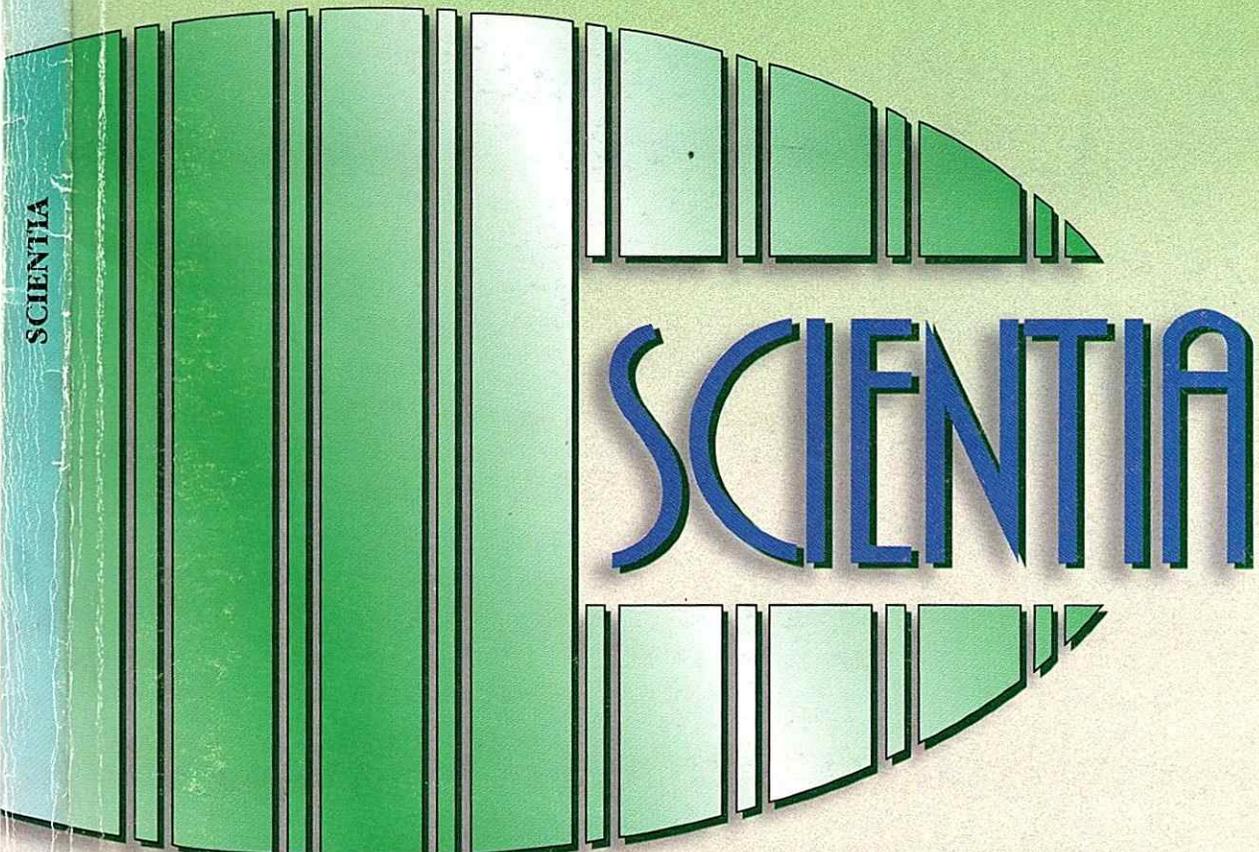


Junio de 1999

ISSN 0258-9702

**REVISTA DE
INVESTIGACIÓN DE LA
UNIVERSIDAD DE PANAMÁ**

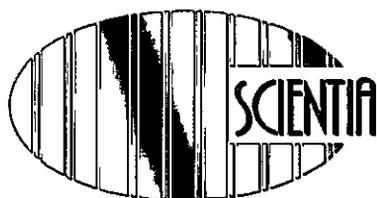
SCIENTIA



SCIENTIA

Vol. 14 • No. 1

Vol. 14 • No. 1 • Junio de 1999



**Revista de Investigación de la
Universidad de Panamá**



Publicación de la Vicerrectoría
de Investigación y Postgrado



**AUTORIDADES DE LA
UNIVERSIDAD DE PANAMA**

**Dr. Gustavo García de Paredes
RECTOR**

**Dr. Carlos Brandaris Z.
VICERRECTOR ACÁDEMICO**

**Mgter. Luzmila R. de Young
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO**

**Mgter. Néstor Castillo R.
VICERRECTOR DE EXTENSIÓN**

**Mgter. Osman Robles
VICERRECTOR DE ASUNTOS ESTUDIANTILES**

**Mgter. Gloriela de Rengifo
VICERRECTORA ADMINISTRATIVA**

**Dra. Betty Anna Rowe de Catsambanis
SECRETARIA GENERAL**

NOTA EDITORIAL

La erradicación de los mosquitos transmisores de la fiebre amarilla y palúdica fue quizás la contribución más perdurable que el equipo sanitario del ejército norteamericano realizó en el Istmo de Panamá. Labor que, al mejorar las condiciones de salud a lo largo de la ruta interoceánica, facilitó la construcción del Canal de Panamá. Este empeño está asociado a la figura del Coronel William C. Gorgas y a miles de panameños quienes colaboraron conjuntamente hasta la completa eliminación de muchos de los insectos vectores de las enfermedades antes mencionadas. No obstante, la erradicación no fue absoluta. Tal y como sugiere la Teoría Darwinista de la Evolución, todo cambio en las condiciones que rodean las poblaciones de un organismo, comporta la selección de aquellos individuos que posean una característica que le permita evadir el cambio ambiental. Razón por la cual, hoy día, se cierne sobre la población panameña el peligro de la reaparición de enfermedades tales como el dengue y la fiebre amarilla, entre otras, mientras que el número de los insectos portadores de dichas enfermedades aumenta alarmantemente.

El panameño nunca ha sido inconsciente de los peligros que el retorno de dichas plagas puede tener para nuestra salud colectiva, así como el interés intrínseco que rodea el estudio de la biodiversidad ístmica. En este contexto sobresalen dos investigadores panameños: Pedro Galindo y Abdiel J. Adames. La labor de ambos investigadores está indisolublemente asociada a los trabajos y los días del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICG). El primero de ellos se unió al ICG, en forma temporal, en 1947, después de concluir estudios en la prestigiosa Universidad de California, Berkeley; y permanentemente a partir de 1950, llegando a ser el primer Director panameño de la venerable institución. Su actividad científica ha estado asociada al estudio de la biología de los mosquitos, lo que le ha valido que su nombre esté ligado a un género

(*Galindomyia*) y cinco especies de dípteros (*Culex galindoi*, *Aedes galindoi*, *Lutzomyia galindoi*, *Culicoides galindoi* y *Bolbodomyia galindoi*). El segundo también se ha dedicado al estudio de los dípteros e igualmente su nombre está unido a una especie de ellos (*Culex adamesis*) y fungió como Rector de la Universidad de Panamá durante el período más difícil de su historia (1986-1991). Del trabajo de estos dos estudiosos panameños nació la contribución que presentamos a nuestros lectores, que consiste en una clave genérica de identificación de hembras de mosquitos panameños, que viene a llenar un vacío enorme para el debido estudio de la rica fauna de insectos nacionales. *Scientia* se siente honrada en presentar dicha contribución, en momentos en que los panameños nos aprestamos a tomar la responsabilidad completa de la administración, mantenimiento y defensa de la vía interoceánica, como la evidencia más clara de que estamos preparados técnica y científicamente para asumir tal responsabilidad.

En este número se incluyen otros tres trabajos de carácter biológico. Uno dedicado al crecimiento y reproducción del pargo rojo (*Lutjanus peru*), el primero sobre esta especie publicado en la literatura nacional. Otro, dedicado a la riqueza de insectos formadores de agallas, cuyas características ecológicas se reportan por vez primera. El último comprende el estudio comparado de las capacidades osmorregulatorias y metabólicas de tres especies de erizos de mar (*Echinometra lucunter*, *E. viridis* y *E. vanbrunni*) cuya conducta fisiológica, a este respecto, arroja luces acerca de los complejos procesos evolutivos que resultaron de la emergencia de Istmo de Panamá hace aproximadamente tres millones de años.

El estudio del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ha tomado en las últimas dos décadas una importancia inusitada debido a su alto nivel de morbilidad. No obstante, la biología del virus causante de la enfermedad, el virus de inmunodeficiencia humano (VIH) es en sí misma tan interesante como los síntomas del proceso morboso que causa. En efecto, mientras más conocemos de la estructura y funcionamiento del

VIH, más nos sorprende. De allí que sorprendamos a nuestros lectores incluyendo un artículo acerca de la fisiología del virus de inmunodeficiencia bovina (BIV) y que la extendamos al informarles que virus similares al VIH abundan en el reino animal y que su estudio puede clarificar tanto las causas del SIDA, como su cura.

Dos artículos dedicados a las ciencias físicas y químicas cierran el presente número. En el último caso, se continúa con una asociación extremadamente fecunda entre la Universidad de Panamá y la de Oriente, en Venezuela. Los investigadores de la nación hermana han dedicado gran parte de su esfuerzo al estudio oceanográfico de la costa nordeste de Venezuela y han encontrado en *Scientia* el sitio adecuado para la divulgación de sus investigaciones. Nos sentimos honrados de publicar dichos estudios pues cumplimos con la principal labor de una Revista como la nuestra: dar divulgación a los trabajos regionales, que constituyen el lugar donde las metodologías y los conocimientos obtenidos a través de ellas son más útiles y necesarios.

El trabajo de Flores, Carrera y Prado es importante desde el punto de vista tanto técnico como científico pues permite ejemplificar lo ventajoso que resulta el uso simultáneo de procedimientos empíricos y los de simulación, evitando así la innecesaria y poco económica repetición de experimentos.

CLAVE GENÉRICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS HEMBRAS DE MOSQUITOS DE PANAMÁ (*Diptera, Culicidae*).

ABDIEL J. ADAMES¹ Y PEDRO GALINDO²

¹ Departamento de Zoología,
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología,
Universidad de Panamá.

² Director Emérito,
Instituto Conmemorativo Gorgas
de Estudios de la Salud.

RESUMEN

La clave que se publica a continuación es una contribución al conocimiento básico de los mosquitos de Panamá con la finalidad de que pueda ser utilizada por estudiantes, entomólogos, sanitaristas, médicos salubristas y toda persona interesada en los mosquitos del país.

PALABRAS CLAVES

Mosquitos, Díptera, culícidos, identificación de las hembras, clave genérica.

INTRODUCCIÓN

La clave genérica para la identificación de las hembras de los mosquitos de Panamá que aquí se presenta está basada parcialmente en un documento inédito elaborado por el coautor de esta publicación cuando fungía como investigador en el entonces Laboratorio Conmemorativo Gorgas. Transcurridas varias décadas desde la elaboración de esta clave se han descrito nuevos géneros de mosquitos y se han efectuado cambios en la clasificación genérica en la familia Culicidae. A la clasificación de los mosquitos de Panamá se le han incluido los nuevos géneros *Shannoniana*, *Johnbelkinia*, *Runchomyia* y *Coquillettidia* elevando de 17 a 21 el

número de estos. Esta nueva clave introduce la terminología morfológica descriptiva de Harbach y Knigh (1980). Las ilustraciones de la morfología externa de los mosquitos adultos fueron tomadas de Belkin (1962).

Las Figuras 1 a 6 presentan las estructuras morfológicas externas de los mosquitos adultos que están referidas a lo largo de la clave a continuación:

CLAVE

1. Palpos maxilares casi tan largos como la proboscis.....2
 - Palpos maxilares mucho más cortos que la proboscis, pueden alcanzar hasta la mitad de ésta como máximo4
- 2 (1). Proboscis rígida y encorvada hacia abajo. Mosquitos muy grandes de colores metálicos.....*Toxorhynchites*
 - Proboscis flexible y más o menos recta. Especies pequeñas o de tamaño mediano y de colores opacos3
- 3 (2). Escutelo trilobulado, con cerdas distribuidas en tres grupos distintos; dos prominentes penachos laterales de escamas largas espatuladas justamente anterior a la base del ala (una especie solamente).....
.....*Chagasia bathana*
 - Escutelo redondeado, con cerdas distribuidas homogéneamente; sin penachos de escamas espatuladas anteriores a la base del ala.....*Anopheles*
- 4 (1). Borde superior de la coxa posterior en línea con el margen superior del meron5
 - Borde superior de la coxa posterior muy por debajo del margen superior del meron.....12
- 5 (4). Cerdas en el área espiracular ausentes.....6
 - Cerdas en el área espiracular presentes.....7
- 6(5). Área espiracular con escamas. Especies pequeñas de colores amarillosos.....*Limatus*

- Área espiracular sin escamas. Especies de tamaño mediano, de color metálico con una tonalidad que va desde azul violáceo hasta azul verdoso.....*Haemagogus*
- 7 (5). Pronotos anteriores bastante separados, situados casi en posición lateral; occipucio con una línea posterior de conspicuas escamas oscuras erectas.....8
- Pronotos anteriores aproximados dorsalmente; occipucio sin una línea posterior de conspicuas escamas erectas.....11
- 8 (7). Longitud de la proboscis (0,85-1,20) del tamaño del fémur anterior; hilera de cerdas en la parte inferior de la esternopleura extendiéndose dorsalmente sobre el nivel del borde inferior del mesanepímero.....9
- Longitud de la proboscis (1,20-1,40) del tamaño del fémur anterior; hilera de cerdas en la parte inferior de la esternopleura no se extiende dorsalmente sobre el borde inferior del mesanepímero.....10
- 9 (8). Tibia posterior sin banda clara postmedia; lateroterguito sin escamas basales y parcialmente con escamas distales, su margen inferior visible; membrana postcoxal sin escamas.....*Trichoprosopon*
- Tibia posterior con banda clara completa o incompleta; membrana postcoxal con escamas.....*Shannoniana*
- 10 (8). Tarsómeros medios y posteriores parcialmente con escamas blancas; escuto con escamas anchas y planas, escamas del vértice y occipucio con reflejos plateados brillantes y azul celeste.....*Johnbelkinia*
- Tarsómeros medios y posteriores con escamas oscuras, escuto con escamas delgadas y curvas o escamas del vértice y occipucio sin reflejos plateados, solamente con reflejos verdes o azules débiles o moderados.....*Runchomyia*
- 11 (7). Cerdas prealares ausentes; escuto cubierto con escamas planas de color metálico y con destellos brillantes iridiscentes. Patas medias en ocasiones con un penacho de escamas erectas tibiotarsales. Especies grandes de colores metálicos azules o verdosos.....*Sabethes*
- Cerdas prealares presentes; escuto generalmente con escamas oscuras, no metálicas y sin destellos brillantes iridiscentes. Patas medias sin

- penacho de escamas erectas. Especies pequeñas o medianas de colores opacos.....*Wyeomyia*
(Excepto *Wyeomyia arborea*)
- 12 (4). Apice de la vena anal (IA) termina a un nivel igual a la bifurcación de las venas Cu1 y Cu2; celda R2 mucho más pequeña que la vena R2+3. Especies pequeñas, tórax generalmente con escamas azulosas.....*Uranotaenia*
- Ápice de la vena anal (IA) extendiéndose distalmente más allá de la bifurcación de las venas Cu1 y Cu2; celda R2 más grande que la vena R2+3.....13
- 13 (12). Cerdas postspiraculares presentes.....14
- Cerdas postspiraculares ausentes.....17
- 14 (13). Escamas anchas y aplastadas sobre la superficie dorsal de las venas R2 y R3 del ala; terminación del abdomen truncado.....15
- Escamas plumosas sobre la superficie dorsal de las venas R2 y R3 del ala; abdomen más o menos puntiagudo.....16
- 15 (14). Fémures con una banda blanca preapical conspicua sobre la superficie anterior; ala con escamas oscuras.....*Coquillettidia*
- Fémures sin banda preapical sobre la superficie anterior; conspicuamente manchados con escamas oscuras y claras; ala moteada con escamas pálidas.....*Mansonia*
- 16 (14). Cerdas espiraculares presentes.....*Psopophora*
- Cerdas espiraculares ausentes.....*Aedes*
- 17 (13). Cerdas espiraculares presentes; base de la subcosta del ala sin una hilera de cerdas ventralmente (Una especie solamente).....*Culiseta participes*
- Cerdas espiraculares ausentes; base de la subcosta del ala sin una hilera de cerdas ventralmente.....18

- 18 (17). Tarsómero 4 de las patas anteriores corto, tan ancho como largo
*Orthopodomyia*
- Tarsómero 4 de las patas anteriores más largo que ancho.....19
- 19 (18). Antena con flagelómeros cortos, apenas más largos que anchos;
 fémur medio con mechón de escamas largas subapicalmente (Una
 especie solamente).....*Aedeomyia squamipennis*
- Antena con flagelómeros largos; fémur medio sin penacho de escamas
 largas subapicalmente.....20
- 20 (19). Antena mucho más larga que la proboscis; flagelómero 1 muy
 alargado, mucho más largo que el 2.....*Deinocerites*
- Antena más o menos del mismo largo que la proboscis; flagelómero 1
 del mismo largo que el 2.....*Culex*

SUMMARY

KEY IDENTIFICATION FOR FEMALE MOSQUITOES OF PANAMA (DIPTERA, CULICIDAE).

The identification key publish here in is a contibution to the basic know-
 ledge of the panamanian mosquitoes with the purpose to be utilize by stu-
 dents, entomologist, health specialists, physician and by any person inte-
 rested in the mosquitoes of our country.

KEYWORD

Mosquitoes, Diptera, culicini, female identification, identification key.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELKIN, J. 1962. **The Mosquitoes of the South Pacific.** California,
 Berkeley y Los Angeles, University of California Press, Vol. 2: 412 pp.

HARBACH, R.E. y KNIGHT, K.L. 1980. **Taxonomists' Glossary of
 Mosquito Anatomy.** Nueva Jersey, Plexus Publishing, Inc.

Figura 1.

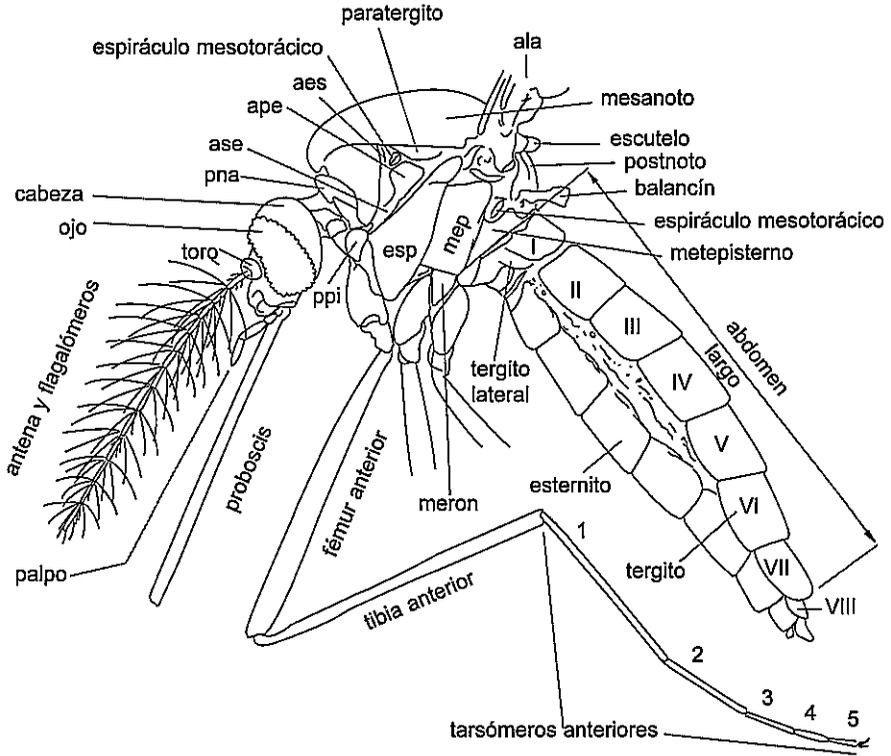


Figura 2.

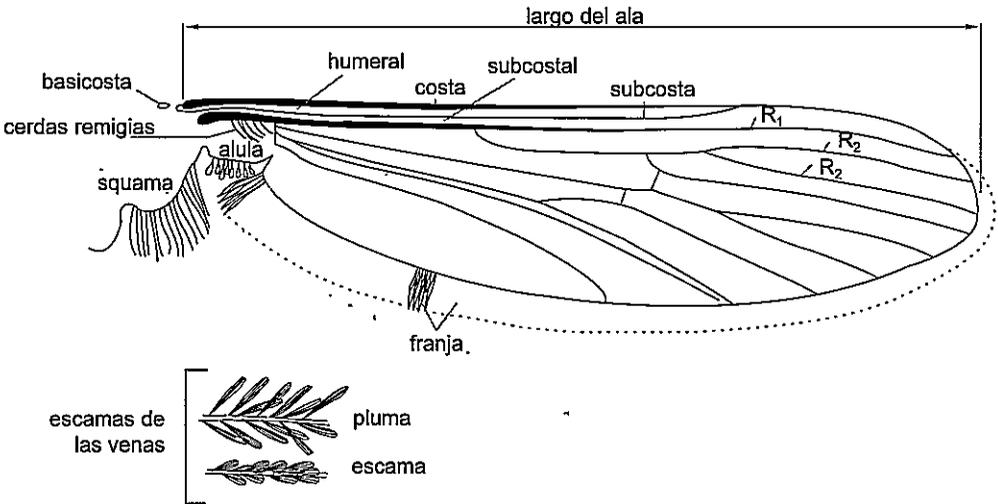


Figura 3.

Tórax-cerdas dorsales

Tórax-escamas dorsales

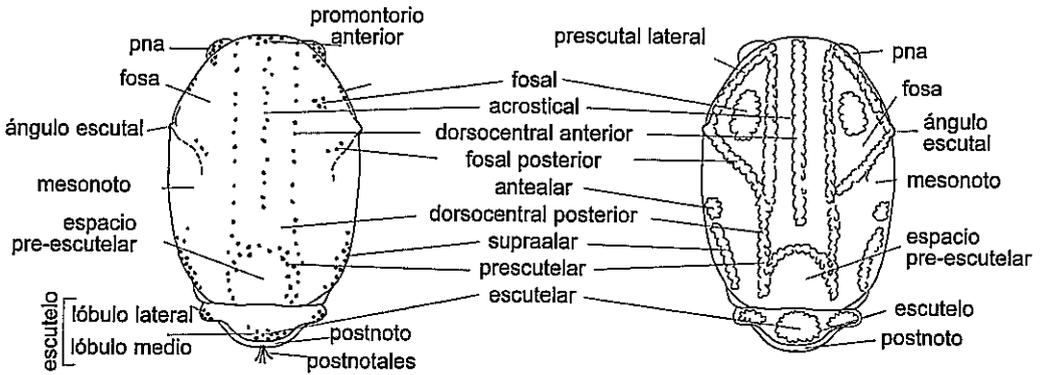


Figura 4.

Cabeza-anterior

Cabeza-lateral

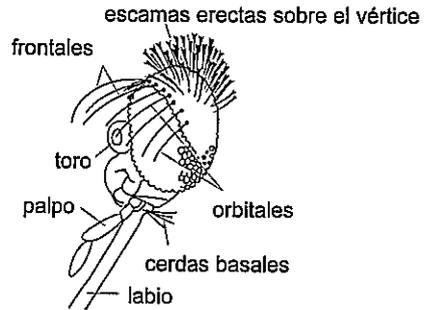
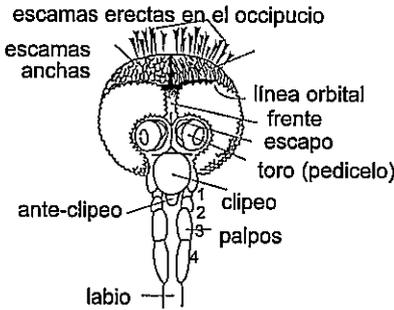


Figura 5.

Tórax-cerdas laterales

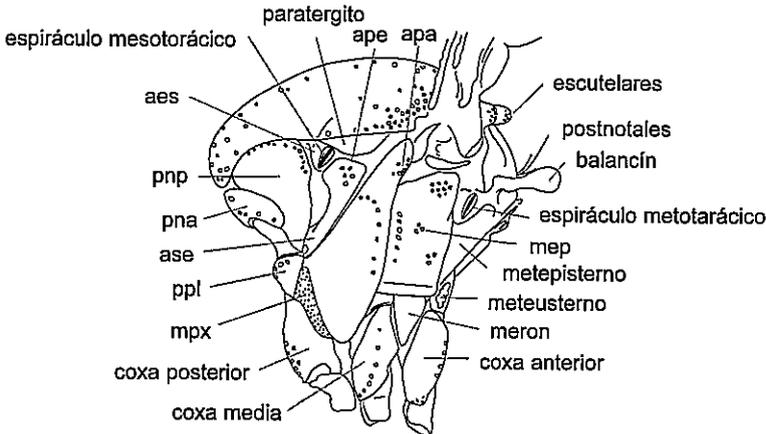
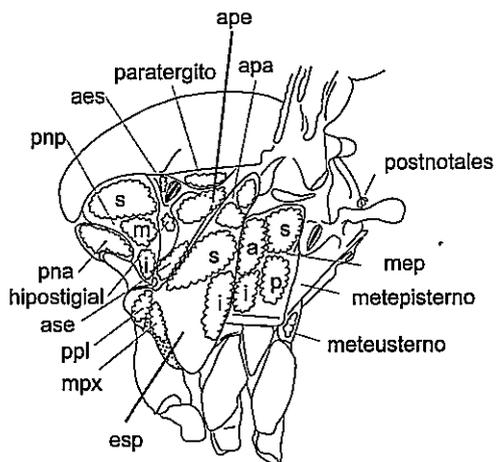


Figura 6.
Tórax-escamas laterales



a = anterior
i = inferior
m = medio
p = posterior
s = superior

ABREVIATURAS

- pna = pronoto anterior
- mep = mesanepímero
- mpx = membrana postcoxal
- pnp = pronoto posterior
- ape = área postespiracular
- ppl = propleura
- apa = área prealar
- pes = proesterno
- aes = área espiracular (preespiracular)
- ase = área subespiracular
- esp = esternopleura

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA BIOLOGÍA PESQUERA DEL PARGO ROJO (*Lutjanus peru*) DEL PACÍFICO DE PANAMÁ

RICAURTE L. PACHECO TACK¹ y CARMEN CECILIA RODRÍGUEZ²

¹ Centro de Ciencias del Mar y Limnología,
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología,
Centro Regional Universitario de Veraguas,
Universidad de Panamá.

² Escuela de Estadística,
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología,
Universidad de Panamá.

RESUMEN

Entre los meses de abril y diciembre de 1990 se colectaron un total de 433 individuos (179 machos y 254 hembras) de *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) en aguas del Pacífico de Panamá. La proporción mensual entre machos y hembras varió entre 0,38 y 2.

La recta de regresión que relaciona la longitud total con el peso del pargo rojo está dada por la expresión:

$$\text{Log}_{10} \text{Peso} = -3,881 + 2,6252 * \text{Log}_{10} \text{Lt.}$$

A escala macroscópica se determinaron 7 estadios de maduración gonadal en las hembras y 6 en los machos. De acuerdo a la evolución del índice gonadosomático medio (IGSm) y la relación porcentual mensual de las distintas fases de maduración, la especie se reproduce en la época lluviosa. Entre los 30 y 45 cm de longitud, el pargo seda ingresa al estado adulto. Las hembras alcanzan su maduración por vez primera a una longitud mínima de 30,7 cm y los machos a los 35,3 cm.

PALABRAS CLAVES

Peces, Lutjanidae, *Lutjanus peru*, pargo seda, pargo rojo.

INTRODUCCIÓN

La especie *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) conocida comúnmente como pargo seda, pargo rojo, pargo gringo (Ecuador), huachinango (México), *Pacific red snapper* (inglés) y *Vivaneau garance* (francés), se distribuye en el Pacífico Oriental desde México al Perú; habita cerca de la franja litoral y se la halla asociada a fondos duros rocosos o coralinos.

En Panamá, debido a sus hábitos demersales, los barcos dedicados a la pesca de camarones suelen capturarla incidentalmente durante las maniobras de arrastre. Durante años, su pesca ha sido considerada como de subsistencia; no obstante, debido a la textura y al sabor de su carne, el pargo seda es muy solicitado en el mercado interno donde se cotiza entre B/. 1,45 y B/.1,60 por libra de producto fresco y entero. Además, su demanda en los últimos años se ha incrementado en las plazas internacionales, entre las que destacan las de Miami y Nueva York.

De acuerdo a las Estadísticas Pesqueras 1981-1990 (Dirección General de Recursos Marinos, DIGEREMA, 1992), las capturas registradas por la pesca artesanal de las distintas especies de pargos variaron entre las 254 y 2380 Tm. En 1981, las extracciones de pargos representaron el 17,26 % de la pesca artesanal y, en 1990, ascendieron al 38,99 %. A pesar de no mantenerse un registro periódico del peso de las capturas correspondientes específicamente al *L. peru*, se infiere que el mismo está sometido a un esfuerzo de pesca desmesurado debido a la preferencia de las firmas exportadoras locales ante su precio en el mercado norteamericano. En efecto, el precio promedio pagado en Miami (entre el 20 de enero y el 5 de junio de 1997) para el producto entero, filete con piel, y filete sin piel ha sido de 2,45; 4,65 y 4,88 dólares americanos (US\$), respectivamente. Hasta el presente, no se han realizado en nuestro medio estudios relacionados con la biología pesquera del pargo rojo; por ello, los resultados aquí expuestos servirán de marco de referencia para las futuras investigaciones vinculadas al establecimiento de un plan de manejo de su pesquería.

PARTE EXPERIMENTAL

En el mar:

Los especímenes fueron pescados mediante el uso de un cordel armado con 3 a 4 anzuelos, provisto de un peso en su extremo distal para con-

trarrestar el efecto de las corrientes. Luego de ser izados fueron separados e identificados (con una placa de aluminio numerada inserta en la región de la mejilla) y colocados en la bodega del barco, bajo hielo escarchado para su traslado a los laboratorios en la Universidad de Panamá.

En el laboratorio:

Los ejemplares eran lavados con agua corriente y acomodados, para su conservación, en neveras portátiles de poliestireno llenas de hielo hasta 1/3 de su volumen. La longitud total (Lt) se estimó al medio centímetro inferior, con un ictiómetro (confeccionado acorde a las normas de FAO; en Holden y Raitt (1975) provisto de una regla de acero inoxidable CTHRU de 910 mm de longitud. El peso (p) en gramos, redondeado a la primera cifra decimal, de cada uno de los especímenes se determinó mediante el uso de una balanza granataria analógica de tipo comercial. El peso de las gónadas se determinó mediante el uso de una balanza electrónica Marca Metler modelo H80. Al inicio del proyecto, para el análisis de las características morfométricas, se utilizaron: 1) un calibre vernier SCALA de 160 mm provisto de un lector analógico con una precisión de 0,05 mm y 2) un compás de tornillo micrométrico ROTRING modelo 530.224 provisto de una extensión lateral.

Los especímenes que presentaron alguna dificultad para su ubicación sistemática (una vez pesados y medidos) se introducían en bolsas de polietileno, con alcohol al 70 por ciento, debidamente rotuladas con etiquetas confeccionadas en papel de hilo.

La relación entre la longitud total y el peso para el conjunto de individuos de cada sexo se estimó mediante el método de mínimos cuadrados (modelo predictivo) y para ello se utilizó la expresión:

$$p = a * Lt^b \quad (1)$$

Con la finalidad de linealizar el modelo, los parámetros Lt y p fueron transformados mediante el uso de logaritmos de base diez y se obtuvo la ecuación:

$$\text{Log}_{10} p = a + b * \text{Log}_{10} Lt \quad (2)$$

donde la constante "a" representa el valor de la recta de regresión cuando intercepta al eje de las ordenadas, y "b" la pendiente.

Para determinar si existen diferencias entre los coeficientes “ b” de las rectas de regresión Lt/p definidas para cada sexo, se utilizó la *prueba de igualdad de pendientes* expuesta en Sigarroat (1985) que emplea la *t de Student* de manera análoga a su utilización para probar las diferencias entre dos medias poblacionales.

El test estadístico es:

$$t = \frac{b_1 y b_2}{(Sb_1 - b_2)}$$

en el cual b_1 y b_2 representan el valor de la pendiente de cada curva y $(Sb_1 - b_2)$ el coeficiente de regresión. Para detectar posibles diferencias entre las longitudes totales y entre los pesos obtenidos para el total de los individuos de cada sexo, se realizó una prueba de normalidad de datos para constatar si se distribuían en forma normal. En ambos casos, se tuvo que recurrir, posteriormente, a la prueba no paramétrica de *Kruskal-Wallis* (Steell y Torrie, 1996); toda vez que este tipo de análisis de varianza (ANOVA) no requiere asumir que las muestras proceden de poblaciones distribuidas normalmente y que poseen varianzas iguales.

La hipótesis nula (H_0) asume que no hay diferencias entre la distribución de los valores de los grupos comparados.

El Índice Gonadosomático (IGS) se estimó mediante el modelo:

$$IGS = \frac{Pg}{P - Pg} * 100$$

donde P = peso del cuerpo y Pg = peso de gónadas en gramos

RESULTADOS

Estructura de las colectas:

Las muestras fueron extraídas entre abril y diciembre de 1990 en las estaciones indicadas en el Cuadro 1.

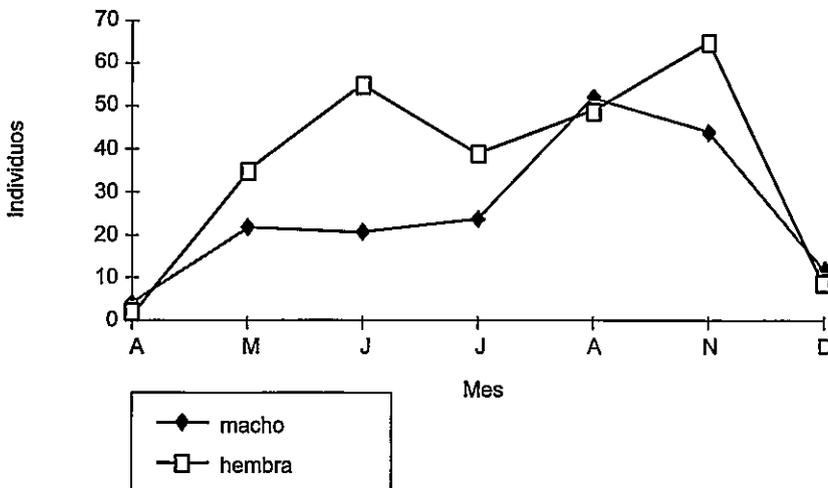
Cuadro 1.
Estaciones de colecta*.

Muestra	Fecha	Lat.(N)	Long. (W)
PR-01/90	25/IV	7° 18,64'	81° 03,27'
PR-2/90	9/V	8° 02,00'	78° 40,00'
	24/V	8° 02,71'	78° 40,48'
PR-4/90	12/VI	8° 04,00'	78° 00,93'
PR-5/90	27/VII	7° 52,00'	82° 29,00'
	28/VII	7° 42,00'	81° 39,00'
	29/VII	7° 16,00'	81° 03,00'
PR-6/90	14/VIII	7° 17,00'	81° 19,00'
PR-7/90	15/XI	8° 00,20'	78° 40,00'
PR-9/90	13/XII	8° 00,92'	78° 48,28'
	14/XII	8° 12,07'	78° 09,89'

*Coordenadas en sistema decimal

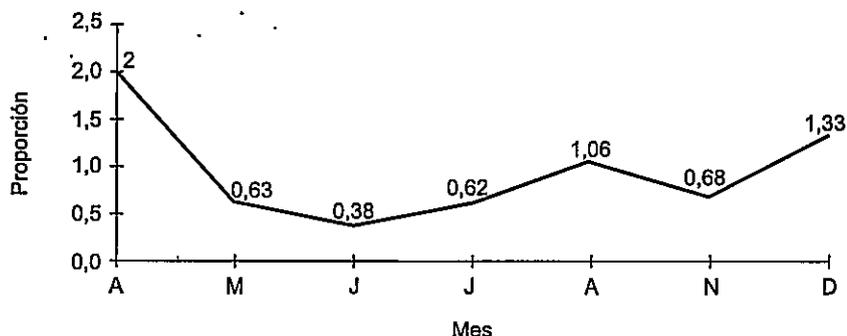
Se colectaron un total de 433 individuos (179 machos y 254 hembras); en la Figura 1, se puede observar que las hembras siempre se presentaron en mayor número a excepción de abril y diciembre.

Figura 1.
Número de individuos por mes y por sexo.



La proporción mensual macho : hembra varió entre 0,38 a 2 y la misma se muestra en la Figura 2. La proporción más equitativa correspondió a los meses de mayo y julio.

Figura 2.
Proporción mensual machos : hembras.



Las longitudes totales estuvieron comprendidas entre 304 y 785 mm. En el Cuadro 2 se muestra la variación de la Lt para cada sexo.

Cuadro 2.
Variación total de la Lt. (mm) por sexo.

Sexo	Lt Max	Lt Min	Media	Mediana
Machos	767	305	422,8	411
Hembras	785	304	434,2	412

Los pesos variaron entre 300 y 5700 g. En su conjunto, las hembras se pueden considerar más robustas debido a que presentaron un peso medio e intervalo de variación mayor que el observado en los machos. En el Cuadro 3 se muestra la variación del peso en cada sexo.

Cuadro 3.
Variación del peso(g) por sexo.

Sexo	P Max	P Min	Media	Mediana
Machos	4000	402	1081,86	1000
Hembras	5700	300	1219,35	1000

La variación de la biomasa muestral total por sexo y por mes se puede observar en el Cuadro 4. En el mismo, se aprecia que el menor peso de las capturas correspondió a diciembre (17,9 Kg) y el mayor a mayo (407,69 Kg). Siendo superior la biomasa de las hembras a excepción de junio y diciembre.

Cuadro 4.
Variación de la biomasa (Kg) por sexo y mes.

Sexo	A	M	J	J	A	N	D
Machos	87,18	19,37	224,14	37,06	57,59	36,35	12,15
Hembras	193,68	388,32	62,55	63,66	68,15	66,63	5,75
Total	280,86	407,69	286,69	100,72	125,74	102,98	17,9

Relación Lt/p

Las curvas de regresión que relacionan las longitudes totales y los pesos para cada sexo corresponden a las ecuaciones:

$$\text{hembras: } \text{Log}_{10} P = -4,033 + 2,6841 * \text{Log}_{10} Lt \quad (5)$$

$$\text{machos: } \text{Log}_{10} P = -3,527 + 2,4893 * \text{Log}_{10} Lt \quad (6)$$

Inicialmente el conjunto de las longitudes totales registradas en los machos se comparó con las longitudes totales determinadas en las hembras mediante un análisis de normalidad de distribución de los datos. Al fallar éste, se optó por utilizar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, para detectar posibles diferencias significativas entre las longitudes totales de ambos sexos y se obtuvo el resultado siguiente:

PRUEBA KRUSKAL-WALLIS PARA LONGITUD TOTAL

grupos	n	Perdidos	Mediana	25%	75%
Lt (machos)	179	0	412,00	386,00	442,250
Lt (hembras)	254	0	412,00	391,00	450,0

$$H = 0,937 \text{ con } 1 \text{ grado de libertad (} p = 0,333)$$

El resultado obtenido implica que las diferencias entre los grupos tratados no son tan grandes para poder excluir la posibilidad de que las mismas se deban al azar, y por lo tanto, permite considerar que no se observan diferencias estadísticas significativas ($p = 0,333$) entre las longitudes totales de los machos y de las hembras.

En el caso de los pesos, luego de efectuar una prueba de *normalidad de distribución de los datos*, se observó que los mismos no se distribuían normalmente y, por ello, se utilizó de nuevo el análisis de *Kruskal-Wallis* el cual arrojó el resultado siguiente:

PRUEBA KRUSKALL-WALLIS PARA EL PESO

grupos	n	Perdidos	Mediana	25%	75%
peso (machos)	179	0	1000,00	774,645	1200,00
peso (hembras)	254	0	1000,00	800,00	1250,00

H=1,579 con 1 grado de libertad ($p = 0,209$)

El resultado obtenido implica que las diferencias entre los grupos tratados no son tan grandes para poder excluir la posibilidad de que las mismas, se deban al azar y, por lo tanto, permite considerar que no se observan diferencias estadísticas significativas ($p = 0,209$) entre los pesos de los machos y de las hembras.

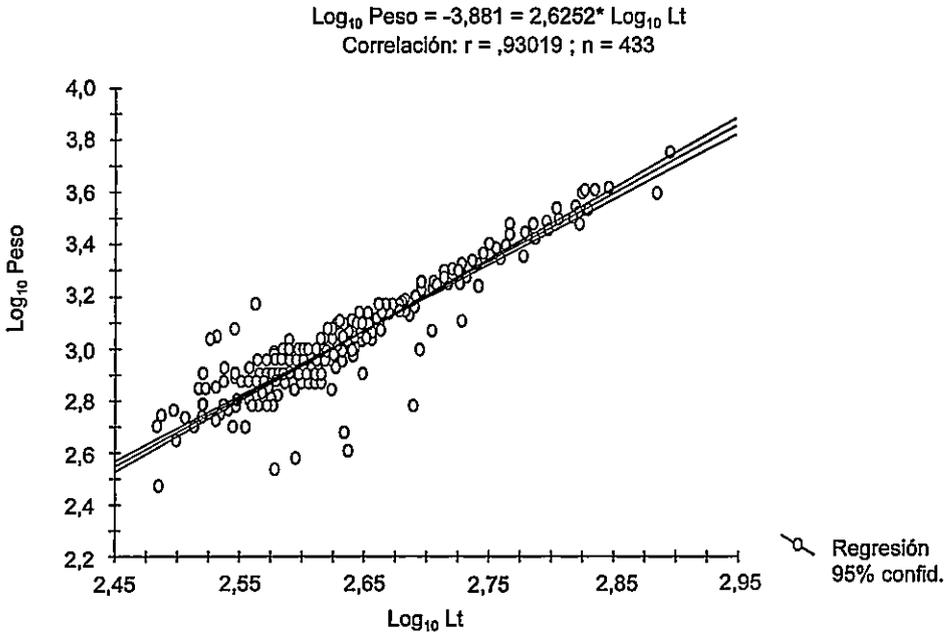
Ambas inferencias posibilitan considerar una sola curva de regresión de Lt/p para el total de la población. La cual se ha representado en la Figura 3.

Al aplicar la prueba de igualdad de pendientes (Sigarroa, 1985) a las curvas de regresión Lt/p obtenidas separadamente para los machos y las hembras se obtuvo un valor de $t = 0,16202$ inferior al valor que asume $t(1,96)$ para infinitos grados de libertad y $p = 0,05$ lo que permite considerar que las pendientes de ambas curvas son iguales y, por lo tanto, la ecuación:

$$\text{Log}_{10} P = -3,881 + 2,6252 * \text{Log}_{10} Lt \quad (7)$$

es aplicable al conjunto de la población ($r = 0,91084$).

Figura 3.
Relación entre la longitud total (Lt) y el peso: población total.



Ciclo reproductivo:

Como la mayoría de los peces, el pargo rojo presenta una sucesión de períodos de reposo que alternan con otros de actividad gonadal. Para definir los cambios macroscópicos gonadales observables a lo largo del año, se han establecido para ambos sexos, de acuerdo con distintos autores, la siguiente escala de maduración (Cousseau, 1967; Holden y Raitt, 1975; Macer, 1974 y Pacheco, 1991).

HEMBRAS

1. Inmadurez virginal
2. Premadurez
3. Maduración incipiente
4. Maduración avanzada
5. Maduración total
6. Desove
7. Reversión

MACHOS

1. Inmadurez virginal
2. Premadurez
3. Maduración incipiente
4. Maduración avanzada
5. Maduración total
6. Reversión

Descripción de los estadios de madurez en las hembras:

- Inmadurez virginal (1)

Gónadas filamentosas o acintadas, color rosa pálido o crema blancuzco, localizadas bajo la vejiga natatoria cerca de la papila urogenital, a la cual se aplican firmemente.

- Premadurez (2)

Ovarios tubiliformes, de color rosa pálido translúcidos; el extremo anterior delgado, se confunde con un mesovario denso; aspecto granuloso.

- Maduración incipiente (3)

Ovarios elípticos, turgentes de color rosa - amarillo y con una fina irrigación en toda la superficie. Los ovocitos se pueden distinguir a simple vista.

- Maduración avanzada (4)

Ovarios alargados, ovoides al corte transversal y de coloración amarillo-naranja sobre la cual destaca una red densa de vasos sanguíneos. El extremo anterior generalmente más voluminoso. Los ovocitos se visualizan a través del mesovario. Aspecto granuloso.

- Maduración total (5)

Gónada voluminosa ocupa toda la cavidad corporal. Color amarillo brillante con vasos gruesos. El mesovario presenta un aspecto tirante y a su través se observan los ovocitos.

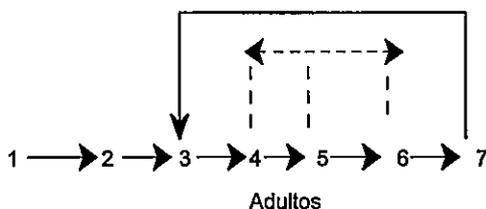
- Desove (6)

Ovarios flácidos, de color amarillo rojizo con signos evidentes de hemorragias y una red de vasos dilatados.

- Reversión (7)

Los ovarios han perdido volumen, con respecto al estadio 6, turgentes, de color gris rojizo. Vasos congestionados, mesovario flácido. La Figura 4 resume los cambios en el ámbito macroscópico durante el ciclo de maduración ovárico del pargo seda.

Figura 4.
Ciclo de maduración ovárica



Descripción de los estadios de madurez en los machos:

- Inmadurez virginal (1)

Testículos filiformes, muy próximos entre sí, situados bajo la vejiga natatoria. Coloración beige-grisácea. Difícilmente se distinguen del mesorquio como así también de los ovarios inmaduros.

- Premadurez (2)

Ovarios tubulares, color gris lechoso, consistencia flocular. La mayor parte de la glándula se halla rodeada de tejido conectivo adiposo.

- Maduración incipiente (3)

Gónadas aplanadas en sentido dorso lateral el borde inferior libre y de menor espesor. Color crema-rojizo. En la superficie se observa una fina red de capilares sanguíneos

- Maduración avanzada (4)

Testículos bien desarrollados, aplanados lateralmente, irregulares con estrías que les confieren un contorno lobulado. Color crema-naranja, aspecto flocular, macizos. Vasos sanguíneos bien desarrollados. Al presionarlos, fluye el líquido seminal.

- Maduración total (5)

Testículos planos, compactos, densos que ocupan toda la cavidad corporal. Color crema-leche o salmón. Vasos grandes, conspicuos y a una ligera presión eliminan líquido seminal.

- Reversión (6)

Gónada flácida, con manchas parduscas o grises de aspecto hemorrágico. Vasos sanguíneos dilatados y congestionados.

La Figura 5 resume los cambios durante el ciclo de maduración testicular.

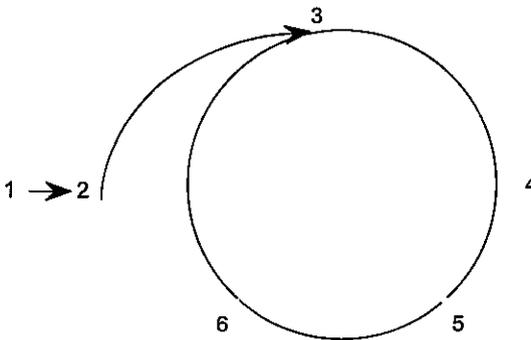


Figura 5.
Ciclo de madurez testicular.

Distribución de frecuencias por etapa de madurez en hembras y machos del pargo rojo:

De acuerdo a las Figuras 6 y 7 que representan, respectivamente, la ocurrencia porcentual de las fases de maduración para hembras y machos en el transcurso del año, los estadios más conspicuos (en número de individuos y presencia) fueron los de premadurez (2) y maduración incipiente (3). En efecto, se obtuvieron individuos en estadio 2 en los meses de mayo a diciembre y en estadio 3 durante todo el período del estudio lo que permite inferir que a la población, se le agregan continuamente ejemplares que han alcanzado cierto desarrollo corporal que les posibilita competir por el alimento o escapar de los ataques de los más robustos. Se colectaron hembras en maduración avanzada (4) entre los meses de mayo y agosto como también, en noviembre las cuales representaron, entre el 1,54 % (noviembre) y 10,91 % (junio) de las hembras en las respectivas colectas. Hembras con maduración total (5) se obtuvieron entre julio y agosto variando la relación porcentual, entre 1,82 - 6,12 % y 1,92 - 9,52 %, respectivamente. En agosto se colectó una hembra con gónadas en fase de desove y se extrajeron otras en fase de reversión (7) en abril y julio.

Figura 6.
 Porcentaje de las fases de madurez por mes: hembras.

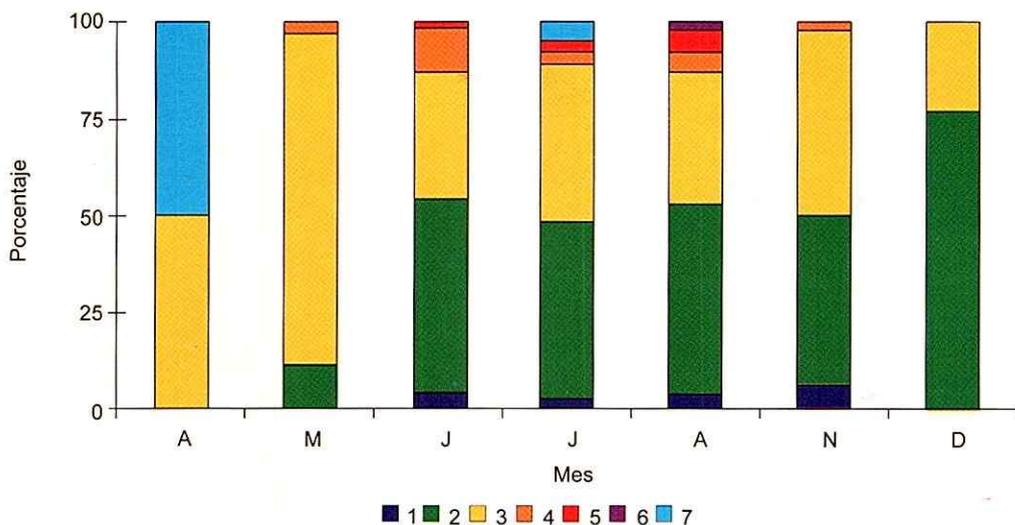
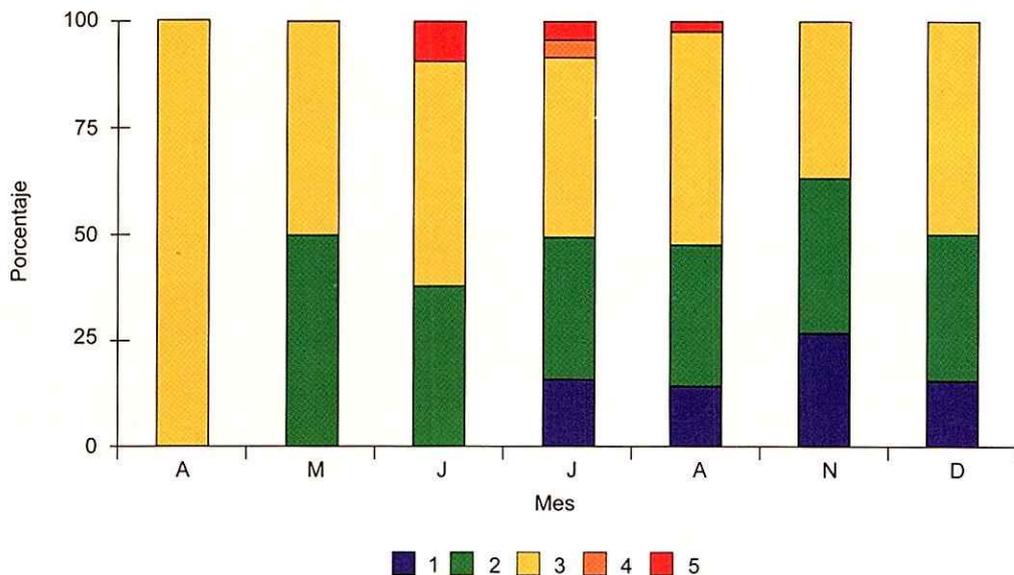


Figura 7.
 Porcentajes de las fases de madurez por mes: machos.



A pesar del escaso número de individuos en fases de maduración superior al estadio 3, lo descrito arriba permite considerar que la especie presenta un período de reproducción dilatado que coincide con la estación lluviosa (abril-octubre). Este comportamiento reproductivo coincide con lo observado en otras especies de pargos del Caribe y del Atlántico Sur. Guerra y Bashirullah (1975) expresan que las variaciones del peso del ovario en *Lutjanus griseus* (de la isla de Cubagua, Venezuela) permiten considerar un desove entre julio y octubre. Por su parte, Reshetnikov y Claro (1976) indican que la época de freza del *Lutjanus synagris* (de la plataforma cubana), se extiende entre abril y setiembre; consideran, además, que el principal factor que influye en los ciclos biológicos de los peces tropicales es la alternancia de las épocas seca y lluviosa. Barco y Bruger (1976) señalan que el *Lutjanus campechanus* (de la costa Oeste de la Florida) desova entre julio y octubre. Los diferentes aspectos que presentan, respectivamente, los ovarios y los testículos en distintas fases de maduración se pueden observar en las Figuras 8 y 9.

Cabe indicar que durante el desarrollo de la etapa de colecta, nunca se capturaron ejemplares con una Lt, menor o igual a 20 cm lo que posibilita considerar que en la especie se da una segregación de los individuos más jóvenes. En ambos sexos el índice gonadosomático (IGS) varía en forma sincrónica correspondiéndole al mes de junio el mayor valor absoluto tal como se observa en la Figura 10. Lo que permite considerar una vez más, una actividad reproductora acentuada a partir de junio que se extendería, a un ritmo menor, hasta finales de la época de lluvias. La Figura 11 permite observar que las tallas mínimas en las cuales las hembras y los machos ingresan al estado adulto (3), e inician su maduración sexual, son respectivamente 30,7 y 35,3 cm.

Figura 10.
Variación mensual del IGS medio por sexo.

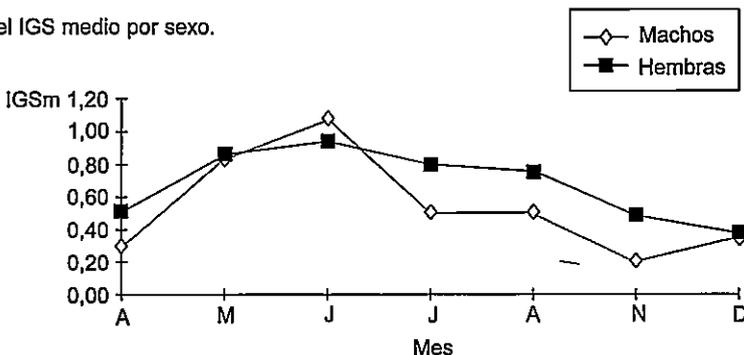
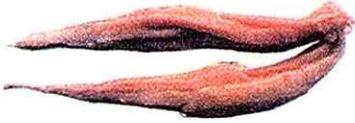
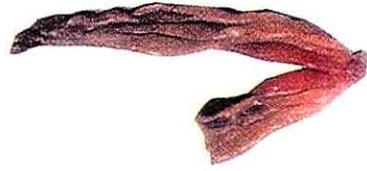


Figura 8.

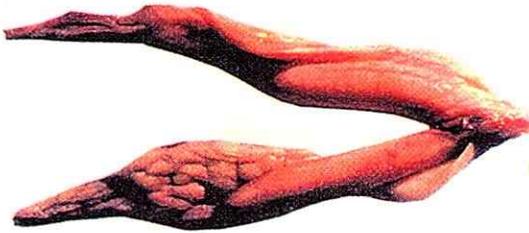
Aspectos macroscópicos del ovario en distintas fases de madurez.



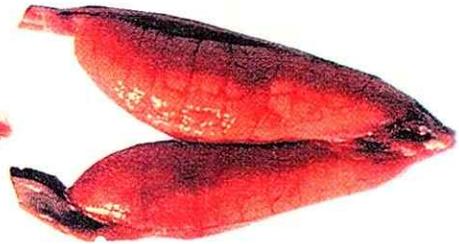
Inmadurez virginal



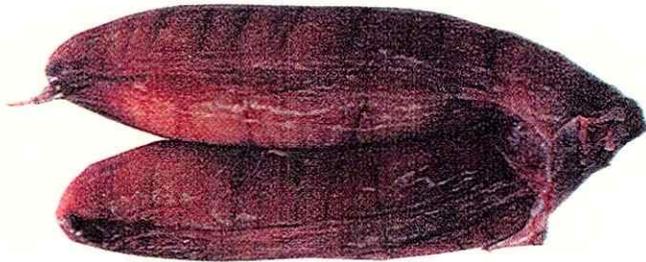
Premadurez



Maduración incipiente



Maduración avanzada



Desove

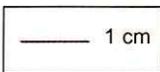
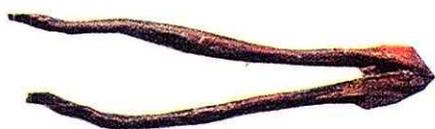
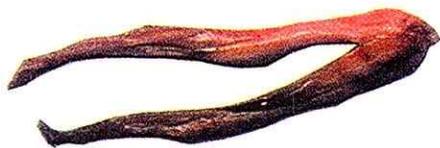


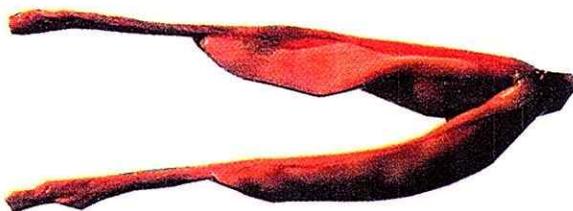
Figura 9.
Aspectos macroscópicos del testículo en distintas fases de madurez.



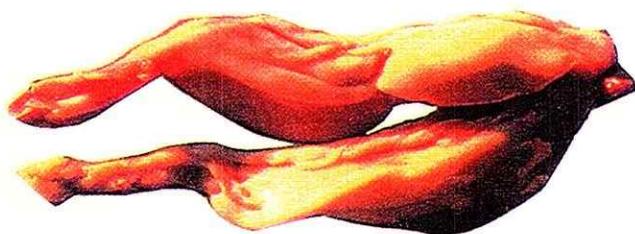
Inmadurez virginal



Premadurez



Maduración incipiente



Maduración avanzada

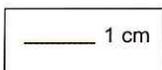
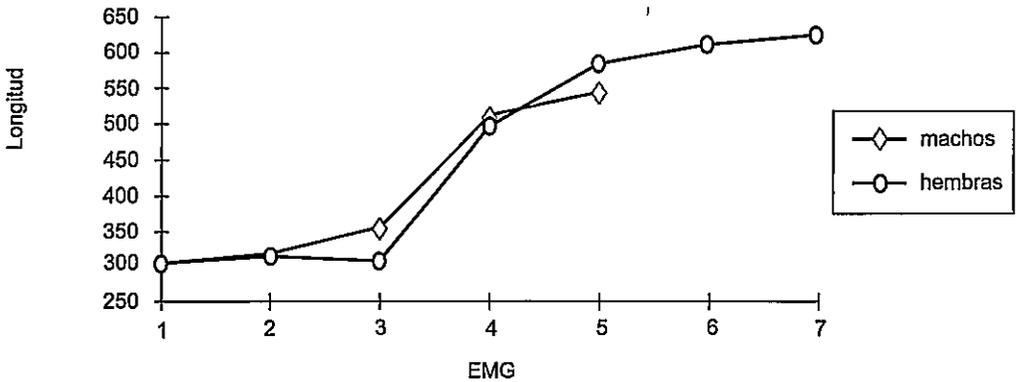


Figura 11.
Longitud mínima por estadio de madurez por sexos



Al graficar las frecuencias acumuladas de longitudes totales para el conjunto de individuos (de cada sexo) que presentaron gónadas en fase de maduración incipiente(3) o superior se obtuvo la longitud $L_{t_{50}}$. Esta medida facilita estimar a priori la talla en la cual el 50 por ciento de los individuos han iniciado su maduración y por tanto son adultos (Cotrina y Christiansen, 1994). Las Figuras 12 y 13 permiten observar que dichas longitudes corresponden a 43,8 cm en las hembras y 42,5 cm en los machos.

Al aplicar los parámetros del crecimiento calculados por Gutiérrez, 1990 ($L_4 = 83,34$ cm; $k = 1,46$ y $t_0 = 0,035$) para el pargo seda del Pacífico de Costa Rica, dichas longitudes corresponderían a individuos entre 4 y 5 meses de edad.

Las longitudes promedio correspondientes al estadio de madurez 3, para el total de las hembras y de los machos, se estimaron respectivamente en 44,9 y 44,2 cm. Esto permite inferir que hacia los 7 meses de edad (44,5 cm de L_t y un peso medio de 2,6 lbs) el *L. peru* es adulto. En la práctica esto posibilita considerar que los individuos con una longitud total entre los 30 y 45 cm están iniciando por vez primera su maduración. Debido a la falta de información acerca del crecimiento de las poblaciones del pargo seda que habitan en el Pacífico de Panamá, los parámetros arriba indicados se han utilizado tomando en consideración la capacidad migratoria del recurso. No obstante, llama la atención las edades estimadas debido a que llevan a considerar que la especie posee un elevado metabolismo durante su primer año de vida acompañado de una acentua-

da movilización energética hacia el tejido gonádico que asegure su ingreso al estado adulto. Se estima conveniente determinar, en investigaciones ulteriores, los parámetros del crecimiento para los pargos que habitan el Pacífico de Panamá con el objeto de definir la edad correspondiente a la primera madurez.

Figura 12.
Curva de frecuencias (L_{50}) para las hembras maduras.

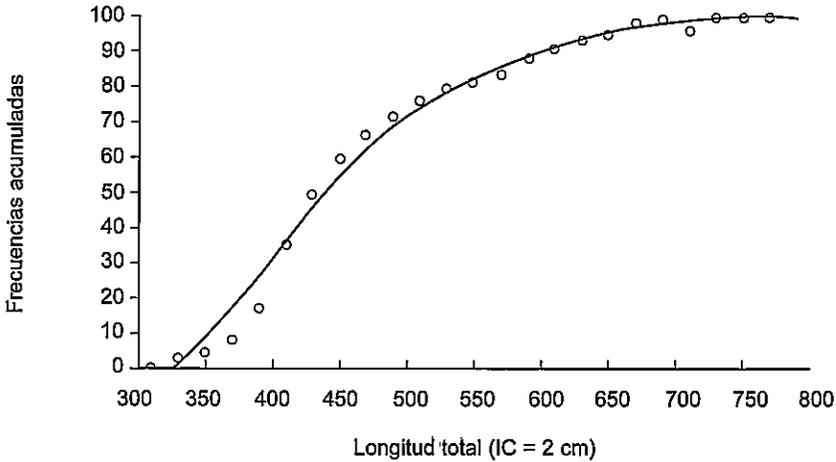
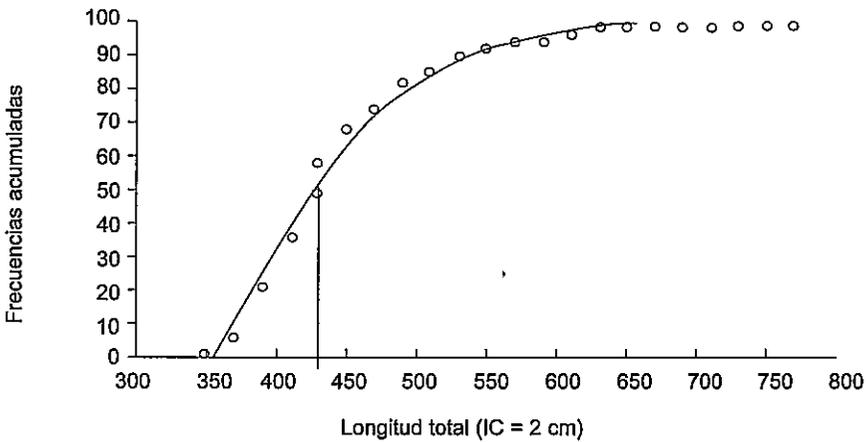


Figura 13.
Curva de frecuencias acumuladas (L_{50}) para los machos maduros.



Las longitudes dadas permiten contemplar el establecimiento de una medida de ordenamiento que tienda a regular las tallas mínimas permisibles en las capturas, con miras a preservar la biomasa y diversidad génica del recurso. Precisamente las longitudes señaladas, corresponden a las de mayor valor comercial (2,30 US\$ en el mercado de Nueva York por piezas entre 2 y 4 lbs) durante la primera mitad del presente año.

CONCLUSIONES

1. La recta de regresión que relaciona la longitud total con el peso del pargo rojo que habita en la ZEE del Pacífico de Panamá está dada por la expresión:

$$\text{Log}_{10} \text{Peso} = -3,881 + 2,6252 * \text{Log}_{10} \text{Lt}$$

2. A escala macroscópica, se determinaron 7 estadios de maduración gonadal en las hembras y 6 en los machos.
3. En el transcurso del año los estadios más conspicuos, en ambos sexos, fueron los de premadurez (2) y maduración incipiente (3). Esto permite inferir que a la población se le agregan continuamente ejemplares que han alcanzado cierto desarrollo corporal que les permite competir por el alimento o escapar de los ataques de los individuos más robustos.
4. En ambos sexos, el índice gonadosomático medio (IGSm) varía en forma sincrónica; su mayor valor absoluto se obtuvo en junio lo que permite considerar una actividad reproductora a partir de dicho mes que se extendería (a un ritmo menor) hasta noviembre.
5. Las hembras alcanzan su maduración por vez primera a una longitud mínima de 30,7 cm y los machos a los 35,3 cm. La Lt_{50} se estimó en 43,8 cm en las hembras y 42,5 cm en los machos.
6. Se debe establecer un programa de ordenamiento de la pesquería que posibilite preservar la biomasa y diversidad génica del recurso tomando en consideración las longitudes mínimas permisibles en las capturas.

SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE BIOLOGY OF FISHERIES OF THE RED SNAPPER (*Lutjanus peru*) OF THE PANAMANIAN PACIFIC.

Between April and December of 1990, 433 individuals (179 males and 254 females) of red snapper - *Lutjanus peru* (Nichols and Murphy, 1922) - were collected in waters of the Pacific of Panama. Male/female ratio varied from 0,38 and 2,00.

Length and weight relationship is expressed by the following linear regression:

$$\text{Log}_{10} W = -3,881 + 2,6252 * \text{Log}_{10} Lt$$

The state of maturation was macroscopically determined: for 7 females and 6 males. According to the evolution of mean gonadosomatic index (IGSm) and monthly percentual relationship of the different maturation phases, the species would reproduce in the rainy season.

Red snapper reach the mature state at about 30 to 45 cm in total length. Females reach their maturation for the first time to a minimum length of 30,7 cm and males to the 35,3 cm.

KEYWORDS

Fishes, Lutjanidae, *Lutjanus peru*, silk snapper, red snapper

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARCO F.R. y BRUGER, G. 1976. Age, growth, and reproduction of red snapper in Florida waters. **Florida Department of Natural Resources, Marine Research Laboratory**. Contribution No. 275.

COTRINA C. y CHRISTIANSEN, H.E. 1994. El comportamiento reproductivo del besugo (*Pagrus pagrus*) en el ecosistema costero bonaerense. **Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero**, No. 9, 25-58.

COUSSEAU, M.B. 1967. Contribución al conocimiento de la biología del surel (*Trachurus picturatus australis*) del área de Mar del Plata (Pisces. Fam Carangidae) **Bol. Inst. Biol. Mar.** No. 15, 34 pp.

GUERRA C., A. y BASHIRULLAH, A.K.M. 1975. Biología del pargo *Lutjanus griseus* (LINN) de la isla de Cubagua, Venezuela. II. Maduración sexual y fecundidad. **Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela Univ. Oriente**, 14 (1), 106-116.

GUTIÉRREZ VARGAS, R. 1990. Tasas de crecimiento, mortalidad, reclutamiento, rendimiento y biomasa relativos por recluta de *Lutjanus peru* (Perciformes: Lutjanidae) en el Pacífico de Costa Rica. **Rev. Biol. Trop.**, 38(2B), 441-447.

HOLDEN, M.J. y RAITT, D.F.S. (Eds). 1975. Manual de ciencia pesquera (parte 2): Métodos para investigar los recursos y su aplicación. **Doc. Téc. FAO Pesca**, (115) Rev. 1, 211.

MACER, C.T. 1974. The reproductive biology of the horse mackarel, *Trachurus trachurus* (L.) in the North Sea and English Channel. **J. Fish Biol.** 6, 415-438

PACHECO TACK, R. 1991. Ciclo Reproductivo del Surel *Trachurus lathami* Nichols, 1920 del Sector Bonaerense. **Scientia** (Panamá), 5 (2), 65-81.

RESHETNIKOV, Y.S. y R. CLARO. 1976. Cycles of biological processes in tropical fishes with reference to *Lutjanus synagris*. **J. Ichthyol.**, 16 (5), 711-722

SIGARROA, A. 1985. **Biometría y Diseño Experimental**. (Segunda Parte). La Habana: Editorial Pueblo y Educación, 550-557.

STEEL, R.G.D. y TORRIE. J.H. 1996. **Bioestadística: Principios y Procedimientos**. 1ª Edición en español. México: MacGraw-Hill. 622 pp.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue posible gracias al interés puesto durante su ejecución por la Misión Técnica de Pesca de China (ROC) la cual, a través del Jefe de Misión, Carlos Wen-Tsun Lee, el Capitán Francisco Loo y su tripulación, facilitó nuestro desempeño a bordo de la M/N LA AMISTAD. Destacamos la cooperación brindada por la Dirección General de Recursos Marinos (DIGEREMA), en especial de su ex-Directora Licda. Dalva Arosemena, el Licdo. Ramón González y el Sr. Gilberto Canto, del

programa de Pesca Artesanal. Agradecemos el apoyo y empeño del Licdo. Paulino Velotti y del Técnico Gilberto Becerra durante el análisis de las muestras. Gracias a los señores pescadores artesanales que compartieron nuestras tareas en los distintos viajes y cuyos esfuerzos hicieron posible las capturas.

RIQUEZA DE INSECTOS FORMADORES DE AGALLAS EN NUEVE ZONAS DE VIDA DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

HÉCTOR BARRIOS y ENRIQUE MEDIANERO

Programa de Maestría en Entomología,
Vicerrectoría de Investigación y Postgrado,
Universidad de Panamá.

RESUMEN

Las agallas son crecimientos anormales que se observan en diferentes órganos de las plantas. Son producidas por diferentes organismos, principalmente insectos, que usurpan los tejidos internos de las plantas creando una relación muy intensa de dependencia. Estas estructuras, desde donde el insecto acumula nutrientes y agua, le sirven como protección del medio físico y sus depredadores naturales; además le abastecen de alimento durante el período de su desarrollo larval. En nuestro estudio se trabajó en nueve localidades, cinco tipos de vegetación y siete zonas de vida, con el propósito de establecer relaciones entre los factores que pueden afectar la riqueza de especies de insectos formadores de agallas. Se estableció que existe una relación inversa entre la altura y la riqueza de especies de insectos formadores de agallas siendo la localidad de Nusagandí, a 280 metros sobre el nivel del mar, la que presentó el mayor número especies de estos insectos. Con respecto a la vegetación, tenemos que el bosque subperennifolio tropical es el que presenta la mayor riqueza de insectos formadores de agallas. De las zonas de vida estudiadas, el bosque muy húmedo tropical mostró la mayor riqueza de insectos formadores de agallas y se estima un valor promedio de 6 especies de insectos formadores de agallas por hora de muestreo en nuestro país.

PALABRAS CLAVES:

Insectos, formadores de agallas, zonas ecológicas, vegetación, altura.

INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista adaptativo, los insectos son el grupo de invertebrados con mayor diversidad y éxito ecológico, representando el 60% de todas las especies descritas incluyendo las plantas (Stork, 1988). En el proceso evolutivo de la Clase Insecta, la mayor parte de sus especies han desarrollado diversas interacciones con las plantas para protegerse de las condiciones desfavorables del medio y de sus depredadores naturales, asegurando de esta manera su sobrevivencia y la propagación de la especie. Entre estas interacciones se destaca la sincronización en la oviposición de muchas especies con la producción de hojas nuevas, flores y frutos por parte de las plantas hospederas, garantizando de esta manera una fuente de alimento a su descendencia, por lo que es frecuente encontrar larvas comiendo en la superficie de los órganos mencionados. Otros insectos han desarrollado sistemas más especializados de protección física a su descendencia ovipositando en los tejidos internos de las plantas, o teniendo su primer estadio larval la capacidad de penetrar dichos tejidos, formando así estructuras denominadas agallas. Las agallas son deformaciones que se desarrollan en los órganos de las plantas; éstas son producto de alguna desviación en el patrón normal de crecimiento de los tejidos de las plantas o resultado del trabajo de insectos, usualmente en estados inmaduros y otros organismos (Felt, 1965).

Dentro de la fitofagia, la formación de una agalla representa una de las adaptaciones más especializadas; esta estructura desde la cual los insectos reciben protección a los cambios de temperatura, la lluvia, los rayos de luz y los depredadores (que además le abastece de alimento y agua para su normal desarrollo), envuelve el control de los tejidos de la planta hospedera por parte del insecto, al igual que una desviación de nutrientes de la planta hacia éste.

Las agallas son expresiones específicas de la biología del insecto y hay una literatura inmensa explicando cómo éstos insectos alteran los tejidos de sus hospederos en contraste con la mayoría de los insectos fitófagos los cuales se mueven fuera de los órganos hospederos removiendo largas piezas de tejido de las plantas (Mani, 1964; Maresquelle y Meyer, 1965; Rohfrisch y Shorthouse, 1982; Meyer y Maresquelle, 1983; Shorthouse, 1986).

El estudio de las agallas, la Cecidología, es considerada una de las ramas más interdisciplinarias de las ciencias naturales, debido a que la formación de una agalla se lleva a cabo mediante una compleja serie de interac-

ciones entre los tejidos de la planta y el organismo que en ella se alberga. Un entendimiento de estas interacciones envuelve estudios estructurales de la agalla y su desarrollo, etiología de la formación de la agalla, citología, bioquímica, patología y fisiología de los tejidos de la agalla. De igual manera incluye estudios del ciclo de vida, conducta, hospedero específico, fisiología nutricional y relaciones tróficas del complejo de interacción de organismos asociados a la agalla (Mani 1992).

Los insectos formadores de agallas son objeto de atención para estudios ecológicos de herbívoros por su diversidad, abundancia y hábito sésil. Además son excelentes para determinar las influencias de la vegetación y los factores altitudinales sobre la riqueza de las especies. Con el presente estudio se pretende estimar la riqueza de insectos formadores de agallas en la República de Panamá, utilizando uno de los dos métodos desarrollados por Fernández y Price (1988) para determinar la riqueza de estas especies al nivel global, además de determinar la influencia de la altura y la vegetación en la riqueza de los insectos formadores de agallas.

PARTE EXPERIMENTAL

Duración y sitios de colectas:

El muestreo se realizó durante un período de seis meses comprendido entre el 2 de abril de 1994 al 26 de septiembre de 1994.

Las colectas se realizaron en nueve estaciones a lo largo de todo el país. Éstas hallábanse a diferentes alturas, en diferentes tipos de vegetación y zonas de vida. Las estaciones de muestreo son las siguientes: Islas de Bocas del Toro, Fortuna, Isla de Coiba, el Valle de Antón, Río Hato, Parque Natural Metropolitano, Cerro Azul, Nusagandi y Volcán Barú.

La estación de Bocas del Toro está ubicada a $9^{\circ} 20' 3''$ de latitud N y $82^{\circ} 14' 48''$ de longitud W, a una altura promedio de 3,5 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), en una zona de vida de bosque húmedo tropical con vegetación de bosque perennifolio tropical. Estos bosques están compuestos por muchas especies de hojas anchas y se caracterizan por presentar un estrato de 30 metros donde sobresalen árboles emergentes dispersos que llegan a 55 metros, con un clima tropical muy húmedo, a una temperatura media anual de 26°C ; el promedio de precipitación oscila entre 1850 y 3400 mm.

La estación de Volcán Barú está localizada a 8° 48' 27" de latitud N y 82° 32' 32" de longitud W, a una altura de 3000 m.s.n.m., en una zona de vida de bosque húmedo montano bajo con vegetación de bosque perennifolio de tierras altas y en un clima templado muy húmedo de tierras altas, donde el promedio de precipitación varía entre 2000 y 4000 mm; la temperatura promedio es de 10,8° C. La vegetación de esta área está compuesta por bosques perennifolios de hojas anchas con dosel continuo de unos 25 metros de altura aproximadamente. Presenta un sotobosque poco denso y una vegetación de epífitas abundantes.

La estación de Fortuna está ubicada a 8° 44' 14" de latitud N y 82° 16' 2" de longitud W, a una altura promedio de 1173 m.s.n.m., en una zona de vida de bosque pluvial premontano, con vegetación de bosque perennifolio subtropical en un clima tropical húmedo, donde la temperatura promedio es de 15,8°C y la precipitación fluctúa entre 4000 y 7000 mm. El bosque perennifolio subtropical se compone de muchas especies perennifolias de hojas anchas, que forman un estrato superior de dosel continuo a una altura promedio de 25 metros. El estrato medio presenta alturas entre 12 y 15 metros. La mayoría de los árboles, que se encuentran en este tipo de bosque, no alcanzan grandes diámetros. El sotobosque es poco denso y el interior del bosque es sombrío; en los lugares más húmedos las lianas y epífitas cubren densamente los troncos y copas.

La estación de Coiba ubícase a 7° 30' de latitud N y 81° 43' de longitud W, a una altura promedio de 20 m.s.n.m., en una zona de vida de bosque húmedo tropical (transición húmeda), con vegetación de bosque perennifolio tropical en un clima tropical húmedo. Los bosques perennifolios tropicales poseen muchas especies de hojas anchas y se caracterizan por presentar un estrato de 30 metros donde sobresalen árboles emergentes dispersos que llegan a 55 metros.

La estación de El Valle localízase a 8° 36' 00" de latitud N y 80° 7' 40" de longitud W, a una altura de 588 m.s.n.m., en una zona de vida de bosque muy húmedo premontano con vegetación de área de cultivo, sabana y vegetación secundaria pionera, en un clima tropical húmedo, donde la temperatura oscila entre 21-26°C, con una precipitación entre 2000 y 4000 mm. La vegetación de área de cultivo, sabana y vegetación secundaria pionera, son extensas zonas que abarcan diferentes condiciones climáticas y edáficas, sometidas a actividades agropecuarias con intensidad variable. Incluyen sabanas antropogénicas mantenidas por el fuego, cultivos anuales semipermanentes, pastos naturales y artificiales y terrenos abandonados con vegetación secundaria pionera.

La estación de Río Hato sitúase a 8° 22' 45" de latitud N y 80° 10' 00" de longitud W, a una altura no mayor de 25 m.s.n.m., en una zona de vida de bosque seco tropical, con vegetación de área de cultivo, sabana y vegetación secundaria, en un clima tropical de sabana cuya temperatura promedio es de 25,4°C y la precipitación se encuentra entre 1100 y 1650 mm.

La estación del Parque Natural Metropolitano se encuentra entre 8° 58' de latitud N y 79° 35' de longitud W, a una altura de 150 m.s.n.m., en una zona de vida de bosque húmedo premontano con vegetación de área de cultivo, sabana y vegetación secundaria, en un clima tropical de sabana cuya temperatura promedio es de 24°C, con una precipitación entre 1450 y 2000 mm.

La estación de Cerro Azul encuéntrase a 9° 9' 48" de latitud N y 79° 24' 57" de longitud W, a una altura de 733 m.s.n.m., en una zona de vida de bosque muy húmedo premontano (transición cálida), con vegetación de área de cultivo, sabana y vegetación secundaria pionera, en un clima tropical húmedo donde la temperatura varía entre 21 y 25°C, con una precipitación entre 2000 y 4000 mm.

La estación de Nusagandi sitúase a 9° 26' 30" de latitud N y 78° 35' 20" de longitud W, a una altura promedio de 280 m.s.n.m., en un bosque muy húmedo tropical con vegetación de bosque subperennifolio tropical, en un clima tropical húmedo, donde la temperatura es de 24 a 21°C, con una precipitación de 4000 mm. La categoría de bosque subperennifolio tropical es muy heterogénea, presentando un dosel bastante continuo con una altura promedio de 35 metros, y muchos árboles emergentes que ascienden hasta 50 ó 55 metros de altura.

Método de colecta:

La metodología utilizada para este estudio fue la empleada por Fernández y Price, (1988), para determinar el efecto de los gradientes biogeográficos en la riqueza de especies formadoras de agallas y que viene siendo utilizada desde hace más de diez años para determinar la riqueza de estos insectos a nivel global. (Price *et al.*, 1998). Esta metodología está basada en esfuerzo horas/hombre. En cada estación se efectuaron 10 colectas. Cada colecta tenía una duración de 60 minutos. Durante este tiempo se realizaba un recorrido por el área, revisando los diferentes órganos de las plantas, las hojas y tallos principalmente, buscando la presencia de agallas. Estas eran extraídas con su órgano hospedero de la planta ataca-

da y colocadas en bolsas plásticas. Una vez finalizado el tiempo estipulado para las colectas, se etiquetaban las bolsas, señalando la estación, la altura, la fecha y los correspondientes datos de colectas. Estas se trasladaban posteriormente al Laboratorio del Programa de Maestría en Entomología de la Universidad de Panamá. Las colectas se efectuaron principalmente sobre arbustos y sólo fueron registradas las agallas formadas por insectos.

Identificación del material entomológico:

Una vez en el laboratorio, con la ayuda de un estereoscopio, se procedió a observar cada agalla colectada. Con un bisturí se disecaban las agallas y con una pinza entomológica se separaban las capas de tejido de la agalla para determinar la diferencia entre una y otra.

Partiendo del hecho de que la forma de una agalla es la expresión específica de una especie de insecto, la base para contar cuántas agallas diferentes se obtenían por colecta fue básicamente morfológica; la forma, la pubescencia, el tipo de superficie y el número de cámaras fueron las características principales.

Análisis estadísticos:

A los resultados obtenidos se les realizó un análisis de varianza para determinar diferencias significativas entre las diferentes áreas de colectas. Los resultados fueron agrupados por tipo de vegetación y zonas de vida y a éstos se les aplicó análisis de varianza, para determinar diferencias entre las medias de las poblaciones influenciadas por los factores antes mencionados. Para determinar el efecto de la altura sobre la riqueza de los insectos formadores de agallas, se realizó un análisis de regresión.

RESULTADOS

Nuestros resultados, basados en nueve zonas de colectas, indican un promedio de 6 especies de insectos formadores de agalla por hora de colecta (IFA/H), en Panamá.

El Cuadro 1 muestra los valores promedios de especies de insectos formadores de agallas para cada área de colecta y las características ecológicas de cada una de ellas.

Cuadro 1.

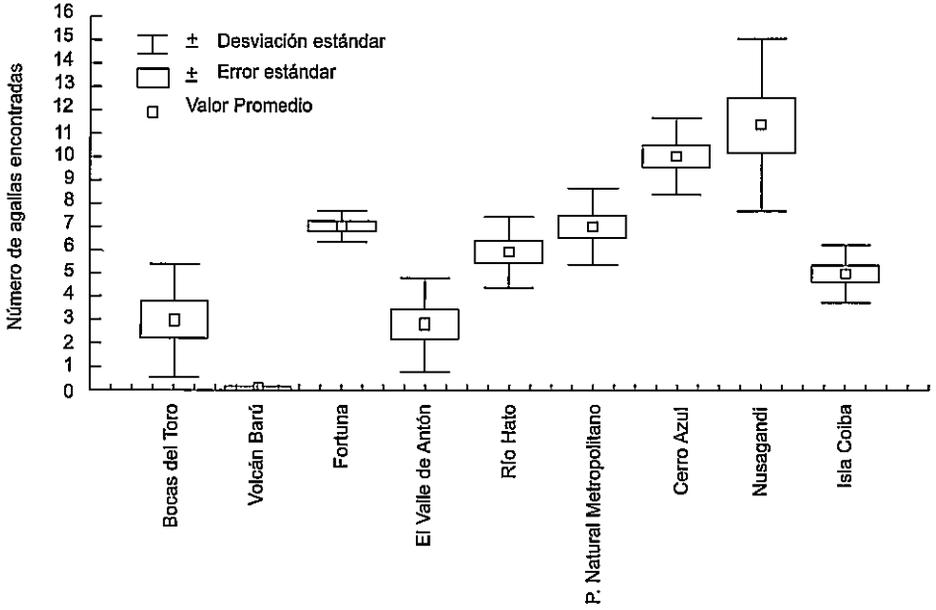
Número promedio de agallas por estación y las características ecológicas de éstas

Estación	Promedio de IFA/H	Altura Promedio	Vegetación	Zona de vida
Nusagandi	12,00	280,0	B. subperennifolio tropical	B. muy húmedo tropical
Bocas del Toro	4,25	3,5	B. perennifolio tropical	B. húmedo tropical
Fortuna	6,80	1173,0	B. perennifolio sub tropical	B. pluvial premontano
P.Nat. Metrop.	7,00	150,0	Área de cultivo sabana y vegetación secundaria pionera	B. húmedo premontano
Cerro Azul	10,00	733,0	Área de cultivo sabana y vegetación secundaria pionera	B. muy húmedo premontano
Río Hato	5,90	25,0	Área de cultivo sabana y Vegetación secundaria pionera	B. seco tropical
El Valle	2,80	588,0	Área de cultivo sabana y vegetación secundaria pionera	B. muy húmedo premontano
Volcán Barú	0,10	3000,0	B. perennifolio de tierras altas	B. húmedo montano bajo
Isla de Coiba	5,00	20,0	B. perennifolio tropical	B. húmedo tropical

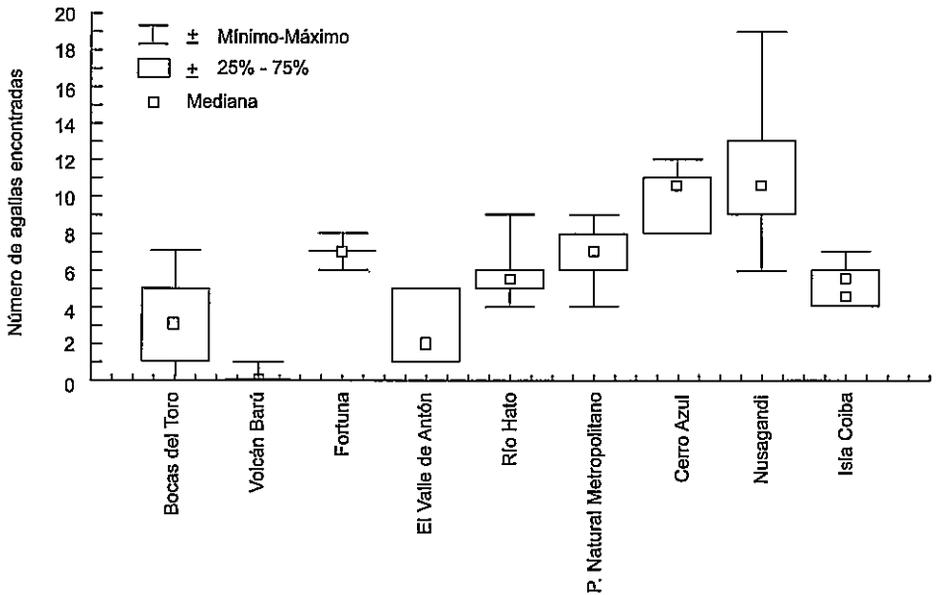
La Figura 1a y b muestra los valores promedio para cada área de colectas, al igual que el valor máximo, mínimo, los valores de desviación estándar y la mediana. Se observa que el valor promedio más alto se registra en la localidad de Nusagandi (12 IFA/H); aquí también se registra el valor máximo de agallas por hora de colecta que es de 19. El valor mínimo de este lugar fue de 6 IFA/H. El segundo sitio con el valor promedio más alto por hora de colecta fue Cerro Azul, registrándose 10 IFA/H. Cerro Azul fue el sitio donde se registró el valor mínimo más elevado siendo de 8 IFA/H. El área de colecta donde se registró el valor máximo más bajo fue el Volcán Barú, donde apenas se registró una agalla en 10 horas de colectas; esta estación, al igual que la de Bocas del Toro, tuvieron registros de 0 IFA/H. En Fortuna y el Parque Natural Metropolitano se registraron valores promedios muy parecidos (6,8 y 7 respectivamente). Sin embargo, al observar los gráficos de desviación estándar, se observa que los valores del Parque Natural Metropolitano presentan una mayor desviación ($\pm 1,63$), que los obtenidos para Fortuna ($\pm 0,66$), sitio donde los datos presentan la menor desviación del muestreo. Los valores con desviación estándar más alta se registran en Nusagandi, seguido de Bocas del Toro y el Valle de Antón ($\pm 3,72$; $\pm 2,40$ y $\pm 2,00$ respectivamente).

Figura 1.
Valores descriptivos del número de agallas por área de colecta.

a. Valor promedio, desviación estándar y error estándar de las muestras.



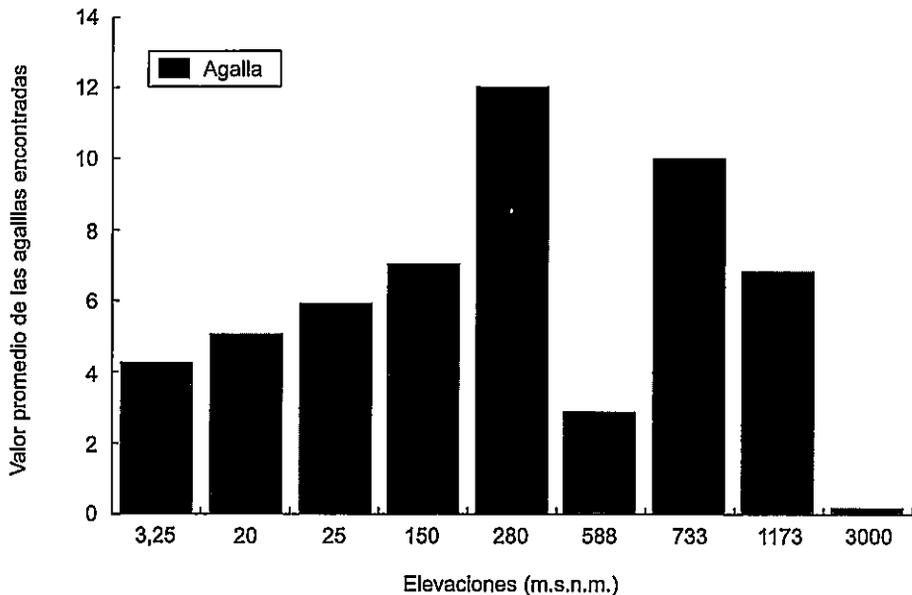
b. Mediana, mínimo y máximo de las muestras.



El análisis de varianza indica que existen diferencias en la media de las poblaciones entre las nueve áreas de colectas con $F=18,676$; $p<0,05$; $gl = 6,8$.

La Figura 2a revela la relación entre la altura y el promedio de agallas encontradas en cada sitio de colecta. Se observa que, a 280 m.s.n.m., se registra la mayor riqueza de especies de insectos formadores de agallas para Panamá. La curva de distribución de estos organismos exhibe una tendencia a incrementar desde la estación más baja, a 3,25 m.s.n.m., hasta alcanzar los 280 m.s.n.m. a partir de donde se inicia una disminución en la riqueza de éstos hasta alcanzar un promedio de 0,1 agallas en 10 horas de colecta. A 588 m.s.n.m., se observa una drástica disminución en la riqueza de insectos formadores de agallas; esta altura corresponde al Valle de Antón, donde las colectas se efectuaron en áreas próximas a cultivos, donde el efecto de los pesticidas e insecticidas puede estar diezmando las poblaciones de estos insectos.

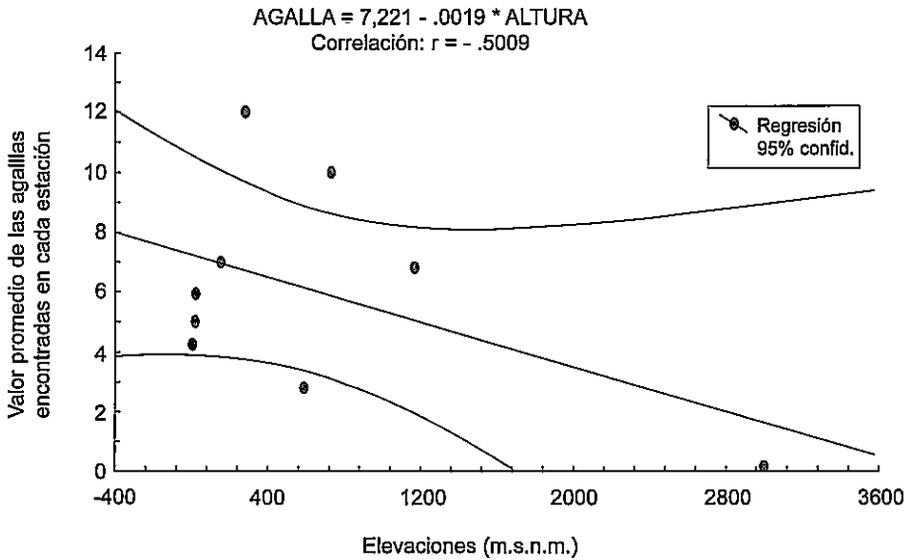
Figura 2a.
Relación entre la altura y el promedio de agallas encontradas.



El análisis de regresión muestra una relación inversa entre la altura y el número de especies de insectos formadores de agallas con un, $r^2 = 0,25$; $p < 0,05$; $y = 7,22 - 0.0019x$; $\beta = -0.5$. (Figura 2b). Esto indica que, al aumentar la altura, disminuye la riqueza de especies de insectos formadores de agalla.

Figura 2b.

Relación entre la altura y el número de insectos formadores de agalla.



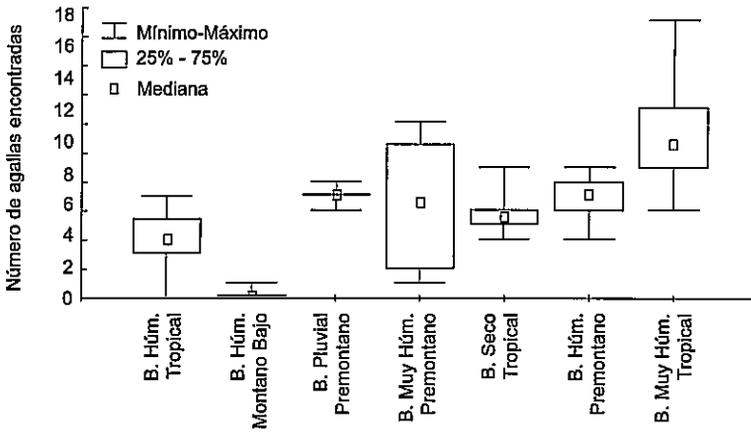
En el presente estudio, siete fueron las zonas de vida encontradas. El análisis estadístico señaló que existen diferencias significativas entre las zonas de vida y el número de insectos formadores de agallas con $F=14,472$; $p < 0,05$; $gl = 6,9$. La Figura 3a y b muestra el valor promedio, los valores mínimo, máximo, mediana y desviación estándar de los insectos formadores de agallas por zona de vida.

En la zona de vida de bosque muy húmedo tropical (Nusagandi) se registró el mayor número de insectos formadores de agallas. La segunda zona de vida con mayor número de agallas es la del bosque húmedo premontano (Parque Natural Metropolitano). En tercer lugar se encontró la zona de vida del bosque pluvial premontano (Fortuna). La siguiente fue

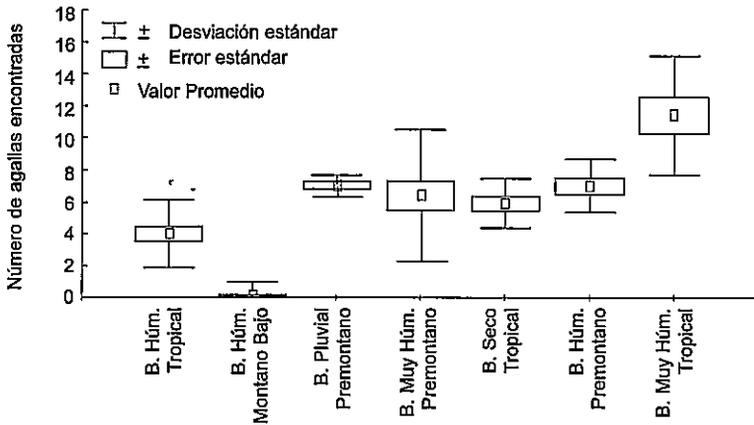
la del bosque muy húmedo premontano (Cerro Azul y El Valle). El bosque seco tropical (Río Hato) ocupó la quinta posición en el número de insectos formadores de agallas. La sexta zona de vida fue la del bosque húmedo tropical (Bocas del Toro y la isla de Coiba). En la zona de vida del bosque húmedo montano bajo (Volcán) se halló la menor cantidad de insectos formadores de agallas.

Figura 3.
Valores descriptivos por zona de vida.

a. Mediana, mínimo y máximo de las muestras.



b. Valor promedio, desviación estándar y error estándar de las muestras.



El Cuadro 2 muestra que la temperatura óptima para el desarrollo de los insectos formadores de agallas está en los 22°C en Nusagandi; de igual manera se observa un incremento desde los 10,8°C en Volcán hasta alcanzar el punto óptimo, Nusagandi, donde comienza a disminuir. En ese mismo cuadro también se observa que los valores para las agallas encontradas y la precipitación pluvial se encuentran en los mismos sitios donde la temperatura influye en la distribución de los organismos.

Cuadro 2.

Influencia de la precipitación y la temperatura en la riqueza de insectos formadores de agallas.

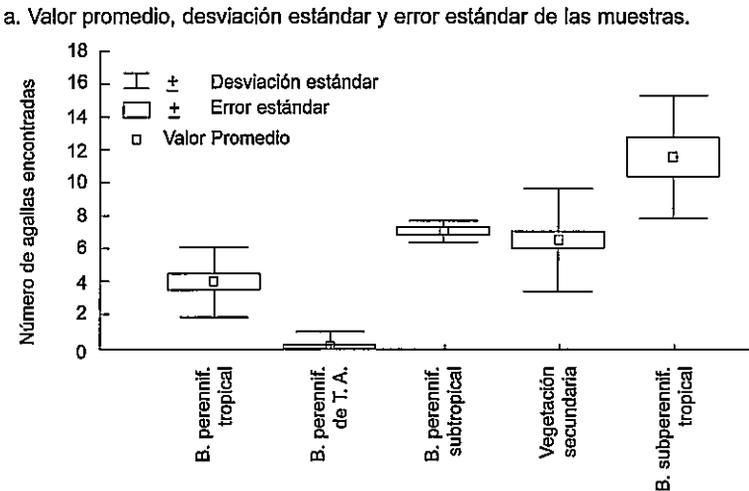
Localidades	Promedio de agallas	Temperatura °C	Precipitación (mm)
Nusagandi	12	22	4000
Cerro Azul	10	23	3000
Parque Nat.M	7	24	3000
Fortuna	6,8	15,8	5500
Río Hato	5,9	25,4	1375
Isla de Coiba	5	26	4500
Bocas del Toro	4,25	26	2625
El Valle	2,8	23,5	3000
Volcán Barú	0,1	10,8	3000

La Figura 4a y b muestra los valores promedios, mediana, mínimo, máximo y desviación estándar de los insectos formadores de agalla de acuerdo al tipo de vegetación. En este estudio se presentaron cinco tipos de vegetación; el análisis estadístico indica que existe diferencia significativa entre el tipo de vegetación y el número de agallas encontradas con $F = 21,918$; $p < 0,05$; $gl = 4,19$.

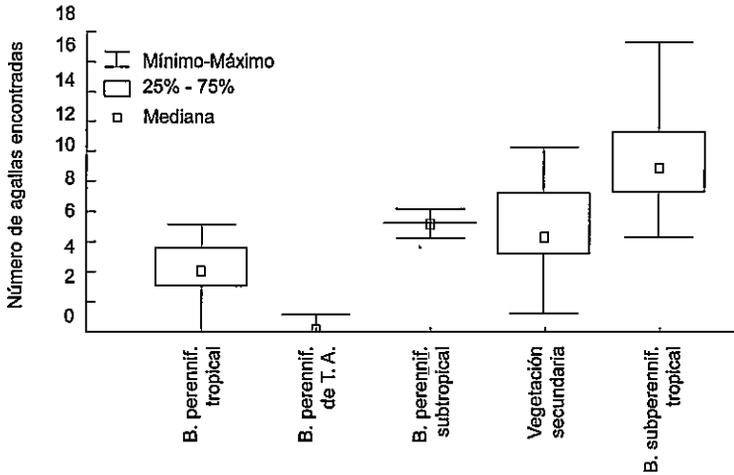
La vegetación de bosque subperennifolio tropical (Nusagandi) presentó el mayor número de insectos formadores de agallas, con un promedio de 12 IFA/H, con valores mínimos y máximos de 6 y 19 respectivamente y con una desviación estándar de 3,71. Esta estación se ubicaba dentro de un bosque secundario protegido con una gran variedad de arbustos y árboles. En segundo lugar se encontró la vegetación de bosque perennifolio subtropical (Fortuna), con valores mínimos de 6 IFA/H y máximos de 8

IFA/H y con la desviación estándar más baja de $\pm 0,66$. Ésta es una región de difícil acceso donde la vegetación se encuentra poco alterada por el hombre. El tercer lugar donde se registró mayor número de insectos formadores de agallas fue la vegetación de áreas de cultivos, sabanas y vegetación secundaria; en este tipo de vegetación se alcanzó la segunda desviación estándar más alta de los valores siendo de $\pm 3,11$ y con valores mínimos y máximos de 1 y 12 IFA/H respectivamente. Este tipo de vegetación se localiza en estaciones tan diversas como la del Parque Natural Metropolitano y Cerro Azul que son bosques secundarios protegidos, pero que hállanse a escasa distancia de centros urbanos, hasta sitios como Río Hato y El Valle (áreas de cultivos) donde gran parte de los muestreos se realizaron a orillas de ríos que experimentan una permanente presión humana. La vegetación de bosque perennifolio tropical ocupó la cuarta posición en cuanto a riqueza de especies formadoras de agallas con un promedio de 4 IFA/H y una desviación estándar de $\pm 2,2$; esta vegetación, ubicada en Bocas del Toro y Coiba, está muy próxima al océano lo que la convierte en una fuerza natural selectiva. En la vegetación de bosque perennifolio de tierras altas se encontró el menor número de agallas, la altura, la temperatura y la humedad son factores selectivos en esta región, con un promedio de 0,1 IFA/H.

Figura 4.
Valores descriptivos por tipo de vegetación.



b. Mediana, mínimo y máximo de las muestras.



DISCUSIÓN

La riqueza de las especies de insectos presenta un incremento con el decrecimiento de la altura (Lawton y Heads 1987, Claridge y Singhrao 1978 y Herbert 1980). Fernández y Price, 1988 y 1991, Fernández y Lara 1993, Lara y Fernández 1996, Price *et. al.*, 1998, reportan este incremento de la riqueza de las especies de insectos formadores de agallas con el decrecimiento de la altura. Según Fernández y Price (1988), la riqueza de los insectos formadores de agallas registra una reducción de 82% en arbustos, 37% en hierbas, 75% en árboles y un 78% en todas las plantas con el incremento de la altura. Nuestros resultados, basados en nueve elevaciones diferentes a lo largo de todo Panamá, muestran esta relación inversa entre la riqueza de las especies de insectos formadores de agallas y la altura.

Estudios disponibles de distribución de insectos sugieren que la mayor diversidad de éstos se encuentra sobre altitudes intermedias (Janzen 1973, Janzen 1976, Gagne 1979, Gauld 1985, Turner y Broadhead 1974). Lo que es consecuente con nuestros resultados donde a elevaciones intermedias ocurrió la mayor riqueza de especies, siendo el óptimo a los 280 m.s.n.m.. Esto se debe a que las especies tienen un intervalo de tolerancia propio con respecto a los factores ambientales; sin embargo, los límites de tolerancia de las especies no son bruscos, sino que la población tiene un centro óptimo, a partir de la cual su abundancia disminuye hacia ambos

extremos del gradiente del factor ambiental. Las especies difieren en la forma y en el tamaño de la curva de respuesta. Cuando las condiciones ambientales son óptimas, las poblaciones expresan su mayor desarrollo. En presencia de condiciones desfavorables, el óptimo desarrollo de las especies suele ser desplegado. Por lo tanto, el óptimo de la distribución ecológica, que refleja la capacidad de supervivencia de la especie, no coincide con el óptimo desarrollo y a esto se debe que la forma y el tamaño de la curva puedan variar (Matteucci y Colman 1982).

Como podemos apreciar entre las características geográficas, la altura constituye un factor fundamental en la distribución de los organismos. Ésta determina los tipos de climas en una región; el clima es el factor extrínseco más importante en la distribución de las especies; éste está entre los principales seleccionadores del tipo de vegetación existente y la vegetación forma el marco dentro del cual viven los organismos. De aquí la importancia de la altura como responsable de la distribución de las especies.

La temperatura, la precipitación pluvial y la humedad definen la unidad climática denominada zona de vida. Estos tres factores, además, constituyen los principales seleccionadores de los organismos que habitan una región.

La temperatura figura entre los factores principales que limitan la distribución de los animales y suelen actuar en cualquier etapa del ciclo de vida restringiendo la distribución de las especies a través de sus efectos sobre la supervivencia, reproducción y desarrollo de organismos juveniles. La temperatura también actúa indirectamente al limitar la distribución a través de sus efectos en la capacidad de competencia, la resistencia a las enfermedades y la depredación o parasitismo (Krebs, 1985).

Los insectos tienen un rango mínimo y máximo de temperatura para habitar; entre estos dos valores se encuentra un punto donde los insectos pueden desarrollarse en mayor número y diversidad. Pero los insectos tienen dos opciones al hacer frente a las condiciones térmicas de su hábitat: tolerancia tal cual, o escapar de ella mediante alguna adaptación evolutiva. La agalla corresponde a la segunda opción desarrollada por los insectos para su protección. La temperatura óptima para el desarrollo y la riqueza de estos insectos se encuentra en los 22°C y 4000 mm de precipitación pluvial en las condiciones tropicales de Panamá (zona de vida de bosque muy húmedo tropical).

En los trópicos y subtropicos, en términos generales, la precipitación pluvial propende a estar distribuida irregularmente entre las dos estaciones, lo que se traduce a menudo como estación seca y lluviosa. En los trópicos, esta periodicidad estacional de la humedad es la que regula las actividades estacionales de reproducción de los organismos. Mientras que la distribución anual de la precipitación constituye un importante factor limitante para los organismos.

La humedad se considera un factor limitante principal en el suelo. Los organismos terrestres se enfrentan constantemente al problema de la deshidratación. El agua sola o junto con la temperatura quizás sea el factor físico más importante que ejerce efectos sobre la ecología de los organismos, y es el factor seleccionador de mayor intensidad en la riqueza de especies de insectos formadores de agallas en una región. Según Fernández y Price (1988; 1991), los lugares provistos de sitios con condiciones más estresantes serán donde se registre el mayor número de especies de insectos formadores de agallas, independiente de cualquier otro factor.

La humedad atmosférica es significativa, ya que de ella depende la pérdida de agua. Los límites inferiores de distribución altitudinal de los insectos en las zonas montañosas dependen de la humedad. La resistencia a la sequía es una característica importante desde el punto de vista ecológico y no siempre es constante en todo el área de la distribución de las especies.

En cuanto a la vegetación, las diferencias en su composición taxonómica son factores que influyen en la entomofauna de una región (Janzen y Schoener 1968 y Janzen 1973). La mayoría de las especies fitófagas tienden hacia la especialización, alimentándose finalmente de una o algunas especies de plantas pertenecientes a un género (Futuyma 1991). Dreger-Jauffret y Shorthouse (1992) indican que los insectos formadores de agallas son altamente específicos con respecto a su planta hospedera y, aun con respecto al órgano que atacan, estos insectos solo forman agallas en una especie o en un grupo de plantas taxonómicamente muy cercano. Por lo tanto, un factor fundamental en la distribución y en la riqueza de insectos con este hábito está relacionado a la distribución de sus plantas hospederas.

Según Fernández y Price (1991), el incremento de las especies de insectos formadores de agallas se encuentra relacionado con el incremento de las especies de arbustos; sin embargo, este factor depende a su vez de

diversas fuerzas naturales selectivas y de la capacidad de adaptación de los insectos. La vegetación de los bosques subperennifolio tropical y perennifolio subtropical (Nusagandi y Fortuna respectivamente) cubre áreas poco perturbadas donde los procesos ecológicos de sucesión se encuentran bien avanzados, por lo que se cuenta con una enorme riqueza taxonómica en su vegetación lo que permite a los insectos tener la posibilidad de encontrar sus hospederos, transformándose en un área con una alta diversidad de insectos formadores de agallas, como lo indican nuestros resultados. En una región donde la riqueza taxonómica es muy grande existe una alta probabilidad de encontrar un número de especies de plantas hospederas para los insectos formadores de agallas.

SUMMARY

THE RICHNESS OF GALL-FORMING INSECTS IN NINE LIFE ZONES OF THE REPUBLIC OF PANAMÁ.

The Gall is an abnormal tissue outgrowth observed in different organs of plants. They are produced by diverse organisms, mainly insects, which take over the internal tissue of the plant creating with it an intense relationship of interdependence. Such structure, in which the insect accumulates water and nutrients, gives them protection against the physical environment and natural predators. Furthermore, gall supply nourishment during the period of larval development. In our study, we worked in nine sites, with five types of vegetation and seven life zones, in order to establish the relationship existing between the different factors that can affect the species richness of the gall-forming insects. At the end, we were able to establish an inverse relationship between altitude and the species richness of the gall-forming insects; being the locality of Nasugandi, 280 m above sea level, which demonstrates to have the highest number of species of such insects. In regard to the type of vegetation, we have shown that the subperennifolia tropical forest has the highest species richness of the gall-forming insects. The humid tropical forest of the seven life zones was the one to present the largest species richness of the gall-forming insects. Finally, we estimate that a mean of 6 species gall-forming insects per hour of collecting is typical for our country.

KEYWORDS

Insects, gall-forming insects, life zones, vegetation, altitude.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAMSON, W. y McCREAN, K. 1986. The impacts of galls and gall-makers on plants. **Proc. Entomol. Soc. Wash.** 88 (2), 364 - 367.

BRONNER, R. 1977. Contributions à l'étude histochimique des tissus nourriciers des zoocécidies. **Marcellia**, 40, 1-134.

CLARIDGE, M. y SINGHRAO, J. 1978. Diversity and altitudinal distribution of grasshoppers (Acridoidea) on a Mediterranean mountain. **Journal of Biogeography**, 5, 239-250.

DREGER-JAUFFRET, F. y SHORTHOUSE, J. 1992. Diversity of gall-inducing insects and their galls. En: **Biology of Insect-Induced Galls**. Eds. Short-house, J.D. y O. Rohfritsch. Oxford: Oxford University Press. pp. 8-33.

FELT, E. 1965. **Plant Gall and Gall makers**. Nueva York y Londres: Hafner Publishing Company. 364 pp.

FERNANDEZ, W. y LARA, A. 1993. Diversity of indonesian gall - forming herbivores along altitudinal gradients. **Biodiversity Letters**. 1, 186 - 192.

FERNANDEZ, W. y PRICE, P. 1988. Biogeographical gradients in galling species richness. **Oecologia**. 76, 161-167.

FERNANDEZ, W. y PRICE, P. 1991. **Comparison of Tropical and Temperate Galling Species Richness: The Roles of Environmental Harshness and Plant Nutrient Status**. **Plant-animal Interactions**. Nueva York: John Wiley & Sons, Inc. pp. 91-113.

FUTUYMA D. 1991. Evolution of host specificity in herbivorous insect: Genetic, Ecological and Phylogenetic Aspect En: **Plant-Animal Interactions: Evolutionary in Tropical and Temperate Regions**. Eds. P. Price. T. M. Lewinsohn, G. Fernández y W. Benson. Nueva York: Weiley.

GAGNE, W. 1979. Canopy associated arthropods in acacia koa and metrosideros tree communities along an altitudinal transect on Hawaii Island. **Pacific Insect**. 21, 56- 87.

GAULD, I. 1985. A preliminary survey of the Ophioninae (Hymenoptera: Ichneumonidae), of Brunei. **Brunei Museum Journal**. 6, 169- 185.

HERBERT, P. 1980. Moth communities in montane Papua, New Guinea. **J. Anim. Ecol.** 43, 593-602.

JANZEN, D. 1973. Sweep samples of tropical foliage insect effects of seasons, vegetation types, elevation, time of day, and insularity. **Ecology.** 54, 687-708.

JANZEN, D. 1976. Why are there so many species of insects? **Proceedings "XV" Congress of Entomology**, Washington. pp. 84-94.

JANZEN, D. y SCHOENER, T.W. 1968. Differences in insect abundance and diversity between wetter and drier sites during a tropical dry season. **Ecology.** 49, 96- 110.

KREBS C, 1985. **Ecología: Estudio de la Distribución y Abundancia.** México: Editorial Harla, 752 pp.

LARA, A. y FERNANDEZ, W. 1996. The highest diversity of galling insects: Serra do Cipó. **Biodiversity Letters.** 3, 111-114.

LAWTON, J. y HEADS, P. 1987. Effects of altitude on the abundance and species richness of insect herbivores on bracker. **J. Anim. Ecol.** 56, 147-160.

MANI, M. 1992. Introduction to cecidology. En: **Biology of Insect - Induced Galls.** Eds. J.D. Shorthouse y O. Rohfritsch. Oxford: Oxford University Press. pp. 3-7.

MANI, M. 1964. **Ecology of Plant Galls.** La Haya: W. Junk, 434 pp.

MATTEUCCI, S. y COLMAN, A. 1982. **Metodología para el Estudio de la Vegetación.** Serie de monografías, Biología, N.22, Programa regional de desarrollo científico y tecnológico. OEA. Washington, D.C. 168 pp.

MARESQUELLE, H. y MEYER, J. 1965. Physiologie et morphogènese des galles d' origine animale (zoocécidies). **Handb Pflanzenphysiol.** 15, 280-329.

MEYER, J. y MARESQUELLE, H. 1983. **Anatomie des Galles.** Berlín. Borntraeger, 662 pp.

PRICE, P., FERNANDEZ, W., LARA, C., BRAUN, J., GERLING, D., BARRIOS, H., WRIGHT, M., RIBEIRO, S. y ROTHCLIFF, N. 1998. Global patterns in local number of insect galling species. **J. Biogeog.** 25 (3), 581.

ROHFRITSCH, O. 1971. Développement cécidien et rôle du parasite dans quelques galles d'arthropodes. **Marcellia**. 37, 233-339.

ROHFRITSCH, O. y SHORTHOUSE, J. 1982. **Insect Galls in Molecular Biology of Plant Tumors**. Eds. G. Kahl y J.S. Schell . Nueva York: Academic Press. 615 pp.

SHORTHOUSE, J. 1986. Significance of nutritive cells in insect galls. **Proc. Entomol. Soc. Wash.** 288(2), 368-376. ○

STORK, N. 1988. Insect diversity: Facts, fiction and speculation. **Biol. J. Linn. Soc.** 35, 321-337.

TURNER, B. y BROADHEAD, E. 1974. The diversity and distribution of psocid populations on *Mangifera indica* L. in Jamaica and relationship to altitude and micro-epiphyt diversity. **J. Anim. Ecol.**, 43:173-190.

TOLERANCIA A LA SALINIDAD Y EFECTO SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO DE TRES ESPECIES DE ERIZOS DE MAR DEL GÉNERO *Echinometra*: *E. lucunter* y *E. viridis* DE LA COSTA ATLÁNTICA Y *E. vanbrunti* DE LA COSTA DEL PACÍFICO PANAMEÑO (EQUINODERMATA)

IVÁN G. LUNA, ANA ESPINO, MEYBIS PINILLA Y RICARDO TUÑÓN

Departamento de Fisiología y Comportamiento Animal,
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología,
Universidad de Panamá.

RESUMEN

Tres especies de erizos del género *Echinometra*: *E. vanbrunti* del Pacífico y *E. lucunter* y *E. viridis* del Atlántico fueron estudiadas con el propósito de evaluar su rango de tolerancia a la salinidad y su efecto en el consumo de oxígeno de estas especies. Con este fin se midieron junto con el rango de tolerancia, la concentración salina letal, el tiempo de tolerancia, el consumo de oxígeno y el cambio de la concentración de cloro dentro del líquido celómico a diferentes salinidades entre 0 y 70‰ con incrementos de 5‰.

Los resultados mostraron una amplia zona de tolerancia en las bajas salinidades para *E. vanbrunti* que llega hasta 5‰. Asimismo, las tres especies presentaron una región extensa de tolerancia entre los 10 y 60‰. *E. vanbrunti* presenta, tanto para cambios bruscos como paulatinos de salinidad, un consumo de oxígeno más o menos constante entre 15 y 45 ‰, disminuyendo hacia las zonas extremas. Sin embargo, las especies del Caribe, cuando son expuestas a cambios bruscos, presentan aumento del consumo de oxígeno hacia la región de las concentraciones salinas bajas y mantienen éste constante en la zona de las salinidades altas. Al exponerse estas dos especies a alteraciones graduales, *E. lucunter* responde de manera similar que *E. vanbrunti*. Sin embargo, *E.*

viridis mantiene su consumo de oxígeno constante dentro de toda la zona de salinidad estudiada. Las tres especies resultaron osmoconformadoras entre los 10 y 55‰; sin embargo, son osmoreguladoras hiperosmóticas e hipoosmóticas en la zona de baja y alta salinidad, respectivamente.

Nuestro estudio apoya las conclusiones de Lessios (1981) en el cual expone que las especies geminadas responden a cambios en los parámetros físicos que explican las diferencias al nivel molecular que existen entre *E. vanbrunti* y *E. lucunter*.

PALABRAS CLAVES:

Fisiología, Salinidad, Consumo de oxígeno, *Echinometra*

INTRODUCCION

Uno de los acontecimientos geológicos más trascendentales en la evolución de la corteza terrestre, que influyó sobre el hemisferio occidental, fue el levantamiento del istmo de Panamá hace 3,5 millones de años (Kaneps, 1979; Keigwin, 1982; White, 1986; Coates *et al.*, 1992). Esto trajo como consecuencia cambios en la geología de esta región (Kaneps, 1979; Hedges, 1982; Keigwin, 1982; Coates *et al.*, 1992), en el patrón de corrientes marinas al promover la formación de la corriente del Golfo (Kaneps, 1979; Ruddiman, 1979; Keigwin, 1982), en la climatología al afectar esta masa de agua el clima del Atlántico Norte (Ruddiman, 1979; Kaneps, 1979; Keigwin, 1982). Sin embargo, donde se pudo sentir más su efecto fue en la biogeografía del continente americano al promover la creación de nuevas especies con la unión de las dos Américas y la separación de los dos océanos (Hedges, 1982; Keigwin, 1982; White, 1986; Coates *et al.*, 1992).

Este proceso promovió cambios en las condiciones físicas de ambas costas en un tiempo bastante corto. Por lo tanto, esto representa una oportunidad de determinar cómo el ambiente influye en la especiación alopatrica. La literatura reporta una gran cantidad de ejemplos de especies en formación a velocidades variables debido a diferencias en las condiciones físicas entre ambas costas panameñas. Sin embargo, pocos trabajos existen en los cuales se determine cómo los factores ambientales divergentes, como: temperatura, salinidad u otros, promueven el proceso de especiación. En este aspecto, Graves *et al.*, (1983) estimaron para cuatro

especies de barracudas que las diferencias en temperaturas de ambas costas indujeron cambios en su ámbito genético, los cuales se manifestaron como diferencias en la cinética enzimática de la deshidrogenasa láctica muscular. Esto promovió que las especies del Pacífico, en contraste con las del Atlántico, se hicieran más resistentes a las condiciones de baja temperatura imperante durante la estación seca en la Bahía de Panamá. Al igual que la temperatura, otros factores, como: la salinidad, tipo de costa, marea, las cuales difieren en ambos litorales, pudieron promover diferencias fisiológicas que se tradujeron en la formación de nuevas especies.

Uno de los factores más discrepantes entre ambas costas es la salinidad. El agua en la costa atlántica ($\approx 35\text{‰}$) es más salina que la del Pacífico ($\approx 33\text{‰}$) (Glynn, 1972; Rubinoff, 1968). Este factor puede ser más estresante para las especies que habitan en la zona de entremarea, a lo largo de la cual la salinidad varía debido a la insolación y la lluvia. En este aspecto existen diferencias entre ambas costas. Así tenemos que esta zona es más extensa en la costa del Pacífico que en la del Caribe (amplitud de marea de 6 m en el Pacífico vs 0,5 m en el Caribe). Esto ocasiona que la costa del Pacífico esté más expuesta a la inclemencia de los factores abióticos. Por ejemplo, sus playas presentan una gran cantidad de pozas de agua las cuales se encuentran sometidas a la insolación o la lluvia alterando su salinidad. Por consiguiente, los animales que viven en esta región deben soportar, en pocas horas, cambios bruscos en este factor. Esta condición no es común en la costa del Caribe donde la salinidad es más constante.

Uno de los grupos de animales de la zona de entremarea donde se puede estudiar con mucha facilidad los efectos de la salinidad sobre su fisiología son los erizos de mar. Ellos resultan fáciles de obtener y trabajar en el laboratorio. Asimismo, dentro de este grupo se presentan géneros con especies gemelas en ambas costas, que permiten investigar cómo los factores físicos pudieron haber influido sobre la especiación de este grupo. Lessios (1979, 1981) ha estudiado morfológica, ecológica y electroforéticamente tres géneros de erizos con representantes en ambas costas de Panamá (*Eucidaris*, *Diadema* y *Echinometra*), pudiendo determinar la presencia de especies morfológicamente similares o gemelas (*geminata*). Uno de estos géneros cuya especiación relacionada con el levantamiento del istmo ha sido más estudiado es *Echinometra*. Lessios (1979) y Bermingham y Lessios (1993) establecen la presencia de tres especies de este género en el istmo de Panamá: *E. vanbrunti* en la costa del Pacífico y *E. lucunter* y *E. viridis* en la costa atlántica. Estos dos autores reconocen a las dos primeras especies como gemelas; en tanto que a las dos últimas las consideran como simpátricas. Lessios (1981) establece que *E.*

lucunter y *E. vanbrunti* son morfológicamente similares, pero difieren genéticamente. Sin embargo, entre las dos especies simpátricas, *E. lucunter* y *E. viridis*, la situación es opuesta; ellas son genéticamente similares pero difieren en su morfología. Al respecto, este investigador atribuye las semejanzas morfológicas a la explotación del mismo hábitat, debido a que las especies gemelas habitan en zonas rocosas de aguas someras donde construyen agujeros. Sin embargo, *E. viridis* vive en aguas profundas (a más de 5 m de profundidad) y no construye madrigueras en las rocas. Por consiguiente, este autor concluye que los factores abióticos afectan la morfología de estas especies, en tanto que el nicho ecológico influye sobre los genes. Varios autores han revelado diferencias en el ámbito fisiológico entre estas especies, como lo son: la asimetría en la fecundación (Lessios y Cunningham, 1990) y las diferencias en el tamaño de los huevos (Lessios, 1990). Sin embargo, no existe estudio que demuestre el efecto de un factor físico sobre las semejanzas y diferencias entre estas especies. Este conocimiento permitiría determinar la influencia de los factores abióticos sobre las semejanzas y diferencias entre las especies en un tiempo corto.

En este trabajo emplearemos los tres representantes del género *Echinometra*: *E. vanbrunti*, del Pacífico, y *E. lucunter* y *E. viridis*, del Caribe, que viven en la zona de entremarea para determinar las diferencias en su tolerancia a la salinidad y la influencia que ésta ejerce sobre uno de los mecanismos fisiológicos que han desarrollado estas especies para soportar los embates de este factor: el consumo de oxígeno.

PARTE EXPERIMENTAL

Aspectos generales de la metodología:

Los especímenes de *E. lucunter* y *E. viridis* del Caribe fueron colectados en la playa La Angosta de Colón (79°43' 45" longitud W. y 9° 20' 02" latitud N.). En tanto que los representantes de *E. vanbrunti* fueron obtenidos en Punta Paitilla (79° 30' 10" longitud W. y 8° 58' 40" latitud N.). El material, después de colectado, fue colocado en una nevera portátil y transportado al Laboratorio Arnoldo Masters de Fisiología General, del Departamento de Fisiología y Comportamiento Animal, de la Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, de la Universidad de Panamá, para su aclimatación por un período no mayor de cinco días. Los especímenes que se iban a emplear en la prueba de consumo de oxígeno fueron aclimatados en los estanques marinos de la Estación de Naos, del

Instituto Smithsonian, durante el mismo período de tiempo. Estas aclimataciones de las especies del Atlántico se realizaron con agua del Pacífico debido a la dificultad de transportar agua de esta costa hacia el laboratorio.

Para todas las pruebas se prepararon diluciones de agua de mar con las siguientes salinidades: 0, 3, 5, 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 y 65‰. Las soluciones por debajo de 33 ó 35‰, de acuerdo a la procedencia del erizo, fueron obtenidas añadiendo agua de grifo desclorinada al agua de mar 33 ó 35‰. En tanto que las salinidades superiores se lograron usando agua de mar artificial sobresaturada (Instant Ocean).

Para cada prueba se determinó el peso y el diámetro de cada individuo.

Salinidad letal:

La salinidad que producía la muerte de los erizos se estimó usando un diseño bifactorial completamente al azar. Los factores tuvieron representados por las salinidades en estudio y la especie; en tanto que la variable dependiente estuvo representada por la concentración salina que produjo la muerte de los erizos. La muerte del animal se determinó mediante la falta de movilidad de las espinas, el periprocto y la boca de acuerdo a los criterios propuestos por Moore y López (1972).

Para esta prueba, 20 ejemplares de cada especie fueron colocados en recipientes de 500 mL con 300 mL de agua de mar con la salinidad de aclimatación. A cada recipiente se le fue disminuyendo o aumentando la salinidad siguiendo el procedimiento descrito en el apartado anterior hasta provocar la muerte del animal. A la vez se fueron registrando los cambios morfológicos y el comportamiento de los individuos ante las alteraciones de la salinidad.

Tiempo de tolerancia:

El tiempo de tolerancia se estudió mediante un diseño completamente al azar. Los tratamientos representaron las salinidades en estudio y, como variable dependiente, se midió el tiempo de resistencia del erizo a las concentraciones en estudio.

En este caso un animal fue colocado en cada recipiente y las soluciones fueron llevadas a las salinidades deseadas siguiendo el método descrito en el primer apartado. Al llegar a ésta, se procedió a determinar el tiem-

po de tolerancia por un lapso de 6 horas. La muerte de animal se determinó mediante el criterio expuesto en el apartado anterior.

Contenido de cloro del líquido celómico:

Para esta parte del estudio se empleó un diseño bifactorial completamente al azar, usando como factores la salinidad en estudio y la especie. La variable dependiente estuvo representada por la medición de la clorosidad del líquido celómico.

Para esta prueba, a 10 erizos sometidos a la salinidad problema se le extrajo el fluido celómico con una jeringuilla a través de la pared corporal. Este líquido fue analizado usando el método de Mohr para determinar el contenido de cloro del fluido. Este se expresó como clorosidad o sea mg de Cl⁻ por mL de líquido celómico.

Consumo de oxígeno:

Para esta sección del estudio se empleó un diseño bifactorial completamente al azar, usando como factores la salinidad en estudio y la especie. La variable dependiente estuvo representada por la medida del consumo de oxígeno de cada animal.

En esta prueba se diseñó un sistema que consistió en dos cajas de *plastic glass* con las siguientes dimensiones: 12 cm de largo, 10 cm de ancho y 7 cm de alto (12 x 10 x 7). Estas cajas estaban conectadas por medio de una llave de paso "Y" a un tubo único que se unía a una bomba de reflujo que regresaba el agua al tanque de alimentación que se encontraba a mayor altura que las cajas. De este tanque salía un tubo hacia cada caja conectado por una llave de paso. Al cerrar las tres llaves se cortaba la comunicación de las cajas en el momento de la medición del consumo de oxígeno. Para este experimento se emplearon cuatro réplicas por concentración. El consumo de oxígeno se midió cada dos horas por un lapso de seis horas mediante el método de Mohr.

Las pruebas de consumo de oxígeno se realizaron tanto en cambio brusco como paulatino de salinidad. La primera consistió en pasar inmediatamente los erizos desde el agua de aclimatación hacia la solución en estudio. Mientras que, en el segundo caso, los erizos fueron llevados gradualmente desde la salinidad del agua de aclimatación hasta la solución problema. Para esto, en el caso de la disminución de la salinidad, se agregó 20 mL

de agua del grifo desclorinada cada 15 minutos hasta obtener 600 mL de la solución problema. En tanto que, para el aumento de la salinidad, cada 15 minutos se adicionó 20 mL de agua de mar artificial sobresaturada hasta conseguir el volumen y concentración salina deseada.

RESULTADOS

Tiempo de tolerancia y concentración letal:

La Figura 1 permite apreciar que en ambas especies del Caribe (*Echinometra lucunter* y *E. viridis*) el 50 y 90% de los erizos tienden a morir a una salinidad diluida de aproximadamente 15‰. En tanto que, cuando se aumenta la salinidad, la concentración salina que produce el 50% de muerte es mayor para *E. lucunter* (60 y 65‰, respectivamente) que para *E. viridis* (55 y 57‰, respectivamente). Sin embargo, el rango de tolerancia en *E. vanbrunti* se encuentra desplazado hacia la izquierda. Esto quiere decir que esta especie tiende a resistir más las diluciones (11 y 5‰, respectivamente) que los aumentos de salinidad (50 y 52‰, respectivamente) cuando se compara con las dos especies caribeñas ($F = 36,5$; $p < 0,05$). La Figura 2 muestra que, cuando tomamos en cuenta el tiempo que el erizo soporta una salinidad dada, el panorama es diferente: las dos especies gemelas, *E. lucunter* y *E. vanbrunti*, resisten mayor tiempo las salinidades diluidas que *E. viridis*. Aunque, la segunda especie empieza a experimentar efectos en salinidades más diluidas (5‰) ($F = 25,8$; $p < 0,05$). Sin embargo, el comportamiento de las tres especies es similar en salinidades altas ($F = 8,7$; $p > 0,05$). En nuestro estudio no se encontró relación entre el tamaño y el peso de los erizos con la tolerancia a la salinidad ($r_{19} = 0,17$; $p > 0,05$).

Contenido de cloro en el fluido celómico:

La Figura 3 muestra que las tres especies en estudio son osmoconformadoras dentro de cierto rango dependiendo de la especie. Sin embargo, por debajo y encima de esta región, ellas se comportan como hiperosmoreguladoras a bajas salinidades e hipoosmoreguladoras a altas salinidades. Esta figura también nos permite apreciar que las tres especies tienden a mantener la clorosidad del medio interno ligeramente por debajo de la medio. El rango de osmoconformación varía con la especie. En *E. vanbrunti* éste es más estrecho, encontrándose entre 25 y 50‰; mientras que, en las dos especies del Caribe, éste se ubica entre 15 a 55‰ para *E. viridis* y 20 a 55‰ para la otra especie (Figura 4).

Figura 1.

Porcentaje de mortalidad acumulada por *Echinometra vanbrunti*, *E. viridis* y *E. lucunter*.

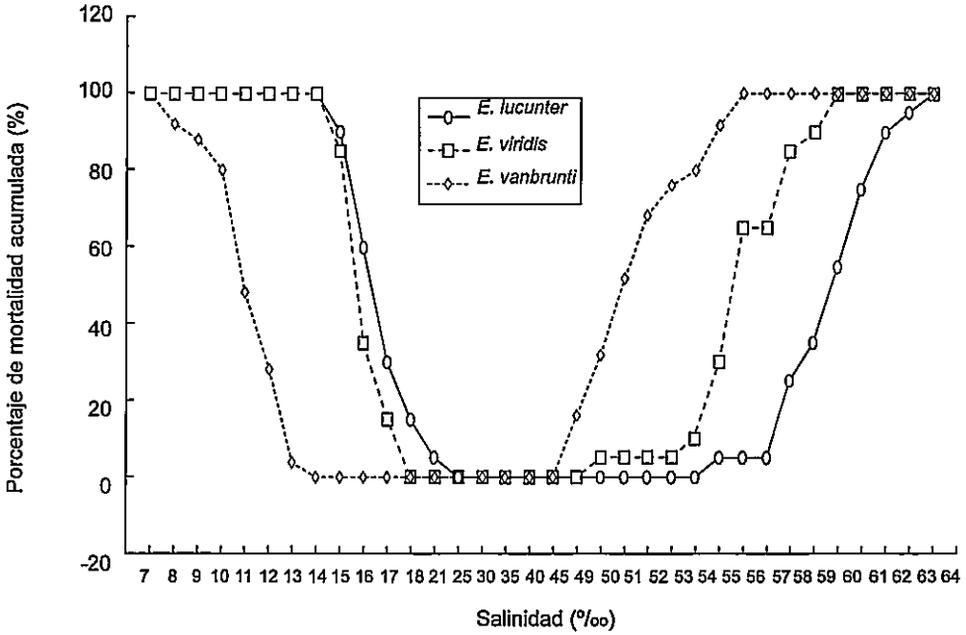


Figura 2.

Tiempo de tolerancia a la salinidad 50 para las tres especies en estudio ante cambio brusco de concentración salina.

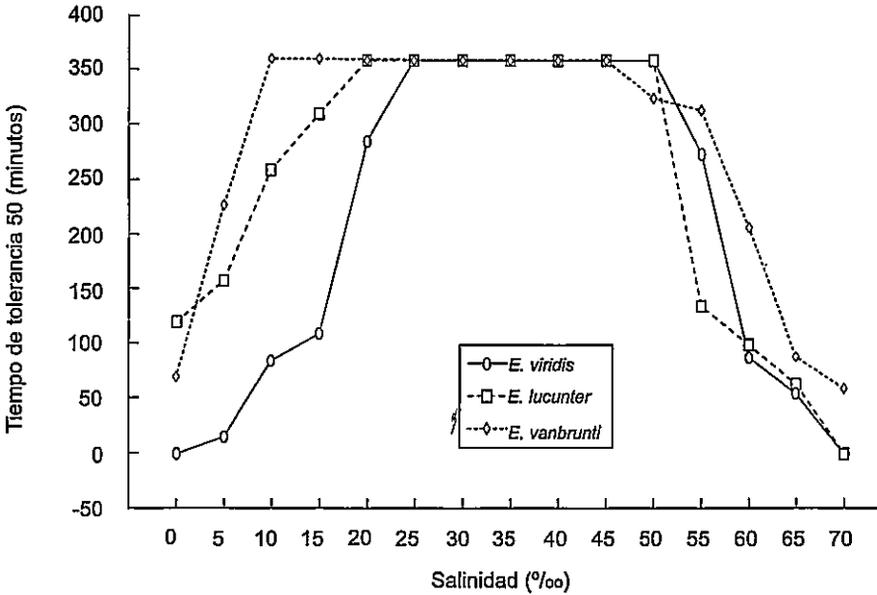


Figura 3.
Relación de la clorosidad del líquido celómico con respecto a la salinidad del medio de las tres especies de erizos en estudio y el medio circundante.

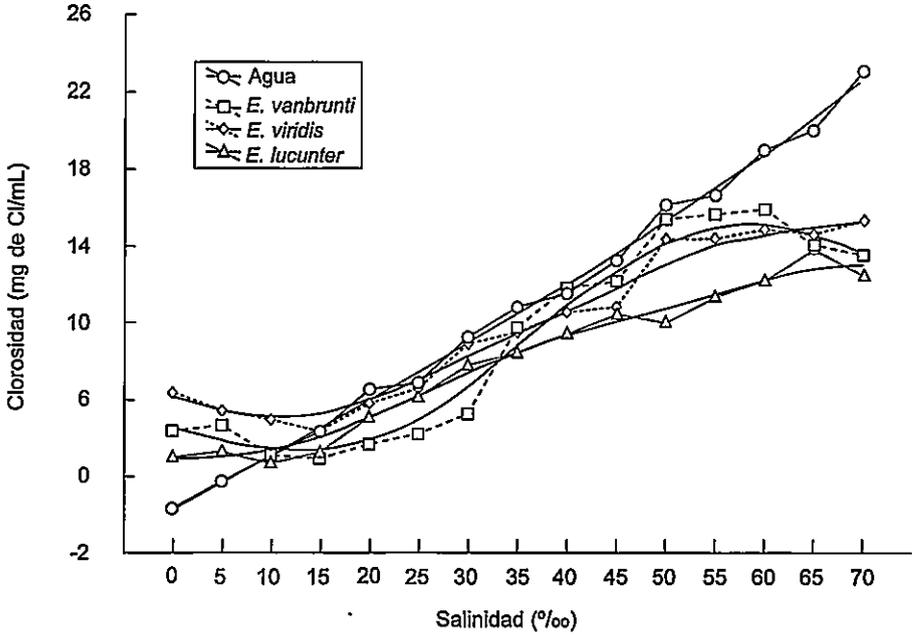
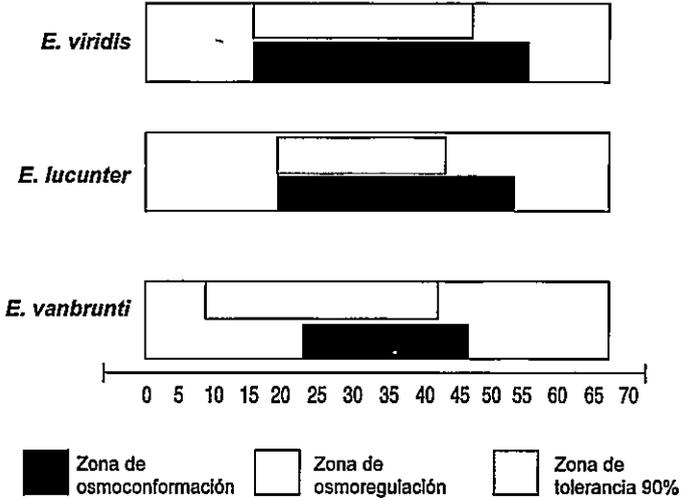


Figura 4.
Rango de osmoconformidad, osmoregulación y tolerancia 90% de las especies de erizos en estudio.



Consumo de oxígeno:

Una forma de medir la tolerancia a la salinidad de una especie es mediante el consumo de oxígeno. Las Figuras de 5 a 7 muestran las diferencias en el comportamiento del consumo de oxígeno entre las tres especies en estudio en ambos experimentos. *E. vanbrunti* (Figura 5), tanto en cambio brusco como paulatino, tiende a mantener su consumo de oxígeno más o menos constante entre 15 y 35‰, disminuyendo cuando se aumenta o baja la salinidad fuera de este rango. Esta región coincide aproximadamente con la zona de osmoconformidad que vimos en la sección anterior. Por el contrario, *E. lucunter* varía su comportamiento dependiendo de la situación de cambio en salinidad (Figura 6). Ante una alteración brusca, el consumo de oxígeno se mantiene constante entre 35 y 55‰, tendiendo a aumentar por debajo y encima de esta zona. Sin embargo, cuando el cambio de salinidad es gradual, el comportamiento de este parámetro es semejante al de *E. vanbrunti*, coincidiendo esta región con la zona de osmoconformidad vista en la sección anterior. Con respecto a *E. viridis*, el comportamiento del consumo de oxígeno es bastante curioso (Figura 7). Cuando el cambio de salinidad es brusco, el consumo de oxígeno aumenta en soluciones diluidas, pero en las concentradas se mantiene constante. Sin embargo, si la salinidad se altera paulatinamente, el consumo de oxígeno se mantiene constante tanto en las soluciones diluidas como en las concentradas.

Figura 5.

Consumo de oxígeno (mL de oxígeno por gramo/hora) de *E. vanbrunti* ante cambio brusco y paulatino de salinidad.

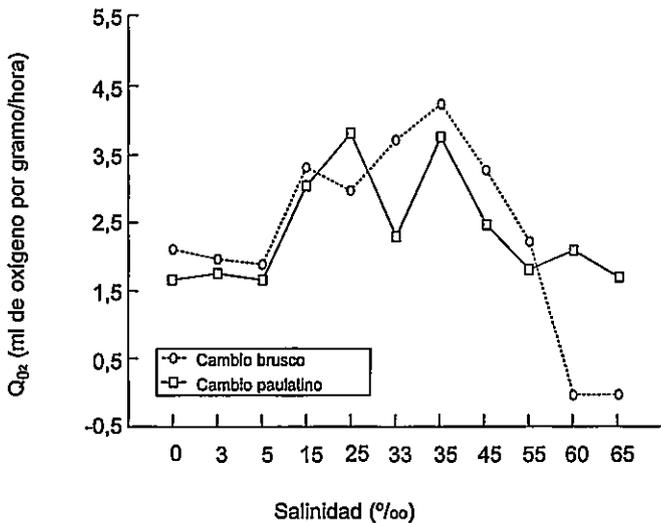


Figura 6. Consumo de oxígeno (ml de oxígeno por gramo/hora) de *E. lucunter* ante cambio brusco y paulatino de salinidad.

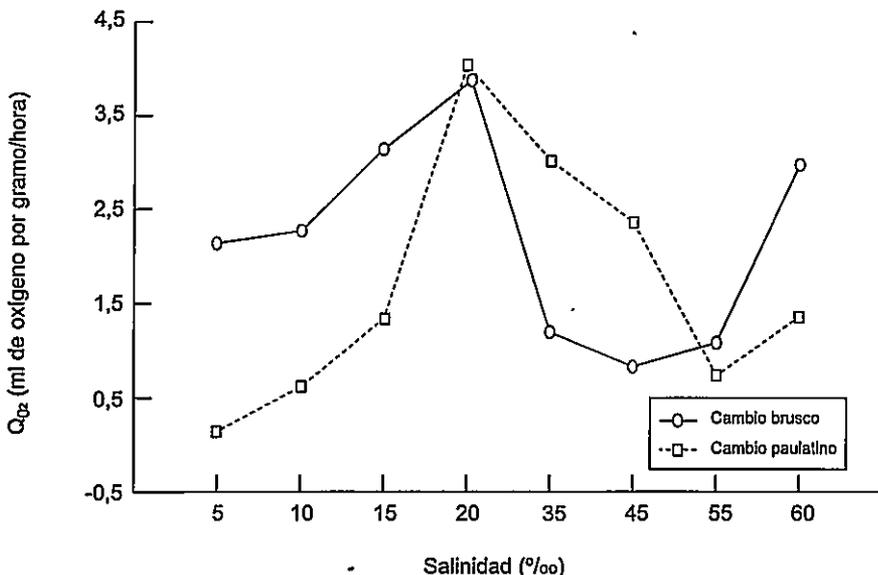
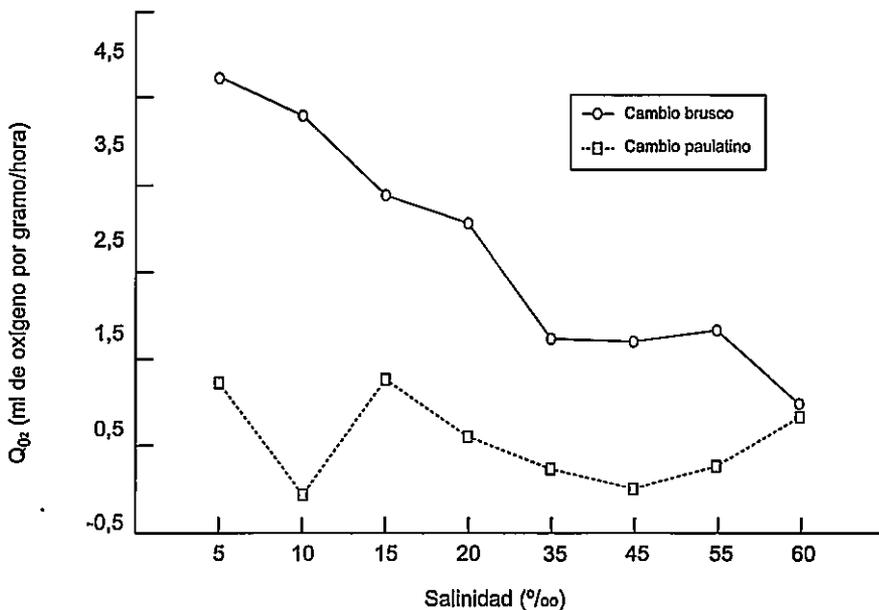


Figura 7. Comparación del consumo de oxígeno (mL de oxígeno por gramo/hora) de la especie *E. viridis* ante cambios bruscos y graduales de salinidad.



DISCUSION

El levantamiento del istmo de Panamá promovió la diferenciación en las condiciones físicas de ambas costas, haciendo que la del Pacífico fuera más hostil que la del Caribe. Así, el Caribe presenta mayor salinidad (1 a 2‰ mayor que el Pacífico Este), contenido de oxígeno y dióxido de carbono que el Pacífico (Keigwin, 1982). El Caribe con sus costas fuertemente pronunciadas produce amplitudes de marea más pequeñas ($\approx 0,5\text{m}$) que las del Pacífico Este ($\approx 6\text{ m}$). Asimismo, la dirección de los vientos alisios de Norte a Sur durante la estación seca evita la formación de una termoclina como ocurre en el Golfo de Panamá (Smayda, 1963; Rubinoff, 1968; Glynn, 1972) que hace que las aguas sean más frías durante esta época. Por lo tanto, los animales en la costa del Pacífico han tenido que desarrollar mecanismos que contrarresten las condiciones adversas que caracterizan este lado del istmo de Panamá.

Una de las características físicas de la costa del Pacífico que tiende a afectar más la distribución de la fauna es su mayor amplitud de marea. Durante la bajamar, una proporción de la costa queda expuesta a la inclemencia del clima y se forman una serie de pozas de agua donde pueden vivir los organismos que no resisten la desecación. Factores como la insolación y las lluvias producen la alteración de la salinidad y temperatura de dichos cuerpos de aguas. Sin embargo, durante la pleamar las condiciones vuelven a cambiar. Por consiguiente, los individuos que viven aquí han tenido que desarrollar mecanismos que les han permitido resistir las condiciones fluctuantes que caracterizan esta zona. Estas condiciones variables no son encontradas en la costa del Caribe, donde, debido a la poca amplitud de la marea, los animales se encuentran en un medio más constante. Por lo tanto, estas diferencias pudieron haber promovido que las poblaciones de las mismas especies que fueron separadas por el surgimiento del istmo de Panamá hace 3,5 millones de años hallan evolucionado de manera diferente en ambas costas.

Nuestros resultados muestran que las tres especies presentan un amplio ámbito de tolerancia. Ellas soportan salinidades bajas que van de 5‰ en *E. vanbrunti* y 20‰ en *E. viridis* a altas entre 55‰ y 60‰. Estos ámbitos amplios de salinidad no son muy útiles en la costa del Caribe donde se registran disminuciones de salinidad de hasta 25‰ después de fuertes lluvias e incrementos de 40‰ durante la estación seca.

¿Por qué entonces una especie como *E. viridis*, que habita en un ambiente con salinidad estable a 5 m de profundidad, requiere de un ámbito tan

amplio de salinidad? Nosotros proponemos que estas especies proceden de un antecesor que vivía en un ambiente de salinidad fluctuante entre 15 - 70‰. Lo más probable es que este antecesor vivió en las costas de las islas que se fueron formando con el ascenso del istmo antes de 3,5 millones de años. Al separarse los océanos estas especies se fueron adaptando a las nuevas condiciones. *E. lucunter* amplió su ámbito para soportar las diluciones producidas en una zona que se veía afectada por las lluvias. *E. vanbrunti* aumentó aún más su ámbito de tolerancia al quedar expuesta en pozas pequeñas, que por su menor volumen y el efecto de las lluvias, podían disminuir su salinidad aún más. También, aparentemente, el hábitat original de las tres especies antes de 3,5 millones de años se caracterizaba por aumentos en salinidad de hasta 60‰, lo que explica estos extremos tan altos en las especies del Caribe, principalmente *E. viridis* que vive en un ambiente más estable.

A pesar de que las tres especies presentan un amplio ámbito de tolerancia, éste fue diferente entre las especies en estudio del Caribe y del Pacífico. Así tenemos que *E. vanbrunti* presentó una tolerancia a la salinidad mayor que las dos especies del Caribe, siendo ésta más amplia hacia la región de salinidades bajas resistiendo hasta 5‰. Esto se explica porque esta especie vive en las pozas de agua que se forman durante la marea baja, las cuales presentan disolución por la acción de las lluvias. Por ejemplo, algunas pozas muestreadas registraron lecturas de salinidades hasta 0‰ después de un fuerte aguacero. Esto hace que la presión selectiva ejercida sobre esta especie le haya permitido adaptarse para soportar concentraciones salinas que son poco frecuentes en el Caribe a pesar de presentar un mayor régimen de lluvia.

Las tres especies utilizan el mismo mecanismo cuando la salinidad cambia gradualmente, diferenciándose en la región de constancia del consumo de oxígeno. La especie del Pacífico, *E. vanbrunti*, la cual vive en un hábitat de concentración salina más fluctuante, tanto en cambio gradual como súbito de la salinidad, mantiene constante su consumo de oxígeno entre 15 y 35‰, disminuyéndolo en las salinidades extremas (Figura 5). Un comportamiento similar fue observado por Giese y Farmanfarmanian (1963) en el erizo púrpura *Stroglylocentrotus purpuratus* que también vive en este tipo de hábitat. Lo que nos hace pensar que las especies que viven en ambientes con salinidades fluctuantes tienden a economizar energía bajando la tasa metabólica en las salinidades extremas. A diferencia de las especies del Caribe, cuando se revisó el contenido de cloro en el líquido celómico de *E. vanbrunti*, se pudo apreciar que presentó el ámbito de osmoconformidad más estrecho (25-50‰)

(Figuras 3 y 4). Lo que nos hace sugerir, que ella ha evolucionado de tal manera que disminuye su tasa metabólica cuando comienza a osmoregular, canalizando toda la energía para mantener la salinidad de su medio interno constante. Esto se pudo corroborar por la disminución en la actividad que se observó cuando los erizos se encontraban dentro de la zona de salinidad extrema.

Sin embargo, las dos especies del Caribe, a pesar de vivir en un ambiente más estable, también disminuyeron su consumo de oxígeno cuando la salinidad cambió gradualmente. No obstante, el ámbito de disminución en, *E. lucunter*, es bastante estrecho (15 - 25‰) (Figura 6); mientras que, en *E. viridis*, se mantiene constante a lo largo de todo el ámbito de salinidades (Figura 7). En contraste, no se pudo observar la misma asociación reportada para *E. vanbrunti* entre ésta y la zona de osmoconformidad del líquido celómico. Lo que nos hace sugerir que el mecanismo fisiológico empleado por la especie del Pacífico está más desarrollado que para las especies del Caribe.

El alto desarrollo del mecanismo de ahorro de energía ante cambios de salinidad se logra evidenciar mejor en *E. vanbrunti* cuando la salinidad es alterada bruscamente. Esta especie es la única de las estudiadas que disminuye su consumo de oxígeno, puesto que las del Caribe responden aumentando su tasa metabólica (Figuras 5 a 7). Esto nos indica que la especie del Pacífico, debido a lo fluctuante que es su ambiente, ha desarrollado un mecanismo que le permite economizar energía ante cualquier cambio de salinidad que le resulte estresante. Por otro lado, las especies caribeñas no están sometidas con tanta frecuencia a cambios de salinidad, de tal manera que cualquier cambio brusco de salinidad conduce a un incremento de la tasa metabólica.

Nuestros resultados parecen apoyar la conclusión de Lessios (1981) en el sentido de que las diferencias moleculares entre las dos especies gemelas, *E. lucunter* y *E. vanbrunti*, se explican debido a disimilitudes en las condiciones físicas de ambos medios. Hemos podido ver, también, que ambas especies responden de manera diferente a los cambios de salinidad. *E. vanbrunti* presenta un mayor rango de tolerancia hacia la zona de dilución en respuesta a la disminución de la salinidad que es característica del hábitat en que vive. Sin embargo, *E. lucunter*, que no reside en pozas y siempre está expuesta a grandes masas de agua de mar, presenta un ámbito más estrecho. Las diferencias entre ambas se aprecian mejor en los mecanismos fisiológicos que emplean para superar las alteraciones de la salinidad de su

medio, en donde la especie del Pacífico ha desarrollado un mecanismo de ahorro energético más elaborado que las caribeñas. Por lo tanto, estas diferencias deber estar apoyadas genéticamente para que pasen de generación a generación. Esta se traduce en una disminución del consumo de oxígeno que se asocia con la osmoregulación de su medio interno. Sin embargo, entre las dos especies simpátricas del Caribe, a pesar de las diferencias de hábitat, la forma de actuar ante los cambios salinos es similar.

SUMMARY

SALINITY TOLERANCE AND ITS EFFECTS ON OXYGEN CONSUMPTION IN THREE SPECIES OF SEA URCHIN OF THE GENUS *Echinometra*: *E. lucunter* and *E. viridis*, OF THE ATLANTIC COAST AND *E. vanbrunti*, OF THE PACIFIC COAST (ECHINODERMATA).

Three species of sea urchin of the genus *Echinometra*: *E. vanbrunti*, from Pacific coast, *E. lucunter* and *E. viridis*, from Caribbean coast, were studied in order to evaluate its salinity tolerance span and the effect of it on their oxygen uptake. For this purpose the salinity tolerance span, lethal saline concentration, tolerance time, oxygen uptake and chloride concentration changes of the celomic fluid at different salinities between 0 and 70 ‰ with increment of 5 ‰ were measured.

Our data showed a wide tolerance zone at the lower salinities for *E. vanbrunti* up to 5‰. Although, the three species showed an extended tolerance zone between 10 and 60‰, *E. vanbrunti* presented, both at suddenly and gradually changes, a steady oxygen uptake between 15 and 45 ‰, though decreasing at the extreme zones (Figure 5). The caribbean species, when exposed to sudden changes, showed an increase in the oxygen uptake specially at low saline concentration, but kept it steady at the high saline zone (Figures 6 and 7). When both species were exposed to gradual changes, *E. lucunter* responded similarly to *E. vanbrunti*. However, *E. viridis* kept its oxygen uptake steady at the salinity under study. Our three species were osmoconformers within range of salinities of 10 to 55‰; even though, they are hyperosmotic and hypoosmotic osmoregulators out the above osmoconformer range.

Our study supports Lessios's conclusions, exposed in 1981, in which he asserted that geminate species respond to variable physical factors that explain the differences at molecular level between *E. vanbrunti* and *E. lucunter*.

KEY WORDS:

Physiology, Salinity, Oxygen consumption, *Echinometra*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERMINGHAM, E. y LESSIOS, H.A. 1993. Rate variation of protein and mitochondrial DNA evolution as revealed by sea urchins separated by the Isthmus of Panama. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 90, 2734-2738.

COATES, A.G., JACKSON, J.B., COLLINS, L.S., CRONIN, T.M. DOWSETT, H.J., BYBELL, L.M., JUNG, P. y OBANDO, J.A. 1992. Closure of the Isthmus of Panama. The nearshore marine record of Costa Rica and western Panama. **Geo. Soc. Am. Bull.** 104, 814-828.

GIESE, A.C. y FARMANFARMAIAN, A. 1963. Resistance of the purple sea urchin to osmotic stress. **Biol. Bull. Mar. Ntl. LA.** 124, 182-192.

GLYNN, P.W. 1972. Observations on the ecology of the Caribbean and Pacific coasts of Panama. **Bull. Soc. Wash.** 2, 13-30.

GRAVES, J.E, ROSENBALTT, R.H. y SOMERO, G.N. 1983. Kinetic and electrophoretic differentiation of lactate dehydrogenases of teleost species-pairs from the Atlantic and Pacific coast of Panama. **Evolution.** 37, 30-37.

HEDGES, S.B. 1982. Caribbean biogeography: Implications of recent plate tectonic studies. **Syst. Zool.** 31, 518-522.

KANEPS, A.G. 1979. Gulf stream: Velocity fluctuations during the late Cenozoic. **Science.** 204, 297-301.

KEIGWIN, L. 1982. Isotopic paleographic of the Caribbean and east Pacific: Role of Panama uplift in late neogene time. **Science.** 217, 350-352.

LESSIOS, H.A. 1979. Use of panamanian urchins to test the molecular clock. **Nature.** 280, 599-601.

LESSIOS, H.A. 1981. Divergence in allopatry: Molecular and morphological differentiation between sea urchins separated by the Isthmus of Panama. **Evolution.** 35, 618-634.

LESSIOS, H.A. 1990. Adaptation and phylogeny as determinants of egg size in echinoderms from the two sides of the Isthmus of Panama. **Am. Nat.** 135, 1-13.

LESSIOS, H.A. y CUNNINGHAM, C.W. 1990. Gametic incompatibility between species of the sea urchins *Echinometra* on the two sides of the Isthmus of Panama. **Evolution**. 44, 933-940.

MOORE, H.H.B. y LÓPEZ, N.N. 1972. Factors controlling variation in the seasonal pattern of *Lytechinus variegatus*. **Mar. Biol.** 4, 275-280.

RUBINOFF, I. 1968. Central american sea-level Canal: Possible biological effects. **Science**. 161, 857-861.

RUDDIMAN, W.F. 1979. Warmth of the subpolar North Atlantic Ocean during northern hemisphere ice-sheet growth. **Science**. 204, 173-175.

SMAYDA, T.J. 1966. A quantitative analysis of the phytoplankton of the Gulf of Panama. III. General ecological conditions and the phytoplankton dynamics at 8° 45' N, 79° 23' W from November 1954 to May 1957. **Bull. Inter-Am. Trop. Tuna Comm.** 11, 533-612.

WHITE, B.N. 1986. The isthmian link, antitropicality, and american biogeography: distributional history of the atherionopsinae (Pisces: Atherinidae). **Syst. Zool.** 35, 176-194.

AGRADECIMIENTO

Deseamos agradecer al Dr. Harislao Lessios y al Instituto Smithsoniano por su ayuda en la ejecución de este proyecto.

INCREMENTO DE LA PROLIFERACIÓN *IN VITRO* DE LINFOCITOS BOVINOS NATURAL Y EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA BOVINA (BIV)

OMAR A. DUPUY L.^{1,2} y JOSÉ A. BONILLA V.¹

¹ Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica. Código Postal 2060. San Pedro. Costa Rica.

² Escuela de Biología. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología. Universidad de Panamá.

RESUMEN

Desde su caracterización y clonaje molecular, el Virus de Inmunodeficiencia Bovina (BIV) ha sido objeto de estudios para demostrar su patogenicidad. Este trabajo fue realizado con el propósito de estudiar el efecto *in vitro* de BIV sobre la respuesta de linfocitos bovinos a mitógeno. Para este estudio, se utilizaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de bovinos BIV⁺ y BIV⁻ (Western blot). Todos los bovinos fueron BLV⁻ (ELISA).

Un método no radioactivo, basado en una técnica colorimétrica que emplea la sal de tetrazolio 2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-(fenil-amino-carbonil)-2H-tetrazol hidróxido (XTT), fue utilizado para detectar diferencias en la estimulación de linfocitos, después que PBMC fueron cultivadas con sobrenadante de células C2Th, infectadas con BIV.

Los resultados muestran que, *in vitro*, BIV induce un aumento en la respuesta de linfocitos bovinos al mitógeno PHA-M ($p < 0,05$). Este

incremento fue más significativo ($p < 0,01$), en el caso de linfocitos de bovinos BIV⁺. No se observaron variaciones en la estimulación de linfocitos, cuando PBMC fueron cultivadas con sobrenadante de células C2Th no infectadas con BIV ($p > 0,05$).

Los datos aquí presentados sugieren que la proliferación descontrolada de linfocitos, producto de la infección por BIV, puede ser parte de un mecanismo de inmunodeficiencia en bovinos.

PALABRAS CLAVES

Virus de Inmunodeficiencia Bovina, BIV, proliferación, linfocitos, bovinos, sal de tetrazolio, XTT.

INTRODUCCIÓN

Los retrovirus han sido implicados en un amplio espectro de desórdenes patológicos, tanto en el hombre como en animales (Haase, 1986; Gonda, 1994; Kettmann *et al.*, 1994).

El Virus de Inmunodeficiencia Bovina (BIV), aislado en 1972 (Van Der Maaten *et al.*, 1972), es un retrovirus perteneciente al género *Lentivirus* (Coffin, 1996; Nermut y Hockley, 1996; Mayo y Pringle, 1998), que está genética y biológicamente relacionado con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV) (Gonda *et al.*, 1987).

Diversos estudios han sido realizados en ganado bovino, para determinar los efectos de BIV sobre la función inmune. Los resultados de estas investigaciones muestran producción de anticuerpos específicos contra BIV (Whetstone *et al.*, 1990), aumento de la cantidad de linfocitos circulantes (Carpenter *et al.*, 1992), disminución (Martin *et al.*, 1991) e incremento de la blastogénesis de linfocitos (Flaming *et al.*, 1993), disminución (Onuma *et al.*, 1992) y ninguna alteración de la función de los monocitos (Rovid *et al.*, 1995), disminución de la función de los neutrófilos (Flaming *et al.*, 1993), proliferación temprana y transitoria de linfocitos B (Whetstone *et al.*, 1997) y la aparición de linfadenopatía y meningo-encefalitis no-supurativa (Munro *et al.*, 1998).

Experimentos previos, realizados en el Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), de la Universidad de Costa Rica,

llevaron a la detección y aislamiento de BIV en Costa Rica (Hidalgo *et al.*, 1995). Ensayos posteriores mostraron que los linfocitos de bovinos, naturalmente infectados con BIV y Virus de Leucosis Bovina (BLV), tienen reducida su respuesta proliferativa al mitógeno concanavalina A (Con A) (Hidalgo y Bonilla, 1996). Sin embargo, como consecuencia de la alta tasa de doble infección encontrada en los hatos lecheros, los resultados no son suficientes para aclarar cuál de los dos virus es responsable de la actividad supresora, o si se requiere la participación de ambos en un evento sinérgico.

En el presente trabajo, se muestran los resultados obtenidos al aplicar un método colorimétrico que emplea una sal de tetrazolio, en el estudio del efecto *in vitro* de BIV sobre la proliferación de linfocitos de bovinos BIV⁺ y BIV⁻. Nuestros datos indican que BIV induce un aumento de la proliferación de linfocitos bovinos *in vitro*.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales:

- Obtención de las muestras de sangre

Las muestras de sangre necesarias para la extracción de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) fueron obtenidas de 10 bovinos de raza Holstein (4-6 años de edad), seleccionados de un hato lechero de la Escuela de Medicina Veterinaria, de la Universidad Nacional, Costa Rica. Se emplearon tubos estériles al vacío con ácido cítrico-dextrosa (ACD) como anticoagulante.

- Células

Células Cf2Th (timo fetal canino) donadas por el Dr. M. A. Gonda, permisibles a la replicación de la cepa R29 de BIV, fueron cultivadas con medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Sigma, No. Cat. D-6655), suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10%, 50 µg/mL de estreptomycin, 100 UI/mL de penicilina, 2 mM de glutamina, 5 mM de 2-mercaptoetanol, 10 mM de solución MEM de aminoácidos esenciales, 45 mM de bicarbonato de sodio, 0,8 mM de glucosa y 25 mM de N-(2-hidroxitietil) piperazina-N²-(ácido 2-etanosulfónico) (HEPES). Células Cf2Th sin infectar fueron cultivadas de igual forma que las infectadas, para ser usadas como controles.

Las células fueron incubadas a 37°C en cámara húmeda y con una atmósfera al 5% de CO₂. La monocapa confluyente de las Cf2Th fue tripsinizada cada 7 días y el sobrenadante fue colectado y congelado hasta su utilización.

- Antígeno de BIV

El sobrenadante de los cultivos celulares de Cf2Th, infectadas con BIV, fue clarificado a 10000 x g por 20 min. a 4°C y, posteriormente, fue centrifugado a 100000 x g por 3 horas en un rotor Beckman tipo 28 a 4°C. El botón de partículas virales fue lavado y resuspendido en 1 mL de solución salina de buffer de fosfatos (PBS) 400 x, estéril de pH 7,2.

Metodología:

El diagnóstico para BLV fue realizado por medio de ELISA, en la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, gracias a la colaboración de la Dra. G. Dolz. (Moreno *et al.*, 1992).

- Western blot y antígeno BIV

El Western blot fue utilizado con el propósito de detectar la presencia de anticuerpos contra BIV en las muestras de sangre bovina. Para esto, se realizó una electroforesis siguiendo el método descrito por Laemmli (1970), en geles discontinuos de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). Se utilizó un gel espaciador al 5% y un gel separador al 10% de poliacrilamida. La electroforesis de las proteínas virales fue realizada en geles de 8 cm x 10 cm x 0,5 cm, en una cámara electroforética (Bio Rad), a una corriente constante de 20 mA por aproximadamente 2 horas (Laemmli, 1970). Una vez separadas, las proteínas fueron transferidas a hojas de nitrocelulosa en una cámara de transferencia con un buffer de pH 8,3 de 0,025 M de Tris, 0,19 M de glicina y 20% de metanol (Towbin *et al.*, 1979). Se aplicó una corriente constante de 150 mA durante 2 horas. Luego fueron bloqueados los sitios libres de las hojas de nitrocelulosa, sumergiéndolas en una solución de PBS, Tween 20 al 0,05% y caseína al 1% (buffer de lavado), durante toda la noche.

Al día siguiente, las hojas de nitrocelulosa fueron cortadas en tiritas y puestas a reaccionar por 2 horas con los sueros del estudio; seguidamente, se realizaron 3 lavados y se agregó proteína G peroxidasa (Bio Rad, No. Cat. 170-6425) diluida 1:1000 en buffer de lavado; luego fueron incubadas a 4°C hasta el día siguiente. Al cabo de este tiempo, se realizaron tres lava-

dos (buffer de lavado) y las tiritas fueron puestas en PBS. La reacción fue revelada usando el sustrato 3,3 diamino-benzidina (DAB) a una concentración de 0,5 mg/mL en PBS, 0,5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) y 0,03% de peróxido de hidrógeno, durante 20 minutos, tiempo suficiente para que aparecieran las bandas café-rojizo. La reacción fue detenida con HCl 1 mM, por 5 minutos. Finalmente, las tiritas fueron lavadas durante 5 minutos en agua destilada y se secaron a temperatura ambiente.

- Obtención de PBMC

Las muestras de sangre arterial o venosa fueron trasladadas al laboratorio para separar las PBMC mediante un gradiente de Ficoll-Hypaque (Böyum, 1968; Kanof y Smith, 1991). Se procedió a diluir la sangre 1:2 con PBS y luego fueron colocadas sobre un colchón de 2 mL Ficoll-Hypaque 1,044 (Sigma, No. Cat. NR 1077-1) al 5%. Posteriormente, fueron centrifugadas a 1800 rpm por 45 minutos a 20°C. La banda de PBMC fue transferida a otro tubo cónico y lavada con PBS estéril, pH 7,2. El botón de células fue resuspendido en medio de cultivo RPMI 1640 (Sigma, No. Cat. R-8755), suplementado de la misma forma que el DMEM. La viabilidad de las células fue determinada contando en cámara de Neubauer, diluidos 1:2 en colorante azul tripán excluyendo aquellas células teñidas de azul (células muertas). Se ajustó la concentración a 1×10^6 células vivas/ mL.

- Titulación viral

Se colocó 1 μ L de suspensión de células Cf2Th sin infectar (1×10^3 células/ mL) en placas de 24 pozos (fondo plano). Luego se les agregó, por cuadruplicado, diluciones 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16 de sobrenadante con BIV. El volumen total en cada pozo fue de 2 mL. Se incluyeron controles con células solas y de células con sobrenadante de Cf2Th sin infectar. Las monocapas de células fueron observadas diariamente al microscopio, hasta la aparición de efecto citopático, como indicador de infección.

- Ensayo de linfoproliferación

Se colocaron 100 μ L de la suspensión de PBMC, preparada con anterioridad, en placas de 96 pozos fondo en "U". Se agregó fitohemaglutinina-M (PHA-M, Sigma, No. Cat. L-2646), a una concentración final de 10 μ g/mL. A éstos, les fue agregado por triplicado 25, 50 y 75 μ L de sobrenadante de células Cf2Th infectadas con BIV. Luego, las placas fueron incubadas a 37°C en una atmósfera al 5% de CO₂ por 72 horas.

Además, fueron incluidos controles con sobrenadante de células Cf2Th sin infectar, células solas y células con PHA-M.

- Determinación de proliferación de linfocitos por colorimetría

Fue empleado el método descrito por Mosmann (1983), con las modificaciones hechas por Bonilla y colaboradores (1993), para lo cual, se emplearon 50 μ L por pocillo de una solución fresca de sal de tetrazolio 2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-(fenilamino-carbonil)-2H-tetrazol hidróxido (XTT) (Sigma, No. Cat. X-4251), a una concentración de 1 mg/mL en PBS estéril y a 37°C. Como catalizador se añadió N-metilfenacina metasulfato (PMS), a una concentración de 0,01 M en PBS estéril, a 37°C. Las PBMC fueron incubadas nuevamente por 2 horas a 37°C en oscuridad y, seguidamente, fue cuantificado el cambio de color en un lector Dynex MRX (Dynex Technologies), a una longitud de onda de 450 nm y con un filtro de referencia de 650 nm.

Los resultados se expresaron como índice de estimulación (IE) y porcentaje de estimulación (PE). El IE fue calculado a partir de la siguiente fórmula:

$$IE = \frac{\text{D.O. promedio de las PBMC cultivadas con PHA-M y sobrenadante}}{\text{D.O. promedio de las PBMC cultivadas sin PHA-M}}$$

Este índice fue usado para determinar si hubo proliferación, al comparar las células estimuladas y cultivadas con sobrenadante, con las no estimuladas (Lijnen *et al.*, 1997). El PE fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$PE = \frac{\text{D.O. promedio de las PBMC cultivadas con PHA-M y sobrenadante}}{\text{D.O. promedio de las PBMC cultivadas con PHA-M}} \times 100$$

Este porcentaje fue utilizado para establecer el incremento de proliferación, al comparar las células estimuladas y cultivadas con sobrenadante, con aquellas a las que se les agregó sólo PHA-M.

- Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó con las pruebas no paramétricas, *Mann-Whitney* y ANOVA *de Friedman* (Sokal y Rohlf, 1979; Steel y Torrie, 1985; Blaehr y Ladefoged, 1988). Para ésto, se utilizaron los programas estadísticos STATISTICA 5,0 y SIGMASTAT 2,0, en una computadora Micron PC. Los resultados se expresan como Promedio \pm DE.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

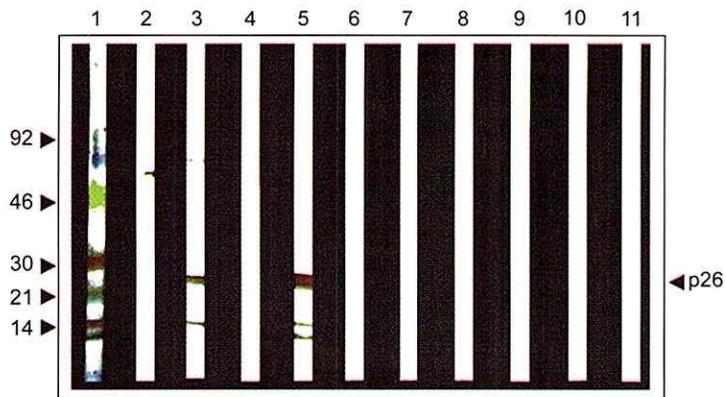
Diagnóstico:

Este trabajo, inicialmente, estuvo orientado a estudiar linfocitos de bovinos seronegativos para BIV y BLV. Sin embargo, como en el hato estudiado se detectaron algunos bovinos BIV+, éstos fueron incluidos en el estudio. Todos los bovinos estudiados fueron seronegativos para BLV, por ELISA.

El Western blot reveló que los bovinos 1, 3, 5-10 estaban seronegativos para BIV. En cambio, a los bovinos 2 y 4 se les detectó la presencia de anticuerpos contra BIV, por lo cual fueron diagnosticados como seropositivos para este virus (Figura 1).

Figura 1.

Western blot para detectar anticuerpos anti BIV. El Antígeno BIV está presente en las tiritas de 2-11, mientras que la 1 corresponde a los marcadores de peso molecular. Los sueros de los bovinos 2 y 4 presentaron respuestas positivas como se nota en las tiritas 3 y 5, respectivamente. El resto de los sueros fueron negativos para BIV.



Titulación viral:

Las células Cf2Th sin infectar presentaron efecto citopático cuando se les agregó diluciones de 1:1, 1:2 y 1:4 de sobrenadante de Cf2Th infectadas con BIV. El efecto fue evidente por la formación de sincicios, luego de 12 días de incubación (Cuadro 1). Esto sirvió para confirmar la infectividad de BIV, en el sobrenadante que empleamos en los ensayos de linfoproliferación, ya que se sabe que BIV puede replicarse *in vitro* y causar efectos citopáticos, en líneas celulares como las Cf2Th (Gonda *et al.*, 1990; Gonda, 1992; Zhang *et al.*, 1997).

Aunque en este estudio se utilizó sobrenadante infectivo, es pertinente señalar que trabajos realizados con otros retrovirus muestran que partículas virales inactivadas (Pahwa *et al.*, 1986; Amadori *et al.*, 1988; Bonilla, 1990) e incluso péptidos (Chanh *et al.*, 1988; Ruegg *et al.*, 1989a,b), proteínas (Frédérique *et al.*, 1989) y/o glicoproteínas virales (Mann *et al.*, 1987; Shalaby *et al.*, 1987), pueden afectar la linfoproliferación *in vitro*.

Cuadro 1.

Formación de sincicios en células Cf2Th sin infectar como medida de titulación de sobrenadante de células Cf2Th infectadas con BIV

Presencia de Sincicios *					
Controles***	Dilución de Sobrenadante de Células Infectadas**				
	1:16	1:8	1:4	1:2	1:1
-	-	+	+	+	+
-	-	-	-	+	+
-	-	-	+	-	+
-	-	-	+	+	+

*Después de 12 días de incubación

**Volumen total: 2 mL

***Sobrenadante de células Cf2Th sin infectar

Sincicios: ausencia (-); presencia (+).

Efecto de BIV sobre la proliferación de linfocitos bovinos:

Las PBMC, obtenidas mediante un gradiente de ficoll, están constituidas principalmente por linfocitos T y B (Böyum, 1968; Bonilla, 1990); por ende, la adición de una lectina activadora de linfocitos, como PHA-M (Lijnen *et al.*, 1997; Kidd y Radke, 1996), a cultivos de PBMC, estimula los linfocitos presentes en estos cultivos. En virtud de ésto y dado que las células vivas reducen el XTT a un producto hidrosoluble, no tóxico y coloreado, denominado formazán (Pauli *et al.*, 1988; Scudiero *et al.*, 1988), el aumento de absorbancia en los cultivos de PBMC, tratados con PHA-M, refleja linfoproliferación.

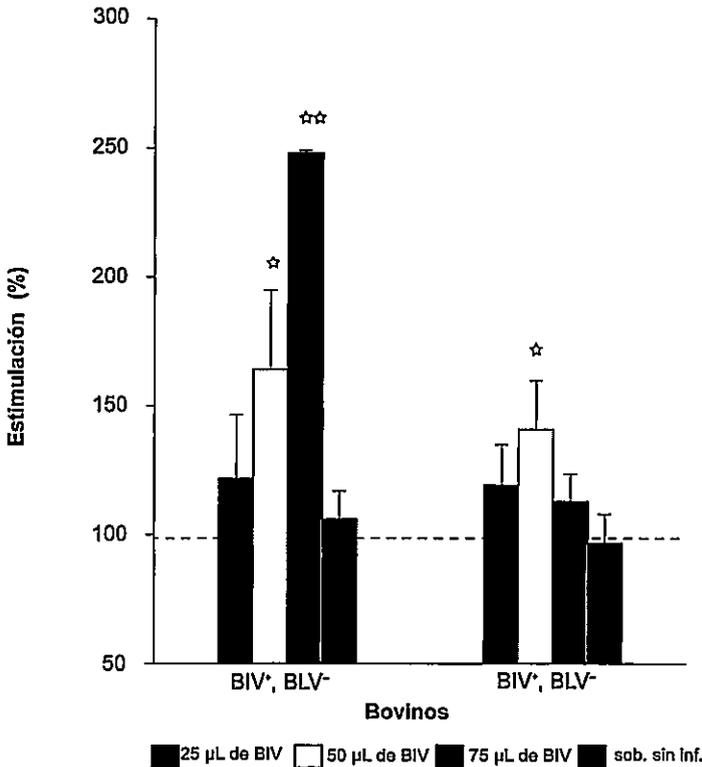
Los resultados muestran que en los cultivos de PBMC de ambos grupos de bovinos, BIV⁺ y BIV⁻, hubo un incremento significativo en el porcentaje de estimulación de los linfocitos cuando se agregaron 50 µL de sobrenadante de células Cf2Th infectadas con BIV (p < 0,05) (Figura 2).

El incremento observado en los cultivos de PBMC no puede ser atribuido a contaminantes de las células Cf2Th pues los cultivos de PBMC, con sobrenadante de células Cf2Th sin infectar, se mantuvieron invariablemente en el 100 % de estimulación ($p > 0,05$) (Figura 2). Por lo tanto, el aumento en la proliferación de linfocitos, en los cultivos de PBMC, se debe a la acción de BIV.

Esto resulta consistente con lo publicado por otros autores, en el sentido de que BIV aumenta la cantidad de linfocitos circulantes (Van Der Maaten *et al.*, 1972; Carpenter *et al.*, 1992) e incrementa la blastogénesis de linfocitos (Flaming *et al.*, 1993) en ganado bovino infectado experimentalmente.

Figura 2.

Efecto *in vitro* de BIV sobre la proliferación de linfocitos de bovinos (BIV⁺, BLV⁻) y (BIV⁻, BLV⁻), estimulados con PHA-M (10 µg/mL) y cultivados con 25, 50 y 75 µL de BIV. Promedio ±DE. Nivel de significancia * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ con respecto a control cultivado con 75 µL de sobrenadante de células Cf2Th sin infectar.



Por otro lado, los linfocitos de bovinos BIV⁺ fueron más estimulados por BIV que los linfocitos de bovinos BIV⁻ (ANOVA de Friedman, $X^2=55,719$, $p < 0,01$) (Figura 2). Esto sugiere que los linfocitos de bovinos BIV⁺ están activados contra BIV y, al ser expuestos *in vitro* a BIV, proliferan con más rapidez. Desde este punto de vista, es posible que la población de linfocitos B sea afectada por BIV a través de una proliferación descontrolada. Otros estudios han demostrado la producción de anticuerpos específicos contra BIV (Whetstone *et al.*, 1990) y la proliferación temprana y transitoria de linfocitos B en ganado bovino inoculado experimentalmente con BIV (Whetstone *et al.*, 1997).

Existen trabajos que proponen que la proliferación inducida por BIV parece ser diferente a la descrita para otros agentes (Whetstone *et al.*, 1997). Además, aunque BIV ha sido encontrado integrado en linfocitos B, no tiene un fuerte tropismo por estas células. De hecho, existen pruebas que sugieren que este virus es pantrópico, ya que infecta una amplia variedad de tipos celulares, tales como linfocitos CD3⁺, CD4⁺ y CD8⁺, linfocitos B y monocitos (Whetstone *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1997). Por tanto, la proliferación de linfocitos B podría ser el resultado directo de la infección por BIV o, más bien, un efecto indirecto producido por la infección de otros tipos celulares, tales como los linfocitos CD4⁺. En este sentido, se ha propuesto que la proliferación de linfocitos B podría ser una respuesta secundaria a la producción de citocinas de otros tipos celulares infectados por BIV (Whetstone *et al.*, 1997).

Otros estudios proponen un mecanismo directo de acción de BIV, que sugiere el papel de éste como superantígeno (Scott-Algara *et al.*, 1994) o a través de una señal (YXXL/I)₂, de la proliferación de linfocitos B (Barlough *et al.*, 1993). Esta señal también ha sido detectada en infecciones con BLV y el virus Epstein Barr (Beaufils *et al.*, 1993).

A pesar de que existen informes que sugieren que BIV no es un virus causante de inmunodeficiencias (Straub y Levy, 1999), nuestros resultados, unidos a los de otros autores (Van Der Maaten *et al.*, 1972; Carpenter *et al.*, 1992; Flaming *et al.*, 1993; Whetstone *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1997), permiten postular que el aumento en la proliferación de linfocitos bovinos, podría ser parte de un mecanismo de inmunosupresión. Dicho mecanismo involucraría la acción de BIV sobre linfocitos CD4⁺; el virus induciría, entonces, la producción de citocinas estimuladoras de linfocitos B, tales como interleucina 6 (IL-6), IL-10 y factor de necrosis tumoral α (TNF- α), originando la proliferación descontrolada de linfocitos.

tos B. En un sistema inmune con estas características, aunque hay proliferación de linfocitos, se pierde la capacidad específica de responder contra otros antígenos. Esto podría ser interpretado como un mecanismo de inmunodeficiencia en bovinos.

Estudios realizados con otros lentivirus que inducen inmunodeficiencias, tales como HIV en humanos, respaldan nuestra hipótesis. Estos trabajos muestran que en estadios tempranos de la infección con HIV, se observa una proliferación anormal de linfocitos; lo que se evidencia por una hiper-gamaglobulinemia, producción de autoanticuerpos y niveles elevados de citocinas estimuladoras de linfocitos B (Lane *et al.*, 1983; Martínez-Maza *et al.*, 1987; Mizuma *et al.*, 1988; Amadori *et al.*, 1991; Huang *et al.*, 1997).

Además, el hecho de que los linfocitos de los bovinos, infectados con BIV, mostraron un mayor aumento en la estimulación por BIV *in vitro* (Figura 2) y una baja respuesta a PHA-M (Figura 3); se asemeja, al menos en parte, a algunos de los eventos inmunopatológicos producidos por HIV en humanos, en el sentido de que cultivos de linfocitos B de pacientes infectados con HIV responden débilmente a la estimulación mitogénica *in vitro*, producen principalmente anticuerpos específicos contra HIV y presentan una deteriorada producción de anticuerpos contra otros antígenos (Mizuma *et al.*, 1988; Amadori *et al.*, 1991). Según algunos investigadores, la incapacidad de producir los anticuerpos requeridos, para la respuesta protectora a muchos patógenos bacterianos, juega un papel importante en la predisposición de los pacientes HIV⁺, a desarrollar sepsis bacterial y neumonía en aproximadamente el 10 % de los pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) (Mizuma *et al.*, 1988).

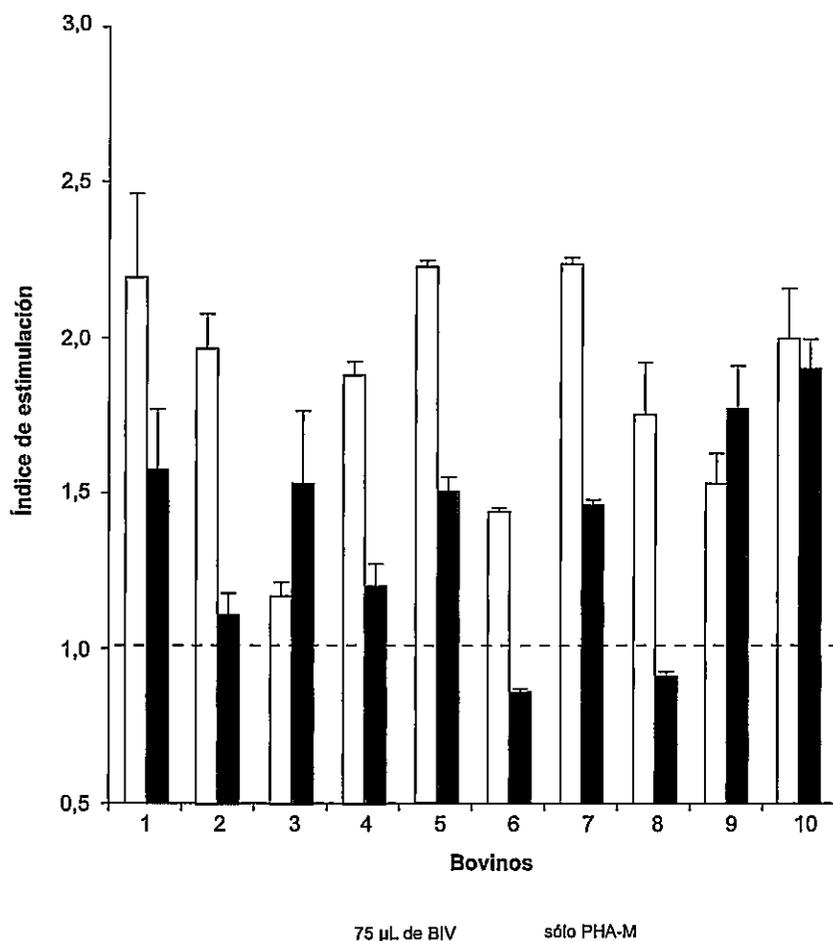
Los resultados, presentados aquí, favorecen la hipótesis de que BIV no sólo presenta semejanzas genéticas y biológicas con HIV; sino que, además, induce inmunodeficiencia en su hospedero natural, el ganado bovino.

CONCLUSIÓN

La cepa R29 de BIV induce aumento de la proliferación de linfocitos bovinos *in vitro*. Es probable que este efecto origine el deterioro de la capacidad específica de respuesta del sistema inmune en bovinos, a través de la proliferación descontrolada de linfocitos. Se requieren más trabajos, que involucren el estudio prolongado de la infección con BIV, para adentrarnos en el (los) mecanismo(s) patogénico(s) de este virus.

Figura 3.

Índice de estimulación (IE) de los linfocitos bovinos, estimulados con PHA-M (10 µg/mL) y cultivados con 75 µL de BIV. Promedio ± DE. Nivel de significancia * p < 0,05 con respecto a control sólo con PHA-M. Bovinos 2 y 4 fueron diagnosticados BIV⁺ por Western blot.



SUMMARY

THE *IN VITRO* PROLIFERATION INCREASE OF BOVINE LYMPHOCYTES, DURING NATURAL AND EXPERIMENTAL INFECTION WITH BOVINE IMMUNODEFICIENCY-LIKE VIRUS (BIV).

Since characterization and molecular cloning of bovine immunodeficiency-like virus (BIV), this virus has been object of intensive studies to demonstrate pathogenicity.

This work was carried out with the purpose of studying the *in vitro* effect of BIV on bovine lymphoproliferation to mitogen. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from BIV⁺ and BIV⁻ cows (by Western blot) were used. All the cows were BLV⁻ (by ELISA).

A non radioactive method, based on a colorimetric technique that uses a tetrazolium salt, 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfofenyl)-5-(phenylamino-carbonyl)-2H-tetrazolium hydroxide (XTT), was used to detect differences in lymphocyte proliferation when PBMC were cultured with supernatant of BIV-infected Cf2Th cells.

The results show that BIV increased *in vitro* proliferation of bovine lymphocytes to mitogen PHA-M ($p < 0,05$). Proliferation was stronger ($p < 0,01$) in lymphocytes from BIV⁺ cows. Significant variations were not observed in PBMC cultured with supernatant of non infected Cf2Th cells ($p > 0,05$).

The data presented suggest that disregulation of proliferation of bovine lymphocytes resulting by BIV infection could be a mechanism of immunodeficiency in bovines.

KEYWORDS

Bovine immunodeficiency-like virus, BIV, proliferation, lymphocytes, bovines, tetrazolium salt, XTT.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADORI, A., FAULKNER-VALLE, C.P., DE ROSSI, A., ZANOVELLO, P., COLLAVO, D. y CHIECO-BIANCHI, L. 1988. HIV-mediated immunosuppression: *in vitro* inhibition of T-lymphocyte proliferation response by UV-inactivated virus. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 46, 37-54.

AMADORI, A., ZAMARCHI, R., VERONESE, M.L., PANOZZO, M., BARELLI, A., BORRI, A., SINORI, M., COLOTTA, F., MANTOVANI, A. y CHIECO-BIANCHI, L. 1991. B cell activation during HIV-1 infection. II. Cell-to-cell interactions and cytokine requirement. *J. Immunol.*, 146, 57-62.

BARLOUGH, J.E., NORTH, T.W., OXFORD, C.L., REMINGTON, K.M., DANDEKAR, S., ELLIS, M.N. y PEDERSEN, N.C. 1993. Feline immunode-

iciency virus infection of cats as a model to test the effect of certain *in vitro* selection pressures on the infectivity and virulence of resultant lentivirus variants. **Antiviral Res.**, 22, 259-272.

BEAUFILS, P., CHOQUET, D., MAMOUN, R.Z. y MALISSEN, B. 1993. The (YXXL/I)₂ signaling motif found in the cytoplasmic segments of the bovine leukemia virus envelope protein and Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A can elicit early and late lymphocyte activation events. **EMBO J.**, 12, 5105-5112.

BLAEHR, H. y LADEFOGED, J. 1988. Mitogen-induced lymphocyte transformation in four different serum-free media. **J. Immunol. Meth.**, 111, 125-129.

BONILLA, J.A. 1990. ***In Vitro* Studies of the Immunosuppressive Action of HIV: Purification and Testing of gp41 from HIV-1.** Tesis de Doctorado, Universidad Johann Wolfgang Goethe, Frankfurt. 74 pp.

BONILLA, J.A., MESÉN, M.G. y CARTÍN, W. 1993. Modificación de un método colorimétrico que usa XTT, para la determinación de linfoproliferación. **Rev. Cost. Cienc. Med.**, 14 (1,2), 25-31.

BÖYUM, A. 1968. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, 21(suppl. B9), 1-114.

CARPENTER, S., MILLER, L.D., ALEXÁNDERSEN, S., WHETSTONE, C.A., VAN DER MAATEN, M.J., VIUFF, B., WANNEMUEHLERY, MILLER, J.M. y ROTH, J.A. 1992. Characterization of early pathogenic effects following experimental infection of calves with bovine immunodeficiency-like virus. **J. Virol.**, 66, 1074-1083.

CHANH, T.C., KENNEDY, R.C. y KANDA, P. 1988. Synthetic peptides homologous to HIV transmembrane glycoprotein suppress normal human lymphocyte blastogenic response. **Cell. Immunol.**, 111, 77-86.

COFFIN, J.M. 1996. Retroviridae: The viruses and their replication. En: **Fields Virology.** Eds: B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley, R.M. Chanock, J.L. Melnick, T.P. Monath, B. Roizman, S.E. Straus. Vol. 2, p. 1767-1847. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.

FLAMING, K., VAN DER MAATEN, M.J., WHETSTONE, C.A., CARPENTER, S., FRANK, D. y ROTH, J.A. 1993. Effect of bovine immunodeficiency

ciency-like virus infection on immune function in experimentally infected cattle. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, 36, 91-105.

FRÉDÉRIQUE, M., CHEYNIER, R., LECAUD, G., RAUTMANN, G., GUY, B., KIENY, M.P., GIRARD, M. y PLATA, F. 1989. HIV recombinant p18 core protein inhibits proliferative responses by normal lymphocytes in humans and mice. **V International Conference on AIDS. Montréal, Canadá. Abstract T.C.P. 77.**

GONDA, M.A., BRAUN, M.J., CARTER, S.G., KOST, T.A., BESS Jr., J.W., ARTHUR, L.O. y VAN DER MAATEN, M.J. 1987. Characterization and molecular cloning of a bovine Lentivirus related to human immunodeficiency virus. **Nature**, 330, 388-391.

GONDA, M.A., OBERSTE, M.S., GARVEY, K.J., PALLANSCH, L.A., BATTLES, J.K., PIFAT, D.Y., BESS Jr., J.W. y NAGASHIMA, K. 1990. Development of the bovine immunodeficiency-like virus as a model of lentivirus disease. **Develop. biol. Standard**, 72, 97-110.

GONDA, M.A. 1992. Bovine immunodeficiency virus. **AIDS**, 6, 759-776.

GONDA, M.A. 1994. Molecular biology and virus-host interactions of lentiviruses. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 724, 22-42.

HAASE, A.T. 1986. Pathogenesis of lentivirus infections. **Nature**, 322, 130-136.

HIDALGO, G., FLORES, M. y BONILLA, J.A. 1995. Detection and isolation of bovine immunodeficiency-like virus (BIV) in dairy herds of Costa Rica. **J. Vet. Med.**, B 42, 155-161.

HIDALGO, G. y BONILLA, J.A. 1996. Lymphoproliferation assays in cattle naturally infected with bovine leukaemia virus (BLV) and bovine immunodeficiency-like virus (BIV). **J. Vet. Med.**, B 43, 325-332.

HUANG, L., LI, C.J. y PARDEE, A.B. 1997. Human immunodeficiency virus type 1 tat protein activates B lymphocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 237, 461-464.

KANOF, M.E. y SMITH, P.D. 1991. Preparation of human mononuclear cell population and subpopulations. En: **Current Protocols in Immunology**. Eds: Colligan *et al.*, p. 7.1.1-7.1.5.

KETTMANN, R., BURNY, A., CALLEBAUT, I., DROOGMANS, L., MAMMERICKX, M., WILLEMS, L. y PORTETELLE, D. 1994. Bovine leukemia virus. En: **The Retroviridae**. Ed: J.A. Levy. Vol. 3, p. 39-81. New York: Plenum Press.

KIDD, L.C. y RADKE, K. 1996. Lymphocyte activators elicit bovine leukemia virus expression differently as asymptomatic infection progresses. **Virology**, 217, 167-177.

LAEMMLI, U.K. 1970. Cleavage of structural protein during assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, 227, 680-685.

LANE, H., MASUR, H., EDGAR, L.C., WAHLEN, G., ROOK, G. y FAUCI, A.S. 1983. Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. **N. Engl. J. Med.**, 309, 453-458.

LIJNEN, P., SAAVEDRA, A. y PETROV, V. 1997. *In vitro* proliferative response of human peripheral blood mononuclear cells to concanavalin A. **Clinica Chimica Acta**, 264, 91-101.

MANN, D.L., LASANE, F., POPOVIC, M., ARTHUR, L.O., ROBEY, W.G., BLATTNER, W.A. y NEWMAN, J.F. 1987. HTLV III large envelope protein (gp120) suppresses PHA-induced lymphocyte blastogenesis. **J. Immunol.**, 138, 2640-2644.

MARTIN, S.J., O'NEILL, T.P., BILELLO, J.A. y EISMANN, J.L. 1991. Lymphocyte transformation abnormalities in bovine immunodeficiency-like virus infected calves. **Immunol. Lett.**, 27, 81-84.

MARTÍNEZ-MAZA, O., CRABB, E., MITSUYASU, R.T., FAHEY, J.L. y GIORGI, J.V. 1987. Infection with the human immunodeficiency virus (HIV) is associated with an *in vivo* increase in B lymphocyte activation and immaturity. **J. Immunol.**, 138, 3720-3724.

MAYO, M.A. y PRINGLE, C.R. 1998. Virus taxonomy. 1997. **J. Gen. Virol.**, 79, 649-657.

MIZUMA, H., LITWIN, S. y ZOLLA-PAZNER, S. 1988. B-cell activation in HIV infection: relationship of spontaneous immunoglobulin secretion to various immunological parameters. **Clin. exp. Immunol.**, 71, 410-416.

MORENO, E., DOLZ, G., BONILLA, J.A., JIMÉNEZ, C., RODRÍGUEZ, L., SALAZAR, I., RAMÍREZ, M., BOLAÑOS, E., MORA, M. y SILVA, S. 1992. Serological studies on bovine leukemia virus (BLV) infection in Costa Rica by ELISA. Immunodiffusion and Western blot tests. **Proc. FAO/IAEA/SIDA, IAEA-TECDOC**, 657, 99-114.

MOSMANN, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, 65, 55-63.

MUNRO, R., LYSONS, R., VENABLES, C., HORIGAN, M., JEFFREY, M. y DAWSON, M. 1998. Lymphadenopathy and non-suppurative meningoencephalitis in calves experimentally infected with bovine immunodeficiency-like virus (FL112). **J. Comp. Path.**, 119, 121-134.

NERMUT, M.V. y HOCKLEY, D.J. 1996. Comparative morphology and structural classification of retroviruses. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, 214, 1-24.

ONUMA, M., KOOMOTO, E., FURUYAMA, H., YASUTOMI, Y., TANIYAMA, H., IWAI, H. y KAWAKAMI, Y. 1992. Infection and dysfunction of monocytes induced by experimental inoculation of calves with bovine immuno-deficiency-like virus. **J. Acquired Immune Defic. Syndr.**, 5, 1009-1015.

PAHWA, S., PAHWA, R., GOOD, R.A., GALLO, R.C. y SAXINGER, C. 1986. Stimulatory and inhibitory influences of human immunodeficiency virus on normal B lymphocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 83, 9124-9128.

PAULL, K.D., SHOEMAKER, R.H., BOYD, M.R., PARSONS, J.L., RISBOOD, P.A., BARBERA, W.A., SHARMA, M.N., BAKER, D., HAND, E., SCUDIERO, D.A., MONKS, A. y GROTE, M. 1988. The synthesis of XTT: a new tetrazolium reagent bioreducible to a water-soluble formazan. **J. Heterocyclic Chem.**, 25, 911-914.

ROVID, A.H., CARPENTER, S. y ROTH, J.A. 1995. Monocyte function in cattle experimentally infected with bovine immunodeficiency-like virus. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, 45, 31-43.

RUEGG, C.L., MONELL, C.R. y STRAND, M. 1989a. Identification, using synthetic peptides, of the minimum amino acid sequence from the retroviral transmembrane protein p15E required for inhibition of lymphopro-

liferation and its similarity to gp21 of human T-lymphotropic virus types I and II. **J. Virol.**, 63, 3250-3256.

RUEGG, C.L., MONELL, C.R. y STRAND, M. 1989b. Inhibition of lymphoproliferation by a synthetic peptide with sequence identity to gp41 of human immunodeficiency virus type 1. **J. Virol.**, 63, 3257-3260.

SCOTT-ALGARA, D., LAFON, M., VUILLIER, F., PIAFOUX, G. y GIGHIERO, G. 1994. Viral superantigen-induced hyporesponsiveness of T cells and polyclonal B cell activation in HIV-1 infection. **Eur. J. Immunol.**, 24, 2595-2601.

SCUDIERO, D.A., SHOEMAKER, R.H., PAULL, K.D., MONKS, A., TIERNEY, S., NOFZIGER, T.H., CURRENS, M.J., SENIFF, D. y BOYD, M.R. 1988. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. **Cancer Research**, 48, 4827-4833.

SHALABY, M.R., KROWKA, J.F., GREGORY, T.J., HIRABAYASHI, S.M., McCABE, S.M., KAUFMAN, D.S., STITES, D.P. y AMMANN, A.J. 1987. The effects of human immunodeficiency virus recombinant glycoprotein on immune cell functions *in vitro*. **Cell. Immunol.**, 110, 140-148.

SOKAL, R.R. y ROHLF, F.J. 1979. **Biometría**. 1ª Edición. Madrid: H. Blume Ediciones. 832 pp.

STEEL, R.G.D. y TORRIE, J.H. 1985. **Bioestadística: Principios y Procedimientos**. 1a Edición. Bogotá: McGraw-Hill Ediciones. 622 pp.

STRAUB, O.C. y LEVY, D. 1999. Bovine immunodeficiency virus and analogies with human immunodeficiency virus. **Leukemia**, Suppl 1, S106-S109.

TOWBIN, H., STAHELIN, T. y GORDON, T. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 76, 4350-4354.

VAN DER MAATEN, M.J., BOOTHE, A.D. y SEGER, C.L. 1972. Isolation of a virus from cattle with persistent lymphocytosis. **J. Natl. Cancer Inst.**, 49, 1649-1657.

WHETSTONE, C.A., VAN DER MAATEN, M.J. y BLACK, J.W. 1990. Humoral immune response to the bovine immunodeficiency-like virus in experimentally and naturally infected cattle. **J. Virol.**, 64(7), 3557-3561.

WHETSTONE, C.A., SUAREZ, D.L., MILLER, J.M., PESCH, B.A. y HARP, J.A. 1997. Bovine lentivirus induces early transient B-cell proliferation in experimentally inoculated cattle and appears to be pantropic. *J. Virol.*, 71(1), 640-644.

ZHANG, S., TROYER, D.L., KAPIL, S., ZHENG, L., KENNEDY, G., WEISS, M., XUE, W., WOOD, C. y MINOCHA, H.C. 1997. Detection of proviral DNA of bovine immunodeficiency virus in bovine tissues by polymerase chain reaction (PCR) and PCR *in situ* hybridization. *Virology*, 236, 249-257.

AGRADECIMIENTO

Se agradece al Dr. Matthew Gonda la donación de la línea celular Cf2Th. A la Dra. Gaby Dolz, del Departamento de Virología y Clínica de la Escuela de Veterinaria, Universidad Nacional de Costa Rica y a la Dra. Sandra Silva (CIBCM) por su valiosa colaboración en la realización de esta investigación.

Este estudio fue financiado parcialmente por el Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD) y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.



METALES TRAZAS EN LOS SEDIMENTOS SUPERFICIALES DE LA LAGUNA DE CHACOPATA, ESTADO SUCRE, VENEZUELA

MARÍA VALENTINA FUENTES HERNÁNDEZ

Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis,
Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre,
Cumaná, Estado Sucre, Venezuela. O93 317801
E-mail: mfuentes @ ci.udo.edu.ve

RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo proporcionar un estudio de línea base de la concentración, distribución y comportamiento de los metales trazas en los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata, Estado Sucre, Venezuela. Se establecieron 16 estaciones de muestreo, 13 localizadas en el cuerpo de agua de la laguna, 1 en el área marina de la boca y 3 en el continente. Se determinaron 8 metales (Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Cd y Pb) según metodología clásica para sedimentos marinos. Las concentraciones de los metales trazas fueron: Fe (2,17-18,44 mg/g, \bar{X} 9,12 mg/g), Mn (8,30-52,22 μ g/g, \bar{X} = 24,82 μ g/g), Zn (4,13-44,43 μ g/g, \bar{X} = 14,90 μ g/g), Cu (1,67-7,91 μ g/g, \bar{X} = 4,32 μ g/g), Ni (0,00-13,39 μ g/g, \bar{X} = 5,43 μ g/g), Cr (8,58-34,00 μ g/g, \bar{X} = 20,38 μ g/g), evidenciando origen terrígeno; acumulados en áreas donde abundan arena muy fina, limo y materia orgánica. Se encontraron muy correlacionados Fe con Cu (0,884), Ni (0,834) y Cr (0,950), Cu con Mn (0,823), Ni (0,920) y Cr (0,929); Ni con Cr (0,876), indicando comportamiento químico similar. Sin embargo, el Cd (0,00-0,59 μ g/g, \bar{X} = 0,23 μ g/g) y Pb (1,47-19,69 μ g/g, \bar{X} = 8,66 μ g/g), mostraron procedencia antropogénica, sin afinidad con la granulometría del sedimento, ni con la materia orgánica. El Pb mostró correlación con el Mn (0,841), señalando que el mecanismo regulador es, probablemente, la adsorción sobre superficies de Mn(MnO.OH). Cuatro ambientes de características dinámicas propias se distinguieron, de acuerdo a los con-

tenidos y comportamiento de los metales. El Cd no presentó tendencia definida de acumulación. No se encontró contaminación evidente, lo que indica que el ecosistema es un ambiente que se conserva sin notables perturbaciones antropogénicas.

PALABRAS CLAVES

Geoquímica, metales, laguna, contaminación.

INTRODUCCIÓN

En los sedimentos de las lagunas costeras ocurre transferencia de energía y movimiento de compuestos orgánicos e inorgánicos. Los metales trazas, en particular, actúan como cofactores y reguladores de crecimiento de diversos organismos acuáticos, los cuales constituyen la alta riqueza en recursos de la zona costera. Estos son transportados a los ambientes costeros por ríos y escorrentías, que lixivian depósitos minerales y, al mezclarse con aguas salobres, propician fuertes gradientes y gran heterogeneidad, debido a las propiedades fisicoquímicas de las aguas mezcladas (De la Lanza y Cáceres, 1994; Ball *et al.*, 1997).

Las actividades de subsistencia, pesquería, acuicultura, portuarias, agrícolas, urbanas e industriales introducen una gran cantidad de metales trazas en los sedimentos, que provocan un incremento gradual de su concentración. Muchos son tóxicos para la biota y el hombre, causando perturbaciones significativas y permanentes y, por ende, degradación ambiental y ecológica.

La importancia del efecto contaminante de los metales trazas, particularmente en el sedimento de textura fina, ha sido reconocida, por ser el principal sumidero de éstos, además de materia orgánica, pudiendo actuar como fuente cuando las condiciones del ambiente cambian. De esta manera, las formas químicas de los metales predicen su comportamiento geoquímico y el posible efecto sobre los organismos y la salud de los humanos, quienes los incorporan con la dieta.

En los sistemas costeros es necesario conocer las concentraciones y distribución de los metales para tener una idea clara del origen de la contaminación, poder concluir sobre los efectos antrópicos, a largo plazo, y manejarlos adecuadamente. Esto es posible si se establecen monitoreos temporales. Hasta el inicio de la década del 90 había poca generación de

conocimientos de las condiciones naturales en comparación con el avance del deterioro de los sistemas acuáticos que los llevó a un manejo irracional (De la Lanza y Cáceres, 1994).

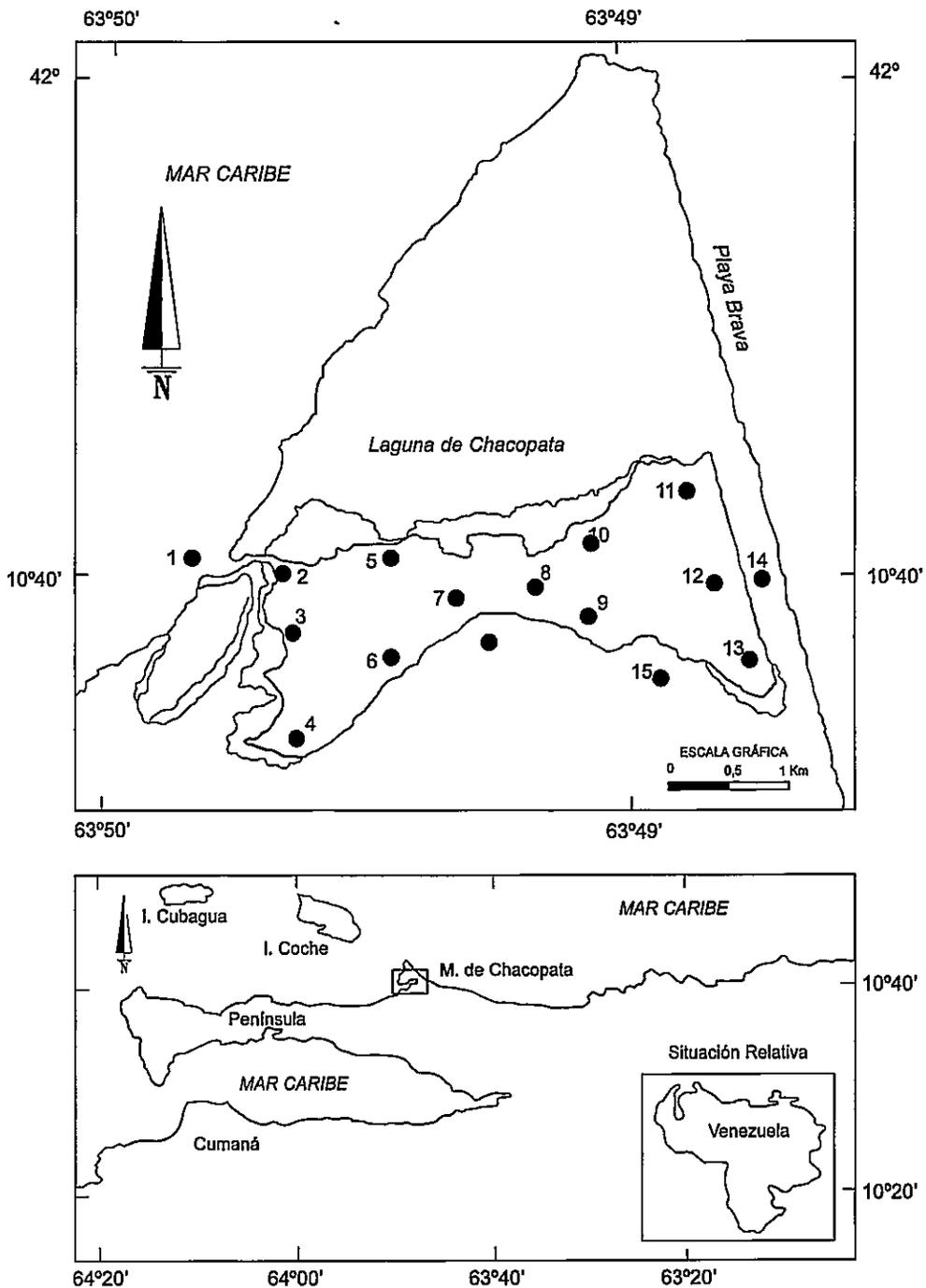
A pesar que existen muchas investigaciones sobre las lagunas costeras venezolanas, la Laguna de Chacopata ha sido poco estudiada. Aspectos hidrográficos y biológicos han sido reseñados (Liñero, 1994). Algunas características geoquímicas que señalan su alta productividad fotosintética y acumulación de abundante materia orgánica registran Fuentes *et al.* (1997) y su estudio sedimentológico resaltó el carácter arenolimoso de sus sedimentos, su procedencia biogénica-continental y las condiciones dinámicas del ecosistema (Fuentes, 1999); sin embargo, los metales trazas no han sido analizados. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es proporcionar un estudio de línea base para establecer el origen, la distribución y el comportamiento de algunos metales trazas que permitirán establecer comparaciones *a posteriori* para ejercer una adecuada gerencia ambiental, tratando de minimizar el efecto antrópico.

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio:

La Laguna de Chacopata se localiza en la costa nororiental de Venezuela, entre los 10° 39' 00'' y 10° 41' 00'' de lat. N y 63° 47' 30'' y 63°49'50'' de long. W (Figura 1). Por el Oeste, la laguna está separada de otra más pequeña, la Laguna de Bocaripo, por una franja estrecha arenosa. Estas dos lagunas se unifican durante las mareas vivas. La laguna tiene comunicación con el Mar Caribe a través de un canal de 20 a 40 m de anchura, situado al Oeste de la misma. Las corrientes de la laguna son producto de las variaciones periódicas del nivel del mar. Esto permite que las partículas precipiten con relativa rapidez y que los sedimentos sean arrastrados, por este efecto, en una misma dirección. Los vientos alisios reinan durante todo el año, predominando la componente Este, que oscila entre ENE y ESE (Ramírez, 1997). Una franja de tierra, situada en el Oriente, protege la laguna de los vientos, lo que dificulta la formación de olas de tamaño significativo (Liñero, 1994). La humedad relativa de la zona es de 82%. La temperatura del aire oscila entre 26,0 y 28,5 °C. La dinámica sedimentaria está determinada por corrientes de marea, intensidad de los vientos alisios y elementos bioperturbadores. Los sedimentos provienen de aportes continentales, transportados por vientos y escorren-tías, y biogénicos autóctonos (Fuentes, 1999).

Figura 1.
Laguna de Chacopata. Situación relativa. Estaciones de muestreo.



Muestreo y análisis químico:

El muestreo de los sedimentos superficiales de la laguna se realizó en 16 estaciones (Ests.), 13 de ellas localizadas en el cuerpo de agua de la laguna, 3 en el exterior continental y 1 en el área marina, próxima a la bocana, durante el mes de noviembre de 1996, correspondiente al final de la época lluviosa (Figura 1). Los sedimentos de las estaciones internas se recolectaron con una draga Diez Laffont de 0,02 m² de área, y los de las externas con una espátula plástica. Las muestras se liofilizaron a - 30°C y pulverizaron. Los metales se determinaron siguiendo la metodología de Carmody *et al.* (1973 por espectrofotometría de absorción atómica. Los análisis estadísticos realizados fueron la matriz de correlación de Pearson (SYSTAT 6.0), partiendo de la concentración de los metales y de C-org, demanda química de oxígeno (DQO) registrados por Fuentes *et al.* (1997), los porcentajes de fósforo total (P-total), comprobados por Fuentes (1998) y los porcentajes de arena, arena muy fina (AMF), limo y arcilla (Fuentes, 1999), en las mismas estaciones propuestas en esta investigación; además, se ejecutó análisis de conglomerados de modo Q (SYSTAT, 1996). Los resultados se presentaron usando el método de varianza mínima de Ward, el cual crea conglomerados con la menor varianza entre grupos de puntos (Havach y Collins, 1997).

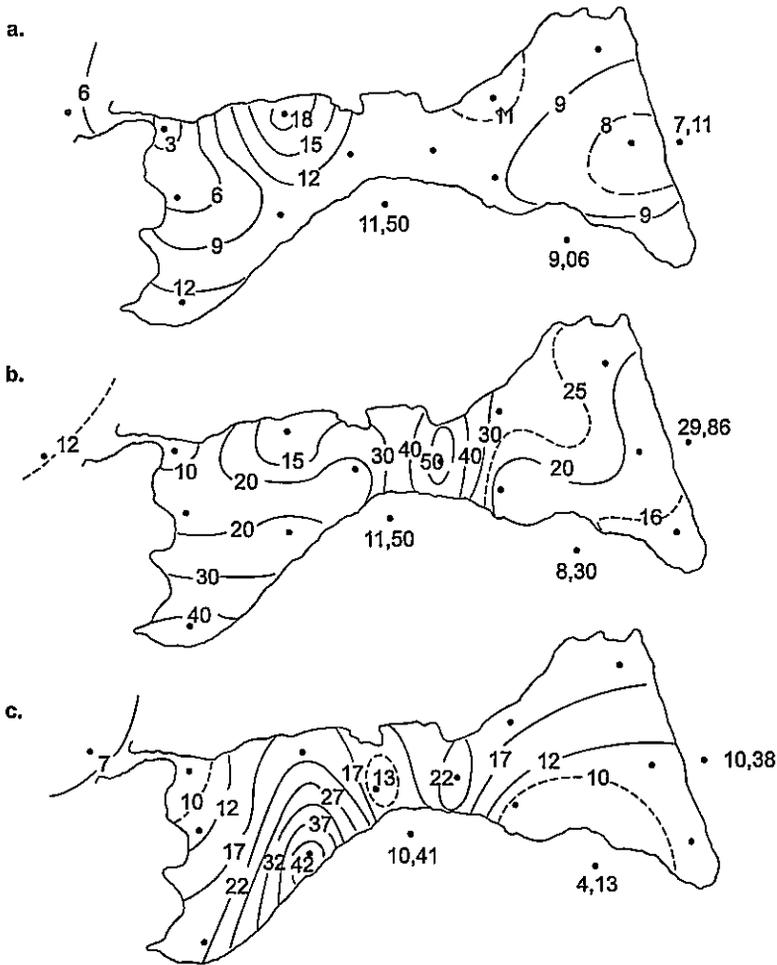
RESULTADOS

La distribución espacial de los metales Fe, Mn, Cu, Ni, Cr y Pb (Figuras 2-4) mostraron valores bajos en el área marina, próxima a la boca, y en el canal de entrada, mientras que en el Norte la acumulación fue alta, exhibiendo incrementos hacia el Suroccidente y centro, decreciendo ligeramente hacia el Oriente, donde los valores más altos de esta zona se encontraron en el Norte. Las concentraciones del Fe variaron entre 2,17 mg/g (Est. 2) y 18,44 mg/g (Est. 5), promedio de 9,12 mg/g y desviación estándar (DE) de $\pm 3,68$ mg/g; Mn entre 8,30 $\mu\text{g/g}$ (Est. 15) y 52,22 $\mu\text{g/g}$ (Est. 8), media de 24,84 $\mu\text{g/g}$ y DE $\pm 13,75$ $\mu\text{g/g}$; Cu entre 1,67 $\mu\text{g/g}$ (Est. 15) y 7,91 $\mu\text{g/g}$ (Est. 4), media de 4,32 $\mu\text{g/g}$ y DE $\pm 1,68$ $\mu\text{g/g}$; Ni entre 0,00 $\mu\text{g/g}$ (Est. 15) y 13,39 $\mu\text{g/g}$ (Est. 4), media de 5,43 $\mu\text{g/g}$ y DE $\pm 3,19$ $\mu\text{g/g}$; Cr entre 8,58 $\mu\text{g/g}$ (Est. 2) y 34 $\mu\text{g/g}$ (Est. 16), media de 20,38 $\mu\text{g/g}$ y DE $\pm 6,48$ $\mu\text{g/g}$, mientras que el valor mínimo de las concentraciones de Pb fue de 1,47 $\mu\text{g/g}$ (Est. 15) y el máximo de 19,69 $\mu\text{g/g}$ (Est. 8), promedio de 8,66 $\mu\text{g/g}$ y DE $\pm 3,81$ $\mu\text{g/g}$. Cabe resaltar el comportamiento concéntrico del Mn y el Pb en el centro de la laguna y la similitud de las concentraciones de los metales presentes en el interior del humedal, con

respecto a los contenidos de las estaciones continentales vecinas (Cuadro 1). Este comportamiento es muy similar a la distribución del C-org y DQO, corroborado por la importante correlación entre estos parámetros y los metales, y entre los últimos (Cuadro 2).

Figura 2.

Distribución espacial de: (a) Fe (mg/g), (b) Mn ($\mu\text{g/g}$) y (c) Zinc ($\mu\text{g/g}$), de los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata.



Cuadro 1.
Concentración de metales trazas (Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Cd, Pb) en los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata.

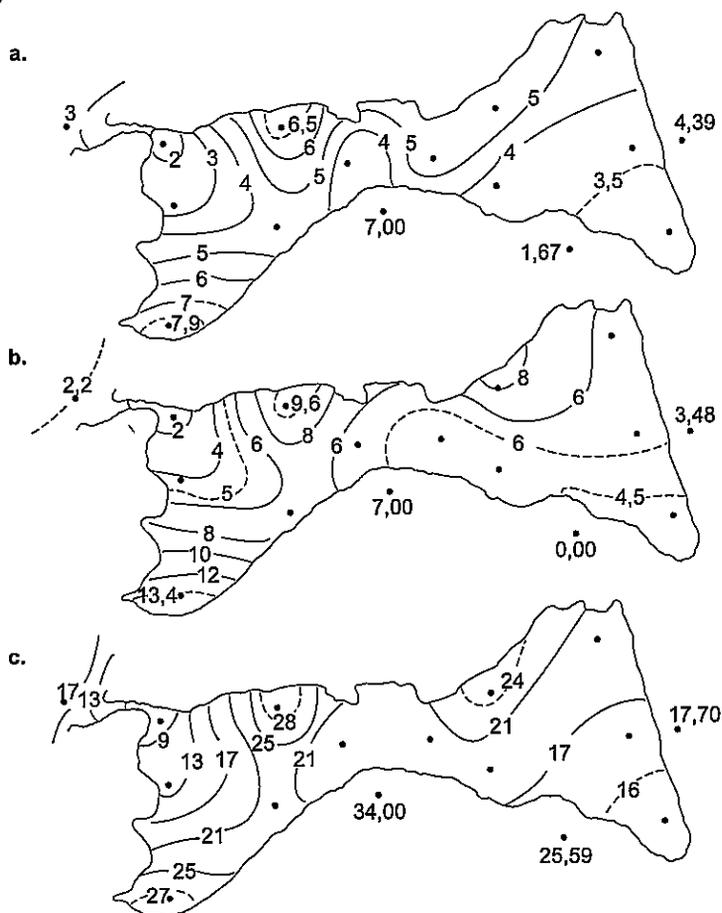
Estación	Fe (mg/g)	Mn (µg/g)	Zn (µg/g)	Cu (µg/g)	Ni (µg/g)	Cr (µg/g)	Cd (µg/g)	Pb (µg/g)
1	6,02	12,00	6,82	3,27	2,20	17,24	0,11	7,93
2	2,17	9,83	7,81	1,81	1,90	8,58	0,48	6,40
3	5,01	11,88	10,35	2,96	4,00	11,80	0,20	5,59
4	13,33	40,87	21,27	7,91	13,39	27,73	0,45	9,76
5	18,44	37,88	21,22	6,76	9,82	28,58	0,33	11,02
6	9,58	23,41	44,43	4,88	6,30	21,14	0,00	9,66
7	9,28	19,35	12,55	3,68	5,65	19,65	0,27	9,94
8	9,26	52,22	22,48	5,28	4,55	18,52	0,22	19,69
9	9,04	18,24	8,98	3,71	4,88	18,29	0,03	9,70
10	11,98	29,23	17,10	5,46	7,99	24,70	0,44	9,33
11	9,28	20,98	18,20	4,72	5,89	20,50	0,24	8,80
12	7,32	19,55	11,93	3,57	5,55	16,55	0,10	7,14
13	7,52	15,06	10,36	3,27	4,24	15,47	0,31	8,25
14	7,11	29,86	10,38	4,39	3,48	17,70	0,50	9,15
15	9,06	8,30	4,13	1,67	0,00	25,59	0,00	1,47
16	11,50	48,71	10,41	5,85	7,00	34,00	0,00	4,76
X	9,12	24,84	14,90	4,32	5,43	20,38	0,23	8,66
µ	3,68	3,75	9,60	1,68	3,19	6,48	0,18	3,81

Cuadro 2.
Matriz de correlación de Pearson (AMF: arena muy fina, DQO: demanda química de oxígeno, P-total: fósforo total).

	Arena	AMF	Limo	Arcilla	C-org	DQ	P-total	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Cd	Pb
Arena	1,000														
AMF	-0,777	1,000													
Limo	-0,976	0,778	1,000												
Arcilla	-0,682	0,556	0,581	1,000											
C-org	-0,792	0,595	0,779	0,555	1,000										
DQO	-0,850	0,666	0,819	0,589	0,899	1,000									
P-total	0,153	-0,075	-0,278	0,257	-0,252	-0,230	1,000								
Fe	-0,840	0,800	0,837	0,487	0,624	0,830	-0,220	1,000							
Mn	-0,592	0,376	0,549	0,330	0,313	0,572	0,334	0,692	1,000						
Zn	-0,636	0,414	0,630	0,365	0,327	0,408	0,118	0,443	0,488	1,000					
Cu	-0,811	0,565	0,787	0,494	0,557	0,732	-0,021	0,884	0,823	0,548	1,000				
Ni	-0,843	0,637	0,820	0,556	0,624	0,703	-0,093	0,834	0,634	0,435	0,920	1,000			
Cr	-0,877	0,691	0,884	0,491	0,660	0,819	-0,295	0,950	0,676	0,494	0,929	0,876	1,000		
Cd	-0,057	-0,040	0,112	-0,277	-0,063	0,024	-0,208	0,164	0,214	-0,221	0,254	0,345	0,149	1,000	
Pb	-0,301	0,135	0,253	0,166	0,095	0,390	0,404	0,392	0,841	0,373	0,464	0,173	0,357	0,039	1,000

Datos de granulometría, C-org, DQO y P-total tomados de Fuentes (1998, 1999) y Fuentes et al., (1997)

Figura 3. Distribución espacial de Cu (a), Ni (b) y Cr (c), en (g/g, de los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata).



El comportamiento del Zn y el Cd es discrepante al del resto de los metales, mostrando escasa asociación con ellos, C-org y DQO. En general, las concentraciones de Zn variaron entre 4,13 $\mu\text{g/g}$ (Est. 15) y 44,43 $\mu\text{g/g}$ (Est. 6), media de 14,90 $\mu\text{g/g}$ y DE 9,60 $\mu\text{g/g}$ (Cuadro 1, 2), incrementándose hacia el Suroccidente - central. Es interesante resaltar que casi todo el ecosistema es dominado por concentraciones de Cd homogéneamente distribuidas comprendidas entre 0,00 $\mu\text{g/g}$ (Ests. 6, 15 y 16) y 0,50 $\mu\text{g/g}$ (Est. 14), media de 0,23 $\mu\text{g/g}$ y DE 0,18 $\mu\text{g/g}$. No existe correlación entre las concentraciones de Cd y C-org, ni con los restantes metales. La matriz de correlación muestra el antagonismo de los metales, en general, con la fracción arena, mediana a alta con la arena muy fina (AMF) y limo, excepto el Cd y Pb (Cuadro 2).

Figura 4.
Distribución espacial de Cu (a), Ni (b) y Cr (c), en $\mu\text{g/g}$,
de los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata.

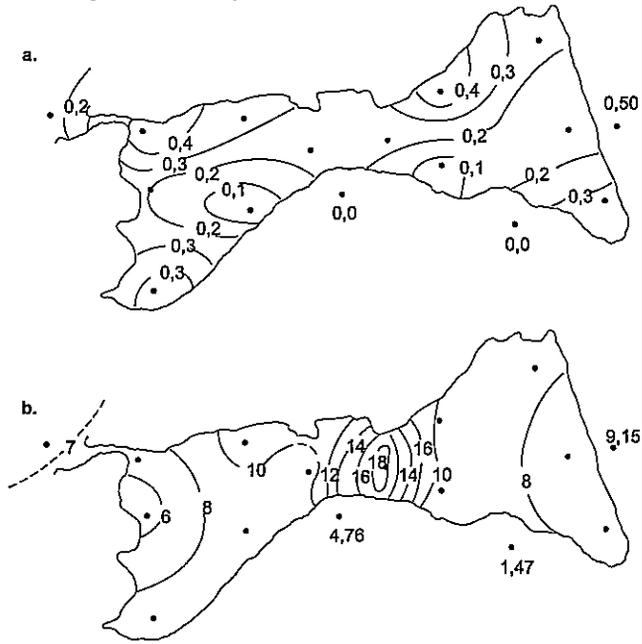
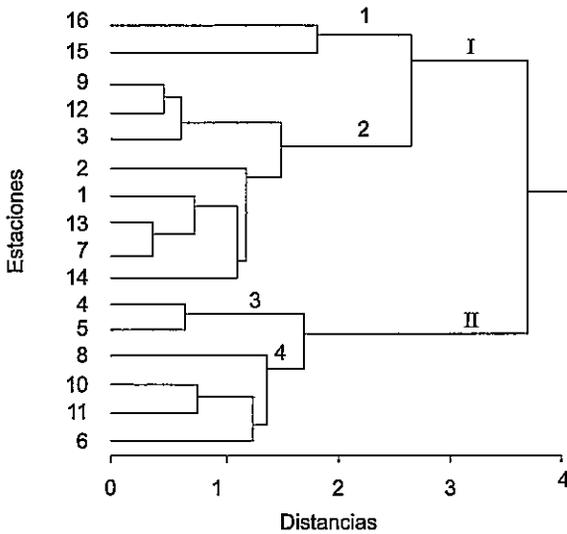


Figura 5.
Dendrograma del análisis de conglomerados de modo Q (método de Ward) de los metales de los sedimentos de la Laguna de Chacopata.



El dendrograma resultante del análisis de conglomerados (Figura 5), que incluyó todos los metales estudiados consistió de dos conglomerados principales (I y II), que se subdividen en cuatro conglomerados secundarios de asociación (1-4), derivándose los conglomerados 1 y 2 del conglomerado principal I, mientras que 3 y 4 provienen del conglomerado II.

DISCUSIÓN

Concentración, distribución y comportamiento de los metales trazas en los sedimentos:

Los resultados sugieren que los metales, excepto Cd y Pb, provienen del continente, al ser arrastrados por el viento y por escorrentías esporádicas y fuertes, que se producen durante la época lluviosa, acumulándose favorablemente en las áreas internas donde los máximos valores coinciden con las concentraciones más elevadas de limo y arcilla, registrados por Fuentes (1999), debido a que son atrapados y adsorbidos por este tipo de partículas. Las arcillas y la materia orgánica intercambian los metales alcalinos del sedimento por metales trazas, favorecidos por las condiciones redox, mediante reemplazamientos isomorfos o atraídos por sus cargas negativas. El aporte externo del Fe, en época lluviosa, puede formar dispersiones coloidales de hidróxido de hierro amorfo, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, y de goethita ($\text{FeO} \cdot \text{OH}$) que son adsorbidos por la materia orgánica (Duursma, 1981). Probablemente, este proceso es el que se verifica en la laguna, corroborado por la correlación positiva (0,830) existente entre el Fe y DQO (Cuadro 2).

El valor promedio de Fe (9,12 mg/g) encontrado es superior al registrado por Salazar *et al.* (1986) para la Laguna de Las Marites (1,482 mg/g) e inferior al promedio de la Laguna de Unare (47,1 mg/g) obtenido por Longa y Bonilla (1987), lagunas que están contaminadas por desechos antropogénicos. Al comparar el valor promedio de los sedimentos con los de los esteros San Juan (7,60 mg/g), no contaminado, y Bacuta (40,20 mg/g), contaminado por desechos industriales (Izquierdo *et al.*, 1997), pareciera que los contenidos de la Laguna de Chacopata son ligeramente elevados; pero ella no recibe este tipo de aportes. Estudios, realizados en otras áreas, argumentan que el Fe presente en sedimentos costeros tienen un origen litogénico, al igual que el Mn y el Zn (Izquierdo *et al.*, 1997, Dassenakis *et al.*, 1996).

En zonas óxicas, los compuestos más comunes de Mn son manganita $\text{Mn}(\text{MnO} \cdot \text{OH})$ y MnO_2 , especialmente en presencia de Ni^{+2} y Cu^{+2} (Sadiq,

1992), evidenciado por la correlación Mn con Ni (0,634) y Mn con Cu (0,823, Cuadro 2). En zonas de reducción puede formarse MnS y MnCO₃; esto probablemente sucede hacia la región suroccidental. En cambio, hacia el centro, la alta asociación entre Mn y Pb (0,841; Cuadro 2) indica que las concentraciones están relacionadas con la formación de manganita, debido a que en la superficie de este mineral coprecipita fácilmente el Pb y la adsorción de este último en los hidróxidos de Mn promueve interacciones entre Pb y fosfatos (Sadiq, 1992). El Mn⁺², en sedimentos marinos, es un aceptor terminal de electrones en la degradación de la materia orgánica detrítica; por esa razón la DQO se asoció medianamente (0,572) con este metal. El contenido promedio de Mn es inferior a 94,57 µg/g registrado por Salazar *et al.* (1986) para los sedimentos superficiales de la Laguna de Las Marites y al de 117 µg/g encontrado por Gamboa y Bonilla (1983) para los sedimentos superficiales de la Cuenca Tuy-Cariaco, indicando que el contenido de Mn de los sedimentos se preservan prístinos.

El comportamiento discrepante del Zn y la escasa correlación, respecto a los demás metales y a la DQO (Cuadro 2), indican que la química del zinc parece estar controlada por reacciones netamente inorgánicas (Duursma, 1981). El Zn⁺², por estar cargado positivamente, puede ser adsorbido en superficies sólidas cargadas negativamente, como son la materia orgánica y limo (Fuentes, 1998), mientras que posee poca afinidad con las superficies sólidas inorgánicas como el CaCO₃. En este estudio se notó poca correlación con C-org (0,327), mediana con el limo (0,630) y antagonismo con arena (-0,636). El valor promedio es inferior a 110 µg/g, límite establecido para considerar sedimentos como no impactados (Bonilla *et al.*, 1995). Cationes divalentes, como Zn, Cu, Cr, etc., interactúan con las superficies de óxidos de Mn; por esta razón, correlacionan medianamente con el Mn (0,488; 0,548; 0,494). Respecto a esto, Fernández *et al.* (1993) sugieren que altas concentraciones de Zn y Mn pueden indicar una relación entre estos elementos. Estudios realizados reflejan que el 30% del Mn y Zn están asociados a la materia orgánica y el 70% a materia inorgánica (Izquierdo *et al.*, 1997). El zinc es incorporado por mecanismos de adsorción, desorción e intercambio iónico a los sedimentos.

El comportamiento de las concentraciones del Cu se explica por la adsorción de este metal sobre superficies sólidas como: materia orgánica, óxidos e hidróxidos de Fe y Mn, jugando un papel importante en la remoción del Cu en el agua de mar. Este hecho queda comprobado al examinar, en el Cuadro 2, la asociación del Cu con C-org (0,557), Fe (0,884) y Mn (0,823).

Por otro lado, debe considerarse que, en la región suroccidental, la distribución y concentraciones de Cu coinciden con las de S^{2-} hecho señalado por Fuentes *et al.* (1997), lo que podría indicar la existencia de CuS . El valor promedio es inferior al de $10 \mu\text{g/g}$ para ambientes naturales (Sadiq, 1992), indicando la ausencia de contaminación por Cu. Igualmente es menor que el valor promedio de $11,85 \mu\text{g/g}$, registrado por Salazar *et al.* (1986) para la Laguna de las Marites; $12,11 \mu\text{g/g}$, obtenido por Gamboa y Bonilla (1983) para los sedimentos de la Cuenca Tuy - Cariaco; al de $14,20 \mu\text{g/g}$ constatado por Bonilla *et al.* (1995) en el litoral costero de Jose, y al de $41,0 \mu\text{g/g}$ obtenido por Bonilla (1993) en las costas del Estado Anzoátegui. Todos estos ambientes parecen estar contaminados por Cu; sin embargo, la Laguna de Chacopata no presenta indicios antrópicos evidentes, sino terrígeno más la contribución de plancton muerto que se acumula en sedimentos donde la granulometría es más fina, como en la zona suroccidental (Est. 4) y norte (Est. 5).

La distribución espacial de las concentraciones de Ni refleja un comportamiento similar al Cu y Cr; sugiriendo que estos parámetros están controlados por los mismos factores bióticos y abióticos. Los valores relativamente altos $7,99 \mu\text{g/g}$ (Est. 10) y $13,39 \mu\text{g/g}$ (Est. 4) se presentaron donde los manglares, macroalgas y fanerógamas marinas son abundantes, los sedimentos finos con altas concentraciones de arcillas e importantes acumulaciones de materia orgánica (Fuentes, 1998). Esta condición permite que el Ni^{+2} se adsorba favorablemente en los poros acuosos del sedimento. En ambientes reductores que contienen H_2S , el Ni tiende a formar NiS y complejos, vía la cavidad central de las petroporfirinas, durante la diagénesis sedimentaria de la clorofila a (Duursma, 1981). Esto podría suceder en la región suroccidental (Est. 4) y Norte (Est. 5). El valor medio es inferior al de $10,0 \mu\text{g/g}$, registrado por Sadiq (1992) para ambientes no contaminados y al de $39,42 \mu\text{g/g}$, obtenido por Bonilla *et al.* (1995) para el sistema marino costero de Jose, área de gran actividad antropogénica urbana, petrolera y petroquímica (Bonilla *et al.*, 1998).

La media de las concentraciones de Cr es comparable al de $20,0 \mu\text{g/g}$ comprobado por Sadiq (1992) para sedimentos no contaminados e inferior al valor promedio de $57,49 \mu\text{g/g}$ constatado por Bonilla *et al.* (1993, 1995) para los sedimentos del sistema marino costero de Jose.

La situación en la que el Cr se correlaciona altamente al Cu (0,929), Fe (0,884), Ni (0,920) y Mn (0,823) parece indicar que poseen un comportamiento químico similar en el ambiente marino, están gobernados por los

mismos factores ambientales y probablemente tienen el mismo origen. La materia orgánica juega papel importante en la adsorción del Cr, en los sedimentos, probablemente en su estado de oxidación Cr(III), que se acompleja fácilmente con compuestos orgánicos, favorecidos por el pH alcalino (Sadiq, 1992). La esmectita parece ser que también ejerce un papel preponderante, ya que los máximos de Cr coinciden con los altos valores de C-org registrados por Fuentes *et al.* (1997) y de esta arcilla (Ests. 4, 5, 10), señalados por Fuentes (1999). El Cr (III), también es fácilmente adsorbido en superficies de óxido de hierro (capa hidratada), reaccionando químicamente y constituyendo cromita (FeCr_2O_4), siendo ésta la forma más estable de Cr (III) y la que controla su contenido en el agua de mar y en los sedimentos superficiales (Sadiq, 1992). Este hecho es demostrado por la correlación del Cr y Fe (0,950). Muchos autores argumentan que el Cr es adsorbido en los sedimentos superficiales y que 60 - 80% del Cr total no es accesible a la biota, sino que está asociado con varios hidróxidos y silicatos. De hecho, no es detectable en la fracción intercambiable, ni en la carbonatada (Sadiq, 1992, Izquierdo *et al.*, 1997).

Las correlaciones evidencian que los metales analizados presentan un comportamiento químico similar favorecida su acumulación AMF y limo, mientras que muestran antagonismo con los sedimentos de granulometría gruesa e indican que los metales se acumularon en los poros acuosos de los sedimentos más finos, con importante contenido orgánico y que el oxígeno es consumido para la oxidación de la materia orgánica y la formación de especies oxidadas de los metales referidos.

La distribución espacial del Cd y la ausencia de correlación entre éste, C-org y los demás metales, insinúan un origen y comportamiento químico diferente; sin tendencia definida de acumulación, según la textura de los sedimentos. La media encontrada es comparable al de $0,3\mu\text{g/g}$, obtenida en el estero, no contaminado, de San Juan e inferior a $19\mu\text{g/g}$ del estero de Liebre. Este último recibe contaminación pirítica y significativas descargas industriales (Izquierdo *et al.*, 1997) e inferior al valor límite para ambientes no contaminados ($1\mu\text{g/g}$) comprobado por Sadiq (1992), indicando que no hay alteración del ecosistema por este metal y que existen indudables aportes antropogénicos que penetran por vía marina debido a los residuos de pintura de botes que ocasionalmente navegan en o fuera de la laguna. Por otro lado, algunas embarcaciones permanecen ancladas en el área suroccidental marina del Morro de Chacopata. En el continente no existe evidencia de Cd, excepto en la Est. 14, probablemente, por aportes antrópicos en esa área o acumulado después de la desecación parcial de la laguna.

El Cd, generalmente, se presenta en el estado divalente, Cd (II), en los ambientes marinos y no está directamente afectado por las transformaciones de oxidación-reducción. Esto quizás pueda explicar la falta de asociación entre este metal y la DQO, registrada por Fuentes *et al.* (1997). Sin embargo, las reacciones secundarias que involucran Cd afectan su química, una de ellas es la formación de CdS. En la región suroccidental, donde el S⁻² es relativamente alto, quizás se forme algo de CdS. Recientemente se ha encontrado que en ambientes hipersalinos, la salinidad es directa y probablemente lineal a la bioacumulación de Cd, y que los complejos Cd-Cl son las formas más abundantes en aguas óxicas y subóxicas (Sadiq, 1992).

El Pb presentó un comportamiento similar al Mn y fósforo total (Fuentes, 1998), pero diferente a la de los demás metales estudiados. El promedio de 8,66 µg/g es superior a la concentración de 5 µg/g registrado para sedimentos no impactados (Sadiq, 1992). El contenido encontrado indica existe una ligera degradación, que proviene principalmente de aportes antropogénicos: vía atmosférica por combustión de gasolina con tetraetilo de plomo y diesel de vehículos automotores y embarcaciones que transitan cerca del área y por escorrentías límnicas, durante la época lluviosa, acumulándose preferentemente en el centro del ecosistema.

El mecanismo regulador del Pb parece ser la adsorción a superficies de Mn(MnO.OH) o la formación de compuestos como Pb₅(PO₄)₃Cl que, al ser adsorbidos en oxihidróxidos de Fe y Mn, promueven las interacciones entre Pb y fosfatos, sirviendo como adsorbente y reteniendo al Pb y al P en una matriz (Sadiq, 1992). Cuando estas partículas fijadas son expuestas a aguas intersticiales, con elevadas concentraciones de ortofosfatos, el Pb adsorbido puede interactuar con el P y formar una fase sólida estable. Por consiguiente, la contaminación por plomo está asociada a altas concentraciones de P. Estos planteamientos se sustentan en la distribución espacial del Pb, Mn, P-total y en las correlaciones encontradas entre el Pb y Mn, Pb y P- total. Fernández *et al.* (1993) comprobaron que el contenido de Pb en los sedimentos de la Laguna de Jacaparegúa está afectado por la migración de Mn, enriqueciendo las capas superiores de los sedimentos.

Análisis de conglomerado de los metales presentes en los sedimentos de la laguna:

Los conglomerados principales se distinguieron según las condiciones geodinámicas. Estas discrepancias asociativas se basaron en la influencia mareal, la acción del viento, las cuales determinan la textura del sedimento y, por ende, la acumulación de materia orgánica y metales.

El conglomerado I asoció las estaciones continentales (15, 16) y las internas (1-3,7,9,12-14). Estas estaciones son las más afectadas por escorrentías, influencia mareal o vientos, por lo tanto más activas. En el conglomerado II se asociaron las estaciones restantes, las cuales se ubican en zonas menos activas, respecto a los mismos factores, zonas geomorfológicamente protegidas, bordeadas de manglares, presencia de macroalgas y fanerógamas marinas. Los conglomerados secundarios corresponden a cuatro ambientes de características propias:

Conglomerado 1: Asoció los sedimentos, arenolimosos, de las estaciones Sur (15, 16), ubicadas en el continente, las cuales presentan concentraciones de Fe y Cr altas, bajas en Pb y ausencia de Cd, resaltando el origen continental de los metales, excepto el Pb que es antropogénico.

Conglomerado 2: Agrupa los sedimentos de las estaciones ubicadas en áreas próximas a la boca (1-3) y, las Ests. 7, 9,12-14, las cuales presentan concentraciones medias de metales. Fuentes (1999) constató sedimentos arenosos (Ests. 1-3, 13-14) y arenolimosos (Ests. 7 y 12), lo que explicaría este comportamiento, ya que, la adsorción de metales no está favorecida en el material grueso. Por otro lado, estos ambientes son más dinámicos debido a corrientes marinas y vientos (Fuentes *et al.*, 1997; Fuentes, 1999).

Conglomerado 3: Los sedimentos de las Ests. 4 y 5 se asocian en este conglomerado. Estos sedimentos presentan las más altas concentraciones de metales Fe, Mn, Cr, Cu, Ni, sin diferencias significativas respecto al contenido de Pb, en comparación con los sedimentos del conglomerado 2. Estas estaciones son ambientes tranquilos, protegidos geomorfológicamente y por manglares, y con abundante flora de fondo, que favorecen la retención de sedimentos finos; en consecuencia, la acumulación de materia orgánica y metales es mayor (Fuentes *et al.*, 1997). Debe resaltarse que el Zn no mostró asociación con estos metales.

Conglomerado 4: Aglomera los sedimentos de las Ests. 6, 8, 10, 11, de acuerdo a los altos contenidos de Fe, Cu, Ni, Cr, metales que covarían entre sí y C-org. Estos sedimentos son arenolimosos y se encuentran en zonas de manglares y *Thalassia sp.*, menos protegidas, ligeramente más dinámicos que los asociados en el conglomerado 3 (Fuentes, 1999).

Cabe destacar que Pb y Cd presentaron concentraciones muy variables en todos los conglomerados, corroborando su origen antropogénico y comportamiento químico diferente a los demás metales.

CONCLUSIONES

Los metales trazas mostraron concentraciones medias de la siguiente manera: $Cd < Cu < Ni < Pb < Zn < Cr < Mn < Fe$. El Fe, Mn, Cu, Ni y Cr covariaron significativamente, indicando su comportamiento químico similar, adsorción sobre superficies sólidas como los óxidos e hidróxidos de Fe y Mn, limo y arena muy fina. El Pb y el Cd presentaron un comportamiento diferente, sin afinidad por este tipo de sedimentos, materia orgánica, ni demás metales. La asociación del Pb con el Mn señaló que el mecanismo regulador del Pb en el ecosistema es la adsorción del mismo en superficies de Mn ($MnO.OH$), pues el Pb coprecipita favorablemente sobre este mineral. En el ecosistema, no se presentaron evidencias de contaminación, excepto de Pb, cuyas concentraciones más elevadas se encontraron en la parte central de la laguna, asociadas con Mn y fósforo. Aún así la laguna no presenta notables perturbaciones antrópicas. Se distinguieron dos ambientes, uno más dinámico, afectado por la influencia mareal, escorrentías y/o vientos, el cual contiene las concentraciones más bajas de metales y otro de elevadas concentraciones, ubicado en zonas menos dinámicas, protegidas geomorfológicamente, por manglares y con abundantes macroalgas y fanerógamas marinas. El estudio permitió conocer el origen, distribución, comportamiento de los metales, a fin de permitir comparaciones futuras.

SUMMARY

PRESENCE OF TRACE METALS IN THE SUPERFICIAL SEDIMENTS OF THE LAGUNA DE CHACOPATA, ESTADO DE SUCRE, VENEZUELA.

The objective of the present investigation is to provide a base-line study of the distribution and behaviour of trace metals in superficial sediments of the Chacopata Lagoon, State of Sucre. Sixteen sampling stations were established, 13 located in the lagoon's body of water, 1 at the marine inlet and 3 in the continent. The concentrations of 8 metals were determined (Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Cd and Pb), following the classic methodology for marine sediments. The concentrations of the trace metals and their spatial distribution evidence a terrigenous origin: Fe (2,17-18,44mg/g, \bar{X} = 9,12 mg/g), Mn (8,30-52,22 μ g/g, \bar{X} = 24,82 μ g/g), Zn (4,13-44,43 μ g/g, \bar{X} = 14,90 μ g/g), Cu (1,67-7,9 μ g/g, \bar{X} = 4,32 μ g/g), Ni (0,00-13,39 μ g/g, \bar{X} = 5,43 μ g/g), Cr (8,58-34,00 μ g/g, \bar{X} = 20,38 μ g/g), accumulated in areas where very fine sand, silt, and organic matter are found in abundance. Furthermore, Fe with Cu (0,884), Ni (0,834) and Cr (0,950), Cu with Mn

(0,823), Ni (0,920) and Cr (0,920) and Cr (0,929), Ni with Cr (0,876) were found very correlated, indicating a similar chemical behaviour. However, the Cd (0,00-0,59µg/g, =0,23µg/g) and Pb (1,47-19,69µg/g, = 8,66µg/g), showed antropogenic evidence, with no affinity with the sediment's granulometry, nor with the organic matter. The Pb showed a relationship with the Mn (0,841), indicating that the regulating mechanism is the adsorption on Mn(MnO.OH) surfaces. Four environments of peculiar dynamic characteristics in accordance with the metal's contents and behaviour, could be distinguished in the lagoon. The Cd presents no definite accumulation tendency. No evident pollution was found, thus indicating that the ecosystem is an environment preserved without noticeable antropogenic perturbations.

KEYWORDS:

Geochemistry, metals, lagoons, pollution.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALL, P. W., HULL, S., MILLER, B., PIRIE J., y PROTOR, W. 1997. Trace metal in scottish estuarine and coastal sediments. **Mar. Pollut. Bull.**, 34(1), 42-50.

BONILLA, J. 1993. **Características Hidrogeoquímicas: Comportamiento y Significado de Modelos Estadísticos Multivariantes en el Ecosistema Marino Costero de Jose, Estado Anzoátegui, Venezuela.** Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente. Ascenso a titular. 231 pp.

BONILLA, J., FERMÍN, J.S., CABRERA, M., y GAMBOA, B. 1995. Aspectos geoquímicos de los sedimentos superficiales del ecosistema marino costero de Jose, Estado Anzoátegui, Venezuela. **Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente**, 34(1 y 2), 5-23.

BONILLA, J., FERMÍN, J.S. y GONZÁLEZ, C. 1998. Análisis estadístico multivariante aplicado al grado textural y a los aspectos geoquímicos de los sedimentos del bioecosistema marino costero de Jose, Estado Anzoátegui, Venezuela. **Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente**, (*en prensa*).

CARMODY, J., PEARCE, B. y YASSO, J. 1973. Traces metals in sediments of New York Bight. **Mar. Pollut. Bull.**, 4, 132-135.

DASSENAKIS, M., KLOOKINIOTOU, M. y PAV LIDOU, A.. 1996. The influence of long existing pollution on trace metals levels in a small tidal mediterranean Bay. **Mar. Poll. Bull.**, 32(3), 275-282.

DE LA LANZA, E.C. y CÁCERES, C. 1994. **Lagunas Costeras y el Litoral Mexicano**. México: Universidad Autónoma de Baja California Sur. 525 pp.

DUURSMA, E.K.R. DAWDSON. 1981. **Marine Organic Chemistry**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Co. 519 pp.

FERNÁNDES, H.M., CARDOSO, K. y GODOY, J. 1993. Cultural impact on the geochemistry of sediments in Jacaparegúa Lagoon. Río de Janeiro, Brazil. **Environm. Technol. Letter**, 14, 19-100.

FUENTES, M.V. 1998. **Condiciones Geoquímicas de los Sedimentos Superficiales de la Laguna de Chacopata, Estado Sucre, Venezuela**. Tesis de Maestría en Ciencias Marinas, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 130 pp.

FUENTES, M.V. 1999. Características granulométricas, sedimentológicas y mineralógicas de los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata, Estado Sucre, Venezuela. **Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente**, 32(2), (*en prensa*).

FUENTES, M.V., BONILLA, J. y FERMÍN, J. 1997. Algunas características químicas de los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata, Estado Sucre, Venezuela. **Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente**, 36 (1 y 2), 69-79.

GAMBOA, B. y BONILLA, J. 1983. Distribución de metales pesados (Fe, Mn, Cu y Zn) en sedimentos superficiales de la Cuenca Tuy - Cariaco. **Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente**, 22(1 y 2), 103-110.

HAVACH, S. y COLLINS, L. 1997. The distribution of recent benthic foraminifera across habitats of Bocas del Toro, Caribbean Panama. **J. Foraminiferal Research**, 27(3), 232-249.

IZQUIERDO, C., USERO, J. y GRACIA, I. 1997. Speciation of heavy metals in sediments from salt marshes on the southern atlantic coast of Spain. **Mar. Poll. Bull.**, 34 (2), 123-128.

LIÑERO A., I. 1994. **Variations Spatio-temporelles de Structure des Peuplements Benthiques dans une Lagune Cotière Trópical.** Tesis Doctoral en Oceanografía. Universidad Laval, Quebec, Canadá. 177 pp.

LONGA, I. y BONILLA, J. 1987. Caracterización química de los sedimentos de la interfase de la Laguna de Unare. **Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente**, 26 (1 y 2), 70-78.

RAMÍREZ V., P. 1997. **Islotes Caribe y Los Lobos.** Gobernación del Estado Nueva Esparta, Porlamar, Venezuela. 270 pp.

SADIQ, M. 1992. **Toxic Metal Chemistry in Marine Environments.** Nueva York: Marcel Dekker, Inc. 389 pp.

SALAZAR, J., BONILLA, J. y GAMBOA, B. 1986. Metales pesados y materia orgánica en los sedimentos superficiales de la Laguna de Las Marites. **Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela. Univ. Oriente**, 25 (1 y 2), 137-154.

ESTUDIO DE LA AGLOMERACIÓN DE PRECIPITADOS

EDUARDO FLORES¹, JOSÉ MARÍA CABRERA² y JOSÉ MANUEL PRADO²

¹Centro de Investigaciones con Técnicas Nucleares,
Departamento de Física,
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología,
Universidad de Panamá

²Departamento de Ciencia de Materiales
e Ingeniería de Metales,
Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, España.

RESUMEN

En este trabajo se pone en evidencia el fenómeno de aglomeración de precipitados en fundiciones de hierro y en aceros con perlita esferoidizada. Se presenta un modelo simple que explica cómo varían los aglomerados de nódulos de carbono con la fracción en volumen de los mismos en una fundición de hierro, además de resultados de simulación que confirman el citado modelo. Se determina a través de este modelo que existe un valor crítico para la fracción en volumen próximo a 0,57, a partir del cual todos los nódulos de carbono estarían tocándose entre sí. Este valor crítico determinado por simulación está próximo al valor extrapolado por los resultados experimentales.

PALABRAS CLAVES

Agglomeración de precipitados, fundiciones de hierro y aceros, simulación por ordenador, coalescencia, tamaño de partículas, distribución, cluster.

INTRODUCCIÓN

Se entiende por agrupación de precipitado al proceso mediante el cual por lo menos dos partículas de segunda fase entran en contacto entre sí. Este

contacto puede ser superficial o bien que las partículas se unan produciendo un cuello entre las mismas. A medida que avanza el proceso de difusión entre las partículas unidas, tenderán a formar una sola partícula que recuerden las formas originales de las mismas.

La agrupación de precipitados es un fenómeno conocido que puede ejercer una influencia significativa en las propiedades de los materiales (Underwood, 1970; Hassold *et al.*, 1990). Como es de esperar, la probabilidad de que las partículas de segunda fase se agrupen debe depender de los siguientes factores:

1. Fracción en volumen de precipitados (f_v).
2. Aleatoriedad de los centros de nucleación de los precipitados.
3. Tratamientos térmicos que favorezcan la aglomeración de las partículas de segunda fase.

Los objetivos de este trabajo son poner en evidencia el fenómeno de aglomeración de precipitados y proponer funciones que predigan el porcentaje de partículas que se agrupan en pares, tríos, cuartetos, etc., a medida que aumenta la fracción en volumen de ellas. Estas funciones de agrupación de precipitado se desarrollarán considerando que la nucleación de precipitados se produce al azar, por lo que para evaluaciones experimentales se utilizará una fundición nodular de hierro con diferentes fracciones en volumen de partículas de grafito. Se desarrollará un modelo de simulación por ordenador para comparar estos resultados con los predichos por las funciones de agrupación.

En vista que el área total de los precipitados es mayor cuando éstos se encuentran aislados que cuando una fracción de ellos se encuentran agrupados, el radio medio de los precipitados aislados (radio medio libre, r) será menor que el radio medio cuando se consideran los precipitados agrupados como uno solo (radio medio efectivo, r_e). Nos proponemos encontrar la ecuación que relaciona la razón r/r_e con la fracción en volumen, para el caso de la fundición de hierro.

Otro de los objetivos de este trabajo es demostrar que los factores que afectan la nucleación y agrupación dependen de las características del material. En este sentido se seleccionó un material adicional en el cual la nucleación de los precipitados no sea aleatoria. Este material es un acero con perlita esferoidizada, en el cual la nucleación de precipitado está favorecida por la estructura laminar previa de la perlita.

PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

Se estudiaron cinco fundiciones de hierro las cuales se diferenciaban por poseer cada una de ellas diferentes fracciones en volumen de esferulitas de carbono como partículas de segunda fase (Cuadro 1).

Cuadro 1.
Composición química de las fundiciones de hierro.

f_v	C	Si	Mn	Cu	Mg
0,067	2,34	2,77	0,54	0,52	0,05
0,109	3,41	2,67	0,15	0,08	0,02
0,130	3,77	2,40	0,14	0,24	0,03
0,150	4,53	2,80	0,10	0,18	0,05
0,170	4,66	2,58	0,09	0,20	0,03

Para cuantificar los diferentes tipos de agrupaciones de precipitados que se producen en las fundiciones, se realizó un proceso de contar una media de 1000 partículas de precipitados de esferulitas de carbono en las diferentes fundiciones, para así determinar el número de aglomerados de pares, tríos y cuartetos.

En las fundiciones analizadas se observan agrupaciones de dos, tres y cuatro precipitados (Figura 1). Los resultados de determinar el porcentaje de partículas agrupadas para cada uno de los tipos de aglomerados se presentan en la Figura 2.

A partir de los gráficos anteriores (Figura 2) se predice que el porcentaje de agrupación total aumenta a medida que aumenta la fracción en volumen de precipitado. Por otro lado, las agrupaciones de tres o más precipitados aparecen paulatinamente a medida que aumenta la fracción en volumen.

Con el fin de comparar la cola de la distribución del histograma de radio efectivo en la fundición con menor fracción en volumen (0,067) y con mayor fracción en volumen (0,170), se realizaron mediciones que incluían 5000 precipitados para cada caso. Los resultados de estas mediciones se muestran en la Figura 3.

Como se puede apreciar en el histograma (Figura 3) el fenómeno de coalescencia de precipitado produce que la cola derecha de la distribución

sea mayor para la fundición con mayor fracción en volumen. Este comportamiento también se ha puesto de manifiesto en estudios equivalentes de aglomeración aleatoria de poros (Schmelzer *et al.*,1995). El alargamiento de la cola derecha de la distribución puede explicarse considerando que una mayor concentración de partículas lleva a una mayor probabilidad de que se toquen entre sí, produciendo partículas más grandes y mayor cantidad de ellas.

Figura 1.
Aglomeración de precipitados en las fundiciones de hierro.

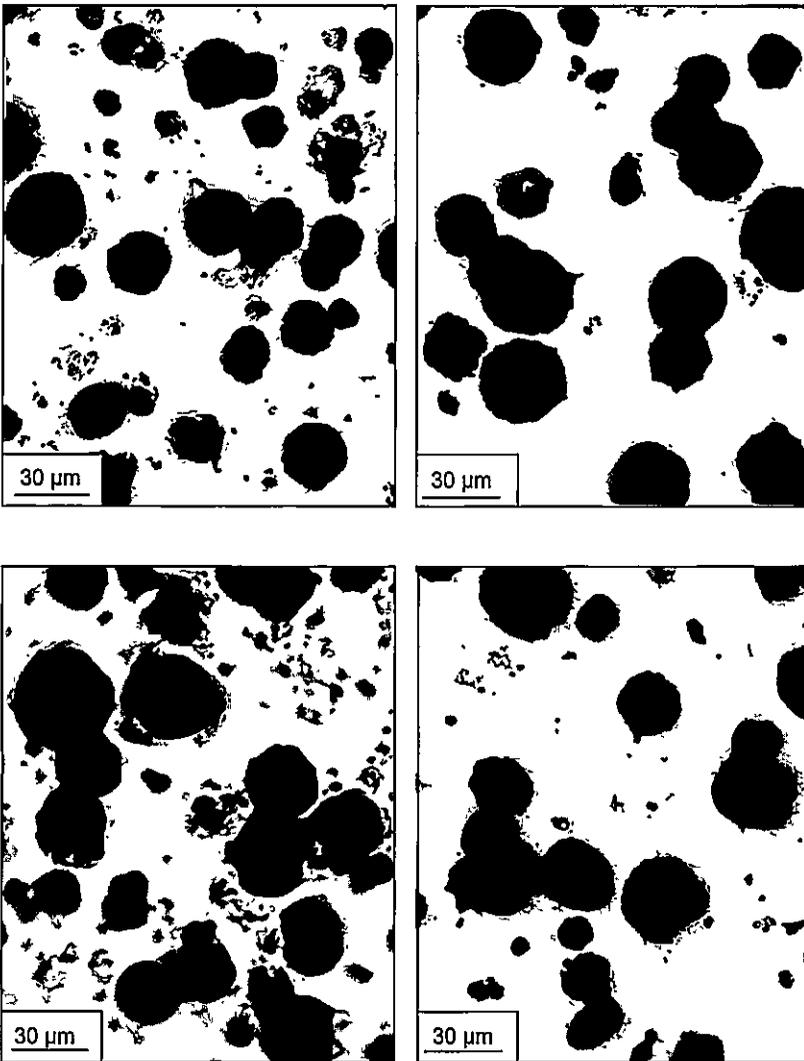


Figura 2.

Comparación entre el porcentaje de agrupación experimental y las ecuaciones deducidas.

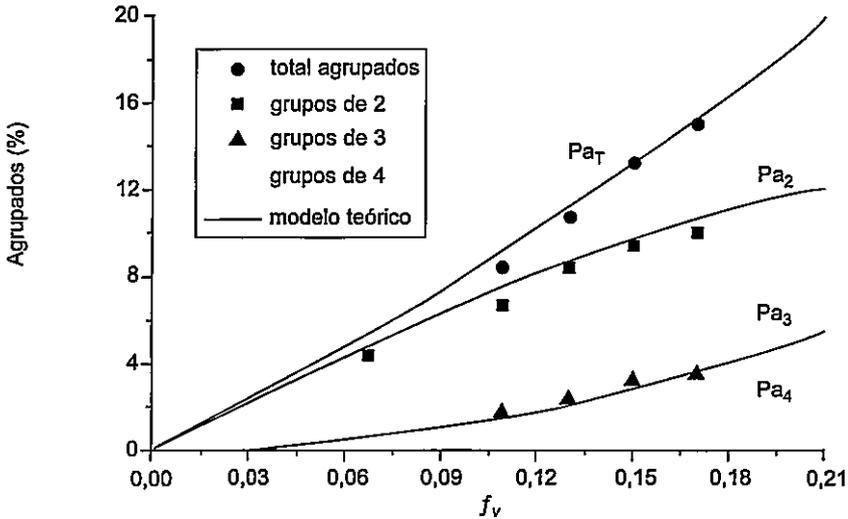
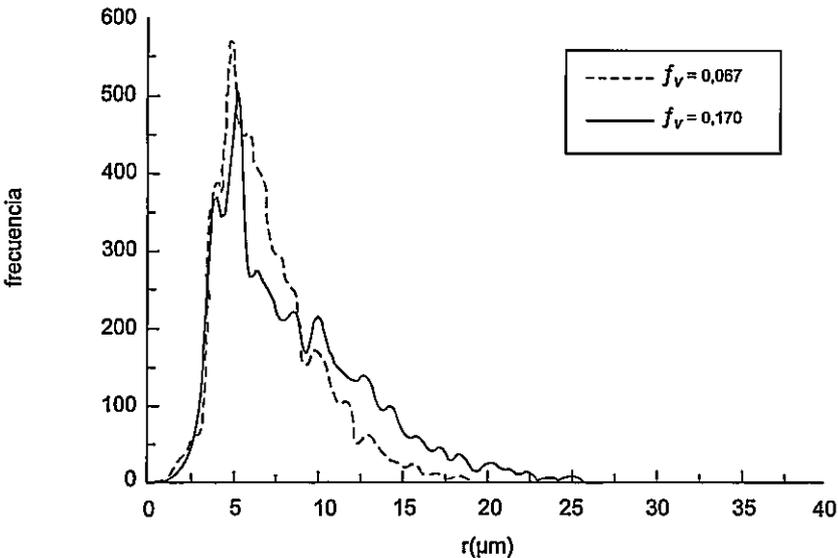


Figura 3.

Histogramas de los radios de precipitaciones en las fundiciones de hierro con fracción en volumen de 0,067 y 0,170.



Para el estudio de la coalescencia de precipitado, cuando el proceso de nucleación o aparición de los mismos está favorecido debido a sitios preferenciales, se seleccionaron dos aceros con perlita esferoidizada con fracción en volumen de cementita de 0,07 y 0,15 (Cuadro 2).

Cuadro 2.
Composición química de los aceros con perlita esferoidizada.

f_v	C	Si	Mn	Cu	Mg
0,15	1,00	0,23	0,33	1,56	0,02
0,07	0,50	0,20	0,82	0,16	0,01

Para el estudio de dichos aceros, se trataron las muestras con ácido nítrico (HNO_3) al 50 % para luego ser analizadas mediante microscopía electrónica de barrido. Las micrografías así obtenidas fueron posteriormente analizadas mediante un ordenador para luego proceder a determinar la fracción de aglomerados en grupos de dos, tres, cuatro ó más precipitados (Figura 4). Los resultados del conteo de precipitados agrupados muestran un porcentaje mucho mayor de aglomeración (Figura 5) que el observado en las fundiciones de hierro. Además, se puede apreciar que el porcentaje de aglomeración tiende a aumentar más rápidamente que en las fundiciones de hierro.

Figura 4.
Coalescencia de precipitados en el acero con perlita globulizada.

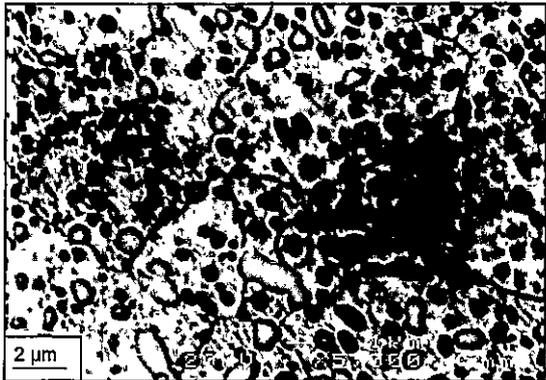
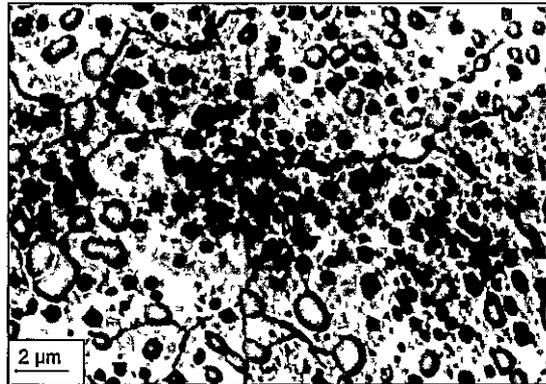
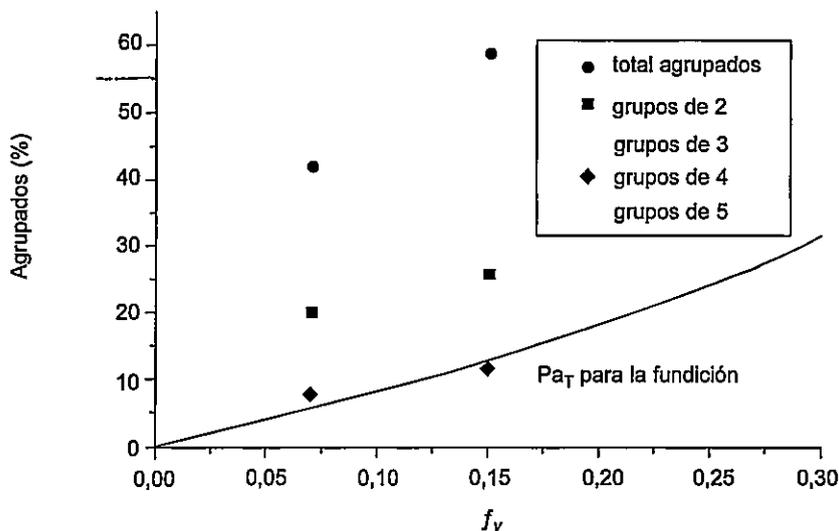


Figura 5.

Porcentaje de agrupación para el acero con perlita globulizada, comparado con el porcentaje de agrupación total del modelo teórico.



Otra consecuencia de la aglomeración de precipitados es que el radio medio libre r será menor que el radio medio efectivo r_e . En las cinco muestras de fundición se midieron las fracciones en volumen, el radio medio libre (r) y el radio medio efectivo (r_e), mediante un analizador de imagen computarizado, con el software OMNIMET. El radio medio libre se midió seleccionando los precipitados redondos y aislados y los agrupados fueron separados para luego medirles sus radios planares equivalentes; el radio medio efectivo es el que resulta cuando los precipitados aglomerados son considerados como una sola partícula. En el Cuadro 3 se presentan los valores de r , r_e y (r/r_e) para cada una de las fundiciones analizadas. En esta tabla se incluye el valor teórico que señala que a medida que f_v tiende a cero no debe haber diferencias entre r y r_e , es decir que la razón r/r_e debe tender a la unidad.

Cuadro 3.
Resultados del análisis de imagen en las fundiciones.

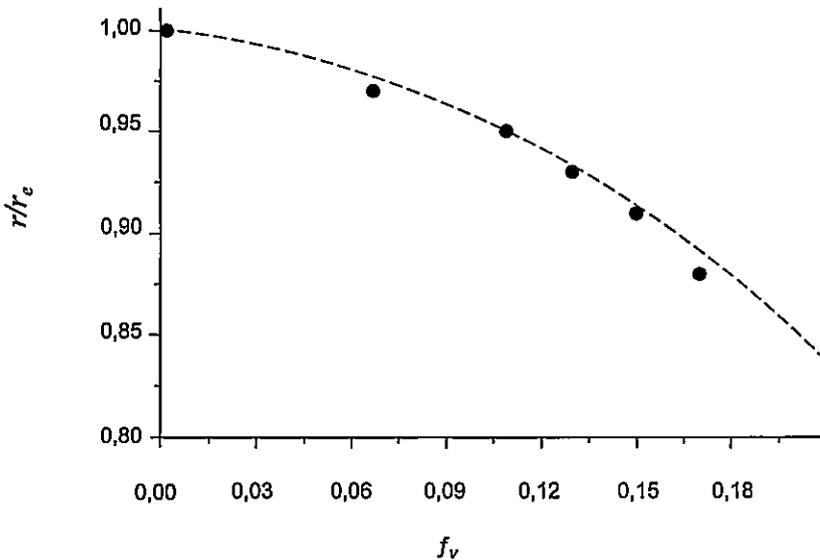
f_v	$r(\mu\text{m})$	$r_e(\mu\text{m})$	r/r_e
0,000	-	-	1,00
0,067	6,3	6,5	0,97
0,109	4,5	4,7	0,95
0,130	6,2	6,7	0,93
0,150	6,6	7,2	0,91
0,170	7,2	8,2	0,88

En la Figura 6 se aprecia cómo disminuye la razón r/r_e a medida que aumenta la fracción en volumen de esferoides de carbono en las fundiciones de hierro. Si se realiza un ajuste de estos puntos a través de un polinomio de segundo grado, se encuentra que la función de ajuste está representada por la siguiente ecuación:

$$\frac{r}{r_e} = 1 - 0,1f_v - 3,2f_v^2 \quad (1)$$

Esta ecuación predice que, si la coalescencia de precipitados sigue evolucionando de la misma forma que las fundiciones analizadas, el valor crítico de la fracción en volumen es próximo a 0,54. Es decir que, para una fundición $f_v = 0,54$, todas las esferulitas de carbono deben estarse tocando entre ellas, de tal manera que el radio medio efectivo sea muy grande comparado con el radio medio libre.

Figura 6. Evolución de la razón r/r_e en función de la fracción en volumen para la fundición de hierro.



Ecuaciones de aglomeración de precipitado en función de la fracción en volumen:

Supóngase una población de precipitados distribuidos al azar en un volumen específico, con radio medio libre r , fracción en volumen de precipitado f_v y separados por una distancia media f_v . En vista que la probabilidad (P) de que un segmento de longitud λ corte a un precipitado es (Russ, 1986):

$$P = \frac{2r}{\lambda} \quad (2)$$

Asumiremos en primera aproximación que la fracción total de partículas agrupadas ($A_T = n/N$) es directamente proporcional al radio medio de las partículas e inversamente proporcional a la distancia media de separación entre ellas. Donde n es la suma del número de partículas aglomeradas en grupos de dos, tres, cuatro o más precipitados y N es el total de partículas consideradas. Es decir:

$$A_T \propto \frac{r}{\lambda} \quad (3)$$

Para determinar la dependencia entre la relación (r/λ) y f_v , consideremos la relación entre la distancia libre media (μ) de un sistema de partículas con fracción en volumen f_v y el número de intersecciones por unidad de longitud N_L (Fullman, 1953):

$$\lambda = \frac{1 - f_v}{N_L} \quad (4)$$

Si las partículas son esferas de radio r y si llamamos a la superficie de las partículas por unidad de volumen S_v y a la longitud de intersección media L_3 , N_L puede ser expresado a través de estos parámetros (Fullman, 1953):

$$N_L = \frac{S_v}{4} = \frac{f_v}{L_3} = \frac{3f_v}{4r} \quad (5)$$

Por lo tanto, la ecuación (4) puede ser escrita de la siguiente forma:

$$\frac{r}{1} = \frac{3f_v}{4(1-f_v)} \quad (6)$$

Remplazando la ecuación (6) en la ecuación (3), introduciendo una constante de proporcionalidad C_{T3} , y multiplicando por 100, se obtiene el porcentaje de agrupación total de precipitados (Pa_T):

$$Pa_T = C_T \left[\frac{3f_v}{4(1-f_v)} \right] * 100 \quad (7)$$

Ajustando los datos experimentales del porcentaje de agrupación total para la fundiciones de hierro, se determina que $C_T = 1$ (ver ecuación de ajuste en la Figura 2), por lo que la ecuación anterior puede escribirse como:

$$Pa_T = \left[\frac{3f_v}{4(1-f_v)} \right] * 100 \quad (8)$$

Las fracciones de aglomerados en grupos de dos (A_2), tres (A_3), cuatro (A_4) ó más precipitados, estarán dadas por:

$$A_2 = A_T - A_{3,4,5} \quad (9)$$

$$A_3 = A_{3,4,5} - A_{4,5,6} \quad (10)$$

$$A_4 = A_{4,5,6} - A_{5,6,7} \quad (11)$$

Donde la $A_{3,4,5}$ es la probabilidad de encontrar aglomerados de 3, 4, 5 ó más precipitados, siendo análogo para las otras nomenclaturas utilizadas.

Para determinar la expresión para $A_{3,4,5}$ ensayaremos ajustar los datos experimentales para agrupaciones de 2 precipitados de las fundiciones de hierro, con la expresión

$$A_{3,4,5} = 2 \left(\frac{r}{\lambda} \right)^2 \quad (12)$$

Es decir que ajustaremos estos datos con la función:

$$A_2 = \left(\frac{r}{\lambda}\right) - 2 \left(\frac{r}{\lambda}\right)^2 \quad \text{ó} \quad Pa_2 = \left[\left(\frac{3f_v}{4\{1-f_v\}}\right) - 2 \left(\frac{3f_v}{4\{1-f_v\}}\right)^2 \right] * 100 \quad (13)$$

Como se puede apreciar en la Figura 2, esta función representa un buen ajuste a la evolución de agrupaciones de 2 precipitados a medida que aumenta la fracción en volumen.

Siguiendo un razonamiento análogo podemos determinar que la función de ajuste para agrupaciones de 3 y 4 precipitados las podemos aproximar a las expresiones

$$Pa_3 = \left[2 \left(\frac{3f_v}{4\{1-f_v\}}\right)^2 - 3 \left(\frac{3f_v}{4\{1-f_v\}}\right) \right]^3 * 100 \quad (14)$$

$$Pa_4 = \left[3 \left(\frac{3f_v}{4\{1-f_v\}}\right)^3 - 4 \left(\frac{6f_v}{4\{1-f_v\}}\right) \right]^4 * 100 \quad (15)$$

Como se puede apreciar en la Figura 2, las ecuaciones (8), (13), (14) y (15) representan una buena aproximación para explicar la aglomeración de precipitados en las fundiciones de hierro analizadas.

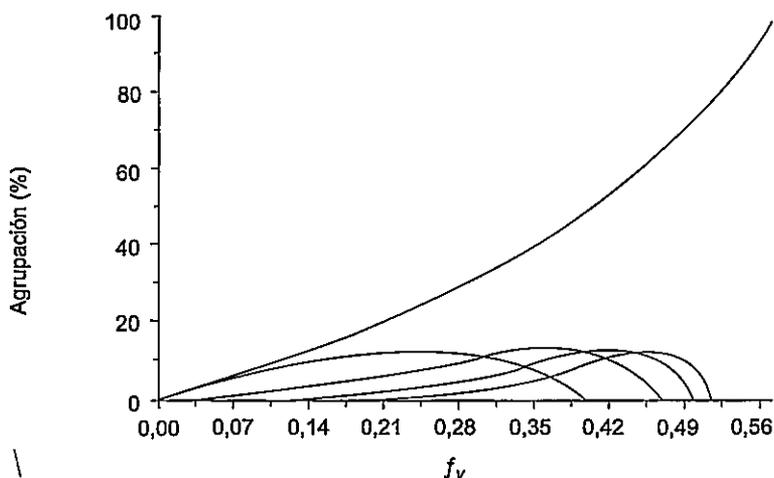
Los gráficos de estas ecuaciones (Figura 7) predicen que a medida que aumenta la fracción en volumen aumenta la cantidad total de precipitados aglomerados y la probabilidad de que aparezcan aglomerados de dos, tres o más precipitados. Como se puede deducir de la ecuación 8 y se aprecia en la Figura 7, cuando la fracción en volumen es próxima al valor crítico de 0,57, la coalescencia de los precipitados producirá un continuo de precipitados que se tocan entre ellos. Este valor crítico está próximo al valor determinado a través de la ecuación para r/r_e .

El gráfico de las agrupaciones de dos precipitados (Pa_2) predice que, a medida que la fracción en volumen aumenta, la cantidad de agrupaciones de dos precipitados aumentan hasta un máximo, para luego disminuir

hasta desaparecer en favor de la aparición de precipitados de orden superior. Este mismo comportamiento lo tiene la función que describe el porcentaje de aglomerados de tres, cuatro, y más precipitados.

Figura 7.

Evolución del porcentaje de precipitados agrupados en función de f_v de acuerdo a las ecuaciones desarrolladas.



Simulación de la aglomeración:

Para comparar los resultados de las ecuaciones de aglomeración, se desarrolló un programa de ordenador que genera partículas al azar de diámetro homogéneo en una matriz bidimensional discreta, con posibilidad para alojar 2704 partículas. El programa está diseñado de tal manera que se pueda controlar la fracción de volumen que ocupan las partículas sobre la matriz.

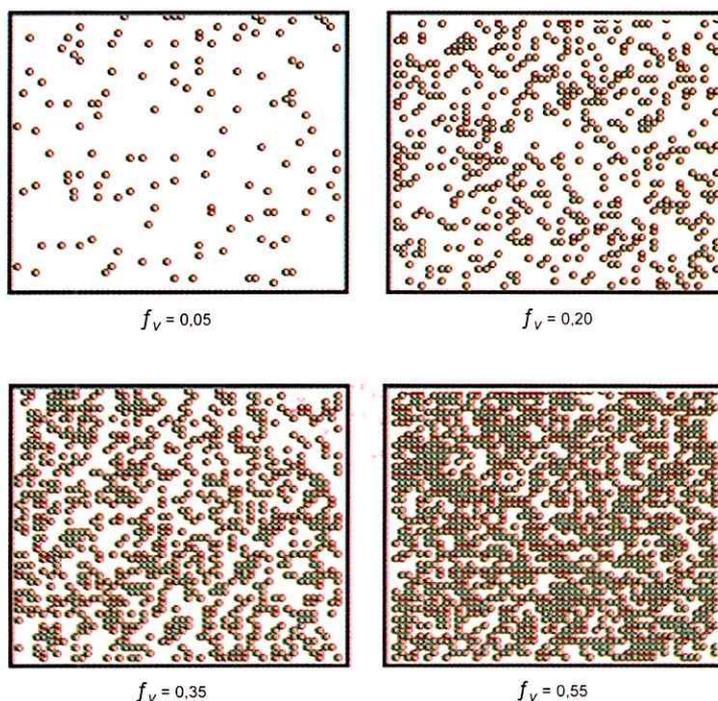
Se realizaron simulaciones que iban desde $f_v = 0,05$ hasta $f_v = 0,60$. Después de cada simulación (Figura 8) se determinó el porcentaje de partículas que estaban agrupadas en pares, tríos, cuartetos, y otros.

Los resultados promediados de los procesos de simulación se presentan en la Figura 8. En la misma se aprecia cómo el total de partículas agrupadas aumenta a medida que aumenta la fracción en volumen, hasta alcanzar el 100 % cerca de $f_v = 0,55$. Este valor es próximo al obtenido a través de la ecuación de aglomeración y al obtenido a través de determinar la

ecuación r/r_e . Hay que señalar que la concavidad de la curva de aglomeración total obtenida por simulación es diferente a la obtenida por la ecuación de aglomeración. Esto puede deberse a que las ecuaciones de aglomeración son una aproximación de primer orden y/o que en el proceso de simulación se ha utilizado una matriz discreta, y no una matriz continua.

Elst *et al.*, (1988) han estimado que, en el caso en que todos los precipitados están situados a lo largo de los límites de grano la fracción en volumen en los límites (f_{vl}) es 30 veces mayor que en la matriz, si las partículas de precipitado están localizadas preferentemente en los límites de grano entonces $f_{vl} = 4f_v$ y como es sabido en los casos en que las partículas están distribuidas en manera aleatoria $f_{vl} = f_v$. Las simulaciones realizadas para nucleación de precipitados con sitios preferenciales demuestran que el valor límite $f_v = 0,55$ puede ser menor, dependiendo de qué tan fuerte sea la probabilidad de nucleación de precipitados en los límites de granos.

Figura 8. Imágenes de simulación de precipitados nucleados en manera aleatoria para diferentes fracciones en volumen.



CONCLUSIONES

La evolución de los porcentajes de partículas de aglomerados total, pares, tríos y cuartetos, cuando las mismas se producen en manera aleatoria, pueden ser explicados a través de las ecuaciones (8), (13), (14) y (15).

El fenómeno de la aglomeración de precipitados para la fundición de hierro se puede aproximar a través de la probabilidad de aglomeración o a través de la evolución de r/r_e con la fracción en volumen. En ambos casos se predice un valor crítico de f_v próximo a 0,57. Este valor además ha sido confirmado por el proceso de simulación. Si la nucleación de los precipitados se produce al azar, la coalescencia producirá que con una fracción en volumen próxima a 57 % todas las partículas estarán en contacto entre sí.

La coalescencia de precipitados está más favorecida en los aceros con perlita esferoidal que en las fundiciones de hierro, ya que en estos aceros la estructura previa de las láminas de perlita favorecen la coalescencia de los esferoides de cementita en los límites de grano.

La aglomeración de partículas es un proceso complejo, por lo que los resultados presentados en este trabajo son una primera aproximación.

El fenómeno de coalescencia de precipitados debe afectar algunas de las propiedades de los materiales como el crecimiento de grano y sus propiedades mecánicas. Nos proponemos hacer, en el siguiente trabajo, un estudio de cómo la aglomeración de precipitados afecta el crecimiento de granos cuando éste ocurre en presencia de partículas de segunda fase.

SUMMARY

STUDY OF THE AGGLOMERATION OF PRECIPITATES

In this paper we demonstrate the agglomeration of precipitates phenomenon in the iron and steel foundry with the help of globular perlite. We present a simple model which explain how the agglomeration of carbon nodes vary with the fraction of its volume in an iron foundry; furthermore the computer simulation confirms the proposed model. Throughout this model, we have determined that a critical value exists for a fraction of volume near 0,57 from where all the carbon nodes will be touching each other. This same critical value, calculated through simulation, is in agreement with that obtained by experimental procedure.

KEYWORDS

Agglomeration of precipitates, iron and steel foundry, computer simulation , coalescence, particle size, distribution, cluster.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

ELST, R., VAN HUMBEECK, J. y DELAEY, L. 1988. Evaluation of grain growth criteria in particle-containing materials. *Acta metall.*, 36(7), 1723-1729.

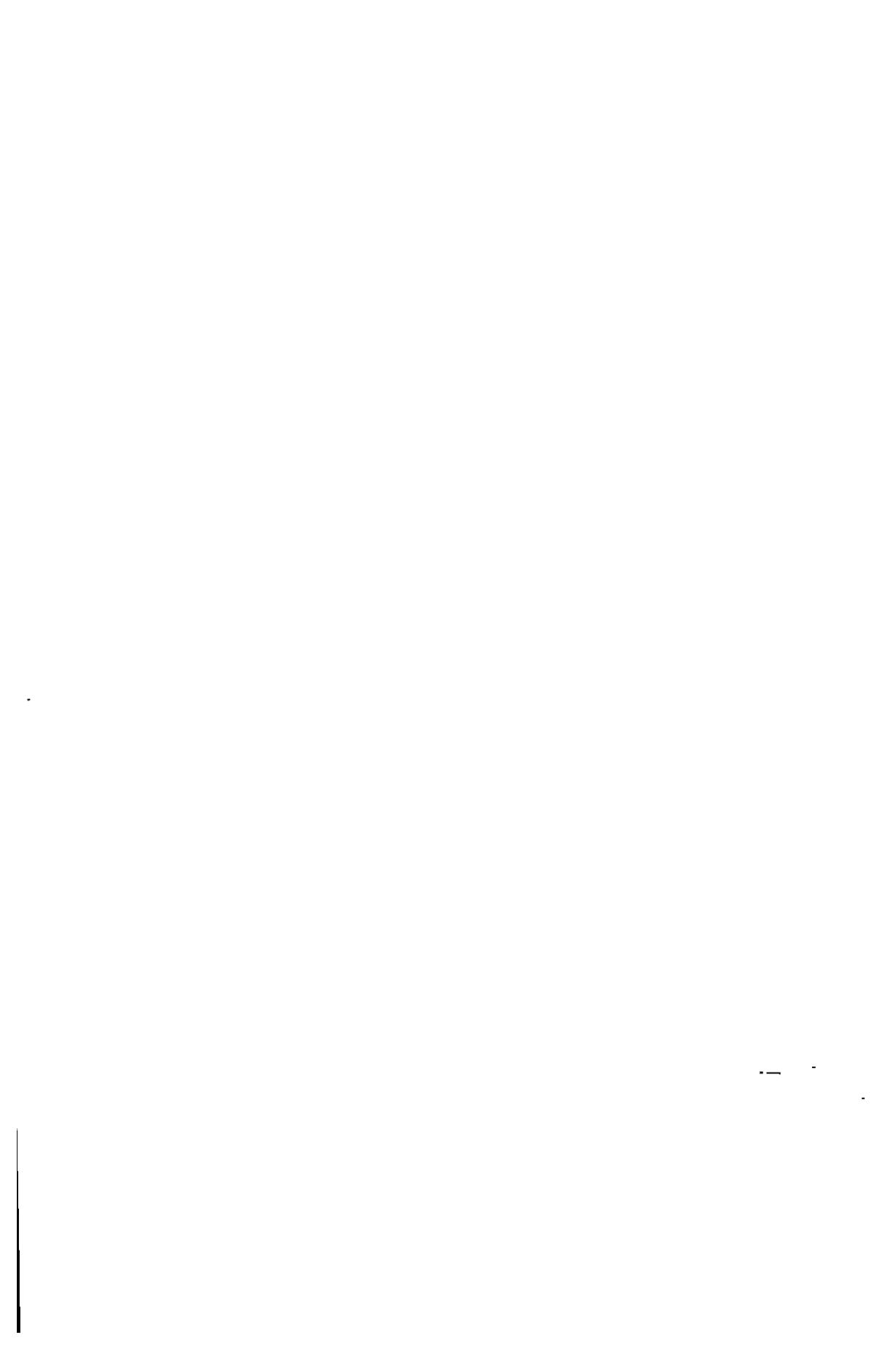
FULLMAN, R.L. 1953. Measurement of particle size in opaque bodies. *Trans AIME*, 197,1267

HASSOLD, G.N., HOLM, E.A. y SROLOVITZ, D.J. 1990. Oswald ripening in porous material: The case of arbitrary pore size distributions. *Scripta Metall. Materialia*, 24, 101-106.

RUSS, J.C. 1986. **Practical Stereology**. Nueva York: Plenum Press.

SCHMELZER, J., MOLLER, J. y SLEZOV, V.V. 1995. Grain growth. *J. Phys. Chem. Solids*, 56(8), 1013-1022.

UNDERWOOD, E.E. 1970. **Quantitative Stereology**. Londres: Addison-Wesley Publishing Co.



IBÁÑEZ D., R., A. STANLEY RAND, A. y JARAMILLO, C. A. 1999. **Los Anfibios del Monumento Natural Barro Colorado, Parque Nacional Soberanía y Áreas Adyacentes.- The amphibian of Barro Colorado Nature Monument, Soberanía National Park and Adjacent Areas.** 1ª Edición. Panamá, Editorial Mizrachi & Pujol S.A. 192 pp. Precio B/ 35,00. ISBN 9962-811-17-1.

El estudio de la exuberante flora y fauna panameña ha sido realizado, a lo largo de muchos años, por investigadores extranjeros los cuales han enriquecido nuestro conocimiento acerca de las mismas. Con el advenimiento del nuevo milenio, por otra parte, se consolida la unificación del territorio nacional bajo una sola bandera, lo que trae como consecuencia el deber de todos los panameños de proteger su más valioso acervo, su biodiversidad. Esta última responsabilidad solo puede ser adecuadamente efectuada con el concurso de la primera; esto significa que no existen políticas apropiadas de conservación sin un conocimiento pertinente del recurso.

Por recursos biológicos, sin embargo, casi siempre entendemos los componentes macroscópicos del mismo (los árboles, las grande bestias, las aves, etc.), ignorando casi por completo las criaturas pequeñas y los microorganismos. Un olvido tal es el producto de la perspectiva sensorial humana, normalmente incapaz de percibir lo inconmensurablemente grande (la biodiversidad) o lo extremadamente pequeño. En este sentido, la modestia del tamaño juega en contra de los sapos y las ranas del bosque, y si adicionamos su extremada timidez comportamental, estas pequeñas bestias se convierten en míticos gnomos del bosque, siempre presentes y siempre invisibles. Este carácter evasivo y reservado oculta el hecho de que, alguna vez en el pasado, anfibios, similares a los sapos y las ranas, fueron los reyes de la creación y alcanzaron tamaños enormes. En efecto, durante el período Carbonífero, hace 360 a 290 millones de años atrás, los vertebrados con cuatro extremidades estuvieron represen-

tados, casi con exclusividad, por los antecesores inmediatos de los modernos anfibios. El reinado de los anfibios, en comparación, fue cien veces más extenso que el del hombre. En la actualidad, su número y diversidad es enorme comprendiendo no menos de 2000 especies, que se han adaptado a todos los medios imaginables y han desarrollado las estrategias reproductivas y fisiológicas más espectaculares del grupo de los vertebrados.

No es de extrañar, entonces, la enorme alarma que ha provocado, en los últimos años, la disminución de las poblaciones de anfibios. El hecho de que tal disminución sea de carácter global hace más alarmante tal desaparición. La misma sugiere que diferentes factores en forma individual o colectiva están contribuyendo a provocar tal catástrofe. En este marco, el volumen, que hoy reseñamos, es de vital importancia. El libro de Ibáñez y colaboradores, aunque se centra en la descripción de las características y aspectos más sobresalientes de la biología de las especies de anfibios que habitan en el Monumento Natural de Barro Colorado y áreas aledañas, tiene un enorme valor pues permite al lector, especializado o no, familiarizarse con un grupo faunístico, que según la opinión de los entendidos, es signo y síntoma del estado general de la calidad del medio ambiente en el cual vivimos. El papel que ocupan estos graciosos animales en las complejas cadenas alimenticias de los diferentes ecosistemas donde habitan, les confiere una enorme importancia en el establecimiento de cualquier política de conservación biológica. El volumen, que reseñamos, está profusamente ilustrado con magníficas fotografías que facilitan la identificación de las diferentes especies e incluye un disco compacto (CD) con los llamados de anuncio de 52 especies de anfibios.

Un volumen como éste, por tratarse de una edición bilingüe (español e inglés), se torna asequible a nacionales y extraños y no debe faltar en la biblioteca de cualquier panameño interesado en la biología y conservación de la fauna nacional.

C. A. Villarreal.
Director de Scientia.

RESEÑA DE LIBROS

Atendiendo un acuerdo de su Consejo Editorial, la Revista Scientia incluye una sección dedicada a la reseña de libros que contengan información novedosa y que representen una contribución significativa en su respectiva área de conocimiento. En la sección podrán incluirse por su especial relevancia, libros y textos, informes de investigación, artículos científicos y proyectos cuya metodología y desarrollo conceptual sean de interés para la comunidad científica. Es recomendable que el texto que se reseña—salvo que se trate de una obra clásica o de edición de singular mérito— sea de edición reciente. Igualmente, se espera que el texto esté disponible localmente o que pueda encargarse del exterior.

Para efectos del registro bibliográfico que encabeza la reseña, se recomienda utilizar la siguiente forma:

- Revistas:

LOMBARDO, M.A. 1999. Ausentismo factorial versus ausentismo causal. *Societas. Rev. Cienc. Soc. Humaníst., Panamá*. 1(1), 7-30. ISSN1560-0408.

-Libros:

IBÁÑEZ D., R., STANLEY RAND, A. y JARAMILLO, C.A. 1999. *Los anfibios del Monumento Natural Barro Colorado, Parque*

Nacional Soberanía y áreas adyacentes. 1° Edición, Panamá. Editorial Mizrachi & Pujol. 192 pp. Precio B/ 35.00. ISBN 9962-811-17-1.

SMITH, C.A. y WOOD, E.J. 1997. *Biología Celular*. 1° Edición española. Wilmington, Addison-Wesley Iberoamericana, S.A. 367 pp. Precio B/ 15.00. ISBN 0-201-65379-6.

En relación a la extensión que debe tener una reseña, lo ideal es que la misma sea concisa pero suficiente para motivar al futuro lector. Se espera que una reseña no sea superior a una 200 palabras aunque, en algunos casos, la extensión y profundidad del texto que se reseña puedan exigir un número mayor de palabras.

Como norma, es deseable que una reseña contenga los siguientes elementos: Registro bibliográfico, objetivos del texto, contenidos esenciales, importancia científica y/o metodológica, relación con otros desarrollos científicos, conclusiones, nombre del reseñador y procedencia académica.

Para efectos de su publicación en alguna de las dos ediciones anuales de Scientia (junio y diciembre), la reseña bibliográfica debe dirigirse con un mes de anticipación a: Director de Scientia, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad de Panamá, Estafeta Universitaria, Panamá, República de Panamá.

— .
Este libro se terminó de imprimir en los
Talleres de la Imprenta de la Universidad de Panamá
bajo la administración del Dr. Gustavo García de Paredes,
2,000

ÍNDICE

BIOLOGÍA

- ADAMES, A.J. y GALINDO, P.
Clave genérica para la identificación de las hembras de mosquitos de Panamá, (*Diptera*, *Culicidae*)..... 9
- PACHECO TACK, R.L. y RODRÍGUEZ, C.C.
Contribución al conocimiento de la biología pesquera del pargo rojo (*Lutjanus peru*) del Pacífico de Panamá..... 17
- BARRIOS, H. y MEDIANERO, E.
Riquezas de insectos formadores de agallas en nueve zonas de vida en la República de Panamá..... 39
- LUNA, I.G., ESPINO, A., PINILLA, M. y TUÑÓN, R.
Tolerancia a la salinidad y efectos sobre el consumo de oxígeno de tres especies de erizos de mar de género *Echinometra*: *E. lucunter* y *E. viridis* de la Costa Atlántica y *E. vanbrunti* de la Costa del Pacífico panameño..... 59

VIROLOGÍA

- DUPUY, O.A. Y BONILLA, J.A.
Incremento de la proliferación *in vitro* de linfocitos bovinos natural y experimentalmente infectados con virus de inmunodeficiencia bovina (BIV)..... 77

CIENCIAS DEL MAR

- FUENTES H., M.V.
Metales trazas en los sedimentos superficiales de la Laguna de Chacopata, Estado de Sucre, Venezuela..... 97

FÍSICA

- FLORES, E., CABRERA, J.M. y PRADO, J.M.
Estudios de la aglomeración de precipitados..... 117

RESEÑA DE LIBROS

- Reseña del libro de Ibáñez *et al.*..... 133

