



ARTÍCULO ORIGINAL

Eficiencia del método de agua azucarada para evaluar la disponibilidad de la meiofauna en lodazales estuarinos utilizados por aves limícolas (Aves: Charadrii) en Cuba

Efficiency of the sugarwater method to assess meiofauna availability in estuarine swamps used by shorebirds (Aves: Charadrii) in Cuba

Alieny González^{1*}, Ariam Jiménez¹ y Yeny Labaut²

¹ Dpto. Biología Animal y Humana
Facultad de Biología
Universidad de La Habana
² Centro de Estudios Ambientales
de Cienfuegos, Cuba

* Autor para correspondencia:
aglez@fbio.uh.cu

RESUMEN

Los meioinvertebrados son presas de las aves limícolas del género *Calidris*. Sin embargo, la evaluación de su disponibilidad es engorrosa debido a su tamaño. En este trabajo se evalúa la eficiencia de extracción de la meiofauna mediante el uso de una solución azucarada de alta densidad (1,2 kg/L). Se colectaron 18 muestras de sedimento en áreas estuarinas de Río Máximo y Tunas de Zaza. En cada muestra se cuantificó el número de meioinvertebrados (tanto en el sobrenadante como en el sedimento) y se calculó la eficiencia de extracción ($100 \cdot [\text{número de organismos en el sobrenadante} / \text{número total de organismos (sobrenadante + sedimento)}]$). Fueron identificados un total de siete grupos taxonómicos. De ellos, los de mayor abundancia fueron Copepoda, Foraminifera y Nematoda. El análisis de varianza bifactorial reveló que las variables área de estudio, volumen de extracción y su interacción, no influyeron sobre la eficiencia de extracción de la meiofauna. La eficiencia de extracción fue alta para los organismos sin cubierta calcárea (ej., Copepoda: $95 \pm 5 \%$, Nematoda: $93 \pm 10 \%$) y baja para aquellos con cubierta calcárea (ej., Foraminifera: $11 \pm 16 \%$). Aunque el método subestima la abundancia de la meiofauna como un todo, resulta eficiente para la evaluación de la abundancia de copépodos, el principal recurso de la meiofauna descrito en la dieta de las aves limícolas.

PALABRAS CLAVES: lodegales estuarinos, limícolas, eficiencia de extracción

ABSTRACT

The invertebrates of the meiofauna are prey for calidridinae sandpipers. However, the assessment of meiofauna availability is tiresome due to the small size of the invertebrates. We assess the efficiency of meiofauna extraction using a high density sugared solution (1.2 kg/L). Eighteen samples were collected at estuarine areas of Río Máximo and Tunas de Zaza. In each sam-

Recibido: 2013-04-12

Aceptado: 2013-09-19

ple the number of meioinvertebrates (in the supernatant and the silt) was quantified and the extraction efficiency was calculated ($100 * [\text{number of organisms in the supernatant} / \text{total number of organisms (supernatant + sediment)}]$). Seven taxonomic groups were identified. Copepoda, Foraminifera and Nematoda were the most abundant. The two-way analysis of variance didn't show influence of study area, extraction volume and its interaction on the extraction efficiency for meiofauna. The extraction efficiency was high for organisms without calcareous shell (eg., Copepoda: $95 \pm 5 \%$, Nematoda: $93 \pm 10 \%$), and low for organisms with calcareous shell (eg., Foraminifera: $11 \pm 16 \%$). Although the method underestimates the abundance of overall meiofauna, it is efficient for the assessment of copepods, which is the main meiofauna resource used by shorebirds.

KEYWORDS: *intertidal mudflats, shorebirds, extraction efficiency*

INTRODUCCIÓN

La marcada plasticidad trófica de las aves limícolas (Skagen y Oman 1996) les facilita el uso de una gran diversidad de hábitat a lo largo de su ciclo anual (Davis y Smith 2001). Tradicionalmente, los estudios de dieta en aves limícolas solo consideraban una fracción de invertebrados bentónicos, comúnmente clasificada como macrofauna (invertebrados $\geq 500 \mu\text{m}$; Baker 1977, Baldassare y Fischer 1984, Skagen y Oman 1996). Sin embargo, actualmente se reconoce que estas aves pueden consumir invertebrados mucho menores, clasificados como meiofauna pues su talla se encuentra entre 63 y $500 \mu\text{m}$ (Sutherland *et al.* 2000, Wolf 2001). Sutherland *et al.* (2000) demostró experimentalmente que *Calidris mauri* es capaz de reducir la abundancia de esta fracción de invertebrados en lodazales estuarinos de Roberts Bank, Columbia Británica. De igual forma, varios estudios de dieta de aves limícolas han identificado la presencia de copépodos, foraminíferos y nemátodos en deyecciones (Wolf 2001) y contenidos estomacales (Senner *et al.* 1989, Ramer *et al.* 1991, Mathot *et al.* 2010).

La identificación y cuantificación de la meiofauna resulta extremadamente engorrosa, máxime cuando se trabaja en sitios donde un contenido elevado del sedimento es fino (Heip *et al.* 1974, de Jonge y Bowman 1977). Para facilitar la observación de estos pequeños invertebrados bajo el estereó se han recomendado técnicas de decantación y/o separación isopícnica que facilitan la extracción de la meiofauna (Pfannkuche y Thiel 1988, Burgess 2001). Las técnicas isopínicas han mostrado ser útiles para separar muchos tipos de especímenes biológicos (Iler 1979). Las principales desventajas del método se encuentran en

el costo de algunas de las soluciones usadas (ej. Ludox) y la carencia de un protocolo estandarizado entre diferentes laboratorios (Armenteros *et al.* 2008, Escobar-Briones *et al.* 2008).

El uso de una solución de glucosa altamente saturada constituye una de las técnicas más económicas y eficientes para realizar la separación de la meiofauna de los granos de sedimento (Esteves y Da Silva 1998, Armenteros *et al.* 2008). Específicamente, en Cuba se ha validado la técnica para la extracción de meiofauna en sedimentos marinos (Armenteros *et al.* 2008). Sin embargo, no se conoce si la técnica es igualmente efectiva para la meiofauna que habita en lodazales estuarinos con alto contenido de sedimento fino, los cuales son comúnmente utilizados por las aves limícolas durante la migración. Este estudio persigue evaluar la eficiencia del uso de una solución azucarada de alta densidad para la extracción de invertebrados de la meiofauna disponible para aves limícolas en dos estuarios de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras se colectaron en octubre del 2008 en dos lodazales estuarinos de la región central de Cuba: Río Máximo ($21^{\circ}44'03,2''\text{N } 67^{\circ}31'17,9''\text{O}$) y Tunas de Zaza ($21^{\circ}38'34,4''\text{N } 79^{\circ}32'48,1''\text{O}$). La primera localidad se encuentra en la costa **NE** de la provincia de Camagüey y la segunda en la costa **S** de la provincia de Sancti Spiritus. Ambos sitios son áreas protegidas bajo la categoría de Refugio de Fauna (CNAP 2009) y son utilizados por miles de aves limícolas durante la migración (Aguilar 2010). Las áreas de estudios muestran una proporción similar de lodo en el sedimento (Río Máximo: $72,1 \pm 22,3 \%$, Tunas de Zaza: $84,0 \pm 8,3$

%), pero difieren en los valores de salinidad en el agua intersticial (Río Máximo: $17,5 \pm 11,6$ ‰, Tunas de Zaza: $45,9 \pm 3,5$ ‰) (González 2011).

Las muestras de sedimento se tomaron en el área donde las aves limícolas se concentraron para alimentarse. Estos sitios se caracterizaron por ubicarse en la franja sometida a cambios periódicos de inundación y desecación y por presentar un alto contenido de sedimento fino (i.e. 74 - 97 % González 2011). Las muestras se obtuvieron utilizando una jeringuilla (60 CC) de 26 mm de diámetro interno. La jeringuilla fue modificada para garantizar la inserción en el sedimento (extremo apical cortado y bordes afilados) y las muestras fueron obtenidas a una profundidad de 10 mm. Esta profundidad constituye el estrato más accesible para las aves del género *Calidris* más abundantes y comunes en Cuba (*C. minutilla*, *C. pusilla* y *C. mauri*). Se tomó nueve muestras por localidad para un total de 18 muestras. Cada muestra se almacenó en bolsas herméticas previamente marcadas según el sitio de colecta. Las muestras se transportaron en una nevera con hielo y fueron congeladas en un periodo menor de 12 horas después de su colecta. En el laboratorio cada muestra fue filtrada a través de dos tamices, uno de 500 μm y otro de 63 μm . El sedimento retenido en el tamiz de 63 μm se consideró que contenía la meiofauna y fue el objeto de estudio en este trabajo.

La solución de agua azucarada utilizada para la extracción de la meiofauna del sedimento fue de 950 g de azúcar (morena) en 1200 mL de agua (1,2 kg/L). Dentro del diseño se incluyó el efecto de tres volúmenes diferentes de solución (150, 200 y 250 mL) con el fin de evaluar cuál podría ser más efectivo en la extracción. El sedimento retenido en el tamiz de 63 μm fue vertido en una probeta de 500 ml con ayuda de un frasco lavador y agua filtrada. El agua en la probeta fue eliminada cuidadosamente y se le añadió a esta uno de los tres volúmenes experimentales de solución azucarada. El contenido de la probeta fue agitado con 40 semi-vueltas y después de 20 min de reposo se filtró el sobrenadante por el tamiz de 63 μm . El sedimento en la probeta fue sometido otras dos veces al mismo proceso. El sedimento filtrado después de las tres decantaciones fue vertido en una placa petri y la meiofauna que no fue extraída en la solución fue identificada y cuantificada bajo un estereomicroscopio (LeicaWild M8 50x).

El número total de meiofauna en una muestra fue calculado a través de la suma del número de individuos contados en el sobrenadante y en el sedimento. Los valores de abundancia se ofrecen como individuos por muestra (\pm desviación estándar, DE) en cada localidad. La eficiencia de extracción representa el porcentaje de individuos extraídos en las decantaciones con respecto al total de meiofauna en la muestra y están expresados en el trabajo como eficiencia media \pm desviación estándar. Los datos de eficiencia, una vez transformados con arcoseno $x^{1/2}$, cumplieron con las premisas de normalidad (prueba Kolmogorov-Smirnov, $P > 0,20$) y homogeneidad de varianza (prueba Levene, $F_{2,15} = 0,15$; $P = 0,859$). Para evaluar el posible efecto de la localidad de estudio y el volumen de extracción sobre la eficiencia de extracción de la meiofauna se realizó un análisis de varianza bifactorial. La eficiencia de extracción también fue evaluada para dos categorías de la meiofauna, organismos con cubierta calcárea (Ostracoda y Foraminifera) y sin cubierta calcárea (Copepoda, Nematoda, Tanaidacea, Diptera y Oligochaeta). Los valores medios entre ambos grupos fueron comparados con una prueba t de Student. Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas con el programa STATISTICA 6.1 (StatSoft 2003).

RESULTADOS

Fueron identificados siete grupos taxonómicos de meioinvertebrados, seis en cada localidad (Tabla I). De ellos, Copepoda fue el de mayor abundancia tanto en Río Máximo como en Tunas de Zaza. Sin embargo, el segundo grupo en importancia varió entre localidades. En Río Máximo fue Foraminifera, mientras que en Tunas de Zaza fue Nematoda. Estos tres grupos de organismos constituyeron 96 % y 97 % del total de meiofauna en Río Máximo y Tunas de Zaza, respectivamente. Los grupos de menor abundancia fueron Diptera (en estado de huevos), Oligochaeta y Tanaidacea (Tabla I).

La eficiencia del método de extracción de la meiofauna utilizando una solución saturada de agua azucarada no mostró variaciones significativas por localidad (Río Máximo: 63 ± 15 % y Tunas de Zaza: 73 ± 31 %; $F_{1,12} = 1,28$; $P = 0,279$), volumen de extracción (150 mL: 79 ± 20 %; 200 mL: 57 ± 27 % y 250 mL: 67 ± 24 %; $F_{2,12} = 1,36$; $P = 0,294$), ni la interacción entre estas variables ($F_{2,12} = 0,80$; $P = 0,473$). Dado este resultado, el resto de los análisis se realizaron sin considerar las variables localidad y volumen de extracción.

Tabla I. Abundancia relativa (densidad; ind./muestra) de los grupos de la meiofauna identificados en el sedimento de dos lodazales estuarinos cubanos (Río Máximo y Tunas de Zaza). Se ofrecen valores promedio, desviación estándar (DE), mínimo y máximo.

Table I. Relative abundance (density; ind./sample) of meiofauna groups occurring in two Cuban intertidal mudflats (Río Máximo y Tunas de Zaza). Values are mean, standard deviation and minima and maxima.

Meiofauna	Río Máximo			Tunas de Zaza		
	Media ± DE	Mín.	Máx.	Media ± DE	Mín.	Máx.
Foraminifera	256,2 ± 205,6	32	681	20,4 ± 24,2	1	76
Nematoda	1,3 ± 2,1	0	6	81,7 ± 110,2	3	346
Oligochaeta	6,6 ± 11,4	0	30	-	-	-
Ostracoda	2,6 ± 3,0	0	8	10,7 ± 11,5	0	29
Copepoda	455,3 ± 323,8	26	1065	374,6 ± 446,9	12	1341
Tanaidacea	-	-	-	5,6 ± 8,1	0	20
Diptera (huevos)	9,6 ± 11,0	1	30	1,1 ± 0,9	0	3

Al analizar la eficiencia de extracción por grupos de meioinvertebrados se encontraron valores elevados para los organismos sin cubierta calcárea ($94 \pm 5\%$). En cambio, la eficiencia de extracción fue baja para aquellos meioinvertebrados con cubierta calcárea ($13 \pm 16\%$). Las diferencias entre ambas categorías fueron estadísticamente significativas (prueba t de Student; $t_{34} = 18,8$; $P < 0,001$). El análisis de la eficiencia de extracción para los tres taxa de mayor abundancia fue congruente con el resultado anterior (Fig. 1). La eficiencia de extracción para los nemátodos y copépodos fue aproximadamente 8 veces superior a la de foraminíferos.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que la eficiencia de extracción de la solución azucarada fue mayor en los grupos taxonómicos que no presentan cubierta calcárea, los cuales a su vez constituyen uno de los artículos más comunes en la dieta de las aves de orilla (Skagen y Oman 1996, Sutherland *et al.* 2000). La presencia de cubierta en ostrácodos y foraminíferos los hace más pesados y trae como consecuencia que la mayoría de estos organismos vuelvan al fondo de la probeta con rapidez. En otras investigaciones, donde se han utilizado otras técnicas para separar la meiofauna del sedimento, igualmente se han encontrado los valores más bajos de eficiencia de extracción para los grupos taxonómicos con cubierta calcárea, específicamente Foraminifera (Burgess 2001).

Los altos valores de eficiencia de extracción para organismos sin cubierta calcárea, en especial copépodos, hacen de este método una técnica apropiada para evaluar su disponibilidad ante las aves de orilla.

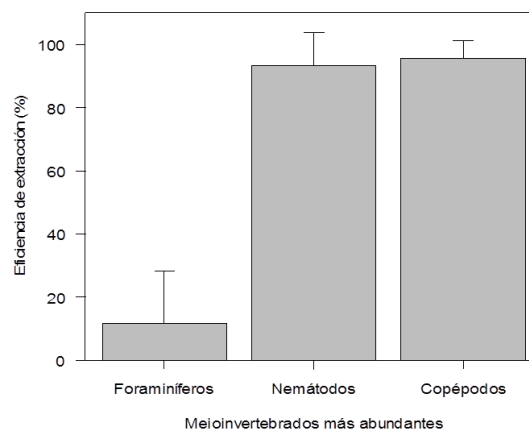


Figura 1. Porcentaje de foraminíferos, nemátodos y copépodos extraídos de una muestra de sedimento a través del método del agua azucarada. Las muestras provienen de lodazales estuarinos ubicados en las áreas de Río Máximo ($N = 9$) y Tunas de Zaza ($N = 9$). La figura representa valores promedio de eficiencia de extracción (barras) y su desviación estándar (segmento).

Figure 2. Percentage of foraminiferans, nematodes and copepods extracted from a sediment sample using a sugared solution. Samples were obtained in estuarine mudflats at Río Máximo ($N = 9$) and Tunas de Zaza ($N = 9$). The figure shows means (bars) and standard deviation (whiskers) of extraction efficiency.

Este resultado es de especial significación metodológica si se tiene en cuenta que los escasos estudios de disponibilidad de recursos tróficos para aves limícolas no refieren explícitamente la eficiencia de extracción de la meiofauna (ej. Sutherland *et al.* 2000). La eficiencia de extracción obtenida para los copépodos en este estudio fue comparativamente mayor a la documentada por Armenteros *et al.* (2008) en ambientes marinos ($61,8 \pm 17,1\%$; \pm ES). Lo anterior

destaca que el método es capaz de ofrecer una alta eficiencia en otro tipo de ambientes como los lodazales intermareales estuarinos con alto contenido de sedimento fino (lodo).

Aunque la técnica consume gran cantidad de tiempo (aproximadamente una hora por muestra) tiene la ventaja de propiciar la eliminación de una considerable cantidad de sedimento que de otra forma obstaculizaría la observación y conteo de pequeños invertebrados. Desde un punto de vista comparativo, puede afirmarse que el proceso de decantación y revisión del sobrenadante tomó mucho menos tiempo (1,5 - 2 h) que la búsqueda exhaustiva de invertebrados en el sedimento (> 3 h). La eficiencia de la técnica puede mejorarse experimentando con la reducción del tiempo de espera después de cada agitación (20 min) y analizando la eficiencia de extracción de cada paso de decantación (Armenteros *et al.* 2008). El hecho de que no se hayan detectado diferencias en la eficiencia de extracción entre los volúmenes utilizados indica que cualquiera de ellos puede ser empleado con similares resultados. Sin embargo, se recomienda el volumen de 200 ml al ser el mejor compromiso entre eficiencia y costo de preparación.

En resumen, se recomienda el uso de una solución azucarada de alta densidad para evaluar la disponibilidad invertebrados de la meiofauna carentes de cubierta calcárea. Si bien el método subestima la abundancia total de recursos de la meiofauna, resulta muy eficiente para la correcta estimación de los copépodos, el principal recurso de la meiofauna utilizado por aves limícolas (Sutherland *et al.* 2000).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible gracias al apoyo del personal de las dos áreas protegidas involucradas, en especial José Morales (Fefo), Loidy Vázquez, Luis Mane y Alberto Rodríguez. Agradecemos la colaboración de Ianela García-Lau y Ever Esquivel en la colecta de las muestras. Maickel Armenteros brindó asesoramiento en el protocolo de procesamiento de las muestras y en una primera revisión del documento. Agradecemos también a Elier Fonseca quien contribuyó en la identificación de los meioinvertebrados y a los revisores anónimos cuyos comentarios y sugerencias contribuyeron a elevar la calidad del manuscrito. El trabajo se realizó con el apoyo de proyectos internacionales financiados por Whitley Fund for Nature y Centre for

Wildlife Ecology de la Universidad Simon Fraser, Columbia Británica.

LITERATURA CITADA

- Aguilar, S. (2010): *Áreas importantes para la conservación de las aves en Cuba*. Editorial Academia, 136 pp.
- Armenteros, M.; J. A. Pérez-García; A. Pérez-Angulo y J. P. Williams (2008): Efficiency of extraction of meiofauna from sandy and muddy marine sediment. *Revista Investigaciones Marinas* 29 (2): 113-118.
- Baker, M. C. (1977): Shorebird food habits in the eastern Canadian arctic. *Condor* 79: 56-62.
- Baldassare, G. A. y D. H. Fischer (1984): Food habits of fall migrant shorebirds on the Texas high plains. *Journal Field Ornithology* 55 (2): 220-229.
- Burgess, R. (2001): An improved protocol for separating meiofauna from sediments using colloidal silica sols. *Marine Ecology Progress Series* 214: 161-165.
- CNAP (Centro Nacional de áreas protegidas) (2009): *Áreas importantes para la conservación de las aves en Cuba*. Aguilar, S (Ed.). 136 pp.
- Davis, C. A. y L. M. Smith (2001): Foraging strategies and niche dynamics of coexisting shorebirds at stopover sites in the southern Great Plains. *Auk* 118(2): 484-495.
- de Jonge, V. N y L. A. Bouwman (1977): A simple density separation technique for quantitative isolation of meio-benthos using the colloidal silica Ludox-TM. *Marine Biology* 42: 143-148.
- Eleftheriou, A. y D. C. Moore (2005): Macrofauna Techniques. En: Eleftheriou, A. y A. McIntyre (Eds.) *Methods for study of marine benthos*. 3th editions. Blackwell Science Ltd 409 pp.
- Escobar-Briones, E. G., C. Díaz y P. Legendre (2008): Meiofaunal community structure of deep-sea Gulf of Mexico: Variability due to the sorting methods. *Deep-Sea Research II* 55: 2627-2633.
- Esteves, A. M. y V. M. A. P. Da Silva (1998): The behaviour of sugar flotation technique in meiofauna extraction from different sand types. *Tropical Ecology* 39: 283-284.
- González, A. (2011). Alimentación y uso del hábitat de *Calidris minutilla*, *Calidris pusilla* y *Calidris mauri* (Aves: Scolopacidae) en dos humedales naturales de Cuba. *Tesis en opción al grado de Máster en Zoología y Ecología Animal*. Universidad de La Habana, La Habana, Cuba, 78 pp.
- Heip, C., N. Smol y W. Hautekiet (1974): A rapid method of extracting meiobenthic Nematodes and Copepods from mud and detritus. *Marine Biology* 28: 79-81.
- Iler, R. (1979): *The chemistry of silica, solubility, polymeriza-*

- tion, colloid and surface properties and biochemistry.* Wiley-Interscience Publication, NY.
- Mathot, K. J.; D. R. Lund y R. W. Elner (2010): Sediment in stomach contents of Western Sandpipers and Dunlin provide evidence of biofilm feeding. *Waterbirds* 33(3): 300-306.
- Pfannkuche, O. y H. Thiel (1988): Sample processing. En: R. P. Higgins y H. Thiel (Eds.). *Introduction to the study of meiofauna.* Smithsonian Institution Press, London, 488 pp.
- Ramer, B. A., G. W. Page y M. M. Yoklavich (1991): Seasonal abundance, habitat use, and diet of shorebirds in Elkhorn Slough, California. *Western Birds* 22: 157-174.
- Senner, S. E., D. W. Norton y G. C. West (1989): Feeding ecology of Western Sandpipers, *Calidris mauri*, and Dunlins, *C. alpina*, during spring migration at Hartney Bay, Alaska. *Canadian Field Naturalist* 103: 372-379.
- Skagen, S. K. y H. D. Oman. (1996). Dietary flexibility of shorebirds in the western hemisphere. *Canadian Field-Naturalist* 110 (3): 419-444.
- Somerfield, P. J; R. M. Warwick y T. Moense. (2005). Meiofauna Techniques. En: Eleftheriou, A. y A. McIntyre (Eds). *Methods for study of marine benthos.* 3th editions. Blackwell Science Ltd 409 pp.
- StatSoft, Inc. (2003). STATISTICA, analysis software system, version 6.1. <http://www.statsoft.com>.
- Sutherland, T. F.; P. C. F. Sphepherd y R. W. Elner (2000): Predation on meiofaunal and macrofaunal invertebrates by Western Sandpipers (*Calidris mauri*): evidence for dual foraging modes. *Marine Biology* 137: 983-993.
- Wolf, N. (2001): Foraging ecology and stopover site selection of migrating Western Sandpipers (*Calidris mauri*). *M.Sc. thesis*, Simon Fraser University, Burnaby.



Editor para correspondencia: Dr. Alejandro Barro