind pattern, has been described (SHOA 1988). This can explain the metal distribution pattern, characterized by lower concentration in the southern part of the studied area, where there are no important trace metals sources, except Minera Escondida facilities. As the water moves toward north, receive the discharge of industrial and municipal effluents, reaching a

maximum just in front to a industrial Port area, to decrease again further north.

To verify this pattern, the data on metal concentration were analyzed using exploratory analysis based on multivariate statistical techniques. Fig 3 presented the results of Principal Components Analysis (a) and Correspondence Analysis (b). Both tests shows comparable results, separating the locations in three groups. Group I includes Universidad de Antofagasta, Puerto Antofagasta and Las Rocas, which correspond to sampling location within Antofagasta City limits (Fig. 1), Group II includes El Lenguado, Murallones and Los Metales sites, located far from city limits, in fact, these points are close to external limits of the studied area. Finally, Group III considers the sampling site located in front of the discharge of the industrial Port, well separated of the other two groups. This distribution supports the reasoning that the local sources determine the abundance of the three studied metals in coastal waters of San Jorge Bay.

The spatial relation for each metal was evaluated using Cluster Analysis. In Fig. 4 it is presented the resulting clusters, which are not equivalents but shows some similarities, particularly in separating the site in front of industrial Port discharge, and the relation between El Lenguado and Murallones stations, which represent the southern limit of the study area. It is interesting to note that in the case of Cu and Zn, sites located at the extremes of the bay are grouped together. On the contrary, the largest mixing of locations is shown in the Pb distribution, reflecting more scatter in the sources, which might be due to the atmospheric mobilization of this metal from a local source such as Antofagasta City.

METAL PARTITIONING

The partition of metal between dissolved and particulate fractions may be defined by a distribution coefficient K_D (McManus & Prandle 1996):

$$K_D = C_p / C_D \times 0.000001$$

with $C_p = C_p/SS$, where C_p is the concentration in the particulate fraction ($\mu\text{g l}^{-1}$) and SS the suspended sediment concentration (mg l^{-1}), which represent the metal concentration in the particulate

fraction ($\mu\text{g mg}^{-1}$ of suspended particulate material) and C_D being the dissolved concentration fraction ($\mu\text{g l}^{-1}$). Thus the resulting units of K_D are in ml g^{-1} , and the 0.000001 factor represent the conversion factor for SS in mg l^{-1} to SS in g ml^{-1} . The resulting K_D computed as described above, are presented in Table III. The lower K_D values are shown by Cu ($\sim 10^5$) and the largest by Pb and Zn ($\sim 10^8$). In general, the distribution of trace metals in surface waters is controlled by the input function, the circulation effects and internal processes, such as output, trapping or recycling (Chester 1996). In a coastal zone, such as the present study, the metals are supply mainly via atmospheric, through terrestrial dust in suspension from the desert nearby (river run off is considered negligible, since no water discharge at all exists in the area) and local anthropogenic sources. A third sources that can supply metals to the particulate fraction is the biogenic particles produced *in situ*, but this source can be important only during the high production season, which occurs in spring and summer time with Chlorophyll a values between 8.1 to 155.4 mg m^{-2} (Rodriguez *et al.* 1996). The first two source are probably the most important in supplying metals, mainly in the particulate form, which is indicated by high K_D values ($\sim 10^5 - 10^8$) calculated for Cu, Pb and Zn. Considering that the TSS values vary between 15.7 and 17.2 mg l^{-1} the mass of metals in the particulate fraction in fraction is an important source. In fact, McManus & Prandle (1996) indicate for the North sea K_D values less than 10^5 show dominance of the dissolved fraction. On the other hand, the three order of magnitude difference between K_D values for the studied metals can also be a reflect of the different biogeochemical behavior of the metals (Kremling *et al.* 1997), particularly in the case of Pb, where the atmospheric supply can enhanced by Pb from the combustion of cars circulating in Antofagasta City. This burden of trace elements reaching the nearshore waters then is redistributed by the current system described above, which tend to transport the water towards north. This motion can also explain the decrease of Cu, Pb and Zn further north the Puerto Industrial discharge, diluting the trace metal content as the waters moves to the northern part of San Jorge Bay, producing a diminish of the concentrations to levels that are comparable to the southern situation, where the lower metal concentrations are found.

CONCLUSIONS

The main conclusion that can be drawn from this study is that the Cu, Pb and Zn in the coastal waters of San Jorge Bay, is in response to a local input from a industrial discharge coming from an industrial park located within Antofagasta City limits, and the current system that run from south to the north, carrying away the metal and diluting them as the water moves to the north. This explains the sharp decrease of Cu, Pb and Zn in the waters of the northern part of the bay.

The particulate fraction is the dominant form of the metals in the study area. This is expected, since the main atmospheric source of metals is dust coming from the Atacama desert, representing a natural input to the water of the bay. The other source is a local discharge from an industrial park, which also have the largest TSS content, representing an anthropogenic supply.

The distribution coefficient K_d vary between 10^5 - 10^8 , indicating the dominance of the particulate fraction if this metal in the coastal waters of San Jorge Bay.

REFERENCES

- AHUMADA, R. 1996. Concentración de metales traza en sedimentos y organismos recolectados en la región norte de los fiordos y canales del sur de Chile. Resultados Crucero CIMAR-FIORDO 1. CONA:49-52.
- BRULAND, K. 1980. Oceanographic distribution of cadmium, zinc, nickel and copper in the north Pacific. *Earth Planetary Science Letters* 47:176-198.
- BOYLE, E., S. HUESTED & S. JONES. 1981. On the distribution of copper, nickel and cadmium in the surface waters of the North Atlantic and North Pacific Ocean. *Journal of Geophysical Research* 86:8048-8066.
- CASTILLA, J.C. 1983. Environmental impact in sandy beaches of copper minetailings at Chañaral, Chile. *Marine Pollution Bulletin* 14:459-464.
- CHESTER, R. 1996. *Marine Geochemistry*. Chapman and Hall, London. 698.
- CHESTER, R. & K. MURPHY. 1990. Metals in the marine atmosphere. *In: Heavy Metals in the Marine Environment*. FURNES, R. & P. RAINBOW. (Eds.). CRC Press, Inc New York. 225
- DANIELSSON, L. 1980. Cadmium, cobalt, copper, iron, lead, nickel and zinc in the Indian Ocean. *Marine Chemistry* 8:199-215.
- ESCRIBANO, R., L. RODRIGUEZ & C. IRRIBARREN. 1997. Temporal variability of sea temperature in Bay of Antofagasta, northern Chile (1991-1995). *Estudios Oceanológicos* 14:39-47.
- FRENCH, P. 1993. Post-industrial pollutant levels in contemporary Sverm estuary intertidal sediments compared to pre-industrial levels. *Marine Pollution Bulletin*, 26:30-35.
- GIORDANO, P., L. MUSMECI, L. CIARALLI, P. VERNILLO, J. CHIRICO, N. PICCIONI & S. COSTATINI. 1992. Total content and sequential extractions of Hg, Cd and Pb in coastal sediments. *Marine Pollution Bulletin*. 24:350-357.
- HUNTER, K. & F. HO. 1991. Phosphorus-cadmium cycling in the northeast Tasman Sea, 35-40°S. *Marine Chemistry* 33:279-298.
- JICKELLS, T. & J. BURTON. 1988. Cobalt, copper, manganese and nickel in Sargasso Sea. *Marine Chemistry* 23:131-144.
- KREMLING, K., J. TOKOS, L. BRUGMANN & H. HANSEN. 1997. Variability of dissolved and particulate trace metal in the Kiel and Mecklenburg Bights if the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 34:112-122.
- KUDO, I., H. KOKUBUN & K. MATSUNAGA. 1996. Cadmium in the southwest Pacific Ocean. Two factors significantly affecting the Cd-PO₄ relationship in the ocean. *Marine Chemistry* 54:55-67.
- LUOMA, S. 1990. Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal sediments. *In: Heavy Metals in the Marine Environment*. FURNES, R. & P. RAINBOW. (Eds.). CRC Press, Inc New York. 225
- MARÍN, V., L. RODRIGUEZ, L. VALLEJO, J. FUENTESECA Y C. OYARCE. 1993. Efecto de la surgencia costera sobre la productividad primaria primaveral de Bahía Mejillones del Sur (Antofagasta, Chile). *Revista Chilena de Historia Natural* 66:479-491.
- McMANUS, J. & D. PRANDLE. 1996. Determination of source concentrations of dissolved and particulate trace metals in the Southern North Sea. *Marine Pollution Bulletin* 32:504-512.
- OLIVARES, J. & C. RUIZ. 1991. Metales en traza en sedimentos de la IV Región, Coquimbo, Chile. *En: Comisión Permanente del Pacífico Sur- CPPS*. (Eds.) *Memorias del Primer Seminario Internacional sobre Investigación y Vigilancia de la Contaminación Marina en el Pacífico Sudeste*. Santiago.
- RODRIGUEZ, L., R. ESCRIBANO, G. GRONE, C. IRRIBARREN & H. CASTRO. 1996. Ecología del fitoplancton en la Bahía de Antofagasta (23° S), Chile. *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 3:65-80.
- SALAMANCA, M., L. CHUECAS & F. CARRASCO. 1986. Heavy metals in surface sediments from three embayments of Central-South Chile. *Marine Pollution Bulletin* 17:567-569.
- SALAMANCA, M. & A. CAMAÑO. 1994. Historia de la contaminación por metales en traza en dos áreas costeras del norte y centro-sur de Chile. *Gayana Oceanológica* 2:31-48.
- SALAMANCA, M. 1996. Geocronología de sedimentos marinos de la zona de fiordos de la XI Región. Resultados Crucero CIMAR-FIORDO 1. CONA. 64-68.
- SHOA. 1988 *Derrotero de la costa de Chile*. Vol. I. De Arica a Canal Chacao. 7th Ed. I.H.A. Pub. 3001.

TABLE I. Summary of quality control data.

TABLA I. Resumen del control de calidad de los datos.

Element	^a Found ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Certified CASS-3 ($\mu\text{g l}^{-1}$)	^b Accuracy (%)	^c Precision (%)
Cu	0.530	0.517	2.5	3.9
Pb	0.013	0.012	6.3	5.7
Zn	1.247	1.240	0.5	6.7

^aMean value of 12 measurements

^bPercentage deviation away from certified value of CASS-3

^cRelative standard deviation of CASS-3 analysis (n=12)

TABLE II. Total suspended solids and average* seawater trace metal concentrations along the coastal zone of San Jorge Bay, Antofagasta area.

TABLA II. Concentración de sólidos totales suspendidos y contenido promedio* de metales en traza en agua de mar, a lo largo de la zona costera

Location	TSS (mg l^{-1})		Dissolved ($\mu\text{g l}^{-1}$)						Particulate ($\mu\text{g g}^{-1}$)					
	c.v		Cu	cv	Pb	cv	Zn	cv	Cu	cv	Pb	cv	Zn	cv
El Lenguado (1)	15.7	25.7	0.97	12.7	0.019	29.5	1.78	22.01	126.8	41.0	14.2	102.3	149.7	31.28
Murallones (2)	15.9	20.3	1.12	6.8	0.020	57.7	1.74	31.03	173.0	42.0	9.8	111.5	177.9	73.32
Universidad de Antofagasta (3)	16.3	30.2	1.16	19.8	0.029	73.0	1.92	35.17	153.3	53.0	31.2	94.0	346.2	95.18
Puerto Antofagasta (4)	15.8	27.0	1.21	15.1	0.017	21.1	1.88	19.87	152.8	60.0	16.0	36.0	343.4	88.56
Descarga Industrial (5)	17.2	18.1	1.65	42.4	0.020	29.0	2.00	10.49	467.2	40.3	33.8	48.8	403.5	50.88
Las Rocas (6)	16.8	20.6	1.12	16.7	0.019	21.1	1.96	14.73	161.4	46.3	18.6	32.0	208.3	45.11
Los Metales (7)	16.4	31.7	1.14	29.0	0.018	22.2	1.70	46.49	152.5	31.7	7.0	86.6	179.4	53.70

*Calculated as the average value of June, October and December 1996 sampling.

Numbers in parenthesis indicate the location of sampling stations, shown in reference map.

TABLE III. Partition coefficients of samples in the study area.

TABLA III. Coeficientes de partición en las muestras del área de estudio.

Location	$K_d\text{Cu}$ ($\times 10^5$)	$K_d\text{Pb}$ ($\times 10^8$)	$K_d\text{Zn}$ ($\times 10^8$)
El Lenguado (1)	1.31	7.62	0.84
Murallones (2)	2.21	4.89	1.02
Universidad de Antofagasta (3)	1.32	10.76	1.80
Puerto Antofagasta (4)	1.26	9.62	1.83
Descarga Industrial (5)	2.83	17.16	2.02
Las Rocas (6)	1.44	9.80	1.06
Los Metales (7)	1.34	3.89	1.05

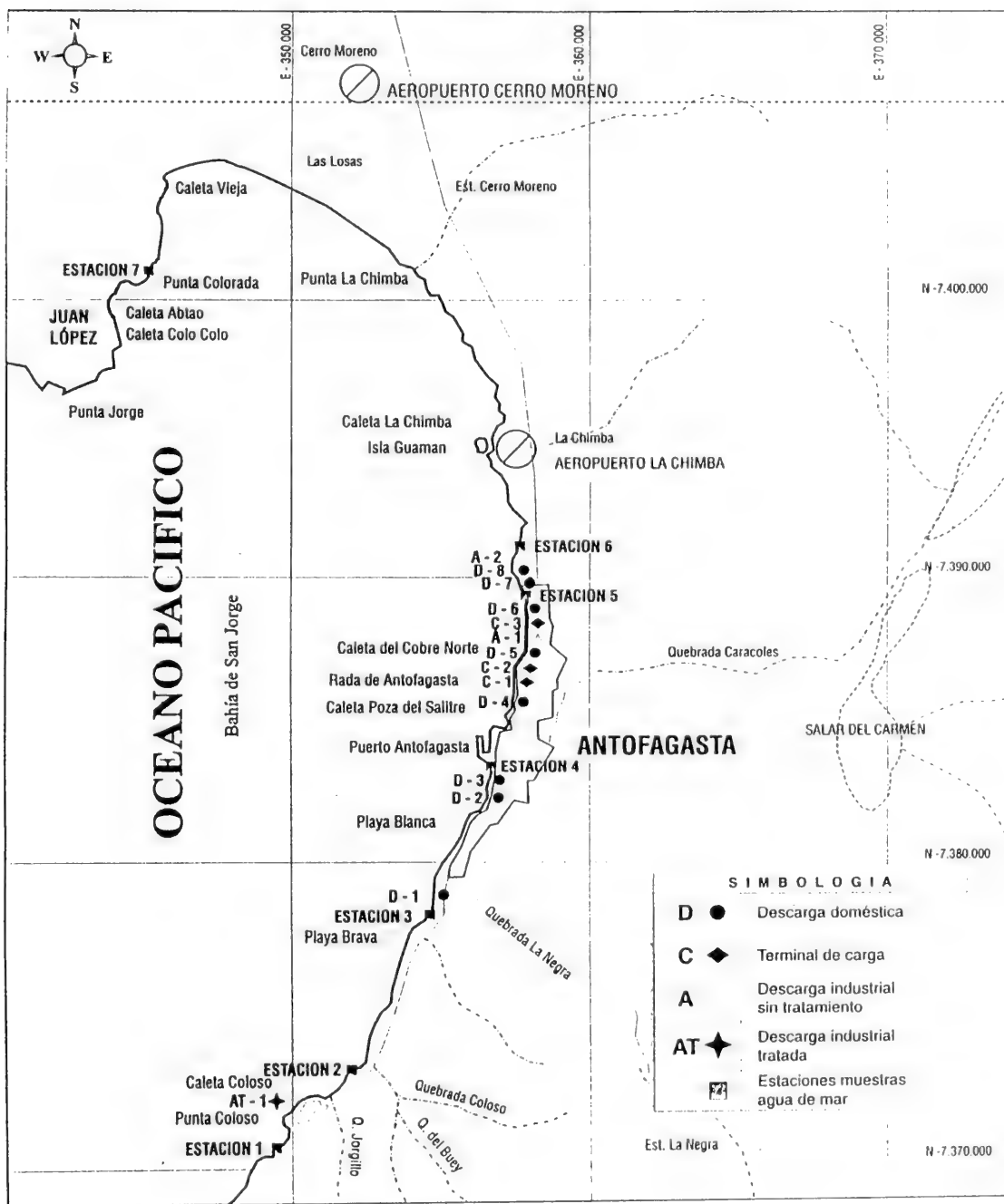
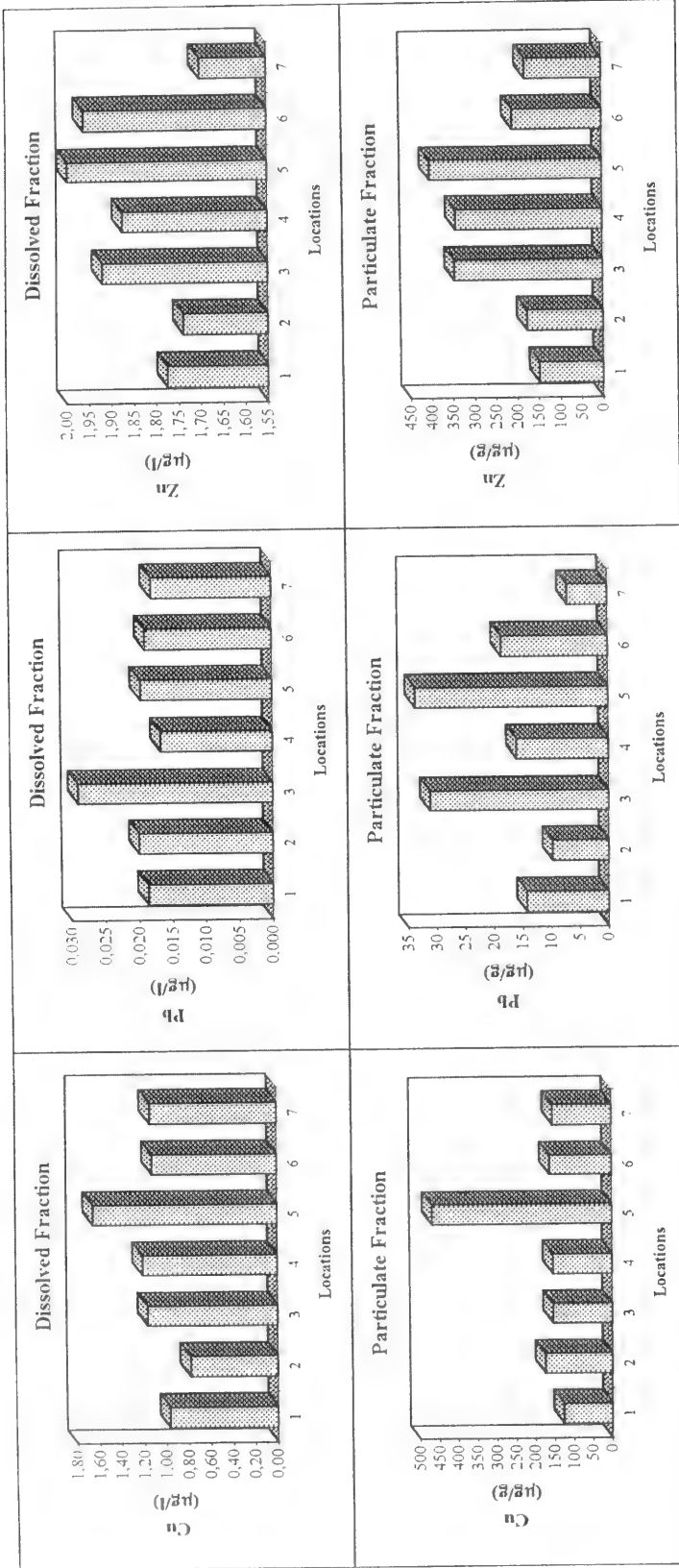


FIGURE 1. Map of the study area, showing the sampling stations and main pollutant discharges to San Jorge Bay coastal waters.

FIGURA 1. Mapa del área de estudio, mostrando las estaciones de muestreo y las principales descargas de contaminantes a las aguas costeras de Bahía San Jorge.



Locations: (1) El Lengua; (2) Murallones; (3) Universidad de Antofagasta; (4) Puerto de Antofagasta; (5) Descarga de P.A.I.; (6) Las Rocas; (7) Los Metales.

FIGURE 2. Dissolved and particulate spatial distribution of Cu, Pb and Zn in San Jorge Bay waters. Sampling station number and its corresponding locations: (1) El Lengua; (2) Murallones; (3) Universidad de Antofagasta; (4) Puerto Antofagasta; (5) Descarga Industrial; (6) Las Rocas and (7) Los Metales.

FIGURA 2. Distribución espacial de Cu, Pb y Zn disueltos y particulado en las aguas de Bahía San Jorge. Estaciones de muestreo y sus correspondientes localidades: (1) El Lengua; (2) Murallones; (3) Universidad de Antofagasta; (4) Puerto Antofagasta; (5) Descarga Industrial; (6) Las Rocas y (7) Los Metales.

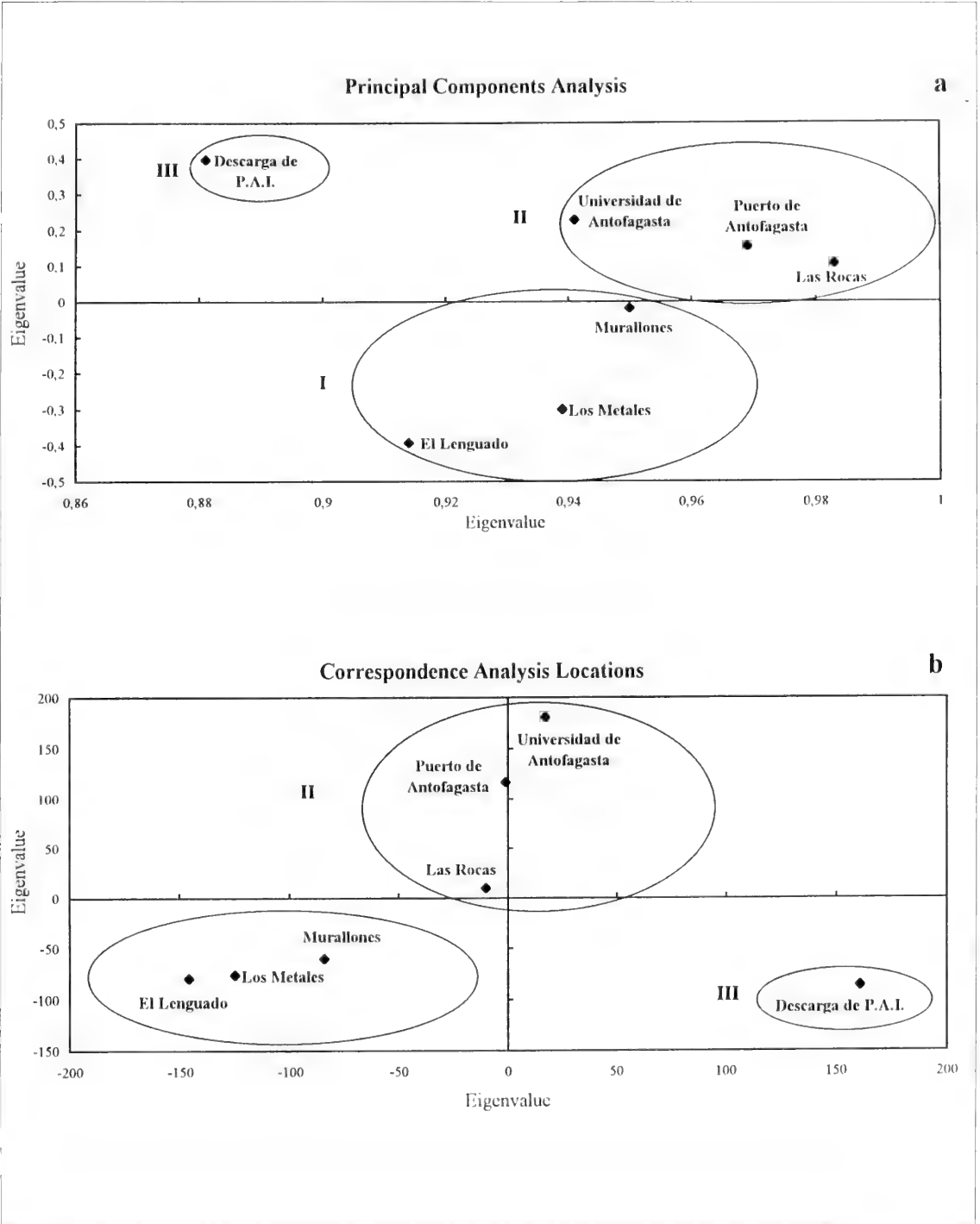


FIGURE 3. Locations groups resulting from multivariate analyses. a) Principal Component Analysis and b) Correspondence Analysis.

FIGURA 3. Grupos de localidades resultantes del análisis multivariado. a) Componentes Principales y b) Análisis de Correspondencia.

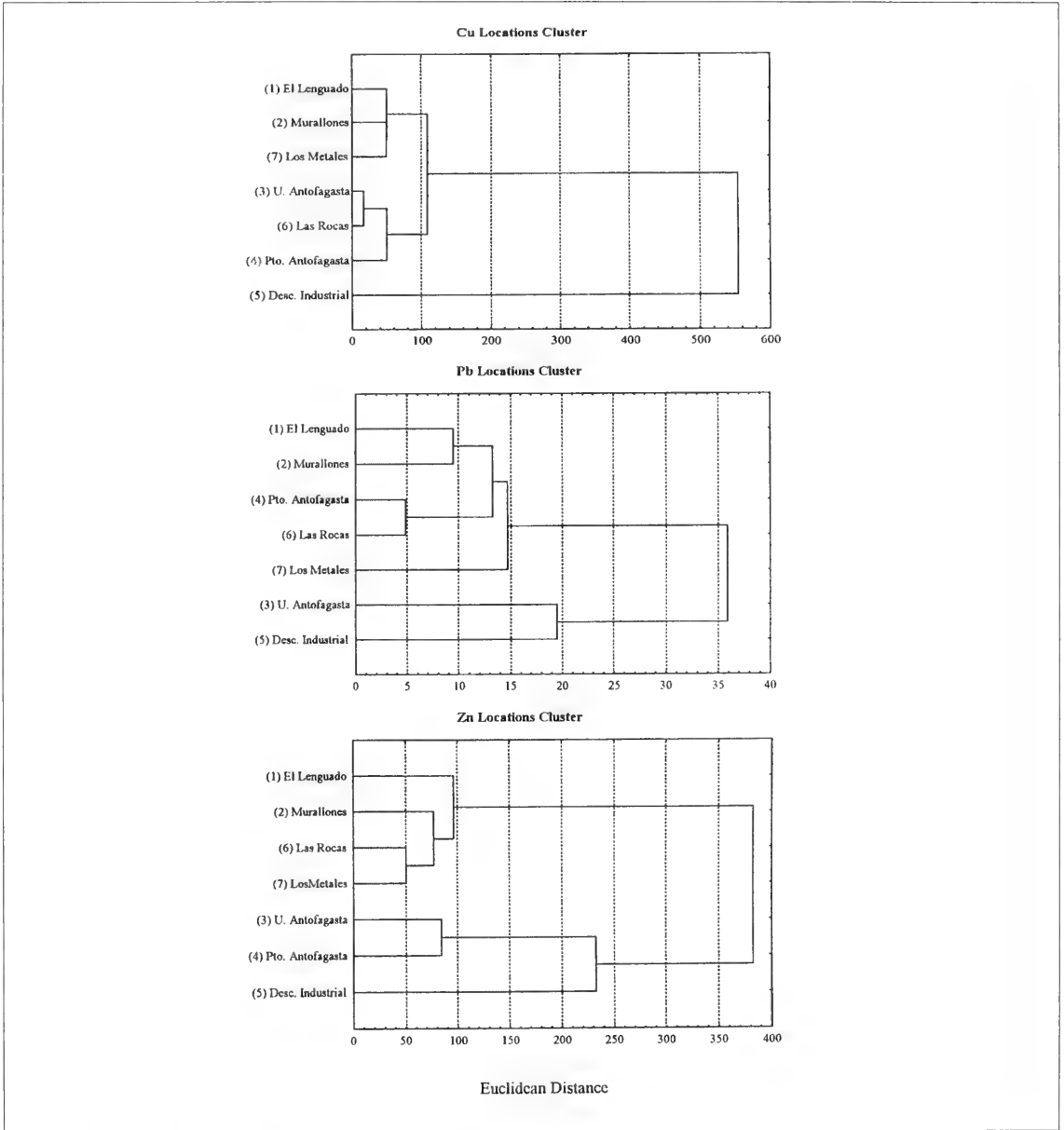


FIGURE 4. Cluster diagram for Cu, Pb and Zn distribution in the coastal waters of San Jorge Bay. Sampling station number and its corresponding locations: (1) El Lenguado; (2) Murallones; (3) Universidad de Antofagasta; (4) Puerto Antofagasta; (5) Descarga Industrial; (6) Las Rocas and (7) Los Metales.

FIGURA 4. Dendrograma de la distribución de Cu, Pb y Zn en las aguas costeras de Bahía San Jorge. estaciones de muestreo y sus correspondientes localidades: (1) El Lenguado; (2) Murallones; (3) Universidad de Antofagasta; (4) Puerto Antofagasta; (5) Descarga Industrial; (6) Las Rocas y (7) Los Metales.

Fecha de recepción: 23.03.2000

Fecha de aceptación: 30.08.2000

REVISIÓN / REVIEW

SISTEMA INMUNE EN PECES

FISH IMMUNE SYSTEM

Susana E. Olabuenaga*

RESUMEN

La función esencial del sistema inmune en todos los vertebrados es la defensa contra las infecciones. Los peces presentan una respuesta inmunológica bien desarrollada e integrada, y en el caso de los Teleósteos, con algunas similitudes respecto a los vertebrados superiores. Puede ser dividido en dos tipos: innato o inespecífico y adquirido o específico, ambos compuestos por una parte humoral y celular. Su importancia puede variar con la edad del pez y está influenciada por distintos factores. Se mencionan aquí sus componentes más relevantes. En los peces existen dos factores que influyen notoriamente la respuesta inmune y la producción de anticuerpos, que son los cambios estacionales y la temperatura. Se describen los principales órganos linfoides, el timo, el riñón y el bazo, así como el proceso ontogénico linfocitario. Si bien se ha avanzado mucho en los últimos años, todavía se necesitan estudios de inmunología básica en las distintas especies que ayuden a caracterizar las poblaciones efectoras y sus mecanismos de acción.

PALABRAS CLAVES: Antígeno, anticuerpo, leucocitos, fagocitosis, linfoquinas, inflamación, inmunoestimulantes.

ABSTRACT

The defence against infections is the essential function of the immune system of all Vertebrates. Fish present an efficient and developed immunologic response and in the case of Teleosts, with some similarities to the higher vertebrates. It can be divided into two types: innate or non specific and acquired or specific, both with a humoral and cellular compartments. Their relative importance can change according to the age of fish and is always under the influence of different factors. The most relevant components are mentioned here. There are two factors in fishes which strongly influence the immune response and antibody production, seasonal changes and temperature. The main lymphoid organs are described here: the thymus, the kidney and the spleen, as well as the lymphocyte ontogenic process. Some advances in knowledge were published during the last years, however it is still necessary to develop new studies in basic immunology in different species to characterize effector cell populations and their functions.

KEYWORDS: Antigen, Antibody, Leukocytes, Phagocytosis, Lymphokines, Inflammation, Immunostimulants.

INTRODUCCION

La función esencial del sistema inmune en todos los vertebrados es la defensa contra las infecciones, este sistema permite la sobrevivencia del individuo y mantener sus funciones corporales en un medio que por naturaleza le es hostil. Los peces son un grupo ampliamente divergente representado aproximada-

mente por 20.000 especies que ocupan distintos habitats. Estudios filogenéticos indicaron una divergencia entre protostomos (anélidos, moluscos, artrópodos) y deuterostomos (equinodermos, tunicados, cordados) que ha tenido lugar alrededor de 500 a 600 millones de años atrás y es a partir de este último grupo que se han desarrollado los peces en distintas direcciones (Jarvik 1980).

Dentro de la línea de los vertebrados se encuentran, en primer lugar, los Elasmobranchios (rayas, tiburones) que presentan inmunoglobulinas y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y luego son seguidos por los Teleósteos que además presentan el sistema complemento y la proteína C reactiva (Marchalonis & Schluter 1994).

*Miembro de la carrera de investigador del CONICET. Cátedra de Ictiopatología, Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue, Quintral 1250, Unidad Postal Universidad Nacional del Comahue, 8400 Bariloche, Río Negro. E-mail: oserra@cab.cnea.gov.ar

La respuesta inmune de los peces en general está bien desarrollada e integrada, y en los Teleósteos es donde se encuentran muchas similitudes funcionales con la respuesta observada en los vertebrados superiores; normalmente funciona con eficiencia, aunque como cualquier otro sistema fisiológico, el sistema inmune de un individuo se ve afectado cuando el estado de salud es deficiente. En términos de una población, cuando las condiciones del medio son adversas, aumentan los riesgos de una infección y se pone en peligro la salud de todo el conjunto de ejemplares. Existen una serie de factores que influyen el desarrollo de una buena respuesta, y en algunas ocasiones la deprimen significativamente. Estos se clasifican en: factores intrínsecos o aquellos inherentes al pez como la edad y el estado sanitario, y los factores extrínsecos, como la temperatura, los cambios de estación y los parámetros abióticos del agua. Dentro de los factores extrínsecos existen una serie de estímulos que actúan sobre un sistema biológico en forma negativa, y que originan luego una reacción subsecuente del mismo y que se conoce con el nombre de stress, el pez posee la capacidad de responder al mismo, e involucra reacciones fisiológicas y de comportamiento, que lo ayudan a adaptarse a una nueva situación. En algunos casos, cuando el stress se prolonga o se hace más severo, puede exceder su capacidad de ajuste, y se produce un colapso del sistema inmune y también de otros sistemas (Ellis 1981a). El efecto supresivo del stress está mediado por hormonas, principalmente corticosteroides (Jeney *et al.* 1992). El cortisol es el principal glucocorticoide que es producido (en la corteza adrenal) en las células interrenales del Pronefros en los peces. Su secreción es aumentada por la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) que es secretada a su vez por la glándula pituitaria y está bajo un control positivo del factor de liberación de corticotrofina (CRF) del hipotálamo. La inhibición del sistema clásico de retroalimentación sobre la secreción de la CRF ocurre cuando aumenta la concentración de cortisol en la sangre. El cortisol es el más común y biológicamente activo de los corticosteroides en peces.

Básicamente, la respuesta inmune es un mecanismo de defensa celular y humoral inducido por un agente extraño, que es el antígeno (Ag), y las células responsables del reconocimiento inicial de un Ag específico en vertebrados superiores pertenecen a las líneas celulares T y B. También son

necesarias células accesorias para el procesamiento y presentación antigénica y mediadores fisiológicos llamados citoquinas para la proliferación, interacción y regulación.

El sistema de defensa de los peces, al igual que en los vertebrados superiores, puede ser dividido en dos tipos de mecanismos: Sistema de Defensa innato, natural o inespecífico y Sistema Inmune adquirido o específico. El primero es el que poseen todos los seres vivos desde el nacimiento, formado por componentes celulares y humorales, y el segundo involucra la producción de anticuerpos a través de un reconocimiento específico del antígeno, y también participan elementos celulares. La importancia relativa de ambos puede variar con la edad del pez y están influenciados por distintos factores. En el caso de los Teleósteos, el sistema defensivo está compuesto de subpoblaciones de leucocitos que incluyen los linfocitos B y T, los granulocitos, los trombocitos, los macrófagos y las células citotóxicas inespecíficas. Para comprender las reacciones inmunes de defensa desarrolladas por los peces contra los diferentes patógenos, se requiere un amplio conocimiento de la biología de los linfocitos.

1. SISTEMA DE DEFENSA INESPECIFICO

1A. FACTORES HUMORALES SOLUBLES

El epitelio intacto y su secreción, el mucus, forman la barrera de defensa primaria entre el pez y su ambiente. El mucus contiene proteínas y carbohidratos y tiene una función protectora previniendo la colonización en su superficie, de parásitos, bacterias y hongos, a través de una continua pérdida y reemplazo (Ourth, 1980). El mucus, además de la mucina, contiene otros componentes secretorios, está compuesto por precipitinas inespecíficas, aglutininas, proteína C-reactiva (CRP) y lisozima, las cuales constituyen una barrera de defensa química primaria (Fletcher 1981). También, internamente, el mucus tapiza las paredes del tracto alimentario, que junto con pH extremos y enzimas proteolíticas, sirven de defensa contra potenciales patógenos (Stoskopf 1993). Muchas de estas funciones de reconocimiento y de regulación son parte de la respuesta en la fase aguda de una infección y es quizás la forma más antigua de reconocimiento de lo no propio y que

se ha conservado en la línea evolutiva. En los peces pueden representar un sistema de reconocimiento primitivo, más que una acción efectora en la destrucción del patógeno.

Luego se encuentran los componentes del suero. Las proteínas de fase aguda son moléculas que aparecen por un período breve durante picos febriles o simplemente aumentan su concentración durante este período en mamíferos. Dentro de las más importantes se incluyen la proteína C reactiva (CRP) y la transferrina.

La CRP, representa un grupo muy primitivo de moléculas de reconocimiento y están involucradas en los mecanismos de defensa. En peces, su concentración tiende a ser uniforme y constante a lo largo de toda la vida. Se ha demostrado que aglutina ciertas bacterias y también presenta especificidad por pequeñas moléculas orgánicas como la fosforilcolina (Volanakis *et al.* 1990). Se ha demostrado su interacción con un número de moléculas del sistema inmune, como el complemento y los receptores Fc de los linfocitos. Tiene un peso molecular de 118.000 y una movilidad electroforética beta. Fue detectada en peces por citometría de flujo en la superficie del 25% de los linfocitos de sangre periférica y en el 4% de los linfocitos del Pronefro (Edagawa *et al.* 1993). Distintos estudios sugieren que aquí, en contraste a lo que ocurre en los mamíferos, estas proteínas son constituyentes normales del suero y su concentración puede estar aumentada después de una infección bacteriana. Se producen en respuesta al stress, manipulación, exposición antigénica, etc. Algunos han concluido que podría servir como indicador de un stress no determinado o de enfermedades que tienen lugar durante estadios tempranos del ciclo de vida del pez (Fletcher *et al.* 1977).

La transferrina es una glicoproteína globular, tipo BI que carece del grupo hemo, pero que puede unirse al hierro, se ha encontrado en el suero de la mayoría de los vertebrados. Cuando no está totalmente saturada presenta propiedades antimicrobianas y por lo tanto juega un rol importante en la patología de muchas infecciones bacterianas, limitando la cantidad de hierro endógeno disponible para los patógenos invasores y por ende, su capacidad de reproducción (Buller *et al.* 1978). En los peces y también en otras especies se ha encontrado que presenta un alto grado de polimorfismo genético. Al igual que en los homeotermos existen distintos genotipos, se han

encontrado 5 en el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) y 3 en la trucha (*O. mykiss*) (Suzumoto *et al.* 1977; Winter *et al.* 1980). Van Muiswinkel *et al.* 1985 demostraron que el tipo de transferrina es heredable. Los distintos fenotipos parecen tener un rol importante en el desarrollo de la resistencia a ciertas enfermedades y se ha demostrado que determinados grupos muestran mayor predisposición a una enfermedad determinada. La explicación sería de que algunos genotipos tienen mayor afinidad por el hierro que otros.

También se encuentra como proteína de fase aguda la α -antiproteasa que es un análogo de la α 2-macroglobulina de los mamíferos, la cual neutraliza la actividad proteolítica de una exotoxina de *Aeromonas salmonicida* en el suero normal de la trucha arco iris y puede estabilizar los lisosomas de macrófagos (Ellis 1981b).

La lisozima es una enzima mucolítica con propiedades antimicrobianas y ha sido detectada en el suero, el mucus y en otros tejidos ricos en leucocitos, como el riñón, el bazo y el intestino, tanto en peces de agua de mar como de agua dulce (Grinde *et al.* 1988; Lie *et al.* 1989). Tiene la capacidad de degradar mucopolisacáridos de la pared celular de bacterias, particularmente las Gram positivas, causando la lisis (Ellis 1990). Se encuentra también en neutrófilos, monocitos y en menor cantidad en macrófagos. El pH óptimo puede variar entre las distintas especies en respuesta a condiciones ambientales (Ellis 1990; Murray & Fletcher 1976). En algunas especies se han informado variaciones del nivel de lisozima según los cambios estacionales o sexuales en las diferentes especies.

Se mencionan a continuación otras sustancias que pueden participar en este sistema inespecífico de defensa según Ingram (1980).

La quitinasa, es una enzima que desdobla la N-acetil-D-glucosamina o quitina por hidrólisis de los enlaces 1,4 glucosamina y que tiene un peso molecular de aproximadamente 30000. Su actividad ha sido detectada en el bazo, el plasma, la linfa y los tejidos linfomiéloides, es posible que tenga una función protectora actuando contra la quitina presente en hongos y parásitos de invertebrados.

Las citoquinas son polipéptidos o glicoproteínas que actúan como moduladores del sistema inmune y en muchas especies de peces al igual que en los vertebrados superiores ha sido informada la

existencia de muchas de ellas como las interleuquinas 1 y 2 (IL-1, IL-2), el interferon (IFN), el factor de activación de los macrófagos (MAF) (Verlurg-van-Kemenade *et al.* 1985; Secombes *et al.* 1996), la IL-3, la IL-6, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y el receptor soluble para IL-2 en el suero de animales infectados con virus o parásitos (Ahne 1994).

Los IFNs constituyen una serie de moléculas importantes como agentes antivirales (Dorson *et al.* 1975; Graham & Secombes 1990a), son glicoproteínas producidas por macrófagos, linfocitos, fibroblastos y células natural killer (NK) en respuesta a una infección viral, una estimulación inmune o una variedad de estimuladores químicos. Han sido identificados en muchas especies de peces. Su producción, al igual que en mamíferos, ha sido demostrada por estimulación tanto *in vivo* como *in vitro* con virus (De Serra *et al.* 1975; Dorson *et al.* 1992; Rogel-Gaillard *et al.* 1993) o con activadores sintéticos (Eaton *et al.* 1990; Tangelsen *et al.* 1991) o con mitógenos (Graham *et al.* 1990b). La mayoría de los estudios sugieren que el IFN es especie específico pero no virus específico (Gordon *et al.* 1981; Johnson *et al.* 1994). Se ha encontrado IFN que se asemeja al tipo I de los vertebrados superiores o sea al alfa y al beta y también al tipo II o gamma (Secombes 1991); en los últimos años se han secuenciado genes de otras citoquinas en peces, que incluyen el factor de transformación del crecimiento beta (TGF β), la IL-1 β , el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y algunas quimoquinas y por estudios de hibridación se han encontrado los genes de citoquinas como el IFN y la eritropoyetina (Secombes *et al.* 1999).

Estos estudios representan un avance importante, confirman los datos biológicos encontrados inicialmente y permitirán ampliar las investigaciones realizadas hasta el momento, la existencia de estas citoquinas indicaría un origen muy temprano en la evolución y que además este sistema de comunicación intercelular se ha conservado a lo largo de millones de años.

Las aglutininas están presentes en el suero y actúan contra una variedad de microorganismos y glóbulos rojos heterólogos. Como muchos tipos de microorganismos comparten especificidades serológicas con glóbulos rojos de vertebrados, pueden ser "protectoras", aglutinando bacterias o virus y promoviendo su fagocitosis (Roberson 1990).

El sistema del complemento (C) juega un rol importante en la inmunidad humoral y también en la celular contra diferentes patógenos y en el proceso inflamatorio (Ingram 1990; Yano 1992). Está constituido por al menos unas veinte proteínas plasmáticas sintetizadas principalmente como precursores inactivos (pro-enzimas) que funcionan como enzimas o como proteínas que se van uniendo cuando son activadas por la introducción y/o presencia de ciertas sustancias en el plasma de sangre normal. Muchas de estas proteínas son sintetizadas en el hígado y en el epitelio intestinal, mientras que otras se originan en los macrófagos (Tyzard 1992). La estimulación del sistema complemento desencadena reacciones bioquímicas, que son acompañadas por la generación de numerosos mediadores biológicamente activos en la inflamación. Actúan secuencialmente en la lisis de una célula blanco, participando en la muerte y eliminación de antígenos celulares, usualmente bacterias y también en la activación de muchas respuestas inespecíficas de defensa asociadas con la inflamación. Puede ser activado a través de dos vías, la clásica o dependiente de anticuerpo y la alternativa o de la Properdina ó independiente de anticuerpo. Se ha descrito la presencia del sistema complemento en el mucus de la piel, actuando así como primera barrera de defensa, mediante la activación de alguna de las dos vías (Lambris 1993; Sakai 1992a). El sistema del C en mamíferos consiste en aproximadamente 12 componentes, denominados a partir del C1 al C9 y los factores B, D y la Properdina y otros factores que regulan su actividad. La activación de la vía clásica se inicia por la interacción entre el componente C1 y el complejo antígeno-anticuerpo y la de la vía alterna a través del componente C3 activado por diferentes sustancias como lipopolisacáridos, zymosan y otros. Este sistema existe en peces teleosteos, en forma comparable al que existe en mamíferos. A la fecha se ha demostrado la presencia de ambas vías en distintas especies, como la trucha arco iris (*O. mykiss*), la carpa (*Cyprinus carpio*), la tilapia (*Tilapia nilotica*) y el bagre (*Ictalurus punctatus*) (Nonaka *et al.* 1981; Matsuyama *et al.* 1988a, b; Lobb & Hayman 1989).

1B. MEDIADO POR CÉLULAS

En cuanto a la parte celular inespecífica, se encuentran las células NK o células citotóxicas inespecíficas y las células fagocíticas.

Las células NK juegan un rol similar al de los vertebrados superiores, o sea ejercen una citotoxicidad inespecífica de diferentes células blanco sin un previo reconocimiento. Se ha postulado que estas células pueden ser las progenitoras en la línea evolutiva de las NK de los mamíferos (Evans *et al.* 1984). En los peces teleósteos se han encontrado células NK en el riñón cefálico o pronefros, el bazo, la sangre periférica y el timo, y efectúan la lisis de células blanco humanas, de ratón y de estos mismos peces; se ha descrito su presencia en distintas especies (Greenlee *et al.* 1991; Graves *et al.* 1985), la citólisis requiere el contacto célula a célula, son células no adherentes y resistentes a la irradiación. Representan menos del 1% de los leucocitos de sangre periférica. En elasmobranquios la célula efectora sería un monocito/macrófago y en los peces óseos, células linfoides agranulares (Moody *et al.* 1985).

En cuanto a las células fagocíticas, primero se puede decir que la fagocitosis es un mecanismo celular de ingestión y digestión de material extraño particulado, y es probablemente la reacción de defensa más ampliamente distribuida tanto en vertebrados como en invertebrados, y segundo que en teleósteos han sido descritas diferentes células con capacidad fagocítica (Mac Arthur & Fletcher 1985; Finn 1970). Las más comunes en los peces al igual que en los mamíferos son los granulocitos y los fagocitos mononucleares o agranulocitos, de los cuales estos últimos son los más importantes. Dentro de estos dos grupos se encuentran a su vez distintas categorías: a) los granulocitos, incluyen los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos y b) los monocitos-macrófagos (Ellis 1977; Rowley *et al.* 1988). a) granulocitos: la mayoría de éstos son móviles y fagocíticamente activos, su citoplasma contiene gránulos lisosomales, vacuolas, mitocondrias y otras organelas. Se encuentran en distintas proporciones en la sangre, dependiendo de las especies, pero las más comunes son los neutrófilos y los eosinófilos, mientras que los basófilos no están presentes en la mayoría de las especies. Los neutrófilos, constituyen 4.5 a 18% de los leucocitos de la sangre, con un rango amplio entre las distintas especies. Se los llama también polimorfonucleares o leucocitos específicos. El citoplasma contiene numerosos gránulos, son pobremente fagocíticos, en el sentido que ingieren poco material extraño, pero poseen la mayoría de las enzimas presentes

en los mamíferos y por lo tanto su rol primario sería la lisis extracelular por secreción de estas enzimas y otras sustancias antimicrobianas. Pueden producir severos daños tisulares por liberación de los radicales libres del oxígeno (Tyzard 1992). Los eosinófilos contienen gránulos citoplásmicos que se tiñen con los colorantes ácidos. En la mayoría de los peces teleósteos son escasos o ausentes en la circulación. Algunos están presentes en el peritoneo y tejidos. En los elasmobranquios se encuentran distintos grados de eosinofilia con diferencias de tamaño y estructura. En algunas especies son abundantes en el intestino, lo cual indicaría alguna función en la inmunidad contra bacterias. Los basófilos contienen gránulos en el citoplasma que se tiñen con los colorantes básicos y su presencia es escasa y rara en la sangre periférica de la mayoría de las especies estudiadas. b) Monocitos-macrófagos: Los monocitos son móviles, fagocíticos y normalmente de mayor tamaño que otros leucocitos. Tienen un citoplasma vacuolado y basofílico. Se han encontrado en sangre y riñón y su presencia ha sido demostrada sólo en algunas especies. Los macrófagos son células fagocíticamente activas derivadas de los monocitos que se encuentran en tejidos y en las cavidades peritoneal y pericárdica, de mayor tamaño que los anteriores, y por esta razón pueden fagocitar partículas más grandes. En teleósteos los macrófagos son especialmente abundantes en el bazo y en el tejido linfomieloideo renal y puede haber en otros tejidos, por ejemplo la mucosa olfatoria.

En este proceso de ingestión el antígeno es capturado inicialmente por los macrófagos presentes en las branquias y los tejidos conectivos de la piel e intestino, en el individuo adulto los principales sitios fagocíticos son los órganos linfoides, el riñón, el bazo y el epicardio; en el riñón el material es inicialmente fagocitado por la trama celular reticuloendotelial dentro del parénquima hemopoyético, mientras que en el bazo, el antígeno es atrapado extracelularmente en las fibras reticulares en la pared elipsoide (Fergusson 1989). Los macrófagos conteniendo material fagocitado se agregan en áreas linfoides muchas veces en presencia de melanomacrófagos, que son células fagocíticas que han transformado en melanina el material fagocitado.

Los fagocitos son afectados por transmisores

nerviosos adrenérgicos y colinérgicos, que aumentan su habilidad para producir las especies reactivas del oxígeno, que participan en el proceso fagocítico (Lambris 1993), produciéndose un aumento de anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo (Graves *et al.* 1985).

2. SISTEMA INMUNE ESPECIFICO

2A. INMUNIDAD HUMORAL

Está representada por los anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Igs) que son glicoproteínas, en el suero 40-50% de la proteína total corresponde a las Igs. En los ciclóstomos, los anticuerpos que se encuentran son macroglobulinas de 23.8S y en lampreas, encontramos 3 tipos de anticuerpos, de 14S, 9S y 7S (Tizard 1992), esta última molécula con cadenas livianas y pesadas, pero sin puentes disulfuro intercatenarios.

La única Ig presente en los peces óseos y cartilagosos es de la clase "IgM like", en teleósteos se presenta en forma de tetrámero con dos cadenas livianas y dos pesadas con un peso molecular aproximado de 700 y un coeficiente de sedimentación de 17 S, también hay formas monoméricas en el suero (Castillo *et al.* 1993; Killie *et al.* 1991; Koumans-van Diepen *et al.* 1994; Miller *et al.* 1985). Han sido descritos péptidos homólogos a la cadena J en peces (Tyzard 1992), en los elasmobranquios se presenta en forma pentamérica (19S) y de aproximadamente 900 kDa y también monomérica (7S) y de aproximadamente 160 kDa (Fange 1992).

Los genes de las Igs están organizados esencialmente de la misma forma que en los vertebrados (Marchalonis 1989). Las paredes de los vasos sanguíneos son permeables a las Igs del suero y por ello se las encuentra en la mayoría de los fluidos tisulares, en el plasma, la linfa y el mucus epitelial (Stoskopf 1993). En los peces óseos se encuentra la IgM dimérica en el mucus y se supone que es sintetizada localmente.

Las células productoras de anticuerpo derivan de linfocitos B, los cuales por interacción con el antígeno se transforman en células plasmáticas. En el proceso de presentación antigénica colaboran los macrófagos. Las células plasmáticas han sido detectadas en distintos grupos de peces, incluyendo

los ciclóstomos, aunque en éstos se considera que tienen propiedades intermedias entre las Igs de los vertebrados y las lectinas de los invertebrados (Fange 1992). Tienen un citoplasma basófilo, por lo común no granular y se las encuentra en el tejido conectivo, bazo, riñón y raramente en la sangre. Se originan de células B activadas por el Ag y son consideradas como las principales productoras de Igs (Fange 1992).

La naturaleza del Ag ha tenido influencia en la respuesta de los Acs y es de fundamental importancia en la investigación inmunológica y también en la producción de vacunas. Es esencial que la molécula sea reconocida como extraña para estimular el sistema inmune, y además para ser procesado existen restricciones físicas y químicas. Los antígenos más efectivos son aquéllos de alto peso molecular, con una estabilidad estructural y que sean moléculas químicamente complejas y no inertes. En general, los complejos virales y bacterianos y los antígenos tipo eritrocito parecen ser inmunógenos efectivos en la mayoría de las especies de teleósteos, mientras que las proteínas solubles son poco inmunogénicas (Tizard 1992).

En las distintas especies de poiquiloterms existen dos factores que influyen notoriamente la producción de anticuerpos y la respuesta inmune, ellos son los cambios estacionales y la temperatura. En los peces tanto la respuesta humoral como la celular dependen de estos factores.

En cuanto a la temperatura, Ellis (1988a) define que el rango óptimo para su desarrollo está relacionado con las condiciones del medio ambiente natural para las distintas especies. En general, cuanto más alta es la temperatura dentro del rango fisiológico normal, más corta es la fase de inducción y más alta es la magnitud de la respuesta inmune; a bajas temperaturas la fase de inducción se prolonga con una reducción en el título de anticuerpos o en su defecto hay una ausencia completa de la respuesta.

Avtalion (1981) indicó que siempre que la temperatura de inmunización y el período posterior se mantenga por sobre el nivel crítico, la producción de anticuerpos durante la respuesta primaria y secundaria será absolutamente normal, constante e independiente de la temperatura del medio ambiente. Por otro lado, la temperatura afecta el crecimiento de la cría y las bajas temperaturas prolongarán el período requerido por el pez para alcanzar el estado de desarrollo crítico en el cual se hace inmuno-

lógicamente competente. Con respecto a los cambios estacionales, se ha demostrado en la trucha arco iris (*O. mykiss*), que la producción de anticuerpos, así como su estabilidad frente a los cambios de temperatura, la movilidad electroforética y los coeficientes de sedimentación dependían de las estaciones, algunos autores han informado que en los poiquiloterms existe una respuesta pobre durante el período invernal en comparación con el verano, aun cuando la temperatura permanezca constante (Ellis 1981a).

La edad a la cual tiene lugar un montaje adecuado y maduro de la respuesta humoral varía según las distintas especies y depende también de las condiciones ambientales. En general una respuesta completa ocurre entre los 2 a 10 meses, después de la incubación. Se han encontrado anticuerpos circulantes en peces de 15-21 días y 0.15-0.3 g de peso, pero esto no es lo más general, en la práctica ocurre recién en ejemplares de mayor peso y tamaño (Ellis 1988b).

Se ha demostrado, al igual que lo descrito para mamíferos, la respuesta clásica primaria y secundaria de producción de anticuerpos. La fase de inducción es habitualmente más larga y con títulos que aumentan en forma más lenta (Ellis 1989). Los neurotransmisores pueden influenciar significativamente la inducción *in vitro* de células secretoras de anticuerpos en cultivos de leucocitos en el bazo de trucha. Los agonistas β adrenérgicos suprimen la respuesta de anticuerpos contra antígenos T independientes mientras que los α -2 adrenérgicos y colinérgicos la aumentan (Flory 1990).

Como en los mamíferos, ocurre tolerancia en los peces y esto puede tener lugar antes de que se hagan inmunológicamente competentes. Estudios en *O. mykiss* y *C. carpio* realizados por Ellis (1988b) han demostrado que las células citotóxicas y la producción de anticuerpos contra antígenos T independientes, se desarrollan 4 semanas post-eclosión. La habilidad para establecer una memoria inmunológica y producir anticuerpos contra antígenos T dependientes, se desarrolla 8 semanas post-eclosión (Tatner 1986). Si se inyectan con un Ag T dependiente antes de este tiempo se produce la tolerancia inmunológica.

Los Acs monoclonales han permitido definir la heterogeneidad molecular de las cadenas pesadas y livianas de las Igs en muchas especies como carpa, bagre, trucha arco iris (Rombout *et al.* 1993;

Ainsworth *et al.* 1990; Sánchez & Domínguez 1991) y muchas otras, y han ayudado a entender la cinética de la respuesta humoral primaria y secundaria después del desafío antigénico.

2B. INMUNIDAD MEDIADA POR CÉLULAS

En los peces cartilagosos y óseos encontramos dentro del grupo de los glóbulos blancos, las células no granulocíticas que participan en los mecanismos de inmunidad celular. En este grupo se incluyen los linfocitos, células inmunocompetentes que constituyen la base de las reacciones inmunes. Los linfocitos en el sentido morfológico son células relativamente pequeñas con un núcleo redondo a oval, su tamaño oscila entre 4.5 a 8 μm , son células no fagocíticas y constituyen el 50-80% del total de los leucocitos. La mayoría de los linfocitos son producidos en el pronefros y en el timo. Como fue mencionado más arriba existen dos tipos, los linfocitos B y T. La población de linfocitos T y sus diferentes clones son los responsables de la inmunidad mediada por células. Este aspecto de la respuesta inmune tiene un amplio rango y a su vez recluta otros tipos celulares como son los macrófagos, permitiendo un eficiente montaje de la respuesta. En una estimulación antigénica primaria estos clones se diferencian en distintos tipos celulares con funciones específicas. Estos incluyen, las células citotóxicas o "killer", capaces de lisar células extrañas por contacto físico directo entre la célula T y la célula blanco; las células supresoras que regulan la producción de anticuerpos y de linfoquinas proporcionando un cierre al proceso y las células colaboradoras o "helper", que ayudan a las células productoras de anticuerpos y también liberan ante la estimulación antigénica factores solubles o linfoquinas que aumentan la capacidad de defensa.

En la actualidad, se dispone de una batería de anticuerpos monoclonales que ha permitido demostrar que existen estos dos tipos de células linfocitarias (las células B y las células T) en varias especies de peces (De Luca *et al.* 1983). Sin embargo, la mayoría de estos anticuerpos están dirigidos contra inmunoglobulinas y células B (portadoras de Igs en su superficie) y sólo unos pocos reconocen las células T periféricas (Scapigliati *et al.* 1999). El desarrollo de éstos y de nuevos Acs permitirá una mejor caracterización fenotípica de los linfocitos y sus diferentes

subpoblaciones celulares, sin embargo hay pocos datos sobre el origen ontogénico y la diferenciación de células linfoides (Castillo *et al.* 1993). Debido a la falta de anticuerpos monoclonales anti T específicos, las respuestas han sido controladas indirectamente y solamente se presume su participación, por ejemplo, en la proliferación inducida por mitógenos como la fitohemaglutinina A (PHA), la concanavalina A (ConA) y el lipopolisacárido (LPS) (Sizemore *et al.* 1984), la respuesta en reacciones de cultivo mixto (Miller *et al.* 1985), la función como células colaboradoras en la producción de Acs contra Acs dependientes de células T (Miller *et al.* 1987; Clem *et al.* 1985), el rechazo a tumores y aloinjertos (Manning 1994) y la secreción de linfoquinas (Secombes *et al.* 1996). La preparación de estos Acs ha definido la distribución en el cuerpo de estas células y su heterogeneidad y ha aumentado la investigación en el área de inmunología y de inmunopatología.

En los ciclóstomos tienen sólo dos poblaciones de leucocitos en su sangre, una tipo monocito y otra tipo linfocito, el 70% de éstos poseen Igs en su superficie, se originan en el riñón anterior y no poseen células plasmáticas.

3. ORGANOS LINFOIDES

Los principales órganos linfoides en peces teleósteos son el timo, el riñón y el bazo (Ellis 1988a; Fergusson 1989).

El timo es un órgano par, bilateral, situado debajo del epitelio faríngeo, dorso lateral y alojado en la parte superior interna de las cámaras branquiales. El principal componente celular es el timocito, o sea linfocitos en maduración. Como en otros vertebrados, se lo considera como un órgano linfoide primario donde se produce el pool de linfocitos vírgenes que luego migran para juntarse con los linfocitos periféricos en la circulación y otros órganos linfoides. No participa en la producción de anticuerpos o en la captura de antígeno. También pueden estar presentes células epitelioides o células tipo macrófago o macrófago propiamente tal y células granulares eosinofílicas (Fergusson 1989). Como en los mamíferos, la involución de este órgano se observa en ejemplares de mayor edad. En salmónidos jóvenes, el timo está totalmente diferenciado y separado del me-

dio externo por una capa de células epiteliales simples, y que por ejemplo en la trucha arco iris (*O. mykiss*) poseen poros de 20 µm de diámetro, en los ejemplares más viejos estos poros se cierran y se engrosa el epitelio. Su localización superficial sugiere una cierta vulnerabilidad a severas infecciones micóticas y bacterianas.

El riñón cefálico o pronefros es el principal órgano hematopoyético de los peces y el principal sitio de diferenciación de eritrocitos, granulocitos, linfocitos B y monocitos. Es el principal órgano productor de anticuerpos (Ellis 1989). Es un órgano de filtración conteniendo macrófagos que fagocitan los diferentes antígenos, contiene componentes linfomieloides, renales y endocrinos suplementados por la sangre de las arterias y de la vena porta caudal. Sirve como un análogo de la médula ósea, de los ganglios y en parte de la glándula adrenal de los vertebrados superiores (Fange 1992). El mesonefros o riñón propiamente tal cumple con funciones de equilibrio hidrosalino.

El bazo contiene menor número de células hemopoyéticas y linfoides en comparación con el riñón y está compuesto principalmente por sangre alojada en cavidades. Está formado por elipsoides, paredes capilares compuestas por una trama de fibras reticulares y macrófagos. Las fibras se especializan en atrapar complejos inmunes y antígenos particulados (Vallejo *et al.* 1992), mientras que los macrófagos son altamente fagocíticos (Ellis 1980). Un rasgo particular del bazo de los teleósteos es la presencia de macrófagos conteniendo pigmentos de color oscuro, principalmente melanina y que se denominan melanomacrófagos. Estos se agrupan y forman agregados llamados centros melanomacrófágicos (CMM). Su número y tamaño aumenta en peces crónicamente enfermos, cuando el catabolismo ha sido excesivo (Fergusson 1989). Sirven como depósito de los productos finales del metabolismo (ej. los fosfolípidos) y también de antígenos y material particulado (Herraez *et al.* 1986), su función exacta no se conoce, pero además de lo mencionado, se sabe que la melanina tiene la habilidad de atrapar los radicales libres de oxidación y eso protegería a los tejidos contra estos productos liberados por las células fagocíticas como son los neutrófilos. Se lo encuentra también en el riñón e hígado y ocasionalmente en las gónadas y la tiroidea (Fergusson 1989).

En cuanto a la ontogenia del sistema inmune se han realizado numerosos estudios para definirla y en base a esto se pueden deducir las siguientes consideraciones. Una descripción histológica completa del desarrollo ontogénico de los órganos linfoides en peces informó que en varias especies la primera aparición de linfocitos ocurriría en el timo (Grace & Manning 1980; Botham & Manning 1981; Doggett & Harris 1987), aunque sin embargo, otros autores encontraron una detección más temprana en el riñón (Grace *et al.* 1981; Ellis 1977; O'Neill 1989). De todos modos, aunque aparecieran células precursoras en el riñón antes de la diferenciación linfocitaria en el timo, los linfocitos maduros están presentes primero en el timo y luego secuencialmente aparecen en el riñón y en el bazo (Zapata *et al.* 1990), por lo cual se considera que el timo es el primer órgano linfoide donde se desarrollan los linfocitos.

Se comparó el tiempo de aparición de los linfocitos en la circulación sanguínea y los órganos linfoides en distintas especies (Ellis 1988a). Después de la diferenciación de un gran número de células en el timo, aparecen linfocitos en la sangre y riñón al mismo tiempo, el riñón se hace luego rico en células linfoides. El tiempo de diferenciación de linfocitos varía con las especies y está probablemente relacionado con la tasa de crecimiento y desarrollo general (Ellis 1988a). Es claro que los linfocitos pequeños maduros aparecen justo antes o después de la eclosión. Durante las primeras semanas después de producida la eclosión, la velocidad de crecimiento de los órganos linfoides es mayor que la del resto del cuerpo, pero posteriormente comienza a disminuir con la edad. Muchos timocitos migran a los órganos periféricos durante los primeros 2-3 meses de este período y se observan signos de involución alrededor de los 9 meses (Ellis 1988a). El desarrollo de los órganos linfoides se correlaciona mejor con el peso del pez que con la edad y por lo tanto, parece ser una función de la velocidad de crecimiento.

Como se mencionó anteriormente, en los ejemplares adultos, los linfocitos periféricos llevan en su superficie ciertos Ags relacionados con la función celular y su presencia se puede usar como marcador para diferenciar células inmaduras de maduras. Con el uso de anticuerpos monoclonales se pudo estudiar la aparición de estos marcadores en las células linfoides (Secombes 1983), se determinó así que, aunque los linfocitos aparecen temprano en el desarrollo, su maduración funcional toma un período

de tiempo más largo antes de que sean capaces de montar una respuesta inmune (Ellis 1988a).

4. RESPUESTA INFLAMATORIA

La respuesta inflamatoria es la característica protectora del tejido en respuesta a un determinado daño y es común a todos los vertebrados, incluyendo los peces (Finn & Nielsen 1971). La inflamación es inespecífica y puede ser iniciada por distintos factores incluyendo parásitos, bacterias o virus y otros agentes como la radiación y toxinas químicas. Los eventos que caracterizan la respuesta inflamatoria son: 1) vasodilatación con un aumento en el flujo sanguíneo y la permeabilidad vascular, 2) exudación del plasma, y 3) migración de leucocitos a los tejidos (Ellis 1989).

Los neutrófilos son las primeras células que migran a los tejidos y se los puede observar con frecuencia en las lesiones inflamatorias (Wolke 1975; Tyzard 1992). Su rol en estas lesiones no es muy relevante, pero ejercen una actividad extracelular liberando enzimas y radicales libres que causan severos daños tisulares.

Los macrófagos mononucleares tienen un importante rol fagocítico, ingiriendo tanto material inerte como antigénico. Los linfocitos están menos asociados con lesiones inflamatorias excepto que esté involucrada una respuesta inmune mediada por células. Si el proceso inflamatorio no es efectivo para neutralizar la causa del daño o si el daño tisular continúa, puede ocurrir un encapsulamiento o enquistamiento en el área, que se acompaña por depósitos de fibras de colágeno, calcio y pigmentación (Fergusson 1989).

5. INMUNOESTIMULANTES

Los inmunoestimulantes son una serie de agentes, naturales y artificiales, que son utilizados para controlar las enfermedades de los peces y son mencionados aquí ya que actúan directamente sobre las células del sistema inmune estimulando su acción efectora. Incluyen agentes químicos sintéticos como el levamisol (Kajita *et al.* 1990; Siwiki *et al.* 1990); sustancias biológicas como derivados bacterianos, como el LPS (Mac Arthur *et al.* 1985; Neumann *et al.* 1995),

el beta glucano (Jorgessen *et al.* 1993; Thompson *et al.* 1995) etc., o polisacáridos, como la quitina (Sakai *et al.* 1992) y oligosacáridos (Yoshida *et al.* 1993); extractos provenientes de animales o plantas (Davis & Hayasaka 1984; Jang *et al.* 1995); factores nutricionales, como las vitaminas C y E (Thompson *et al.* 1993; Wise *et al.* 1993); hormonas, como la prolactina y la hormona de crecimiento (Sakai *et al.* 1996; Kajita *et al.* 1992) y citoquinas como el IFN y la IL-2 (Tamai *et al.* 1993; Tamai *et al.* 1992). Estos son sólo algunos ejemplos representativos de la lista actualmente disponible. Fundamentalmente actúan facilitando la función de las células fagocíticas, aumentando su actividad bactericida, estimulando la actividad de las células natural killer, del sistema complemento, de la lisozima y de la respuesta de anticuerpos. La activación de estas funciones inmunológicas está asociada con un aumento de la protección contra enfermedades infecciosas. Estos agentes son sólo efectivos en algunas enfermedades y además su acción varía con los períodos de tiempo, la dosis, los métodos de administración y la condición fisiológica del pez (Sakai 1999).

CONCLUSIONES

En términos generales se ha descrito que los peces desarrollan una buena respuesta inmunológica, aunque como ya hemos mencionado, la misma está bajo la influencia de distintos factores en especial los del medio ambiente, que modifican fuertemente su desarrollo. El sistema responde y controla los agentes infecciosos que toman contacto con el huésped y es por ello que el conocimiento del mismo es básico para el desarrollo de programas de control de las enfermedades. Se ha avanzado mucho en los últimos años, aunque todavía se necesita realizar estudios de inmunología básica en las distintas especies. Por ello es importante ser muy cauto cuando se comparan las observaciones realizadas en algunas especies de peces con las efectuadas en mamíferos, y de igual manera dentro de una especie a otra de pez. A excepción de los peces teleósteos, la información encontrada en los distintos grupos es todavía escasa, y por lo tanto resulta insuficiente al momento de emitir conclusiones.

El estudio de las enfermedades de los peces se ha incrementado notablemente en los últimos 40 años, recibiendo cada vez más atención, y esto ha

sido principalmente por el gran desarrollo de la acuicultura. El cultivo de peces es una gran industria, siendo muy variadas las especies que se cultivan y la producción en el mundo entero aumenta cada año. Este aumento afecta en forma adversa la salud de los peces, incrementando la susceptibilidad a distintas infecciones. Se requiere una información actualizada y métodos rápidos y sensibles de diagnóstico para detectar en forma eficaz las distintas afecciones. En este sentido, los diagnósticos basados en reacciones inmunológicas tienen la particularidad de detectar casos subclínicos en poblaciones de peces aparentemente sanos, permitiendo así la prevención de la transmisión y difusión de las enfermedades. También la obtención de vacunas durante la última década se basó principalmente en el avance del área de la inmunología, y las mismas han sido eficaces en el control de algunas enfermedades. Por último, los inmunoestimulantes aumentan la resistencia a las enfermedades infecciosas, activando los mecanismos de defensa.

Por todo lo expuesto, resulta evidente que a pesar de los grandes avances realizados en los últimos años, se necesita continuar con estudios morfológicos y fisiológicos combinados de las poblaciones efectoras, que permitan resolver algunos interrogantes sobre los mecanismos funcionales básicos y que ayudarán a comprender por qué se establecen los diferentes agentes infecciosos y cómo éstos inducen la patogenicidad.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de revisión fue realizado con fondos del subsidio B037 otorgado por la Universidad Nacional del Comahue. Agradezco a mis colegas del laboratorio de Ictiopatología del Centro Regional Universitario Bariloche por su apoyo y por haberme brindado con generosidad parte del material bibliográfico aquí utilizado. Agradezco muy especialmente al Lic. Oscar Serra por su ayuda en la preparación de este trabajo y su apoyo permanente y a la Dra. María Marta de E. de Bracco por haberme alentado para que escribiera esta revisión.

BIBLIOGRAFIA

AHNE, W. 1994. Evidence for the early appearance of

- interleukins and tumor necrosis factor in the phylogenesis of vertebrates. *Immunol. Today*. 15(3):137.
- AINSWORTH, A.J., C. DEXIANG & T. GREENWAY. 1990. Characterization of monoclonal antibodies to channel catfish, *Ictalurus punctatus*, leukocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 26:81-92.
- AVTALION, R.R. 1981. Environmental control of the immune response in fish. *Critical Reviews in Environmental Control.* 11:163-188.
- BOTHAM, J.W. & M.J. MANNING. 1981. The histogenesis of the lymphoid organs in the carp *Cyprinus carpio* L. and the ontogenetic development of allograft reactivity. *J. Fish Biol.* 19, 403-14.
- BULLER, J.J., J.H. ROGERS & E. GRIFFITHS. 1978. Role of iron in bacterial infections. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 80:1-35.
- CASTILLO, A., C. SÁNCHEZ, J. DOMÍNGUEZ, S.L. KAATARI & A.J. VILLENA. 1993. Ontogeny of IgM and IgM-bearing cells in rainbow trout. *Dev. Comp. Immunol.* 17: 419-424.
- CLEM, L.W., R.C. SIZEMORE, C.F. ELLSAESSER & N.W. MILLER. 1985. Monocytes as accessory cells in fish immune response. *Dev. Comp. Immunol.* 9:803-809.
- DAVIS, J.F. & S.S. HAYASAKA. 1984. The enhancement of resistance of the American eel, *Anguilla rostrata* Le Sueur, to a pathogenic bacterium *Aeromonas hydrophila*, by an extract of the tunicate *Ecteinascidia turbinata*. *J. Fish Dis.* 7:311-316.
- DE LUCA, D., M. WILSON & G.W. WARR. 1983. Lymphocyte heterogeneity in the trout, *Salmo gairdnerii*, defined with monoclonal antibodies to IgM. *Eur. J. Immunol.* 13:546-551.
- DE SERRA, J. & G.J. RÍO. 1975. Partial purification and characterization of RTG-2 fish cell interferon. *Infect. Imm.* 11:815-822.
- DOGGETT, T.A. & J.E. HARRIS. 1987. The ontogeny of gut-associated lymphoid tissue in *Oreochromis mossambicus*. *J. Fish Biol.* 31:23-27.
- DORSON, M., A. BARDE & P. DE KINKELIN. 1975. Egtved virus induced rainbow trout serum interferon: Some physicochemical properties. *Ann. Microbiol. Inst. Pasteur.* 126:485-489.
- DORSON, M., P. DE KINKELIN & C. TORCHY. 1992. Interferon synthesis in rainbow trout fry following infection with infectious pancreatic necrosis virus. *Fish Shellfish Immunol.* 2:311-313.
- EATON, W.D. 1990. Antiviral activity in four species of salmonids following exposure to polyinosinic: cytidylic acid. *Dis. Aquat. Org.* 9:193-198.
- EDAGAWA, T., M. MURATA, M. HATTORI, M. ONUMA & H. KODAMA. 1993. Cell surface C-reactive protein of rainbow trout lymphocytes. *Dev. Comp. Immunol.* 17:119-127.
- ELLIS, A.E. 1977. The leucocytes of fish: A review. *J. Fish. Biol.* 11:435-491.
- ELLIS, A.E. 1980. Antigen trapping in the spleen and kidney of the plaice, *Pleuronectes platessa*. *J. Fish Dis.* 3:413-26.
- ELLIS, A.E. 1981a. Stress and the modulation of defence mechanisms in fish. *In: PICKERING, A.D. (Ed.). Stress & Fish.* Acad Press, London. 147-169.
- ELLIS, A.E. 1981b. Non-specific defense mechanisms in fish and their role in disease processes. *Dev. Biol. Stand.* 49:337-352.
- ELLIS, A.E. 1988a. Ontogeny of the immune system in teleost fish. *In: ELLIS, A.E. (Ed.). Fish Vaccination*, Acad. Press London. 20-31.
- ELLIS, A.E. 1988b. Optimizing factors for fish vaccination. *In: ELLIS, A.E. (Ed.). Fish Vaccination*, Acad. Press London. 32-46.
- ELLIS, A.E. 1989. The immunology of teleosts. *In: ROBERTS, R.J. (Ed.). Fish Pathology.* 135-152.
- ELLIS, A.E. 1990. Lysozyme assays. *In: STOLEN, J.S., T.C. FLETCHER, D.P. ANDERSON, B.S. ROBERSON & W.B. VAN MUISWINKEL (Eds.). Techniques in Fish Immunol.* SOS Public N. J. USA. 101-103.
- EVANS, D.E., S.S. GRAVES, D. COBB & D.L. DAWE. 1984. Nonspecific cytotoxic cells in fish (*Ictalurus punctatus*) II. Parameters of target cell lysis and specificity. *Dev. Comp. Immunol.* 8:303-312.
- FANGE, R. 1992. Fish Blood Cells. *In: HOAR, W.S., D.J. RANDALL & A.P. FARRELL (Eds.). Fish Physiology* Acad. Press, Inc USA. XII Parte B:1-50.
- FERGUSON, H.W. 1989. Systemic pathology of fish. A text and atlas of comparative tissue responses in diseases of Teleosts. Iowa State Univ Press/Ames. 64-103.
- FINN, J.P. 1970. The protective mechanisms in diseases of fish. *Vet. Bull. Weybridge.* 40:873-886.
- FINN, J.P. & N.O. NIELSEN. 1971. Inflammatory response in rainbow trout. *J. Fish Biol.* 3:463-478.
- FLETCHER, T.C., A. WHITE & B.A. BALDO. 1977. C-reactive protein-like precipitin and lysozyme in the lumpsucker *Cyclopterus lumpus* L during the breeding season. *Comp. Biochem. Physiol.* 57:353-357.
- FLETCHER, T.C. 1981. Non-antibody molecules and the defence mechanisms of fish. *In: PICKERING, A.D. (Ed.). Stress and Fish*, Acad Press. 171-183.
- FLORY, C.M. 1990. Phylogeny of neuroimmunoregulation: Effects of adrenergic and colinergic agents on the *in vitro* antibody response of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Dev. Comp. Immunol.* 14:283-294.
- GORDON, J. & M.A. MINKS. 1981. The interferon renaissance: Molecular aspects of induction and action. *Microbiol. Rev.* 45:244-51.
- GRAHAM, S. & C.J. SECOMBES. 1990a. Do fish lymphocytes secrete IFN gamma? *J. Fish Biol.* 36:563-573.
- GRAHAM, S. & C.J. SECOMBES. 1990b. Cellular requirements for lymphokine secretion by rainbow trout, *Salmo gairdnerii*, leukocytes. *Dev. Comp. Immunol.* 5:75-83.
- GRACE, M.F. & M.J. MANNING. 1980. Histogenesis of the lymphoid organs in rainbow trout *Salmo gairdnerii* Rich 1836. *Dev. Comp. Immunol.* 4:255-264.
- GRACE, M.F., J.W. BOTHAM & M.J. MANNING. 1981. Ontogeny of lymphoid organ function in fish. *In: SOLOMON, J.B. (Ed.). Aspects of developmental and Comparative Immunology*, Pergamon, Oxford, 1:467-68.

- GRAVES, S.S., D. EVANS & D.L. DAWE. 1985. Antiprotozoan activity of nonspecific cytotoxic cells from the channel catfish. *J. Immunol.* 13:478-85.
- GREENLEE, A.R., R.A. BROWN & S.S. RISTOW. 1991. Nonspecific cytotoxic cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kill YAC-1 targets by both necrotic and apoptotic mechanisms. *Dev. Comp. Immunol.* 15:153-164.
- GRINDE, B., O. LIE, T. POPPE & R. SALTE. 1988. Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture. *Aquaculture.* 18:299-304.
- HERRAEZ, M.P. & A.G. ZAPATA. 1986. Structure and function of the melanomacrophage centres of the goldfish *Carassius auratus*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 12:117-26.
- INGRAM, G.A. 1980. Substances involved in the natural resistance of fish to infection. *J. Fish. Biol.* 16:23-60.
- INGRAM, G.A. 1990. Complement fixation test. *In: STOLEN, J.S., T.C. FLETCHER, D.P. ANDERSON, B.S. ROBERSON & W.B. VAN MUISWINKEL (Eds.). Techniques in Fish Immunol.* SOS Publications N.J. USA. 1:25-44.
- JANG, S.I., M.J. MARSDEN, Y.G. KIM, M.S. CHOI & C.J. SECOMBES. 1995. The effect of glycyrrhizin on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), leucocyte responses. *J. Fish Dis.* 18:307-315.
- JARVIK, E. 1980. Basic structure and evolution of vertebrates. Acad Press, London.
- JENEY, Z., G. JENEY & A.G. MAULE. 1992. Cortisol measurements in fish. *In: STOLEN, J.S., T.C. FLETCHER, D.P. ANDERSON, S.L. KAATARI & A.F. ROWLEY (Eds.). Techniques in Fish Immunol.* SOS Publications, N.J. USA. 2:157-166.
- JOHNSON, A.M., F.W. BAYER, B.E. SZENTLE & M.A. JARPE. 1994. How interferons fight disease?. *Sci. Am.* 270:68-75.
- JORGESEN, J.B., H. LUNDE & B. ROBERTSEN. 1993. Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *L. J. Fish Dis.* 16:313-325.
- KAJITA, Y., M. SAKAI, S. ATSUTA & M. KOBAYASHI. 1990. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout *O. mykiss*. *Fish Pathol.* 25:93-98.
- KAJITA, Y., M. SAKAI, M. KOBAYASHI & H. KAWAUCHI. 1992. Enhancement of non-specific cytotoxic activity of leucocytes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* injected with growth hormone. *Fish Shellfish Immunol.* 2:155-157.
- KILLIE, J.E., S. ESPELID & T. JORGESSEN. 1991. The humoral response in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) against the hapten carrier NIP-KLH; the effect of determinant (NIP) density and the isotype profile of anti-NIP antibodies. *Fish Shellfish Immunol.* 1:33-46.
- KOUMANS-VAN DIEPEN, J.C.E., M.H.M. VAN DE LISDONK, A.J.L. TAVERNE-THELE, B.M. VERBURG-VAN KEMENADE & J.H.W.M. ROMBOUT. 1994. Characterization of immunoglobulin-binding leucocytes in carp (*Cyprinus carpio* L.) *Dev. Comp. Immunol.* 18:45-56.
- LAMBRIS, J.D. 1993. The chemistry, biology and phylogeny of C3 Complement Today. *Complement Profiles.* Karger Basel. 1:16-45.
- LIE, O., O. EVENSEN, A. SORENSEN & E. FROGSADAL. 1989. Study on lysozyme activity in some fish species. *Diseases of Aquatic Organisms.* 6:1-5.
- LOBB, C.J. & J.R. HAYMAN. 1989. Activation of complement by different immunoglobulin heavy chain isotypes of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Mol. Immunol.* 26:457-465.
- MAC ARTHUR, J.I. & T.C. FLETCHER. 1985. Phagocytosis in fish *In: MANNING, M.J. (Ed.). Fish Immunology.* Acad Press NY/London. 29-46.
- MAC ARTHUR, J.I., A.W. THOMPSON & T.C. FLETCHER. 1985. Aspects of leucocyte migration in the plaice *Pleuronectes platessa* L. *J. Fish Biol.* 27:667-676.
- MANNING, M.J. 1994. Fishes *In: TURNER, R.J. (Ed.). Immunology: A Comparative Approach.* Wiley, Chichester, 69-100.
- MARCHALONIS, J.J. & S.F. SCHLUTER. 1989. Evolution of variable and constant domains and joining segments of rearranging immunoglobulins. *FASEB J.* 3:2469-2472.
- MARCHALONIS, J.J. & S.F. SCHLUTER. 1994. Development of an immune system. *In: BECK, G., G.S. HABICHT, E.L. COOPER & J.J. MARCHALONIS (Eds.). Annals of the New York of Acad. of Sci.* 712:1-12.
- MATSUYAMA, H., K. TANAKA, M. NAKAO & T. YANO. 1988a. Characterization of the alternative complement pathway of carp. *Dev. Comp. Immunol.* 12:403-408.
- MATSUYAMA, H., M. NAKAO & T. YANO. 1988b. Compatibilities of antibody and complement among different fish species. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54:1993-1996.
- MILLER, N.W., R.C. SIZEMORE & L.W. CLEM. 1985. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: the cellular requirements for in vitro antibody responses of channel catfish leukocytes. *J. Immunol.* 134:2884-2888.
- MILLER, N.W., J.E. VAN GINKEL, F. ELLSAESSER & L.W. CLEM. 1987. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: identification and separation of functionally distinct subpopulations of channel catfish lymphocytes with monoclonal antibodies. *Dev. Comp. Immunol.* 11:739-748.
- MOODY, C.E., D.V. SERREZE & P.W. RENO. 1985. Nonspecific cytotoxic activity of teleost leukocytes. *Dev. Comp. Immunol.* 9:51-64.
- MURRAY, C.K. & T.C. FLETCHER. 1976. The immunohistochemical localisation of lysozyme in plaice (*Pleuronectes platessa* L.) tissues. *J. Fish Biology* 9:329-334.
- NEUMANN, N.F., M. FAGAN & M. BELOSEVIC. 1995. Macrophage activating factor(s) secreted by mitogen stimulated goldfish kidney synergies with bacterial lipopolysaccharide to induce nitric oxide production in teleost macrophages. *Dev. Comp. Immunol.* 19:475-482.
- NONAKA, M., N. YAMAGUCHI, S. NATSUME-SAKAI & M. TAKAHASHI. 1981. The complement system of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Identification of the serum lytic system homologous to mammalian complement. *J. Immunol.* 126:1489-1494.
- O'NEILL, J.G. 1989. Ontogeny of the lymphoid organs in an antarctic teleost, *Harpagifer antarcticus* (Notothenioidei: Perciformes). *Dev. Comp. Immunol.*

- 13:25-33.
- OURTH, D.D. 1980. Secretory IgM, lysozyme and lymphocytes in the skin mucus of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Dev. Comp. Immunol. 4:65-74.
- ROBERSON, B. Bacterial agglutination. In: Techniques in Fish Immunol. 1990. STOLEN, J.S., T.C. FLETCHER, D.P. ANDERSON, B.S. ROBERSON & W.B. VAN MUISWINKEL (Eds.). SOS Publications, N. Y., USA. 81-86.
- ROGEL-GAILLARD, C., S. CHILMONCZYK & P. DE KINKELIN. 1993. *In vitro* induction of interferon-like activity from rainbow trout leukocytes stimulated by Egtved virus. Fish Shellfish Immunol. 3:383-394.
- ROMBOUT, J.H.W.M., N. TAVERNE, M. VAN-DE-KAMP & A.J. TAVERNE-THIELE. 1993. Differences in mucus and serum immunoglobulin of carp (*Cyprinus carpio* L.). Dev. Comp. Immunol. 17:309-317.
- ROWLEY, A.F., T.C. HUNT, M. PAGE & G. MAINWARING. 1988. Fish. In: Vertebrate Blood Cells. ROWLEY, A.F. & N.A. RATCLIFFE (Eds.). Cambridge Univ Press, Cambridge. 19-127.
- SAKAI, D.K. 1992a. Repertoire of complement in immunological defense mechanism of fish. Annu. Rev. Fish. Dis. 223-247.
- SAKAI, M., H. KAMIYA, S. ISHII, S. ATSUTA & M. KOBAYASHI. 1992b. The immunostimulating effects of chitin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In: SHARIFF, M., R.P. SUBASIGHE & J.R. ARTHUR (Eds.). Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 1:413-417.
- SAKAI, M., M. KOBAYASHI & H. KAWAUCHI. 1996. *In vitro* activation of fish phagocytic cells by GH, prolactin and somatolactin. J. Endocrinol. 151:113-118.
- SAKAI, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture 172:63-92.
- SÁNCHEZ, C. & J. DOMÍNGUEZ. 1991. Trout immunoglobulin populations differing in light chains revealed by monoclonal antibodies. Mol. Immunol. 28, 1271-1277.
- SCAPIGLIATI, G., N. ROMANO & L. ABELLI. 1999. Monoclonal antibodies in fish immunology: identification, ontogeny and activity of T- and B lymphocytes. Aquaculture 172:3-28.
- SECOMBES, C.J., J.J.M. VAN GRONINGEN, W.B. VAN MUISWINKEL & E. EGBERTS. 1983. Ontogeny of the immune system in carp (*Cyprinus carpio* L.). The appearance of antigenic determinants on lymphoid cells detected by mouse anti-carp thymocyte monoclonal antibodies. Dev. Comp. Immunol. 7:455-464.
- SECOMBES, C.J. 1991. The Phylogeny of cytokines. In: The Cytokine Handbook. Acad Press, London. Ch. 19:387-411.
- SECOMBES, C.J. 1993. The effect of stress on the immune responses of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Fish Physiol. Biochem. 12:513-520.
- SECOMBES, C.J., L.J. HARDIE & G. DANIELS. 1996. Cytokines in fish: an up date. Fish Shellfish Immunol. 6:291-304.
- SECOMBES, C.J., J. ZOU, K. LAING, G.D. DANIELS & C. CUNNINGHAM. 1999. Cytokine genes in fish. Aquaculture 172:93-102.
- SIWIKI, A.K., D.P. ANDERSON & O.W. DIXON. 1990. *In vitro* immunostimulation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spleen cells with levamisole. Dev. Comp. Immunol. 14:231-237.
- SIZEMORE, R.G., N.W. MILLER, M.A. CUCHENS, C.J. LOBB & L.W. CLEM. 1984. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: the cellular requirements for *in vitro* mitogenic responses of channel catfish leukocytes. J. Immunol. 133:2920-2924.
- STOSKOPF, M.K. 1993. Immunology. In: W.B. SAUNDERS COMPANY (Ed.). Fish Medicine. Harcourt Brace Jovanovich Inc., Philadelphia, USA. 153.
- SUZUMOTO, B.K., C.B. SCHRECK & D. MCINTYRE. 1977. Relative resistance of three transferrin genotypes of coho salmon (*O. kisutch*) and their hematological responses to bacterial kidney disease. J. Fish Res. Board Can. 34:1-8.
- TAMAI, T., N. SATO, S. KIMURA, S. SHIRATA & H. MURAKAMI. 1992. Cloning and expression of flatfish interleukin 2 gene. In: MURAKAMI, H. ET AL. (Eds.). Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects, Kluwer, Netherlands, 509-514.
- TAMAI, T., S. SHIRATA, T. NOGUCHI, N. SATO, S. KIMURA & H. MURAKAMI. 1993. Cloning and expression of flatfish (*Paralichthys olivaceus*) interferon cDNA. Biochem. Biophys. Act. 1174:182-186.
- TANGELSEN, L.A., G.D. TROBRIDGE & J.C. LEONG. 1991. Characterization of an inducible interferon-like antiviral activity in salmonids. In: Proceedings of the Second International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates. Oregon State Univ. 219-226.
- TATNER, M.F. 1986. The ontogeny of humoral immunity in rainbow trout, *Salmo gairdnerii*. Vet. Immunol. Immunopathol. 12:93-105.
- THOMPSON, I., A. WHITE, T.C. FLETCHER, D.F. HOULIHAN & C.J. SECOMBES. 1993. The effect of stress on the immune responses of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C. Aquaculture 114:1-18.
- THOMPSON, K.D., A. CACHOS & V. INGLIS. 1995. Immunomodulating effects of glucans and oxytetracycline in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, on serum lysozyme and protection. In: SHARIFF, M., R.P. SUBASIGHE & J.R. ARTHUR (Eds.). Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 11:433-439.
- TIZARD, I. 1992. The phylogeny of the immune system. In: Veterinary Immunology an introduction. W.B. SAUNDERS COMPANY (Ed.). Harcourt Brace Jovanovich, Inc. USA. 457-469.
- VALLEJO, A.N., N.W. MILLER & L.W. CEM. 1992. Antigen processing and presentation in teleost immune responses. Ann. Rev. Fish. Dis. 2:73-89.
- VAN MUISWINKEL, W.B., D.P. ANDERSON, C.H.J. LAMERS, E. EGBERTS, J.J.A. VAN LONN & J.P. ISSSEL. 1985. Fish immunology and fish health. Fish Immunology. Acad Press London.
- VERBURG-VAN-KEMENADE, B.M.L., F.A.A. WEYTS, R. DEBETS & G. FLIK. 1995. Carp macrophages and neutrophilic granulocytes secrete an interleukin 1-like factor. Dev. Com. Immunol. 19:59-70.

- VOLANAKIS, E., X. YUANYUAN & K.J. MACON. 1990. *In: Defense Molecules*. MARCHALONIS, J.J. & C.L. REINISCH (Eds.). Wiley-Liss. New York. 161-175.
- WINTER, G.W., C.B. CSHRECK & J.D. MCINTYRE. 1980. Resistance of different stocks and transferrin genotypes of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, and steelhead trout, *Salmo gairdnerii*, to bacterial kidney disease and vibriosis *Fishery Bull.* 77:795-802.
- WISE, D.J., J.R. TOMASSO, T.E. SCHWEDLER, V.S. BLAZER & D.M. GATLIN III. 1993. Effect of vitamin E on the immune responses of channel catfish to *Edwardsiella ictaluri*. *J. Aquat. Anim. Health* 5:183-188.
- WOLKE, R.E. 1975. Pathology of bacterial and fungal diseases affecting fish. *In: Pathology of fishes*. RIBELIN, W.E. & G. MIGAKI (Eds.). The University of Wisconsin Press. 33-37.
- YANO, T. 1992. Assays of hemolytic complement activity. *In: Techniques in fish Immunol.* STOLEN, J.S., T.C. FLETCHER, D.P. ANDERSON, S.L. KAATARI & A.F. ROWLEY (Eds.). SOS Publications USA. 2:131-141.
- YOSHIDA, T., M. SAKAI, T. KITAO, S.M. KHLIL, S. ARAKI, R. SAITOH, T. INENO & V. INGLIS. 1993. Immunomodulatory effects of the fermented products of chicken egg, EF203, on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 109:207-214.
- ZAPATA, A., A. CHIBA & A. VARAS. 1990. Cells and tissues of the immune system of fish. *In: IWAMA, Q. & T. NAKANISHIET (Eds.). The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment.* Acad Press, San Diego. 1-62.

Fecha de recepción: 23.02.2000
Fecha de aceptación: 30.04.2000

ESTUDIOS EN ECOLOGIA DE LARVAS DE MICTOFIDOS (PISCES, MYCTOPHIDAE): UNA PROPUESTA PARA NUEVAS LINEAS DE INVESTIGACION EN LA CORRIENTE DE HUMBOLDT

STUDIES ON THE ECOLOGY OF LARVAL MYCTOPHIDS (PISCES, MYCTOPHIDAE): A PROPOSAL FOR NEW RESEARCH LINES IN THE HUMBOLDT CURRENT

Laura Rodríguez^{1,2} & Leonardo Castro²

RESUMEN

En el presente trabajo se realiza una revisión de algunas características de la biología y ecología de los estadios de desarrollo temprano de la familia Myctophidae que ejemplifican el grado de adaptabilidad de este grupo de peces a ambientes costeros de surgencia y zonas oceánicas adyacentes. El objetivo, sin embargo, no fue el realizar un listado exhaustivo de todos los temas posibles de investigación, sino profundizar en, a) la identificación de aspectos relevantes que puedan ser abordados con metodologías ya existentes en la región y b) mediante la ejemplificación de algunos estudios ya publicados a nivel nacional y regional, estimular investigaciones futuras en el área de la ecología larval en la Corriente de Humboldt. Se abordan principalmente tres áreas: aspectos taxonómicos y sistemáticos, aspectos de ecología poblacional y estrategias reproductivas, y aspectos de ecofisiología de estadios tempranos. Se determinó falta de información y descripción de los estadios tempranos en mictófidios, particularmente de los estadios huevo. Se propone además que podrían existir diferencias genéticas, a nivel interpoblacional en algunas especies de mictófidios con distribución más amplia (e. g. *Triphoturus mexicanus*). Al respecto, el desarrollo de técnicas genético-moleculares se espera conlleven a un aumento en el grado de conocimiento inter e intraespecífico a nivel regional. Respecto a estudios poblacionales, la información existente, aunque escasa en zonas de surgencias, sugiere que algunas

especies de este grupo tendrían la capacidad de variar sus estrategias reproductivas de acuerdo a las condiciones oceanográficas. Se detecta una deficiencia en la información referente a cambios ontogénicos en la distribución espacial, principalmente vertical. Con la incorporación de nuevo equipamiento en muchos centros de investigación en Chile, se espera que estas limitaciones se superen y aumente el interés en esta área de investigación. Finalmente, en relación a aspectos de ecofisiología, se advierte también falta de información incluso en estudios tradicionales (alimentación, migraciones verticales), aunque se observa que algunas áreas temáticas actualmente muy difundidas a nivel internacional (edad y crecimiento mediante lectura de otolitos) y otras más recientes (metabolismo en condiciones de hipoxia) están comenzando a desarrollarse también en larvas de peces de la Corriente de Humboldt.

PALABRAS CLAVES: Ictioplancton, mictófidios, Corriente de Humboldt, áreas de surgencia.

ABSTRACT

This is a review on some biological and ecological characteristics of the early life stages of myctophids that exemplify their adaptations to coastal upwelling zones and oceanic nearby areas. The approach has been, however, not to make an exhaustive list of all possible research subjects but, in a more pragmatic way, a) to identify relevant aspects that can be approached with currently available methods in the region and, b) through examples of studies published nationally and regionally, to stimulate future research in larval ecology in the Humboldt Current. Three major themes were assessed: taxonomy and systematics, population ecology and reproductive strategies and, ecophysiology of the early life stages. Among the former, we detected a lack of information and descriptions, especially on the egg stage. We also

¹Programa Doctorado en Oceanografía, Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

²Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

document how differences occur in widely distributed species at the inter-population level. The development of new molecular techniques are expected to produce an increase in studies about inter- and intraspecific relationships at a regional level. On population biology studies, the relatively scarce information available from upwelling areas suggests that some species have the capacity to modify their reproductive strategies according to the oceanographic conditions, as it has also being documented for invertebrates. However, there is a shortage of information as a result of the lack of adequate sampling techniques to determine efficiently the changes in distribution, in particular in the vertical domain. The purchasing of equipment in several research centers of the region is expected to solve these limitations and to incentive the studies in this research line. Finally, in relation with studies on eco-physiology, we also detected a shortage of information even in very traditional topics such as on feeding and vertical migrations. Interestingly, however, we noticed that some research lines and methods currently very popular in the international literature (age and growth of larval fish utilizing otoliths), are also being utilized for larval fish studies of the Humboldt Current. Even more interesting, some research lines such as metabolisms under hypoxic conditions are being developed primarily in this zone.

KEYWORDS: Ichthyoplankton, myctophids, Humboldt Current, upwelling areas.

INTRODUCCION

Los peces mictófidios forman densas agregaciones en diversas áreas oceánicas y son considerados uno de los grupos más abundantes dentro de los peces mesopelágicos, estimándose biomasa superiores a las 600 mton (Gjøsæter 1984; Hulley 1994; Pakhomov *et al.* 1996; Moser 1996; FAO 1997). A partir de la década de los 60 se han realizado diversos estudios para explorar la posibilidad que los mictófidios pudieran sustentar una pesquería, principalmente en la región del Mar de Arabia (Gjøsæter & Kawaguchi 1980; Gjøsæter 1981). Esos estudios señalan que la pesquería de *Bentosema pterotum* (Alcock 1890) es comercialmente posible en la región del Golfo de Omán y en 1996 se dio inicio a la explotación de esa especie en dicha área (FAO 1997). A pesar del interés que este grupo motivó en esas regiones como un potencial recurso, no son muchos los estudios que abarquen aspectos de su ecología y biología en general y menos aún en sus estadios tempranos de desarrollo.

En aguas chilenas no se han realizado prospecciones enfocadas directamente a la cuanti-

ficación de la abundancia o biomasa de este grupo. Algunos cruceros realizados por el Instituto de Fomento Pesquero de Chile (IFOP) durante los años 1981-1982 en el norte y centro-sur de Chile (18°28'S y 30°30'S respectivamente) (Acuña 1987), así como investigaciones realizadas por Sielfeld *et al.* (1995) también para la zona norte de Chile (18°25'S y 21°47'S) y Lechenbauer (1993), señalan que los mictófidios constituyen un alto porcentaje de las capturas de peces mesopelágicos. Las especies más abundantes en estas regiones están representadas por *Triphoturus mexicanus* (Gilbert 1890), *Hygophum bruuni* Wisner 1971, *Diogenichthys atlanticus* (Täning 1928), *D. laternatus* (Garman 1899), *Lamppanyctus parvicauda* Parr 1931 y *Diaphus hudsoni* Zurbrigg & Scott 1976 (Acuña 1987).

La importancia de los mictófidios en el sistema pelágico marino no sólo está dada por su gran abundancia, sino también por su rol en flujos biogeoquímicos. Ellos presentan una alimentación principalmente zooplanctófaga (Gorelova 1983; Kinzer & Schulz 1985; Pakhomov *et al.* 1996), predando selectivamente sobre algunas especies de copépodos y eufáusidos (Hopkins & Gartner 1992), y una gran capacidad migratoria vertical (Gjøsæter 1981; Willis & Percy 1982; Roe & Badcock 1984), por lo que actúan como una vía de exportación de carbono desde la zona fótica hacia aguas más profundas (Pakhomov *et al.* 1996). También, los mictófidios son presa de una gran diversidad de especies, muchas de las cuales tienen importancia comercial (Acuña 1986; Greer-Walker & Nichols 1993), lo que los convierte en un nexo entre el meso-macroplankton y los predadores tope (Pakhomov *et al.* 1996).

Desde el punto de vista de la ontogenia, el orden Myctophiformes es el más variado entre los teleósteos, dado que las larvas de ningún otro grupo de peces han explorado tan diversas vías evolutivas como éste. Las larvas de mictófidios exhiben diversas formas corporales, tamaños de boca, tractos intestinales que varían en longitud, gran diversidad y patrones en los melanóforos, así como variaciones en largo y forma de las aletas dorsal y pectoral (Moser 1984).

Las investigaciones en ictioplancton que tienen como objetivo principal a los mictófidios son escasas. Las más frecuentes abordan aspectos taxonómicos (e.g. Balbontín & Orellana 1983; Olivar & Palomera 1994; Olivar & Beckley 1995; Moser 1996; Olivar *et al.* 1999; Herrera *et al.* 2000) de distribución (e.g.

Loeb 1979, 1980; Loeb & Rojas 1988; Röpke 1993; Olivar & Palomera 1994; Olivar *et al.* 1999) y crecimiento (e.g. Methot & Kramer 1981; Linkowski 1991; Linkowski *et al.* 1993).

En Chile, los estudios realizados en larvas de peces están enfocados principalmente hacia aquellas especies de importancia comercial (e.g. jurel, anchoveta y sardina). En su mayoría, las larvas de mictófidis son tratadas como fauna asociada, entregándose poca información sobre su recurrencia, relación con variables ambientales u otras características biológicas pese a su gran abundancia y presencia.

En el presente trabajo se presentan algunas características de la biología y ecología de los estadios de desarrollo temprano de la familia Myctophidae, poniendo de manifiesto la importancia de este grupo en el ecosistema pelágico, especialmente en zonas de surgencia costera del Pacífico Suroriental. Tradicionalmente la mayoría de las investigaciones se centran en peces adultos, ignorando las características y patrones ontogenéticos que podrían ser indicadores del grado de adaptabilidad de las especies al medio, debido a que estos estadios son los más sensibles a variaciones ambientales. Consecuentemente, en esta revisión se otorga un mayor énfasis a las características biológicas de los primeros estadios de vida. Del análisis de la información publicada sobre mictófidis en aguas chilenas, queda en evidencia la falta de información básica que de estar disponible, permitiría avanzar rápidamente en las áreas de ecofisiología y dinámica poblacional de este y otros grupos de especies. El enfoque de este trabajo es i) identificar aspectos relevantes en la ecología de las primeras fases de desarrollo que puedan ser abordadas con metodologías ya existentes en la región en estudio y ii) mediante la ejemplificación de algunos procesos y temas ya publicados a nivel nacional e internacional, estimular investigaciones futuras en el área de la ecología larval de organismos marinos.

PRINCIPALES CARACTERISTICAS BIOLOGICAS Y ECOLOGICAS DE LOS MICTOFIDOS

TAXONOMÍA

La familia Myctophidae incluye aproximadamente 230 a 250 especies (Paxton 1972; 1979), agrupadas en 30-32 géneros. Los géneros más

numerosos son *Diaphus* y *Lampanyctus*, los que incluyen un total de 105 especies (Nelson 1994). La familia se divide en dos subfamilias, Myctophinae (14 géneros) y Lampanyctinae (18 géneros), sobre la base de caracteres osteológicos y patrones de distribución de fotóforos.

En aguas chilenas se han citado unas 80 especies de mictófidis (Pequeño 1989, 1997), lo que representa una fracción significativa de las especies existentes. Sin embargo, la información sobre los estadios larvales en esta familia es escasa si se compara esa cifra con el número de especies de mictófidis citadas a lo largo de Chile (Tabla I). Hasta la fecha existe un solo trabajo en el que se describen las primeras etapas de desarrollo de *Hygophum bruni*, una especie abundante en la zona centro-sur de Chile (Balbontín y Orellana 1983), quedando muchas otras especies por citar y describir, principalmente su ontogenia. Es probable además que algunas especies presenten un rango de distribución geográfica mayor a los descritos hasta ahora.

TRIPHOTURUS MEXICANUS (GILBERT 1890): NUEVOS ANTECEDENTES PARA LA "POBLACIÓN SUR"

El género *Triphoturus* (Paxton 1972) está representado por dos especies: *Triphoturus nigrescens* (Brauer 1904) y *Triphoturus mexicanus* (Gilbert 1890). Se ha postulado que *T. mexicanus* presenta dos poblaciones en el Pacífico oriental, una en el hemisferio norte y la otra en el hemisferio sur (Hulley 1986); esta última se extiende hasta aguas del norte de Chile. Inicialmente se consideró la población del hemisferio sur como una especie separada, *Triphoturus oculus* (Garman 1899), de su congénérica *T. mexicanus*. Las principales diferencias entre ambos grupos se relacionan con el número de vértebras y branquiespinas (Brewer 1973; Wisner 1976), y en los patrones de pigmentación larval (Moser & Alhstrom 1970; Alhstrom 1971). Sin embargo, Hulley (1986) concluye que *T. oculus* y *T. mexicanus* no son especies distintas debido a que las diferencias en el número de vértebras pueden ser inducidas por variaciones en el ambiente y el número de espinas branquiales no se correlaciona con alguna diferencia en los fotóforos o estructura del órgano caudal. Las larvas de *T. mexicanus* recolectadas en aguas chilenas no son exactamente iguales a las de la región de California (Moser 1996). Las larvas del

hemisferio sur presentan entre uno a dos melanóforos elongados en la línea lateral del cuerpo a nivel de la aleta anal, similar en forma y posición al melanóforo meso-lateral posterior de *T. nigrescens*. Utilizando la técnica de electroforesis de proteínas Afanas'yev y colaboradores (1990) detectan un significativo nivel de divergencia genética y sugieren que las poblaciones sur y norte difieren subspecificamente pero no son especies diferentes. Recientemente, sin embargo, la secuenciación del gen de citocromo b en larvas de *T. mexicanus* recolectadas frente a Chile y su posterior comparación con secuencias de ejemplares del hemisferio norte, señalan que las diferencias encontradas son consistentes y permitiría validar la hipótesis que el género *Triphoturus* está formado por una tercera especie, y que sería ésta y no *T. mexicanus* la que estaría presente en la Corriente de Humboldt (Herrera *et al.* 2000). Estos resultados son además interesantes porque permiten ejemplificar cómo mediante el estudio de estadios tempranos de desarrollo se pueden dilucidar aspectos de tipo taxonómico no resueltos en adultos.

ABUNDANCIA: AUSENCIA DE HUEVOS DE MICTÓFIDOS, ¿ARTEFACTO DE MUESTREO?

Aunque las larvas de mictófididos constituyen un alto porcentaje de las capturas en muestreos de plancton oceánico y nerítico, no ocurre lo mismo con la fracción huevos en este grupo. En muestreos oceánicos realizados en el Pacífico e Indico, las larvas de mictófididos correspondieron a un 47% del total de larvas de peces recolectadas (Moser & Ahlstrom 1974), y han llegado a porcentajes muy elevados en algunas áreas, hasta un 90%, como ocurre por ejemplo en el sur de Argentina (Ciechowski *et al.* 1981). En Chile, las larvas de mictófididos corresponden entre un 8 y 49% de las capturas. Esto no ocurre con la fracción huevos y en general es escasa la información sobre la presencia, morfología y desarrollo de huevos en las especies de la familia Myctophidae. *Lampanyctodes hectoris* (Günter 1876) es una de las pocas especies cuyos huevos han sido descritos (Robertson 1977). La falta de descripciones de huevos de mictófididos se debe a que éstos son escasamente representados en los muestreos. Los mictófididos son ovíparos y presumiblemente tienen huevos planctónicos. La gran disparidad entre la aparente ausencia de huevos

y una alta abundancia larval puede ser explicada por la desintegración de los huevos durante la captura (Moser 1996). Los huevos identificados como de mictófididos tienen un rango de diámetro entre 0.70 y 0.90 mm, poseen vitelo segmentado, espacio perivitelínico moderadamente grande, una sola gota de aceite (0.1-0.3 mm de diámetro) y un corion rugoso y frágil. Al ser la membrana coriónica frágil, es probable que se rompa durante los arrastres, causando que el embrión se desintegre y pase a través de la red. La desintegración y extrusión de larvas vitelogénicas podría explicar su ausencia en las muestras (Moser 1996). Una hipótesis alternativa sugiere que la ausencia de huevos se debería a que éstos se encontrarían por debajo de los 200 m de profundidad (Yefremenko 1977), nivel alcanzado pocas veces en los muestreos de ictioplancton realizados en Chile (Tabla II). Estrategias de muestreo diferentes a las utilizadas son necesarias para dilucidar esta interrogante.

DISTRIBUCIÓN Y EVIDENCIA DE ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS ALTERNATIVAS

Las mayores abundancias de mictófididos ocurren lejos de la costa (Gruber *et al.* 1982; Acuña 1986), principalmente a lo largo del quiebre de la plataforma (Gjøsaeter 1984; Hulley 1992). En su distribución influyen las características hidrográficas (Badcock 1981), patrones de circulación (Acuña 1987; Sabatés & Masó 1990; Olivar & Palomera 1994) y estacionalidad de la temperatura, nutrientes y producción primaria (May & Blaber 1989). Hulley (1992) propone que la profundidad de la plataforma determinaría la distribución espacial y vertical. Según este autor existiría cierta zonación "plataforma abajo" entre los mictófididos, debido a los efectos combinados de la profundidad y las características oceanográficas de la columna de agua, además de los requerimientos propios de profundidad de cada especie. En otros estudios (e.g. plataforma del NW de Africa) se plantea que las características hidrográficas y los patrones de circulación influirían más que la profundidad (Badcock 1981). May & Blaber (1989) sugieren que el aumento de la biomasa de peces mesopelágicos en la plataforma de Tasmania se debe a ciclos estacionales en temperatura, nutrientes y producción primaria producidos por la interacción de la convergencia subtropical y la Corriente Australiana del Este. En sistemas de surgencia los mictófididos

muestran un patrón de distribución y un patrón reproductivo que varía entre especies y entre poblaciones de la misma especie. En el caso de *Lampanyctodes hectoris*, la más abundante en el sistema de surgencia de Benguela, presenta dos estrategias reproductivas: a) durante las surgencias activas sus huevos y larvas se distribuyen de forma más amplia en la columna de agua que en períodos de relajación (Olivar 1990). Además se ha sugerido que durante las surgencias activas, huevos y larvas se distribuyen a profundidades donde el efecto del transporte de Ekman fuera de la zona de plataforma es menor (Hulley & Prosch 1987; Olivar & Shelton 1993). Alternativamente, b) durante surgencias débiles *L. hectoris* presenta abundancias más bajas y sus huevos y larvas se confinan más superficialmente y próximo a la costa, generalmente en el borde del talud continental (Olivar *et al.* 1992). Otras especies de la región de Benguela, como *Protomyctophum chilensis* (Wisner 1971) y *Symbolophorus boops* (Richardson 1844), no disminuyen sus abundancias durante períodos de surgencia activa o débil, permaneciendo en zonas más alejadas de la costa (Olivar *et al.* 1992; Olivar & Shelton 1993). En Chile, algunos estudios señalan que las larvas de mictófididos son más abundantes en zonas alejadas al quiebre de plataforma (Acuña 1986; Rodríguez & Castro no publ.), mientras que en otros se ha descrito una gran abundancia en zonas costeras (Landaeta *et al.* 2000). En una escala temporal mayor, Loeb y Rojas (1988) determinaron que las larvas de mictófididos en la zona norte de Chile son un grupo dominante, y a través de una serie temporal de 10 años evidenciaron que este grupo presenta menos fluctuaciones en sus abundancias en relación a otros órdenes. En ese estudio la correlación entre las abundancias y variables oceanográficas (temperatura y salinidad) evidenció cierta tendencia positiva (aunque no significativa) para algunas especies (e. g. *D. laternatus*) y negativas para otras (e. g. *L. parvicauda* y *T. mexicanus*). Claramente son necesarios nuevos trabajos que incluyan muestreos a distancias variables de la costa y a distintas profundidades para comprender la dinámica poblacional de las especies de mictófididos presentes a lo largo de la costa, así como para determinar sus estrategias reproductivas en zonas de surgencias.

DISTRIBUCIÓN VERTICAL Y MIGRACIONES

Las variables físicas (e. g. termoclina, oxiclina,

luz y ritmos de marea) condicionan los patrones de distribución vertical y migración en larvas. Sin embargo, el grado en que estos factores afectan la distribución vertical o si es la distribución de sus presas o sus predadores la responsable de esta conducta, no está dilucidado (Fortier & Leggett 1983, 1984; De Lafontaine & Gascon 1989; Neilson & Perry 1990; Fortier & Harris 1989; Röpke 1993). Las larvas de mictófididos se encuentran generalmente en los primeros 200 m de la columna de agua (Ahlstrom 1959; Loeb 1979), aunque su distribución vertical y conducta migratoria pueden variar según el estadio de desarrollo (Nafpaktitis *et al.* 1977; Hulley 1994), estación del año (Clarke 1973), conducta alimentaria (Gorelova 1977) y características específicas; las larvas de la subfamilia Myctophinae tienen una distribución más profunda (entre los 50-75 m) que las de la subfamilia Lampanyctinae (25-50 m) (Loeb 1979; Loeb & Nichols 1984; Moser & Smith 1993). Además, la distribución vertical de las larvas es diferente a la que presentan los juveniles y estadios más avanzados: los adultos de la subfamilia Myctophinae realizan migraciones verticales diarias, mientras que aquéllos de la subfamilia Lampanyctidae habitan a mayores profundidades, pudiendo o no realizar migraciones verticales (Percy *et al.* 1979; Moser & Smith 1993). Si bien se conocen las diferencias en la distribución de los adultos, existen muy pocas evidencias que señalen si las larvas de mictófididos realizan algún tipo de migración diaria en zonas de surgencia. Sameoto (1982) determinó un ritmo diario de migración en larvas de *Diogenichthys laternatus*. Esta especie presentó sus máximas abundancias durante la noche a los 30 m y a los 60 m durante el día frente a las costas de Chimbote, Perú. Tampoco se ha estudiado si distribuciones verticales diferentes tienen alguna consecuencia sobre el crecimiento temprano (e. g. relacionado con la oferta alimentaria y condiciones oceanográficas). Los estudios realizados en Chile no han contemplado hasta el momento un diseño de muestreo en el que se incluyan arrastres estratificados que permitan responder estas interrogantes (Tabla II), las cuales son importantes ya que la distribución vertical de las especies se relaciona con sus características morfológicas y ecológicas, afectando los patrones de crecimiento (Linkowski 1991), nutrición (Gorelova 1977) y otras funciones fisiológicas (Neighbors & Nafpaktitis 1982).

ALIMENTACIÓN: CICLOS DIARIO DE ALIMENTACIÓN

De los diversos estudios realizados sobre la composición específica de la dieta de mictófididos se desprende que este grupo ocupa el nivel trófico terciario dentro del sistema pelágico y son consumidores de segundo orden (Pakhomov *et al.* 1996). Por otro lado, Robison (1984) encontró que *Ceratoscopelus warmingii* (Lütken 1892) puede alimentarse también de fitoplancton. Los mictófididos son zooplanctófagos en su mayoría, siendo los crustáceos el grupo más importante en su dieta. Esta incluye principalmente copépodos calanoídeos, eufáusidos, anfípodos, misidáceos y decápodos (Gorelova 1975, 1977; Kinzer & Schulz 1985; Pakhomov *et al.* 1996). En larvas de algunas especies de mictófididos se han encontrado nauplii de copépodos y copepoditos como principales presas (Sabatés & Saiz 2000). En adultos el espectro de presas puede variar con la hora del día y la profundidad. Se ha descrito que las especies de mictófididos que realizan migraciones verticales se alimentan en superficie durante la noche (Gorelova 1977; Hopkins & Baird 1985; Clarke 1973; Kinzer & Schulz 1985). Sin embargo esta conducta estaría relacionada con especies que ocurren en el océano abierto. En regiones costeras con una alta productividad (e. g. regiones con surgencias) se ha registrado un ciclo diario de alimentación menos marcado, donde las especies se alimentarían de noche y también durante las horas del día (Tyler & Pearcy 1975; Kinzer 1982; Young & Blaber 1986). Se ha afirmado que un gran número de larvas de peces son predadores visuales (Hunter 1984) y por tanto que sus ritmos de alimentación se concentran durante las horas de luz. Sin embargo en larvas de *Hygophum bruuni* capturadas frente a la región central de Chile (32°S-33°S), sólo se encontraron restos de alimento ya digeridos (Balbontín *et al.* 1997) y dado que las muestras fueron recolectadas durante el día, esto podría indicar que las larvas de esta especie predan durante la noche o bien presentan una digestión más rápida. Estudios sobre alimentación en larvas de mictófididos que incluyan muestreos nocturnos determinarían más claramente si existen o no ritmos de alimentación diarios en estas especies en zonas de surgencia costera.

Respecto a la selección de su alimento, algunos autores han propuesto que muestran un comportamiento trófico generalista (e. g. *D. atlanticus*),

presentando una alta diversidad y abundancia de presas (Balbontín *et al.* 1997). Otros estudios han determinado que existe una amplia variabilidad interespecifica en la dieta y en las estrategias de alimentación en larvas de este grupo que estarían relacionadas con una alta diversidad en su morfología que les permitiría optimizar el uso de los recursos y aumentar su probabilidad de sobrevivencia en ambientes oceánicos oligotróficos (Sabatés & Saiz 2000).

CRECIMIENTO LARVAL Y SU RELACIÓN CON LAS MIGRACIONES VERTICALES

Los mictófididos se caracterizan por presentar un crecimiento rápido, madurez sexual temprana, período de desove corto y tasas de mortalidad elevadas (Childress *et al.* 1980; Gjøsæter & Kawaguchi 1980). El crecimiento ocurre principalmente durante los primeros seis meses de vida, y la curva de crecimiento se aproxima rápidamente a una asíntota característica de muchos peces mesopelágicos (Childress *et al.* 1980).

Debido a que los adultos de mictófididos habitan en aguas más profundas y que la mayoría de las especies que conforman este grupo realizan amplias migraciones, su captura y mantenimiento en laboratorio presentan serias dificultades (Linkowski *et al.* 1993). Gjøsæter (1981) y Methot & Kramer (1981) fueron los primeros en contabilizar incrementos en los otolitos de mictófididos. Ellos asumieron una periodicidad diaria de formación, hecho que ha sido corroborado en trabajos posteriores (Young *et al.* 1988). En general los incrementos se forman en respuesta a una periodicidad diaria en la tasa metabólica, afectada por factores externos, e.g. fotoperíodo. Panella (1980) indicó que los peces que realizan migraciones verticales diarias bien definidas presentan incrementos diarios bien marcados en sus otolitos. Esto fue efectivamente demostrado por Linkowski *et al.* (1993) para dos especies del género *Ceratoscopelus* que realizan extensas migraciones, *C. maderensis* (Lowe 1839) y *C. warmingii*. Basado en estos antecedentes, es razonable asumir que la periodicidad de formación de incrementos también ocurriría sobre una base diaria en los mictófididos (Young *et al.* 1988), especialmente en aquellas formas que experimentan amplias migraciones verticales a partir del período temprano de desarrollo.

Los estudios sobre crecimiento en larvas de mictófididos son escasos. Los modelos de crecimiento

varían según la especie considerada, siendo las variables ambientales uno de los factores más importantes en la determinación de las diferencias en crecimiento (Linkowski 1991). De acuerdo con Campana (1984), el proceso de metamorfosis es en sí mismo insuficiente para causar un cambio radical en la estructura del otolito, pero un cambio en la conducta y hábitat, conjuntamente con la metamorfosis, puede producir tal efecto. En mictófididos tal cambio ocurre cuando la larva desciende o cambia a una profundidad donde ocurre la metamorfosis (Badcock & Merrett 1976). Las larvas de mictófididos exhiben diferentes niveles de desarrollo antes de descender a esas profundidades (Loeb 1979). Algunas especies completan su transformación antes de su descenso o incluso pueden realizar largas migraciones antes que ello ocurra. Consecuentemente, podría esperarse cambios en las tasas de depositación en los otolitos asociadas a cambios ontogenéticos en la distribución vertical. Esta primera hipótesis, sin embargo, y al igual que la hipótesis de ritmos de alimentación larval, espera ser puesta a prueba en ambientes de surgencia costera.

AMBIENTES DE SURGENCIA: EFECTO DE LA CAPA MÍNIMA DE OXÍGENO SOBRE LA DISTRIBUCIÓN Y FISIOLÓGIA LARVAL

El oxígeno es considerado como uno de los factores que afecta la distribución de los mictófididos. Algunas especies de mictófididos habitan en regiones con bajas concentraciones de oxígeno (Kinzer *et al.* 1993), otras como en el caso de *D. atlanticus* las evaden (Wisner 1976). Gjøsæter (1984) señala el papel importante que podría tener la zona mínima de oxígeno en la distribución de peces mesopelágicos en el Mar de Arabia. El área de mínima de oxígeno ($<1 \text{ ml l}^{-1}$) del Pacífico este y/o la penetración de aguas cálidas a lo largo de Chile podrían explicar la distribución de algunas especies de mictófididos frente a la costa chilena (Wisner 1976). El Sistema de Corrientes Chile-Perú se caracteriza por una extensa capa de mínimo oxígeno (CMO; $1 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$) muy próxima a la superficie (Antezana 1978; Silva 1983; Morales 1996). Esta característica implica otra fuente de variación en la distribución de los organismos, incluidos los mictófididos (Judkins 1979; Kinzer *et al.* 1993). Según un estudio realizado por Lechenbauer (1993) los juveniles y adultos de *Diogenichthys latematus* pasan más de un 60% del ciclo diario dentro de la CMO, mientras que los juveniles y adultos de *T. mexicanus*

pasan sólo un 38% del tiempo dentro de ella. Esto indicaría que existen diferencias interespecíficas dentro de este grupo con respecto al grado de adaptación a condiciones de niveles bajos de oxígeno.

La hipoxia puede alterar la conducta de los peces (Breitbart 1992; Hales & Able 1995), incrementar la vulnerabilidad de las larvas a la predación (Poulin *et al.* 1987; Breitbart *et al.* 1994, 1999) y reducir las tasas de crecimiento (Bejda *et al.* 1992). Además la concentración del oxígeno afecta significativamente el crecimiento somático y acreción de los otolitos (Mugiya & Uchimura 1989; Wright 1991; Hales & Able 1995). Existen algunos estudios acerca del grado de tolerancia que los organismos planctónicos (principalmente zooplancton) podrían presentar frente a condiciones de hipoxia (Childress 1977; Antezana 1978). Recientemente se ha sugerido que los organismos planctónicos en zonas de surgencia presentan ciertas adaptaciones bioquímicas que influyen en el grado de tolerancia a las condiciones de hipoxia ambiental (González & Quiñones 1999). En larvas de peces sin embargo existen pocos antecedentes al respecto (Vía *et al.* 1997; Overmell & Batty 2000) y sólo recientemente se están realizando este tipo de estudios para la región (Rodríguez, González & Quiñones, no publ.).

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se resaltan algunas características de la biología y ecología de los estadios de desarrollo temprano de la familia Myctophidae, que ejemplifican el grado de adaptabilidad de este grupo de peces a ambientes costeros de surgencia o a las zonas oceánicas adyacentes. El énfasis ha sido puesto sobre los estadios más tempranos debido a que son más sensibles a los cambios ambientales.

La revisión entregada deja de manifiesto que existe poca información para cada uno de los temas tratados (Tabla III) y que generalizaciones a partir de resultados encontrados en otras latitudes pueden no resultar adecuadas para el área del Pacífico Sur Oriental. Por ejemplo, existen deficiencias en el conocimiento taxonómico y sistemático básico de algunas especies así como de sus primeros estadios de desarrollo (e.g. estadio de huevo). Existen en la actualidad métodos genéticos que pueden ayudar a clarificar la identificación y separación de especies. De este modo, considerando que las larvas de

mictófidos ocurren con frecuencia y en abundancia en muestreos de zooplankton, que para estudios genéticos las muestras tienen como requisito mínimo ser preservadas en alcohol (preservante de bajo costo), y que además existe un amplio número de colecciones disponibles a nivel mundial, es factible lograr grandes avances en estas nuevas líneas de investigación y a corto plazo para esta región del Pacífico.

En relación a posibles estrategias reproductivas y distribución espacial a nivel poblacional, la información existente en zonas de surgencia sugiere que algunas especies de este grupo tendrían la capacidad de variar sus estrategias reproductivas de acuerdo a las condiciones oceanográficas y, mediante estos cambios, aprovechar áreas y períodos favorables para su reproducción o mantenimiento en zonas más apropiadas. Lo anterior ha sido documentado previamente para otros grupos de organismos planctónicos en zonas de surgencia (e. g. eufáusidos, copépodos, etc.) (Peterson *et al.* 1979, Pillar *et al.* 1989, Castro *et al.* 1993). La falta de mayor información disponible para mictófidos en las costas de la Corriente de Humboldt se debe inicialmente a la falta de equipamiento básico para efectuar muestreos estratificados que permitan determinar la existencia de zonas verticales de agregación, cambios ontogenéticos en distribución, etc. (situación que está mejorando actualmente), y a que la mayor cantidad de recursos disponibles para la investigación se destina al estudio de especies de importancia comercial más que a ecología poblacional de otras especies. Debido a su distribución pelágica oceánica, la obtención de muestras involucra costos muy altos, siendo probable que estudios poblacionales para este grupo de peces tomen mayor tiempo en desarrollarse.

El tercer conjunto de estudios señalados en este trabajo está relacionado con aspectos ecológicos en cuanto incluye los de tipo conductual (migraciones verticales, alimentación) y fisiológicos (crecimiento, adaptaciones a ambientes hipóxicos). Estudios sobre alimentación y migraciones verticales en larvas son abundantes en la literatura, sin embargo aspectos básicos como la periodicidad diaria de alimentación y la estratificación vertical de las larvas y sus presas no han podido ser abordados exhaustivamente. Esto se debería principalmente a la falta de equipamiento que permita determinar la distribución vertical de los organismos, asociados a los períodos de alimentación diurno-nocturna. Estudios en crecimiento y determi-

nación de edad larval a través de la lectura de anillos diarios en otolitos están ampliamente desarrollados a nivel mundial y actualmente se están implementando en algunas especies presentes en la Corriente de Humboldt (Peñailillo & Araya 1996; Hernández & Castro 2000). Las adaptaciones de los organismos a ambientes hipóxicos, tales como zonas de surgencias costeras, es una temática con gran potencial, la cual se está desarrollando recientemente a nivel local y mundial (Rodríguez, González & Quiñones, no public.). Considerando que en Chile existe el equipamiento y personal calificado para estos y otros estudios previamente mencionados, es de esperar en los próximos años un incremento en el número de estudios relacionados con ecología del ictioplancton. Del mismo modo se espera que los mictófidos sean más favorecidos como objeto de estudio debido a su abundancia, por su función en el traspaso de energía entre estratos del océano, así como por sus particularidades eco-fisiológicas que le permiten ser extremadamente exitosos en áreas de surgencia costera y zonas adyacentes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren hacer llegar sus agradecimientos al Dr. G. Herrera y Lic. M. Landaeta por los comentarios y aportes para el mejoramiento de las primeras versiones de este manuscrito. Durante el desarrollo de este estudio, el primer autor fue financiado por las instituciones Deutscher Akademischer Austauschdienst (DAAD) y la Universidad de Concepción y el segundo autor por el Programa FONDA-P-Humboldt y Proyecto FONDECYT 1990470.

BIBLIOGRAFIA

- ACUÑA, E. 1986. El recurso mictófidus (Pisces, Myctophidae): antecedentes en aguas chilenas y marco de referencia para su investigación. En: La Pesca en Chile. P. ARANA (Ed.) Valparaíso. 315-339.
- ACUÑA, E. 1987. Distribution of Myctophid fishes in the eastern Pacific Ocean off northern Chile (18°30' to 30°30'S). *Biol. Pesq.* 16:63-78.
- AFANAS'YEV, K.I., B.E. BEKKER & A.N. FETISOV. 1990. Electrophoretic investigations of the isozymes of three species of the family Myctophidae. *J. Ichthyol.* 30(1):28-37.
- ALHSTROM, E.H. 1959. Vertical distribution of pelagic fish eggs and larvae off California and Baja California.

- Fish. Bull. U. S. 60:107-146.
- ALHSTROM, E.H. 1971. Kinds and abundance of fish larvae in the eastern tropical Pacific, based on collections made on EASTROPAC Y. Fish. Bull. National Oceanic and Atmospheric Administration 69(1):2-77.
- ANTEZANA, T. 1978. Distribution of Euphausiids in the Chile-Perú Current with particular reference to the endemic *Euphausia mucronata* and the oxygen minima layer. Ph. D. Tesis University of California, San Diego. 466 pp.
- ARON, A.P. 1980. Taxonomía, distribución y abundancia de las larvas de peces en Bahía de Concepción (36°40'S; 63°02'W), Chile. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción. 66 pp.
- BADCOCK, J. 1981. The significance of meristic variation in *Benthosea glaciale* (Pisces, Myctophoidae) and of the species distribution off northwest Africa. Deep-Sea Res. 28(A) 12:1477-1491.
- BADCOCK, J. & N.R. MERRETT. 1976. Midwater fishes in the eastern North Atlantic. I. Vertical distribution and associated biology in 30°N, 23°W, with developmental notes on certain myctophids. Prog. Oceanogr. 7:3-58.
- BALBONTÍN, F. & A. ORELLANA. 1983. Descripción de las larvas del pez linterna *Hygophum brauni* (Pisces, Myctophidae) del área de Valparaíso, Chile. Rev. Biol. Mar., Valparaíso. 19(2):205-216.
- BALBONTÍN, F. & R. BERNAL. 1997. Distribución y abundancia del ictioplancton en la zona austral de Chile. Cienc. Tecnol. Mar. 20:155-163.
- BALBONTÍN, F., A. LLANOS & V. VALENZUELA. 1997. Sobreposición trófica e incidencia alimentaria en larvas de peces de Chile central. Rev. Chil. Hist. Nat. 70:381-390.
- BEJDA, A.J., B.A. PHELAN & A.L. STUDHOLME. 1992. The effect of dissolved oxygen on the growth of young-of-the-year winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. Environ. Biol. Fish. 34:321-327.
- BREITBURG, D.L. 1992. Episodic hypoxia in Cheasapeake Bay: interacting effects of recruitment, behavior, and physical disturbance. Ecological Monographs 62:525-546.
- BREITBURG, D.L., K.A. ROSE & J.H. COWAN JR. 1999. Linking water quality to larval survival: predation mortality of fish larvae in an oxygen-stratified water column. Mar. Ecol. Prog. Ser. 178:39-54.
- BREITBURG, D.L., N. STEINBERG, S. DUBEAU, C. COOKSEY & E.D. HOUDE. 1994. Effects of low dissolved oxygen on predation on estuarine fish larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 104(3):235-246.
- BREWER, G.D. 1973. Midwater fishes from the Gulf of California and the adjacent eastern tropical Pacific. Bull. Nat. Hist. Mus. Sci. L. A. Cty. 242:1-47.
- BUSTOS, H. & C. FLORES. 1999. Caracterización del componente larval del ictioplancton en la zona comprendida entre los 21°40'-22°20'S y 70°12'-70°42'W durante agosto de 1996 en el norte de Chile. TRESIERRA A.E. & Z.G. CULQUICHICÓN (Eds.) VIII Congreso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar. 1:395-396.
- CAMPANA, S.E. 1984. Microstructural growth patterns in the otoliths of larval and juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus*. Can. J. Zool. 62:1507-1512.
- CASTILLO, G., H. MUÑOZ, H. GONZÁLEZ & P. BERNAL. 1991. Daily analysis of abundance and size variability of fish larvae in relation to oceanic water intrusions in coastal areas. Biol. Pesq. 20:21-35.
- CASTRO, L., P.A. BERNAL & V.A. TRONCOSO. 1993. Coastal intrusion of copepods: mechanisms and consequences in the population biology of *Rhincalanus nasutus*. J. Plank. Res. 15(5):501-515.
- CASTRO, L., R. QUIÑONES, H. ARANCIBIA, D. FIGUEROA, R. ROA, M. SOBARZO & M. RETAMAL. 1997. Áreas de desove de anchoveta y sardina común en la zona central. Informe final FIP. 235 pp.
- CASTRO, L., G. SALINAS & E. HERNÁNDEZ. 2000. Environmental influences on winter spawning of anchoveta, *Engraulis ringens*, off central Chile. Mar. Ecol. Prog. Ser. 197:247-258.
- CHILDRESS, J.J. 1977. Effects of Pressure, temperature and Oxygen on the Oxygen-Consumption Rate of the midwater copepod *Gaussia princeps*. Mar. Biol. 39:19-24.
- CHILDRESS, J.J., S.M. TAYLOR, G.M. CAILLIET & M.H. PRICE. 1980. Patterns of growth, energy utilization and reproduction in some meso- and bathypelagic fishes off the Southern California. Mar. Biol. 61:27-40.
- CIECHOMSKI, J.D., M.D. EHRLICH, C.A. LASTA & R.P. SÁNCHEZ. 1981. Distribución de huevos y larvas de peces en el mar argentino y evaluación de los efectivos de desovantes de anchoíta y de merluza. En: "Campañas de Investigación pesqueras realizadas en el mar argentino por los B/I Shinkai Maru y Walter Herwig y el B/P Marburg años 1978 y 1979". Resultados de la parte argentina. R.S. ANGELESCU (Ed.) INIDEP Ser. Contribuciones. 383:59-79.
- CLARKE, T.A. 1973. Some aspects of the ecology of lanternfishes (Myctophidae) in the Pacific Ocean near Hawaii. Fish. Bull. U. S. 71:401-434.
- DE LA FONTAINE, Y. & D. GASCON. 1989. Ontogenetic variation in the vertical distribution of eggs and larvae of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). Rapp. P.-v. Réun. Cons. Int. Explor. Mer 191:137-145.
- FAO. 1997. Review of the State of World fishery resources: marine fisheries. 2. Lanternfishes: a potential fishery in the Northern Arabian Sea? FAO Fisheries Circular N° 920 FIRM/C920.
- FORTIER, L. & R.P. HARRIS. 1989. Optimal foraging and density-dependent competition in marine fish larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 51:19-33.
- FORTIER, L. & W.C. LEGGETT. 1983. Vertical migrations and transport of larval fish in a partially mixed estuary. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40:1543-1555.
- FORTIER, L. & W.C. LEGGETT. 1984. Small-scale covariability in the abundance of fish larvae and

- their prey. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41:502-512.
- GJØSAETER, J. 1981. Abundance and production of lantern fish (Myctophidae) in the western and northern Arabian Sea. *FiskDir. Ser. HavUnders.* 17:215-251.
- GJØSAETER, J. 1984. Mesopelagic fish, a large potential resource in the Arabian Sea. *Deep-Sea Res.* 31(68A):1019-1035.
- GJØSAETER, J. & K. KAWAGUCHI. 1980. A review of the world resources of mesopelagic fish. *FAO Fish. Tech. pap.* 193:151 pp.
- GONZÁLEZ, R. & R. QUIÑONES. 1999. Determinación de la actividad de Lactato Dehidrogenasa (EC. 1.1.1.27) en dos especies del plancton marino: *Euphausia mucronata* y *Calanus chilensis*. *Resumen XIX Congreso de Ciencias del Mar. Antofagasta, Chile.* pp. 117.
- GORELOVA, T.A. 1975. The feeding of fishes of the Family Myctophidae. *J. Ichthyol.* 15(2):208-219.
- GORELOVA, T.A. 1977. Some characteristics of the nutrition of the young of noctepipelagic and mesopelagic lanternfishes (Pisces, Myctophidae). *Oceanology*, 17(2):220-222.
- GORELOVA, T.A. 1983. A quantitative assessment of consumption of zooplankton by epipelagic lanternfishes (Family Myctophidae) in the Equatorial Pacific Ocean. *J. Ichthyol.* 23(3):106-113.
- GREER-WALKER, M. & J.H. NICHOLS. 1993. Predation on *Benthosema glaciale* (Myctophidae) by spawning mackerel (*Scomber scombrus*). *J. Fish. Biol.* 42:618-620.
- GRUBER, D., E.H. AHLSTROM & M.M. MULLIN. 1982. Distribution of Ichthyoplankton in the Southern California Bight. *CalCOFI Rep.*, 23:172-179.
- HALES, L.S. JR. & K.W. ABLE. 1995. Effects of Oxygen Concentration on Somatic and Otolith growth rates of juvenile Black Sea Bass, *Centropristis striata*. *In: Recent developments in fish otolith research.* SECOR, D.H., J.M. DEAN & S.E. CAMPANA (Eds.). Belle W. Baruch library in marine science N° 19. pp 135-153.
- HERNÁNDEZ, E.H. & L.R. CASTRO. 2000. Larval growth of the anchoveta, *Engraulis ringens*, during the winter spawning season off Central Chile. *Fish. Bull.* 98:704-710.
- HERRERA, G., L. RODRÍGUEZ, L. HERRERA & L. CASTRO. 2000. Evaluación del estatus del género *Triphoturus* (Pisces, Myctophidae) en aguas del Pacífico Suroriental utilizando caracteres larvales y moleculares (secuencias del gen del citocromo b). *XX Congreso Ciencias del Mar, Concepción, Chile.* p. 136.
- HOPKINS, T.L. & R.C. BAIRD. 1985. Aspects of the Trophic Ecology of the mesopelagic fish *Lampanyctus alatus* (Myctophidae) in the Eastern Gulf of Mexico. *Biol. Oceanogr.* 3(3):285-313.
- HOPKINS, T.L. & J.V. GARTNER JR. 1992. Resource-partitioning and predation impact of low-latitude myctophid community. *Mar. Biol.* 114:185-197.
- HULLEY, P.A. 1986. A taxonomic review of the lanternfish genus *Triphoturus* Fraser-Brunner, 1949 (Myctophidae, Osteichthyes). *Annals of the South African Museum*, 97(4):71-95.
- HULLEY, A. 1992. Upper-slope distributions of oceanic lanternfishes (family: Myctophidae). *Mar. Biol.* 114:365-383.
- HULLEY, P.A. 1994. Lanternfishes. Pages 426-428. *In: Encyclopedia of Fishes.* PAXTON, J.R. & W.N. ESCHMEYER (Eds.). Academic Press, San Diego.
- HULLEY, P.A. & R.M. PROSCH. 1987. Mesopelagic fish derivatives in the southern Benguela Upwelling Region. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 5:597-611.
- HUNTER, J.R. 1984. Feeding Ecology and Predation of marine Fish Larvae. *In: Marine Fish larvae: Morphology, Ecology and Relation to Fisheries.* Lasker R. (Ed.). pp. 90-131.
- HUNTLEY, M.E., M.D.G. LÓPEZ & D.M. KARL. 1991. Top predators in the Southern Ocean: a major leak in the biological carbon pump. *Science* 253:64-66.
- JUDKINS, D.C. 1979. Vertical distribution of zooplankton in relation to the oxygen minimum off Peru. *Deep-Sea Res.* 27A:475-487.
- KINZER, J.R. 1982. The food of four myctophid fish species off northwest Africa. *Rapp. P.-v. Réunion. Cons. Int. Explor. Mer* 180:378-838.
- KINZER, J.R. & K. SCHULZ. 1985. Vertical distribution and feeding patterns of midwater fish in the central equatorial Atlantic. I. Myctophidae. *Mar. Biol.* 85:313-322.
- KINZER, J.R., R. BÖTTGER-SCNACK & K. SCHULZ. 1993. Aspects of horizontal distribution and diet of myctophid fish in the Arabian Sea with reference to the deep water oxygen deficiency. *Deep-Sea Res.* II 40(3):783-800.
- LANDAETA, M. 1996. Ictioplancton de la ZEE de Chile centro-sur (otoño 1992): una visión sinecológica. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción. 82 pp.
- LANDAETA, M., L. CASTRO, R. VEAS & R. ESCRIBANO. 2000. Variaciones hidrográficas en la intrusión de ictioplancton oceánico a la zona costera en tres latitudes: Antofagasta (23°S), Valparaíso (32°S) y Concepción (36°S). *Resúmenes XX Congreso Ciencias del Mar, Talcahuano - Chile.*
- LECHENBAUER, S. 1993. Distribución vertical y migraciones diurno-nocturnas de mictofidos (Pisces, Myctophidae) en la Corriente de Humboldt. Tesis para optar al Título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción. 49 pp.
- LINKOWSKI, T.B. 1991. Otolith microstructure and growth patterns during the early life history of lanternfishes (family Myctophidae). *Can. J. Zool.* 69 (7):1777-1792.
- LINKOWSKI, T.B., R.L. RADTKE & P.H. LENZ. 1993. Otolith microstructure, age and growth of two species of *Ceratoscopelus* (Osteichthyes: Myctophidae) from the eastern North Atlantic. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 167:273-260.
- LLANOS, A.J. 1998. Composición y sobreposición dietaria

- del ictioplancton de la zona nerítica de la bahía Valparaíso. Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias mención Zoología. Universidad de Concepción. 80 pp.
- LOEB, V.J. 1979. Vertical distribution and development of larval fishes in the North Pacific Central Gyre during summer. *Fish. Bull. US* 77:777-793.
- LOEB, V.J. 1980. Patterns of spatial and species abundances within the larval fish assemblage of the North Pacific Central Gyre during late summer. *Mar. Biol.* 60:189-200.
- LOEB, V.J. & J.A. NICHOLS. 1984. Vertical distribution and composition of ichthyoplankton and invertebrate zooplankton assemblages in the eastern tropical Pacific. *Biol. Pesq.* 13:39-66.
- LOEB, V.J. & O. ROJAS. 1988. Interannual variation of ichthyoplankton composition and abundance relations off northern Chile, 1964-83. *Fish. Bull. US* 86(1):1-24.
- MAY, J.L. & S.J.M. BLABER. 1989. Benthic and pelagic fish biomass of the upper continental slope off eastern Tasmania. *Mar. Biol.* 101:11-25.
- METHOT, R.D. JR & D. KRAMER. 1981. Growth of northern anchovy, *Engraulis mordax*, and northern lampfish *Stenobranichius leucopsaurus*. *Rapp. P-v des Réun. Cons. Int. Explor. Mer*, 178:424-431.
- MORALES, C.E., M. BRAUN, H. REYES, J.L. BLANCO & A.G. DAVIES. 1996. Anchovy larval distribution in the coastal zone off northern Chile: the effect of low dissolved oxygen concentrations and a cold-warm sequence (1990-1995). *Inv. Mar. Valp.* 24:77-96.
- MOSER, H.G. 1984. Morphological and functional aspects of marine fish larvae. *In: Marine Fish larvae: Morphology, Ecology and Relation to Fisheries*. LASKER, R. (Ed.), p 90-131.
- MOSER, H.G. 1996. Atlas N° 33: The early stages of fishes in the California Current Region. *CalCOFI*. MOSER, H.G. (Ed.), 1505 pp.
- MOSER, H.G. & E.H. AHLSTROM. 1970. Development of lanternfishes (Family Myctophidae) in the California Current. Part I. Species with narrow-eyed larvae. *Bull. Nat. Hist. Mus. Sci. L. A. Cty.* 7:145 pp.
- MOSER, H.G. & E.H. AHLSTROM. 1974. Role of larval stages in systematic investigations of marine teleosts: the Myctophidae, a case of study. *Fish. Bull. US*. 72:391-413.
- MOSER, H.G. & P.E. SMITH. 1993. Larval fish assemblages of the California Current region and their horizontal and vertical distributions across a front. *Bull. Mar. Sci.* 53:645-691.
- MUGIYA, Y. & T. UCHIMURA. 1989. Otolith resorption induced by anaerobic stress in the goldfish, *Carassius auratus*. *J. Fish. Biol.* 35:813-818.
- MUJICA, A. 1993. Zooplankton de las aguas circundantes a la Isla de Pascua (27°08'S-109°26'W). *Cienc. Tec. Mar, CONA* 16:55-61.
- MUÑOZ, H. 1983. Catálogo ilustrado de las larvas de peces presentes en el zooplancton de bahía Coliumo (36°32'S; 72°57'W), VIII Región, Chile. Informe Unidad Investigación para optar al grado de Licenciado en Biología Marina. Universidad de Concepción. 73 pp.
- NAFAKTITIS, B.G., R.H. BAKUS, J.E. CRADDOCK, R.L. HAEDRICH, B.H. ROBISON & C. KARNELLA. 1977. Family Myctophidae. Pages 13-299 *In: GIBBS, R.H. JR. (Ed.). Fishes of the western North Atlantic. Mem. Sears Found. Mar. Res.* 1 Pt. 7.
- NEIGHBORS, M.A. & B.G. NAFAKTITIS. 1982. Lipid compositions, water contents, swimbladder morphologies and buoyancies of nineteen species of midwater fishes (18 Myctophids and 1 Neoscopelid). *Mar. Biol.* 66:207-215.
- NEILSON, J.D. & R.I. PERRY. 1990. Diel vertical migrations of marine fishes: an obligate or facultative process? *Adv. Mar. Biol.* 26:115-168.
- NELSON, J.S. 1994. *Fishes of the World*. 3th edition. J. Wiley & Sons, Inc. 600 pp.
- OLIVAR, M.P. 1990. Spatial patterns of ichthyoplankton distribution in relation to hydrographic features in the Northern Benguela region. *Mar. Biol.* 106:39-48.
- OLIVAR, M.P. & L.E. BECKLEY. 1995. Early development of *Diaphus* spp. (Pisces Myctophidae) of the Agulhas Current. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 16:129-139.
- OLIVAR, M.P. & P.A. SHELTON. 1993. Larval fish assemblages of the Benguela Current. *Bull. Mar. Sci.* 53(2):450-474.
- OLIVAR, M.P. & I. PALOMERA. 1994. Ontogeny and distribution of *Hygophum benoiti* (Pisces, Myctophidae) of the North Western Mediterranean. *J. Plank. Res.* 16(8):977-991.
- OLIVAR, M.P., H.G. MOSER & L.E. BECKLEY. 1999. Lanternfish larvae from Agulhas current (SW Indian Ocean). *Sci. Mar.* 63(2):101-120.
- OLIVAR, M.P., P. RUBIÉS & J. SALAT. 1992. Horizontal and vertical distribution patterns of ichthyoplankton under intense upwelling regimes off Namibia. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 12:71-82.
- OVERNELL, J. & R.S. BATTY. 2000. Scaling of enzyme activity in larval herring and plaice: effects of temperature and individual growth rate on aerobic and anaerobic capacity. *J. Fish Biol.* 56:577-589.
- PALMA, W., J. PIZARRO & C. FLORES. 1992. Ictioplancton. Monitoreo de las condiciones Bio-oceanográficas en la zona norte de Chile (18°20'S-23°31'S). Proyecto 200 millas-IV Zona Naval. Programa Inpescon 1991. Universidad Arturo Prat. Departamento Ciencias del Mar, Iquique - Chile. Documento Técnico 54.
- PAKHOMOV, E.A., R. PERISSINOTTO & C.D. McQUAID. 1996. Prey composition and daily rations of myctophid fishes in the Southern Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 134:1-14.
- PANELLA, G. 1980. Growth patterns in fish sagittae. *In: Skeletal growth of aquatic organism*, edited by D.C. RHOADS & R.A. LUTZ. Plenum Press, New York, pp. 519-560.
- PAXTON, J.R. 1972. Osteology and relationships of the

- lanternfishes (Family Myctophidae). Bull. Nat. Hist. Mus. L. A. Cty. 13:1-81.
- PAXTON, J.R. 1979. Nominal genera and species of lanternfishes (Family Myctophidae). Bull. Nat. Hist. Mus. L. A. Cty. 32:1-28.
- PEARCY, W.G., H.V. LORZ & W. PETERSON. 1979. Comparison of the feeding habits of migratory and non migratory *Stenobranichius leucopsarus* (Myctophidae). Mar. Biol. 51:1-8.
- PEÑAILILLO, J. & M. ARAYA. 1996. Momento de formación y periodicidad de los microincrementos de crecimiento en otolitos de larvas de pejerrey (*Austromeniidae regia*) mantenidas en laboratorio. Inv. Mar. Valp. 24:31-38.
- PEQUEÑO, G. 1989. Peces de Chile. Lista sistemática revisada y comentada. Rev. Biol. Mar. y Oceanogr. 24(2):1-132.
- PEQUEÑO, G. 1997. Peces de Chile. Lista sistemática revisada y comentada: *addendum*. Rev. Biol. Mar. y Oceanogr. 32(2):77-94.
- PETERSON, W.T., C.B. MILLER & A. HUTCHINSON. 1979. Zonation and maintenance of copepod populations in the Oregon upwelling zone. Deep-Sea Res. Vol. 26A:467-493.
- PILLAR, S.C., D.A. ARMSTRONG & L. HUTCHINGS. 1989. Vertical migration, dispersal and transport of *Euphausia lucens* in the southern Benguela Current. Mar. Ecol. Prog. Ser. 53:179-190.
- POULIN, R., N.G. WOLF & D.L. KRAMER. 1987. The effect of hypoxia on the vulnerability of guppies (*Poecilia reticulata*, Poeciliidae) to an aquatic predator (*Astronotus ocellatus*, Cichlidae). Environ. Biol. Fish. 20:285-292.
- QUIÑONES, R., H. MUÑOZ, R. SERRA, S. NÚÑEZ, J. CÓRDOBA & D. FIGUEROA (Eds.). 1995. Informe final. Evaluación hidroacústica en la zona centro-sur V a IX regiones, IFOP - INPESCA. 221 pp. 285 figs.
- ROBERTSON, D.A. 1977. Planktonic eggs of the lanternfish *Lampantodes hectoris* (Family Myctophidae). Deep-Sea Res. 24:1-4.
- ROBISON, B.H. 1984. Herbivory by the mictophid fish *Ceratoscopelus warmingii*. Mar. Biol. 84:119-123.
- RODRÍGUEZ, L. & L. CASTRO. 1999. Variabilidad en la abundancia y distribución del ictioplancton frente a Antofagasta (23°S) - Chile, bajo la influencia de estructuras oceanográficas transientes de mesoescala. TRESIERRA, A.E. & Z.G. CULQUICHICÓN (Eds.). VIII Congreso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar. 1:387-389.
- ROE, H.S. & J. BADCOCK. 1982. The diel migrations and distributions within a mesopelagic community in the north-east Atlantic. 5. Vertical migrations and feeding of fish. Prog. Oceanogr. 13:389-424.
- RÖPKE, A. 1993. Do larvae of mesopelagic fishes in the Arabian Sea adjust their vertical distribution to physical and biological gradients? Mar. Ecol. Prog. Ser. 101:223-235.
- SABATÉS, A. & M. MASÓ. 1990. Effect of a shelf-slope front on the spatial distribution of mesopelagic fish larvae in the western Mediterranean. Deep-Sea Res. 37(7):1085-1098.
- SABATÉS, A. & E. SAIZ. 2000. Intra-and interspecific variability in prey size and niche breadth of myctophiform fish larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 201:261-271.
- SAMEOTO, D.D. 1982. Vertical distribution and abundance of the Peruvian anchovy *Engraulis ringens* and sardine *Sardinops sagax* larvae during Nov. 1977. J. Fish. Biol. 21:171-186.
- SEPÚLVEDA, A. 1990. Variabilidad temporal del ictioplancton en el área de surgencia costera de Chile central: procesos ambientales y biológicos asociados. Tesis para optar al Magister en Ciencias mención Oceanografía. Universidad de Concepción. 93 pp.
- SERRA, R., H. ARANCIBIA, D. ARCOS, J. CÓRDOBA, H. MUÑOZ, S. NÚÑEZ, J. OLEA, A. PAILLAMÁN, R. QUIÑONES & M. SOBARZO. 1994. En: Programa para la evaluación del recurso jurel e investigación asociada. Años 1991-1992. Informe final. IFOP - INPESCA 110 pp, 149 figs.
- SERRA, R., H. ARANCIBIA, D. ARCOS, M.A. BARBIERI, J.L. BLANCO, J. CÓRDOBA, H. MUÑOZ, J. OSSÉS, R. QUIÑONES & H. ROBOTAM. 1995. Evaluación directa del stock jurel zona centro sur. FIP. 148 pp, 128 figs.
- SIELFELD, W., M. VARGAS & R. FUENZALIDA. 1995. Peces mesopelágicos frente a la costa norte de Chile (18°25'-21°47'S). Invest. Mar. Valp. 23:83-97.
- SILVA, N. 1983. Masas de agua y circulación en la región norte de Chile latitudes 18°S-32°S (Operación oceanográfica MARCHILE XI-ERFEN II). Cienc. Tec. Mar. CONA 7:47-84.
- TYLER, H.R. JR. & W.G. PEARCY. 1975. The feeding Habits of Three Species of Lanternfishes (Myctophidae) off Oregon, USA. Mar. Biol. 32:7-11.
- VIA, J.D., G.V.D. THILLART, O. CATTANI & P. CORTESI. 1997. Environmental versus functional hypoxia/anoxia in sole *Solea solea*: the lactate paradox revisited. Mar. Ecol. Prog. Ser. 154:79-90.
- WILLIS, J. & W.G. PEARCY. 1982. Vertical distribution and migration of fishes of the lower mesopelagic zone off Oregon. Mar. Biol. 70:87-98.
- WISNER, R.L. 1971. Eight new species of myctophid fishes from the Eastern Pacific Ocean. Copeia 1:39-54.
- WISNER, R.L. 1976. The taxonomy and distribution of lanternfishes (Family Myctophidae) of the Eastern Pacific Ocean. US NORDA Rep. 3:1-229.
- WRIGHT, P.J. 1991. The influence of metabolic rate on otolith increment width in Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. J. Fish. Biol. 38:929-933.
- YEFREMENKO, V.N. 1977. Vertical distribution of Myctophids eggs in the S. Atlantic. Oceanology, 16(4):404-405.
- YOUNG, J.W. & S.J.M. BLABER. 1986. Feeding ecology

of three species of midwater fishes associated with the continental slope of eastern Tasmania, Australia. Mar. Biol. 93:147-156.

YOUNG, J.W., C.M. BULMAN, S.J.M. BLABER & S.E. WAYTE.

1988. Age and growth of the lanternfish *Lampanyctodes hectoris* (Myctophidae) from eastern Tasmania, Australia. Mar. Biol. 99:569-576.

TABLE I. Listado de especies de mictófidis cuyos estadios larvales han sido documentados en estudios realizados en Chile.

TABLE I. Myctophid fish larvae documented in studies carried out off Chile.

ESPECIE	REFERENCIAS
<i>Ceratoscopelus towsendi</i> (Eigenmann & Eigenmann 1889)	20
<i>Ceratoscopelus</i> sp.	20
<i>Diaphus theta</i> (Eigenmann & Eigenmann 1890)	9, 10, 20
<i>Diaphus</i> sp.	4, 7, 8, 16, 20
<i>Diogenichthys atlanticus</i> (Tanning 1928)	9, 7, 10, 11, 12, 14, 16, 20
<i>Diogenichthys laternatus</i> (Garman 1899)	7, 9, 10, 12, 18, 20, 21
<i>Diogenichthys</i> spp.	4, 8, 15, 22
<i>Gonichthys</i> sp.	20
<i>Gymnoscopelus</i> sp.	9, 11
<i>Hygophum atratum</i> (Garman, 1899)	4
<i>Hygophum bruuni</i> Wisner 1971	1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
<i>Hygophum proximum</i> Becker 1965	20
<i>Hygophum reinhardtii</i> (Lütken 1892)	20
<i>Hygophum</i> sp.	19, 20
<i>Lampadena luminosa</i> Garman 1899	10
<i>Lampadena</i> sp.	11
<i>Lampanyctodes hectoris</i> (Günter 1876)	12, 13, 20
<i>Lampanyctus achurus</i> Andriashev 1962	9
<i>Lampanyctus parvicauda</i> Parr 1931	4, 7, 9, 12, 20
<i>Nannobranchium ritteri</i> Zahuranec 1980	9, 10, 11
<i>Lampanyctus</i> sp.	4, 7, 8, 15, 20
<i>Metelectrona ventralis</i> Becker 1963	4
<i>Myctophum nitidulum</i> Garman 1899	4, 7, 17, 20
<i>Myctophum</i> sp.	9, 11, 20
<i>Notoscopelus resplendens</i> (Richardson, 1844)	11
<i>Protomyctophum (Hierops) chilensis</i> Wisner 1971	9, 10, 11, 12, 13, 16
<i>Protomyctophum (Hierops) crockeri</i> (Bolin 1939)	9, 10, 11, 12, 20
<i>Protomyctophum (Hierops) subparallelum</i> Tanning 1932	9, 10, 11
<i>Protomyctophum</i> sp.	20
<i>Symbolophorus boops</i> (Richardson 1844)	16, 20
<i>Symbolophorus</i> sp.	8, 15, 20
<i>Triphoturus mexicanus</i> (Gilbert 1890)	3, 4, 7, 9, 10, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23

1) Aron 1980

2) Balbontín & Orellana 1983

3) Muñoz 1983

4) Loeb & Rojas 1988

5) Sepúlveda 1990

6) Castillo *et al.* 1991

7) Palma *et al.* 1992

8) Mujica 1993

9) Serra *et al.* 1994

10) Quiñones *et al.* 1995

11) Serra *et al.* 1995

12) Landaeta 1996

13) Balbontín & Bernal 1997

14) Balbontín *et al.* 1997

15) Castro *et al.* 1997

16) Llanos 1998

17) Bustos & Flores 1999

18) Rodríguez & Castro 1999

19) Castro *et al.* 2000

20) Rodríguez & Castro (no public.)

21) Rodríguez *et al.* (no public.)

22) Landaeta *et al.* 2000

23) Herrera *et al.* 2000

TABLA II. Tipo de muestreos realizados en ictioplancton en Chile, donde se han colectado larvas de mictófidis. Se incluyen las artes de pesca empleada, área de estudio, tipo de arrastres, distancia de la costa y hora de muestreo.

TABLE II. Sampling design in ichthyoplankton studies in which larval myctophids have been collected off Chile. Table includes: sampling gear, area of study, type of towing (oblique, vertical), distance from shore and time of day.

RED	AREA	ARRASTRES	DISTANCIA A LA COSTA	HORADE MUESTREO	REFERENCIA
Nansen (365µ)	Bahía Concepción (36°40'S-63°02'W)	oblicuos	interior bahía	no indica	Aron 1980
Nansen (350 µ)	Bahía Coliumo (36°32'S-72°-73°11'W)	oblicuos	interior bahía	no indica	Muñoz 1983
Bongo (333µ) CalCOFI (500µ)	Bahía Valparaíso (32°55'S)	oblicuos	interior bahía	no indica	Balbontín & Orellana 1983
Hansen (300µ) WP2 (300 µ)	Norte Chile (18°00'S-24°00'S; 70°-72°W)	oblicuos 0-50 m y 0-100 m	no indica	diurno-nocturno	Loeb & Rojas 1988
Clarke-Bumpus (365 µ)	Bahía Coliumo (36°31'S-72°56'W)	Estratos oblicuos (0-14m y 15-23m)	2.2 mn	diurno	Sepúlveda 1990
Bongo (335 µ)	Golfo Arauco (37°05'S)	oblicuo 0-45 m	boca del golfo	diurno-nocturno	Castillo <i>et al.</i> 1991
WP-2 (210µ)	Norte de Chile (18°20'S-23°31'S)	vertical 0-100 m	5-200 mn	diurno-nocturno	Palma <i>et al.</i> 1992
Bongo (330 µ)	Isla de Pascua (27°10'S-109°20'W)	oblicuo 0-5 m	no menciona	no indica	Mujica 1993
Bongo (300 µ)	Chile centro-sur (33°40'S-39°S)	oblicuos 0-200-350m	costa-85 mn 100-400 mn	diurno-nocturno	Serra <i>et al.</i> 1994
Bongo (300µ) WP2	Chile centro-sur (33°40'S-39°S)	oblicuos 0-200-400m estratos oblicuos: 0-50, 50-150, 150-250, 250-400	100-400 mn	diurno-nocturno	Quiñones <i>et al.</i> 1994
Bongo (300 µ)	Chile centro-sur (33°40'S-39°S)	oblicuos 0-200-400m	5-100 mn	diurno-nocturno	Serra <i>et al.</i> 1995
Bongo (250 µ)	Chile centro-sur (33°40'S-39°S)	oblicuos 0-50 m	2-90 mn	diurno-nocturno	Landaeta 1996
Bongo (350 µ)	Chile Central (32°00'S-33°00'S)	oblicuos 0-200 m	4 mn	no indica	Balbontín <i>et al.</i> 1997
Tucker trawl (250 µ)	Centro-Sur Chile (32°20'S-39°40'S)	estratos oblicuos: 0-40 m y 40-100 m	2-60 mn	diurno-nocturno	Castro <i>et al.</i> 1997
Bongo (350 µ)	Canales australes (41°-46°S-72°-75°W)	oblicuo (0-200 m)	no indica	no indica	Balbontín & Bernal 1997
Bongo (350 µ)	Bahía Valparaíso (32°55'S)	oblicuos 0-50 m	4 mn	diurno	Llanos 1998
Bongo (500 µ)	Chile Central (35°00'S-38°00'S)	oblicuo 0-40 m	2-12 mn	diurno	Castro <i>et al.</i> 2000
CalVET (250 µ)	Norte Chile (21°40'S-22°20'S-70°12'W-70°42'W)	vertical (0-70 m)	no indica	no indica	Bustos & Flores 1999
Tucker trawl (250 µ)	Antofagasta (23°00'S)	estratos oblicuos: 0-50 m 50-150 m	5-90 mn	diurno-nocturno	Rodríguez & Castro 1999
Bongo con cierre (350 µ)	Antofagasta (23°00'S)	horizontal en estratos: 25 m, 50 m, 75 m, 100 m	5-90 mn	diurno-nocturno	Rodríguez <i>et al.</i> (no public.)

TABLA III. Estudios realizados en Chile en que se entrega información de larvas de mictófidis.

TABLE III. Research lines carried out in Chile giving information on larval myctophids.

TIPO DE ESTUDIO	REFERENCIA
Taxonomía, descripción larval	1, 2, 3, 23
Distribución y abundancia	4, 5, 6, 7, 8, 13, 15, 16, 17, 18, 19
Relación con variables ambientales	4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 15, 18, 19, 20, 22
Alimentación	14, 16
Fisiología	21

- | | | |
|--------------------------------|----------------------------------|--|
| 1) Aron 1980 | 9) Serra <i>et al.</i> 1994 | 17) Bustos & Flores 1999 |
| 2) Balbontín & Orellana 1983 | 10) Quiñones <i>et al.</i> 1995 | 18) Rodríguez & Castro 1999 |
| 3) Muñoz 1983 | 11) Serra <i>et al.</i> 1995 | 19) Castro <i>et al.</i> 2000 |
| 4) Loeb & Rojas 1988 | 12) Landaeta 1996 | 20) Rodríguez & Castro (no public.) |
| 5) Sepúlveda 1990 | 13) Balbontín & Bernal 1997 | 21) Rodríguez <i>et al.</i> (no public.) |
| 6) Castillo <i>et al.</i> 1991 | 14) Balbontín <i>et al.</i> 1997 | 22) Landaeta <i>et al.</i> 2000 |
| 7) Palma <i>et al.</i> 1992 | 15) Castro <i>et al.</i> 1997 | 23) Herrera <i>et al.</i> 2000 |
| 8) Mujica 1993 | 16) Llanos 1998 | |

Fecha de recepción: 10.04.2000
 Fecha de aceptación: 13.09.2000



COMUNICACIONES BREVES / SHORT COMMUNICATIONS

IXODES URIAE WHITE 1852 (ACARI: IXODIDAE) ASSOCIATED WITH
THE PAPUA PENGUIN, *PYGOSCELIS PAPUA* (FORSTER), IN THE
ANTARCTIC PENINSULA

IXODES URIAE WHITE 1852 (ACARI: IXODIDAE) ASOCIADO CON EL
PINGUINO PAPUA, *PYGOSCELIS PAPUA* (FORSTER), EN LA PENINSULA
ANTARTICA

María E. Casanueva* & Hugo I. Moyano*

*Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. E-mail: mcasanue@udec.cl

Among the members of the family Ixodidae the genus *Ixodes* is the largest taxon and is represented by about 250 species (Keirans & Clifford 1978). Some of the *Ixodes* species are associated with different types of birds. The ticks of sea birds represent a very interesting ecological group since some are widely distributed and occur in both the northern and southern hemispheres.

Species of the genus *Ixodes*, like *I. kohlsi* and *I. percavatus*, have been mentioned as ectoparasites of the Little penguin *Eudyptula minor* in Australia (Reilly & Balmford 1975). According to Zumpt (1952) *Ixodes* (*Ceratixodes*) *uriae* (White 1852) presents an interesting distribution since is bipolar. In the North Hemisphere this species has been collected in Alaska, Canada, Iceland, Greenland, England, Scotland, Norway, Finland, Kola Peninsula, Hebrides, and Russia. On the other hand in the South Hemisphere it presents a circumpolar distribution, collected in Patagonia, Kergueleng, St. Paul and King Islands, Campbell and Nightingale, South Africa and Australia. Roberts (1964) reported this species associated with the "Tasmania penguin" in the King Island; however he mentioned that the most common hosts are sea birds like albatross, seagulls and petrels.

In Chile the tick species *Ixodes auritulus* and *Ixodes uria* [sic] have been recorded in birds and sea birds by Tagle (1971) but he does not

give information about the distribution and specific hosts for both species. In the Antarctic these species have been found associated with penguins and other birds in the Graham Land. They are well distributed in the subantarctic islands, but there are not records of their presence in more meridional areas as other mites species (Gressitt 1972). However few other studies have been done in Chile regarding the ticks species. Among these are Donoso (1953) and Tagle (1971).

The objective of this short note is to present the record of *Ixodes uriae* associated with nests of the "papua penguin", *Pygoscelis papua*, in the Antarctic Peninsula.

One female was collected in the Doumer Island (64°52'24''S; 63°36'00''W), Antarctic Peninsula in January 1999 by Hugo I. Moyano, as part as the grant INACH 005-97 of the Instituto Antártico Chileno. The specimen was found walking in the snow close to the nests of *Pygoscelis papua*.

Females of *I. uriae* can be distinguished from *I. auritulus* because they have a 2/2 hypostomal dentition and no spurs on any coxae and females of *I. auritulus* have instead a 4/4 to 5/5 hypostomal dentition and two spurs on coxa I and one spur each on coxae II-IV. Scanning electron microscope photos and keys for males and females can be found in Keirans and Clifford 1978.

ACKNOWLEDGMENTS

Thanks are due to Instituto Antártico Chileno, Grant INACH 005-97 and to Universidad de Concepción, Chile through Grant DIUC 97-113.041-1.0 for the fundings. Special thanks to Dr. Jim Keirans (USA) for helping with the identification of the species.

REFERENCES

- DONOSO, R. 1953. Ixodoidea de Chile. *Revista Chilena de Entomología*, 3: 132-134.
- GRESSITT, J.L. 1972. Animales Terrestres. pp. 410-434. *In*: HATHERTON, T. (Ed.). *La Antártida*. Ed. Omega, S.S. Barcelona, 591 pp.
- KEIRANS, J. & C. CLIFFORD. 1978. The genus *Ixodes* in the United States: A Scanning Electron Microscope study and key to the adults. *Journal of Medical Entomology*, Supplement N° 2: 149 pp.
- REILLY, P.N. & P. BALMFORD. 1975. A breeding study of the Litle Penguin *Eudyptula minor* in Australia. pp. 161-187. *In*: STONEHOUSE, B. (Ed.). *The Biology of penguins*. The Macmillan Press Ltd. 555 pp.
- ROBERTS, F.H.S. 1964. The tick fauna of Tasmania. *Records of The Queen Victoria Museum Launceston. New Series*, 17: 1-8 pp.
- TAGLE, I. 1971. Ixodoidea en Chile. *Temas parasitológicos de actualidad*. 46-49. Universidad de Chile, Santiago.
- ZUMPT, F. 1952. The Ticks of sea birds. *A.N.A.R.E. Report, Series B, Vol. 1*: 12-20.

Fecha de recepción: 12.10.2000
Fecha de aceptación: 13.10.2000

UN PARATIPO ERRADO DE *PAREUXOA KOEHLERI* OLIVARES
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

A MISTOOK PARATYPE OF *PAREUXOA KOEHLERI* OLIVARES
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Tania S. Olivares¹ y Andrés O. Angulo²

¹Casilla 4040, Correo 3, Concepción. Chile. E-mail: tolivare@udec.cl

²Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. E-mail: aangulo@udec.cl

La homogeneidad en la coloración de las alas anteriores de los nóctuidos y su capacidad de camuflaje es alta, los casos de especies que se asemejan exteriormente, sean del mismo género o de distinto género de diferentes subfamilias son una buena expresión de diversos fenómenos biológicos evolutivos (Angulo & Olivares 1998). Esto ha llevado a la confusión de dos especies, por lo que se realiza la presente nota.

Tras la revisión del material típico de la especie *Pareuxoa koehleri* Olivares depositado en el Museo de Zoología de la Universidad de Concepción y la publicación de esta especie (Olivares 1992) se procedió a la preparación de la genitalia de uno de los ejemplares que difería del resto por una coloración más rojiza, según la técnica de Angulo & Weigert 1977.

RESULTADOS

Tras la preparación de genitalia, se obtuvo que el ejemplar correspondiente a la etiqueta Termas de Río Blanco, Cautín-II-51, corresponde a la especie *Scania anelluspinata* Olivares (Olivares 1994), por lo que es retirada de la serie típica de la especie *koehleri*.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer al proyecto de la Dirección de Investigación N° 200.113.057-1.0, de la Universidad de Concepción.

BIBLIOGRAFIA

- ANGULO, A.O. & T.S. OLIVARES. 1998. Especies gemelas y crípticas de mariposas nóctuidas andino-patagónicas (Lepidoptera: Noctuidae) Gayana Zool. 62(1): 65-67.
- ANGULO, A.O. & G.TH. WEIGERT. 1977. *Pseudaletia punctulata* (Blanchard) y *Pseudaletia impuncta* (Guenée): nóctuidos hadeninos similares en Chile (Lepidoptera: Noctuidae) Agro Sur 5(1): 12-17.
- OLIVARES, T.S. 1992. Dos nuevas especies de *Paraeuxoa* Forbes, 1933, próximas a *P. janae* Angulo 1990 (Lepidoptera, Noctuidae, Noctuinae, Austrandesiini) Bol. Soc. Biol. de Concepción. 63: 147-150.
- OLIVARES, T.S. 1994. Sistemática y filogenia de las especies del género *Scania* n. gen. (*Pseudoleucania* in part) (Lepidoptera: Noctuidae) de la subregión andino-patagónica. Gayana Zool. 58(1): 27-60.



FIGURAS 1-3. 1. Adulto macho (del ejemplar erróneamente tratado). *Scania anelluspinata* Olivares. Genitalia macho: 2. valvas, 3. aedeagus.

FIGURES 1-3. 1. Male adult (the mistook specimen). *Scania anelluspinata* Olivares. Male genitalia: 2. valves, 3. aedeagus.

Fecha de recepción: 30.08.2000
Fecha de aceptación: 30.08.2000

CTENARYTAINA EUCALYPTI (MASKELL 1890): EL PSILIDO DEL
EUCALIPTO EN CHILE (HEMIPTERA: STERNORRYNCHA:
PSYLLOIDEA: SPONDYLIASPININAE)

CTENARYTAINA EUCALYPTI (MASKELL 1890): THE BLUE GUM
PSYLLID IN CHILE (HEMIPTERA: STERNORRYNCHA: PSYLLOIDEA:
SPONDYLIASPININAE)

Tania S. Olivares*

*Casilla 4040, Correo 3, Concepción. Chile. E-mail: tolivare@udec.cl

Chile tiene 308. 762 há. de *Eucalyptus* spp. (Odepa 1997 *vide* Burckhardt 1999). Conjuntamente con introducir *Eucalyptus* llegan también los insectos asociados a éstos, cabe mencionar *Gonipterus scutellatus* Gyll. o *Phoracantha semipunctata* (Fabricius). Una nueva plaga asociada al eucalipto corresponde al conocido "blue gum psyllid" o psílido del eucalipto (Figs. 1 y 2) que ataca tanto *Eucalyptus globulus* o gomero azul y *Eucalyptus nitens*. Este psílido proviene del sureste de Australia y Tasmania. En América latina se le ha detectado en Uruguay y Brasil. Burckhardt 1994, predice la aparición de esta especie en hospederos de la familia Myrtaceae.

En la actualidad, en Chile, se le ha detectado en Iquique (I región), en las Provincias San Felipe y los Andes en Chile Central (Anónimo 2000; Burckhardt & Elgueta 2000).

Ctenarytaina Ferris & Klyver es un género ampliamente distribuido desde el Sudeste asiático hasta Europa pasando por Sudáfrica. Este se caracteriza taxonómicamente por la presencia de una hilera de espinas en la cara apical externa de la mesotibia.

Si bien existen datos que permiten conocer la especie, ésta puede ser confundida con otras especies simpátricas, v. gr. *Blastopsylla occidentalis* Taylor.

El presente trabajo tiene por objetivos reunir información dispersa de esta especie y entregar

nuevos datos de distribución geográfica y datos biológicos para Chile.

El material utilizado para el presente estudio proviene de Arica (I región), San Felipe (V región) y Concepción (VIII región) y fueron analizadas a través de preparaciones microscópicas según las técnicas corrientes y la clave de Burckhardt 1994b, a través de los caracteres taxonómicos de la cabeza, metatibia y genitales de machos y hembras. Las descripciones originales fueron revisadas, además, los trabajos de Zondag 1992; Burckhardt 1994a y b; Burckhardt *et al.* 1999.

La clasificación actual de la especie es:

Orden: Hemiptera

Suborden: Sternorrhyncha

Familia: Psyllidae

Subfamilia: Spondylaspininae

Género: *Ctenarytaina* Ferris & Klyver

Especie: *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell 1890)

Recientemente se ha detectado la especie en la Provincia de Concepción, en las localidades de Coronel, Playa Blanca, Cerro Alto, Altos de Villuco, en la Provincia de Ñuble (Chillán) y en la provincia del Bío Bío (Mulchén).

Por lo tanto la distribución de la especie se ha ampliado desde la I región (Iquique) detectada

en agosto de 1999, Los Andes, San Felipe (V región) y Región Metropolitana (RM) a la VIII región (Playa Blanca, Cerro Alto, Cañete, Chillán).

En muestras obtenidas de la Provincia de Ñuble (Chillán), se han encontrado larvas de Díptera de la familia Syrphidae, la que es depredadora, su identificación ha llegado a nivel de género, la que corresponde a *Pipiza* sp. (Fig. 3), la que podría ser un eventual controlador biológico en Chile.

Las muestras obtenidas de la VIII región corresponden a los meses de mayo a diciembre del 2000, en las cuales se han encontrado todos los estados de desarrollo, los cuales han sido descritos ampliamente en Maskell 1890; Zondag 1992 y Burckhardt 1994a y b.

DISCUSION

La especie *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell) posee un alto grado de dispersión ya que prácticamente ha recorrido todo el territorio nacional en un año.

Es necesario evaluar la conducta de la especie en Chile, ya que no se tienen parámetros en nuestro país, con respecto al tipo de clima o humedad, sólo se han extrapolado datos de conducta en Nueva Zelanda, Australia y Tasmania.

Se ha mencionado como posible controlador biológico a la especie *Psyllaephagus pilosus* (Hymenoptera) la cual eventualmente podría traer beneficios para su control (Sandoval 2000), pero es necesario evaluar su conducta, otro controlador mencionado para Nueva Zelanda es *Cleobora mellyi* Mulsant (Coccinellidae) (Zondag 1982), tanto la larva como el adulto se alimentan del psílido.

Otros enemigos parásitos y predadores mencionados por Burckhardt 1993 son *Pteroptrix maskelli* (Eulophidae), *Syrphoctonus cf. abdominalis* (Ichneumonidae), *Eumerus* sp, *Melliscaeva cictellus*, *Pipizella* sp, *Sphaephoria scripta* (Syrphidae),

Bardysia sp. (Sciaridae) y *Haematopota ocelligera* (Tabanidae)

En Uruguay las poblaciones declinan con grandes lluvias (Burckhardt *et al.* 1999)

Si bien el ataque del psílido ocurre cuando las plantas son jóvenes (1-2 años) y preferentemente en viveros, es necesario seguir la evolución de las plantas atacadas a través del resto del desarrollo de la planta.

BIBLIOGRAFIA

- ANÓNIMO. 2000. El psílido de los eucaliptos. *Ctenarytaina eucalypti* Maskell (Hemiptera: Psyllidae). Ministerio de Agricultura. Servicio Agrícola y Ganadero. Departamento de Protección Agrícola. Subdepartamento de Vigilancia Fitosanitaria. 4 pp.
- BURCKHARDT, D. 1993. Psílidos (Homoptera: Psylloidea) en cultivos y plantas ornamentales de climas templados o subtropicales. Proyecto de Modernización. Servicio Agrícola y Ganadero. Departamento de Protección Agrícola. 67 pp. Mimeografiado.
- BURCKHARDT, D. 1994a. Psylloid pests of temperate and subtropical crop and ornamental plants (Hemiptera: Psylloidea): A review. Trends Agr. Sci. Entomol. 2:173-186.
- BURCKHARDT, D. 1994b. Generic key to Chilean jumping plant-lice (Homoptera: Psylloidea) with inclusion of potencial exotic pests. Rev. Chilena. Ent. 21:57-67.
- BURCKHARDT, D., D.L.Q. SANTANA, A.L. TERRA, F.M. DE ANDRADE, S.R.C. PENTEADO, E.T. IEDE & C.S. MOREY. 1999. Psyllid pests (Hemiptera: Psylloidea) in south american eucalypt plantations. Mitteilungen der schweizerischen entomologischen Gesellschaft. 72:1-10.
- BURCKHARDT, D. & M. ELGUETA. 2000. *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Hemiptera: Psyllidae), a new introduced Eucalypt pest in Chile. Rev. Chilena Ent. 26:57-61.
- SANDOVAL, A. 2000. Nueva plaga de los Eucaliptos. Mercurio. Revista del Campo. Septiembre. 3 pp.
- ZONDAG, R. 1982. *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell) (Hemiptera: Psyllidae). Forest and Timber insects in New Zealand. Forest Research Institute New Zealand Forest Service. 53:3 pp.

Fecha de recepción: 29.12.2000

Fecha de aceptación: 29.12.2000



FIGURA 1. Adulto recién emergido de *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell).

FIGURE 1. Adult just merged of *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell).



FIGURA 2. Ninfa de *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell).

FIGURE 2. Nymphal stage of *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell).

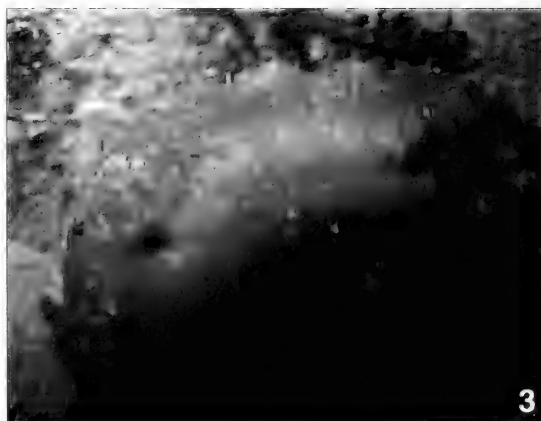


FIGURA 3. Larva de Diptera (Syrphidae) del género *Pipiza* Fallén.

FIGURE 3. Larvae of Diptera (Syrphidae) from *Pipiza* Fallén genus.



REGLAMENTO DE PUBLICACIONES DE LA REVISTA GAYANA

La revista Gayana, dedicada al distinguido naturalista francés radicado en Chile don Claudio Gay, es el órgano oficial de Ediciones de la Universidad de Concepción, Chile, para la publicación de resultados de investigaciones originales en las áreas Biológicas y Ciencias Naturales relacionadas con zoología y oceanografía. Es periódica, de un volumen anual compuesto por dos números. Recibe trabajos realizados por investigadores nacionales y extranjeros, elaborados según las normas del presente reglamento. La recepción es permanente. Acepta trabajos escritos en idioma español o inglés. La publicación en otros idiomas deberá ser consultada previamente al Director. Revista Gayana recibe además libros para ser comentados y comentarios de libros, comunicaciones de eventos científicos, obituarios, notas científicas, los cuales se publicarán sin costo luego de ser aceptados por el Comité Editor. Los trabajos deberán ser entregados en disco de computador según se especifica en el Reglamento de formato más tres copias impresas completas (incluir fotocopia de figuras y fotos originales), a doble espacio con líneas de 15 cm de longitud y letra no menor de 12 puntos (excepto letras de la familia Times). El Director de la Revista, asesorado por el Comité de Publicación, se reserva el derecho de aceptar o rechazar el trabajo. Estos se enviarán a pares para su evaluación.

TEXTO

El título principal debe ir todo escrito en letra mayúscula y expresar el contenido real del trabajo. Si incluye un nombre genérico o específico, se indicará el rango sistemático inmediatamente superior (ej. Orden, Familia). El texto deberá contener: Título, título en inglés (o español si el trabajo está en inglés), nombre de los autores, dirección de los autores, Resumen, Abstract, Palabras claves y Keywords (máximo 12 palabras o nombres compuestos separados por coma), Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, Agradecimientos y Bibliografía. Estos títulos deberán ir en mayúsculas sin negrita. Los nombres de los autores, dirección de los autores, Palabras claves y Keywords deben ir en altas y bajas (normal), al igual que el resto de los títulos no indicados arriba. Si por alguna circunstancia especial el trabajo debe ser publicado en forma diferente a las disposiciones anteriores, el autor deberá exponer su petición al Director. La primera prueba de imprenta será enviada al autor principal para su corrección antes de la impresión definitiva. Si ello fuera imposible o dificultoso, la corrección será realizada por un Comité de Publicación *ad hoc*, dicha comisión no se hará responsable de lo mencionado en el texto, por lo cual se solicita que los manuscritos vengan en su forma definitiva para ser publicados (jerarquizar títulos, subtítulos, ortografía, redacción, láminas, etc.). Los nombres científicos y las locuciones latinas serán las únicas que irán en *cursiva* en el texto. La primera vez que se cite una unidad taxonómica deberá hacerse con su nombre científico completo (género, especie y autor). Las medidas deberán ser expresadas en unidades del sistema métrico separando los decimales con punto (0.5). Si fuera necesario agregar medidas en otros sistemas, las abreviaturas correspondientes deben ser definidas en el texto. Las citas en el texto deben incluir nombre del autor y año, sin coma entre autor y año (ejemplo: Smith 1952); si hay más de una fecha se separarán con comas (ejemplo: Smith 1952, 1956, 1960). Si hay dos autores se citarán separados por & (ejemplo: Gómez & Sandoval 1945). Si hay más de dos autores, sólo se citará el primero seguido de la expresión *et al.* (ejemplo: Seguel *et al.* 1991). Si hay varios trabajos de un autor(es) en un mismo año, se citará con una letra en secuencia adosada al año (ejemplo: 1952a, 1952b). La Bibliografía incluirá sólo las referencias citadas en el texto, dispuestas por orden alfabético del apellido del primer autor, sin número que lo anteceda. La cita deberá seguir las normas de Style Manual of Biological Journals para citar correctamente fechas, publicaciones, abreviaturas, etc. La nomenclatura se regirá por el Código Internacional de Nomenclatura Zoológica.

FIGURAS

Las figuras se numerarán en orden correlativo con números arábigos. Las tablas de igual modo con números romanos. Cada tabla debe llevar un título descriptivo en la parte superior. Los dibujos deben ser de alto contraste y deben llevar una escala para facilitar la determinación del aumento. Las fotografías se considerarán figuras para su numeración; serán en blanco y negro o en color, brillantes, de grano fino y buen contraste y deben ser acompañadas de una escala para la determinación del aumento. La inclusión de fotografías o figuras en color deberá ser consultada previamente al Director de la Revista. No se aceptarán fotografías y dibujos agrupados en la misma lámina. Las fotografías deben ser recortadas para mostrar sólo los caracteres esenciales y montadas en cartulina blanca sin dejar espacios entre ellas cuando se disponen en grupos. En la copia impresa del trabajo se deberá indicar en forma clara y manuscrita la ubicación relativa de las tablas y figuras, si procede. Las ilustraciones deberán tener un tamaño proporcional al espacio en que el autor desea ubicarlas; ancho de una columna: 70 mm; ancho de página: 148 mm; alto de página: 220 mm incluido el texto explicativo. Las láminas originales no deberán tener más del doble del tamaño de impresión ni ser inferior a éste. Se recomienda considerar las reducciones para los efectos de obtener los números de las figuras de similar tamaño dentro del trabajo, luego que éstas se sometan a reducciones diferentes. En el reverso de las láminas originales se deberá indicar el nombre del autor, título del trabajo y número de figuras. Al término del trabajo se deberá entregar en forma secuencial las explicaciones de cada una de las figuras.

REGLAMENTO DE FORMATO

Los manuscritos se recibirán sólo en discos de computador de 3.5", formateados para computadores Apple Macintosh o IBM/PC compatibles. Los trabajos pueden tener el formato de cualquiera de los siguientes programas: Microsoft Word (cualquier versión) - WordStar (3.0 al 6.0) - WordPerfect 4.2 ó 5.1 (PC o Mac). **Letra.** Cualquiera letra tamaño 12 o superior, excepto Times. **Espacios.** Colocar un único espacio después de cualquier signo ortográfico [punto, coma, comillas, dos puntos, punto y coma] y **nunca antes del signo ortográfico.** La única excepción a esta regla se aplica en las iniciales del autor en la Bibliografía y en las citas en el trabajo. **Párrafos.** Los párrafos deben ir sin sangría, justificados y sin espacio entre un párrafo y otro. En lo posible evite las palabras subrayadas, si desea destacar algo utilice negrita. Destine los caracteres cursiva para los nombres científicos o palabras latinas, incluso si se escriben en mayúsculas. Cuando encabezan un párrafo deben ir en negrita cursiva. **Comillas.** Sólo usar doble comillas (" "), no usar otro signo similar o equivalente. **Letras griegas.** No incluir letras griegas en el texto, ni provenientes del teclado ni manuscritas. En su lugar escribir el nombre de la letra (ejemplo: alfa), en la impresión definitiva aparecerá el carácter griego. **Macho y Hembra.** Para indicar, en Material Examinado, los símbolos macho y hembra, éstos deben escribirse (macho, hembra), en la impresión definitiva aparecerá el símbolo correspondiente. **Bibliografía.** Los nombres de los autores deben ir en altas y bajas. Coloque un punto antes y después del año de publicación (ejemplo: Smith, J.G. & A.K. Collins. 1983.). No use sangrías. Para las referencias que son volúmenes no use espacio después de dos puntos (ejemplo: Rev. Biol. Mar. 4(1):284-295). **Tablas.** Reducir al máximo el uso de tablas o cuadros complicados o difíciles de componer. No usar espaciador para separar una columna de otra en las tablas, para ello usar exclusivamente tabuladores. No se aceptarán trabajos que contengan tablas confeccionadas con espaciador. Los manuscritos que no cumplan con esta reglamentación serán devueltos a sus autores para su corrección antes de incorporarlos al proceso de revisión.

VALOR DE IMPRESION

US\$ 20.00 por página (con láminas en blanco y negro), y de US\$ 35.00 por página (con láminas en color). El Director de la Revista considerará la exención total o parcial del valor de publicación para manuscritos no originados en proyectos de investigación.



Cont...CONTENIDO / CONTENTS

Revisión / Review

- OLABUENAGA, S.E.** Sistema inmune en peces 205
Fish immune system
- RODRÍGUEZ, L. & L. CASTRO.** Estudios en ecología de larvas de mictófidios (Pisces, Myctophidae): Una propuesta para nuevas líneas de investigación en la Corriente de Humboldt 219
Studies on the ecology of larval myctophids (Pisces, Myctophidae): A proposal for new research lines in the Humboldt Current

Comunicaciones breves / Short communications

- CASANUEVA, M.E. Y H.I. MOYANO.** *Ixodes uriae* White 1852 (Acari: Ixodidae) asociado con el pingüino papua, *Pygoscelis papua* (Forster), en la península antártica 235
Ixodes uriae White 1852 (Acari: Ixodidae) associated with the papua penguin, *Pygoscelis papua* (Forster), in the antarctic peninsula
- OLIVARES, T.S. Y A.O. ANGULO.** Un paratipo errado de *Pareuxoa koehleri* Olivares (Lepidoptera: Noctuidae) 237
A mistook paratype of *Pareuxoa koehleri* Olivares (Lepidoptera: Noctuidae)
- OLIVARES, T.S.** *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell 1890): El psilido del eucalipto en Chile (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psylloidea: Spondylaspininae) 239
Ctenarytaina eucalypti (Maskell 1890): The blue gum psyllid in Chile (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psylloidea: Spondylaspininae)

**Ambiente terrestre / Terrestrial environments**

ALAMIRI, Z. Conducta de oviposición en cuatro especies de *Drosophila* 123
Oviposition behaviour in four species of *Drosophila*

CHIAPPA, E., SH. RODRIGUEZ Y R. BASCUÑAN. Preferencia y manipulación floral de *Centris rodolphthalma* Pérez (Hymenoptera: Anthophoridae) 133
Floral preference and manipulation of *Centris rodolphthalma* Perez (Hymenoptera: Anthophoridae)

IANNACONE, J., L. ALVARINO, C. CABALLERO Y J. SANCHEZ. Cuatro ensayos ecotoxicológicos para evaluar lindano y clorpirifos 139
Four ecotoxicological assays to evaluate lindane and chlorpyrifos

LOUIS-MALDONADO, M. Y R. BADIOLA. Descripción de los estados preimaginales de *Hemiteuxoa conchidia* (Butler) 147
Description of preimaginal stages of *Hemiteuxoa conchidia* (Butler)

RODRIGUEZ, M.A., T.S. OLIVARES Y A.O. ANGULO. Nuevo género y nuevas especies de nóctuidos altoandinos *V. tenera* Rodríguez & Angulo n. gen. v/s géneros afines (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae) 155
A new genus and new species from high andean *V. tenera* Rodríguez & Angulo n.gen. v/s akin genera (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae)

ROMERO, F., E. ALTIERI, C. QUINEHUAL Y A. CAYUQUEO. Actividad contráctil de músculo papilar cardíaco y conducto deferente de rata inducida por veneno de la araña *Latrodectus mactans* de Chile 161
Contraction activity of the papillar muscle and vas deferent of a rat induced to poison from the *Latrodectus mactans* spider of Chile

STUARDO, J.R. Y P. VARGAS-ALMONACID. Moluscos terrestres de Chile. Sinonimia y problemas relacionados: I. Familias Veronicellidae, Pupillidae y Achatinellidae (Gastropoda: Pulmonata) 171
Land mollusca of Chile. Synonymies and related problems: I. Families Veronicellidae, Pupillidae and Achatinellidae (Gastropoda: Pulmonata)

Ambiente acuático / Aquatic environments

JARA-SEGUEL, P., S. PEREDO, C. PALMA-ROJAS, E. PARADA Y G. LARA. Cariotipo cuantitativo de *Diplodon chilensis* (Gray 1828) (Bivalvia: Hyriidae) 189
Quantitative karyotype of *Diplodon chilensis* (Gray 1828) (Bivalvia: Hyriidae)

SALAMANCA, M.A., A. CAMAÑO, B. JARA & T. RODRIGUEZ. Distribución de Cu, Pb y Zn en aguas costeras de bahía San Jorge en el norte de Chile 195
Cu, Pb and Zn distribution in nearshore waters in San Jorge bay, northern Chile

Dirigir correspondencia a:



COMITÉ DE PUBLICACIÓN
REVISTA GAYANA
CASILLA 160-C
CONCEPCIÓN, CHILE
E-mail: gayana@udec.cl

EDICIONES UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN