

e-ISSN 2477 - 9148

**REVISTA ECUATORIANA
DE MEDICINA Y
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

REMCB

VOLUMEN XLI - Nº 1 - MAYO 2020

Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas
Volumen XLI Número 1 - Mayo - 2020
e-ISSN 2477 - 9148

Centro de Publicaciones de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador
Dir: Av. 12 de Octubre 1076 y Roca, Quito, Ecuador

Diseño y diagramación:



Fotografía de portada: Foto Belén Arteaga: Larva juvenil J2 de *Globodera pallida*
Globodera pallida es un nematodo endoparásito sedentario de plantas de la familia Solanaceae. Se caracteriza principalmente por formar quistes que atraviesan la raíz, englobando a más de 400 huevos. Las larvas en segundo estadio (J2) eclosionan en presencia de una planta huésped, e invaden una nueva raíz. Fotografía tomada mediante microscopio invertido Olympus CKX41.

REVISTA ECUATORIANA DE MEDICINA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS REMCB

DIRECTORIO

Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Rector: Dr. Fernando Ponce León S.J.

Sociedad Ecuatoriana de Biología

Presidente: Lic. Ricardo Zambrano

Casa de la Cultura Ecuatoriana Benjamín Carrión

Presidente: Sr. Camilo Restrepo Guzmán

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Doris Vela Peralta (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador)

Dr. Rommel Montúfar Galárraga (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador)

Dra. Catalina Quintana (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador)

CONSEJO CIENTÍFICO

Dr. Hugo Romero-Saltos (Universidad Yachay Tech, Ecuador)

Dr. Enrique Terán (Universidad San Francisco de Quito, Ecuador)

Dr. Oliver Dangles (Institut de Recherche pour le Développement, Francia)

Dr. Santiago Espinosa (Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México)

La Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas (REMCB) es un órgano de difusión científica auspiciada por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), la Casa de la Cultura Ecuatoriana Benjamín Carrión (CCE), y la Sociedad Ecuatoriana de Biología (SEB).

La REMCB publica trabajos originales fruto de la investigación científica y experimental en todas las áreas de la Medicina y las Ciencias Biológicas y está dirigida a los científicos nacionales e internacionales así como a estudiantes de las Ciencias de la Vida.

La REMCB se encuentra incluida en el Latindex, la versión impresa (p-ISSN 2477-9113) se publica a través del Centro de Publicaciones de la PUCE y la versión electrónica (e-ISSN 2477-9148) se difunde en la página web www.remcdb.com. La REMCB mantiene un sistema de revisión por pares, su publicación es semestral, su contenido es de libre acceso y se distribuye bajo una licencia *Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional License*. El contenido de los artículos científicos y de las publicaciones que aparecen en la revista son responsabilidad exclusiva de sus autores

CONTENIDO

EDITORIAL	7
OBITUARIO DR. OSCAR PÉREZ	9
ARTÍCULOS DE REVISIÓN	
Sexualidad en personas con enfermedades mentales en Ecuador: una revisión de la literatura	13
Juan Ocampo y Juan Ashby	
Análisis del potencial genotóxico y carcinógeno asociado a los cigarrillos electrónicos	25
Isaac Armendáriz-Castillo, Santiago Guerrero, Antonella Vera-Guapi, Tiffany Cevallos-Vilatuña, Jennyfer M. García-Cárdenas, Patricia Guevara-Ramírez, Andrés López-Cortés, Andy Pérez-Villa, Verónica Yumiceba, Ana K. Zambrano1, Paola E. Leone, César Paz-y-Miño.	
Biological control of slugs with the rhabditid nematode <i>Phasmarhabditis hermaphrodita</i>	35
Aníbal F. Córdor Golec	
ARTÍCULOS CIENTÍFICOS	
Determinación del potencial nematocida y nematostático <i>in vitro</i> de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fr.) sobre larvas J2 de <i>Globodera pallida</i> (Stone)	45
María Belén Arteaga, Carlos A. Soria y María Eugenia Ordoñez	
<i>Stegana penicillata</i> (Kertész, 1901) (Diptera, Drosophilidae) collected at the Panguana Biological Field Station in the Huánuco Region of Peru	51
Gerhard Bächli and Carlos R. Vilela	
Análisis comparativo del estado ecológico de la vegetación acuática en dos humedales altoandinos del volcán Antisana	59
Maria Gracia Portilla y Esteban Terneus	
Actividad bactericida del agua de plata coloidal sobre indicadores de calidad microbiológica: un estudio a partir de muestras ambientales	75
Puente-Balda M.I, Gudiño M.E, Granda-Moreno E.	

EDITORIAL

Estimados lectores,

La pandemia del SARS- COVID19 ha cambiado las reglas de juego de nuestro mundo. Hoy en día hay millones de infectados y más de cuatrocientos mil fallecidos. Vivimos un confinamiento nunca antes reportado en los tiempos modernos, con una economía en crisis, al borde de la recesión global y con millones de seres humanos enfrentando dificultades sin precedentes. Las consecuencias de la pandemia serán agudas y a largo plazo, pero las sociedades humanas demostrarán sus capacidades de resiliencia y volverán, tarde o temprano, a sanar sus heridas post traumáticas. En este nuevo escenario, la investigación científica debe prepararse para un mundo post COVID, lo que involucra adaptarse a las nuevas realidades sociales, económicas, políticas; pero sobre todo a reflexionar sobre su imperativo social, sus prioridades y paradigmas. Como consecuencia, la investigación básica, muchas veces cuestionada en las políticas públicas, emerge más fuerte, más respetada, mejor coordinada, porque de ella dependemos para asegurar nuestra existencia como especie.

La REMCB ha unido esfuerzos para editar el número 41 durante la emergencia sanitaria por el coronavirus. En este nuevo número se abordan temas importantes para la salud pública como un análisis del potencial genotóxico y carcinógeno de los cigarrillos electrónicos, la exploración de nuevas fuentes de bactericidas derivadas de agua de plata, nuevos nematocidas para el control de plagas en cultivos de papa, la sexualidad en personas con enfermedades mentales y una revisión bibliográfica para el control biológico en gasterópodos. Adicionalmente, en este número se reporta la ocurrencia excepcional de una especie de díptera en Perú y un estudio comparativo de la vegetación acuática en el volcán Antisana en Ecuador.

Editores REMCB

OBITUARIO DR. OSCAR PÉREZ

OBITUARIO EN HONOR A NUESTRO COLEGA ÓSCAR PÉREZ POR SUS CONTRIBUCIONES CIENTÍFICAS A LA BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y A LA DOCENCIA DE ESTA MATERIA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

En el año 2002, Óscar Damián Pérez Vaca obtuvo su grado de Licenciado en Ciencias Biológicas en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, con la tesis Expresión de las proteínas asociadas a la lámina nuclear 2 (LAP2) y Lamin B en anfibios ecuatorianos (Anura, Urodela y Gymnophiona), bajo la dirección de la Dra. Eugenia del Pino. Durante sus estudios de pregrado, Óscar contribuyó a la publicación de dos artículos científicos relacionados al establecimiento de las ranas dendrobátidas como especies modelo para el estudio del desarrollo embrionario en anfibios y el estudio de la expresión de proteínas nucleares LAP durante la oogénesis y desarrollo. Después de su graduación, Óscar accedió a la posición de técnico docente de la PUCE.

Posteriormente, Óscar inició sus estudios de doctorado bajo la dirección de la Dra. Eugenia del Pino en colaboración con el Dr. Richard Elinson de la Universidad Duquesne, en Pittsburg, donde realizó parte de esta investigación. Producto de esta colaboración, Óscar logró describir el gen VegT en varias especies de anfibios y comparar su estructura desde un punto de vista funcional. VegT es un gen muy importante en la diferenciación inicial de las capas germinales en vertebrados. En el 2008 Óscar recibió el título de Doctor en Ciencias Biológicas concedido por la PUCE como parte de la única promoción de estudiantes de Doctorado en Ciencias Biológicas.

Mientras Óscar estuvo a cargo de la cátedra de Biología del Desarrollo, diseñó varias prácticas de laboratorio de alto nivel en las cuales los estudiantes aplicaron técnicas de Biología experimental en embriones de vertebrados e invertebrados para responder hipótesis relacionadas al desarrollo y adaptación de embriones a ambientes cambiantes. El nivel y calidad de varias de estas prácticas es similar a las prácticas de Embriología experimental aplicada a nivel de posgrado en cursos como el de Marine Biological Laboratory, en Massachusetts, y el de Cold Spring Harbor (E.U.A).

Su entereza y dedicación a estas prácticas ha sido atractiva para estudiantes de varias generaciones que trabajaron junto a Óscar en proyectos de desarrollo embrionario financiados por la PUCE y que dieron como resultado 13 tesis de pregrado y seis artículos científicos en revistas indexadas de impacto internacional.

Durante su carrera profesional, Óscar desarrolló proyectos relacionados al desarrollo embrionario y fertilización en anfibios e invertebrados. Entre sus contribuciones más importantes están el establecimiento de protocolos para la fertilización in vitro en anfibios y el ser pionero en el estudio del desarrollo embrionario de moluscos nudibranchios del Ecuador.

Óscar sirvió como presidente de la Sociedad Ecuatoriana de Biología y fue editor de la Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas. Además, fue representante del Ecuador ante la Sociedad Latinoamericana de Biología del Desarrollo (LASDB).

Sus colaboradores y colegas más cercanos en la PUCE lo estimamos mucho por su alegría desbordante, camaradería y sus cualidades de trabajo. Estamos seguros de que su pasión por la ciencia continuará a través de sus estudiantes a quienes inspiró en esta rama del saber.

Dr. Renato Valencia
Decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

ARTÍCULOS
DE
REVISIÓN

Artículo de Revisión**Sexualidad en personas con enfermedades mentales en Ecuador:
una revisión de la literatura****Sexuality in people with mental illness in Ecuador:
a literature review****Juan Ocampo^{1*} y Juan Ashby²**¹Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.²Instituto de Neurociencias de la Junta de Beneficencia de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador

*juan.ocampo01@cu.ucsg.edu.ec

Doi: 10.26807/remcb.v1i41.88

Recibido 2-09-2018; Aceptado 18-05-2020

RESUMEN.- Históricamente, la sexualidad de las personas con enfermedades mentales ha sufrido de estigmas y concepciones erróneas por las que ha sido restringida en contextos hospitalarios. Hay vasta literatura que aboga por el derecho a la intimidad de pacientes en instituciones psiquiátricas; no obstante, la mayoría refiere a la experiencia de países anglófonos y concuerdan en que aliviar esta problemática trae consigo múltiples desafíos clínicos, éticos y prácticos. Dado que la sexualidad es un aspecto central de la experiencia humana, resguardada por un derecho intrínseco e inalienable, es imprescindible recopilar la información relevante para resaltar los hallazgos pasados y evidenciar las brechas en la literatura existente. Pese a la importancia de la temática, una revisión exhaustiva indica que ha sido gravemente desatendida en Ecuador por una multitud de factores. Atendiendo a las limitaciones de los estudios revisados, no es posible brindar un diagnóstico apropiado de la problemática ni extraer deducciones lícitas. Se requiere mayor investigación para poder arribar a soluciones adaptadas al contexto ecuatoriano y eficaces que procuren un mayor bienestar a los individuos. Finalmente se exhorta a investigadores, profesionales médicos e instituciones de salud a emprender acciones afirmativas a favor del derecho sexual de las personas con enfermedades mentales.

PALABRAS CLAVES: Ecuador, enfermedad mental, sexualidad

ABSTRACT.- Historically, the sexuality of people with mental illness has suffered from stigma and misconceptions by which it has been restricted in hospital settings. There is vast literature advocating for the right to intimacy of patients in psychiatric institutions; however, most refer to the experience of anglophone countries and agree that alleviating this problem carry multiple clinical, ethical, and practical challenges. Conceded that sexuality is a central aspect of human experience, protected by an intrinsic and inalienable right, it is essential to collect relevant information in order to highlight past findings and underline gaps in the existing literature. Despite the importance of the topic, an exhaustive review indicates that it has been seriously neglected in Ecuador due to a multitude of factors. Given the limitations of the reviewed studies, it is not possible to provide a proper diagnosis of the problem or to make any licit deductions. Further research is needed to arrive at solutions adapted to the Ecuadorian context and effective in providing greater well-being to individuals. Finally, we exhort researchers, medical professionals and health institutions to take affirmative action in favor of the sexual rights of people with mental illness.

KEYWORDS: Ecuador, mental illness, sexuality

SEXUALIDAD Y ENFERMEDAD MENTAL

La sexualidad es un componente fundamental del bienestar físico y emocional de las personas (Organización Mundial de la Salud 2015), pero a lo largo de la historia el derecho a la misma ha sido limitado para ciertos colectivos, entre ellos las mujeres, las personas con discapacidad y, particularmente importante para este estudio, las personas con enfermedades mentales. La relación entre sexualidad y enfermedad mental no es una problemática moderna; sin embargo, su debate es relativamente novedoso y ha cobrado especial atención en el contexto hospitalario (Perlin 1993; Warner et al. 2004; Wright et al. 2012; Quinn y Happell 2015). Hasta hace poco, la sexualidad de la persona con una enfermedad psiquiátrica era un tema tabú, poco mencionado y mucho menos estudiado (Buckley y Hyde 1997). A partir de los noventa se realizaron múltiples investigaciones que, desde diversas disciplinas, dan cuenta de la compleja interrelación de factores implicados en esta problemática (Bartlett et al. 2010; Hicks 2016; Perlin et al. 2017). Esto, a su vez, ha motivado el surgimiento de propuestas prácticas para coadyuvar a la solución de la misma (Royal College of Psychiatrists 1996; Persson et al. 2015; Kulkarni y Galletny 2016).

Sin embargo, pertenecen casi en su totalidad a países anglosajones (Akhtar et al. 1977; Modestin 1981; Keitner et al. 1986; Cournos et al. 1994; Welch y Clements 1996; Warner et al. 2004; Bowers 2014). En Latinoamérica, la investigación en torno a la temática es pobre (de Souza et al. 2007; Teixeira et al. 2014). Esto no ha detenido a los medios de comunicación regionales, que han denunciado algunas de las injusticias que la literatura académica internacional había verificado (Clark y Fileborn 2011; Victorian Mental Illness Awareness Council 2013; Kulkarni y Galletly 2016). Así se han reportado incidentes de abuso sexual a pacientes psiquiátricos en medios de Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Guatemala, México, Perú y Uruguay. Pero en Ecuador no hay información disponible. Esto podría indicar la dispersión, escasez o inexistencia de la misma.

En todo caso, el debate se ve menguado, retardando el desarrollo de soluciones e imposibilitando la toma de acciones efectivas. Con base en lo expuesto, el objetivo de esta investigación es reunir, describir y analizar los resultados de los estudios publicados acerca de cualquier aspecto de la sexualidad de personas con enfermedades mentales en Ecuador.

Sobre la sexualidad en pacientes psiquiátricos.-

Históricamente, las posturas en torno a la sexualidad de personas con enfermedades mentales han variado entre la infantilización y la hipersexualización (Perlin, 1993; Perlin et al., 2017). En un extremo del espectro, los deseos y urgencias sexuales de este colectivo son ignorados bajo la presunción de que estas personas son asexuales, sexualmente incompetentes o inactivas (Bartlett et al., 2010; Buckley y Hyde, 1997). Esta concepción es producto de un clima histórico-social en que lo sexual era tabú, especialmente en el ámbito hospitalario. Incluso, la literatura científica apoyaba la noción de que el comportamiento sexual en instituciones sanitarias era un problema deleznable (Brown et al. 2014). Esta concepción llegó a su punto álgido con el empleo de medios sociales de opresión sexual como la segregación, la esterilización forzosa y la prohibición marital (Dein et al. 2015; Hicks, 2016). Aunque algunos individuos con enfermedades mentales pueden experimentar disfunción sexual, pérdida de la libido e incompetencia para consentir debido a su condición (Díaz 2004; Mi-Chia et al. 2018) o al tratamiento farmacológico en el que se encuentran (McCann, 2003; Clayton y Balon 2009; de Jager y McCann 2017), el nivel de actividad sexual de este colectivo ha sido altamente desestimado (Gabay, Fernández y Roldán, 2006; Díaz-Morfa 2006; Raisi et al. 2018).

Akhtar et al. (1977), tras entrevistar al personal de una unidad psiquiátrica, señaló que sólo el 3% de los pacientes (n=1 120) habían sido reportados por comportamiento sexual manifiesto. En estudios similares, Modestin (1981) reportó una tasa de 1.5% (n=1 060) y Keitner et al. (1986), una de 8% (n=1 347). Posteriormente, Cournos et al. (1994) entrevistaron directamente a una muestra de pacientes psiquiátricos hospitalizados y ambulatorios (n=95), revelando que el 44% era sexualmente activos. Dos años más tarde, una investigación similar por Welch y Clements (1996), reportó una proporción de 48% (n=118). Warner et al. (2004) indicó que el 30% de su muestra (n=100) había tomado parte en alguna actividad sexual dentro de las instalaciones del hospital. Teixeira et al. (2013), como parte de un estudio transversal en 26 centros de salud mental brasileños, concluyó que el grado de actividad sexual de pacientes psiquiátricos asemeja a aquel de la población general del mismo país (n=2 475). Bowers (2014), tras un estudio en 31 hospitales ingleses (n=522), informó que al menos uno de cada diez pacientes presentó comportamiento sexual durante las primeras dos semanas de estancia.

Hay evidencia suficiente para afirmar que, contrario a la postura señalada, existe una alta prevalencia de actividad sexual en pacientes psiquiátricos, ambulatorios u hospitalizados, a través de distintas culturas y varios tipos de centros hospitalarios. Incluso sus fantasías sexuales (Lyketsos et al. 1983; Colon et al. 2015) y sentimientos de deseo (Östman y Björkman 2013) son similares en naturaleza y frecuencia a los de la población general. Por lo tanto, se puede afirmar que estas personas viven su sexualidad con igual o mayor intensidad que el resto de las personas, llegando así al otro extremo ideológico conceptual. En este, las personas con enfermedades mentales son vistas como poseedoras de una hipersexualidad animalística que justifica la imposición de normativas que limiten su expresión de esta (De los Santos et al. 2011; Perlin 1993). Este argumento tiene su origen en el hecho de que la hipersexualidad, adicción o compulsión sexual son síntomas asociados con algunos trastornos neuropsiquiátricos, entre ellos el síndrome de Kleine-Levin (Asociación Americana de Psiquiatría 2000), el trastorno bipolar (Kopeykina et al. 2016), la psicopatía (Kastner y Sellbom 2014) y la enfermedad de Parkinson (Nakum y Cavanna 2016). Investigaciones pasadas también han revelado una alta prevalencia de conductas sexuales problemáticas en esta población, entre ellas el exhibicionismo, el sadismo y la pedofilia (Lyketsos et al. 1983; Welch y Clements 1996) que, en última instancia, refieren a conductas parafilicas dentro del área de estudio psiquiátrico (Asociación Americana de Psiquiatría 2013).

Más aún, las personas con enfermedades mentales comparten algunos factores de riesgo asociados a la agresión sexual y el comportamiento sexual riesgoso. La relación del abuso infantil con estas conductas sexuales problemáticas es ampliamente reconocida en la literatura (Thompson et al. 2016; Abajobir et al. 2017; Peterson et al. 2018). Asimismo, se ha establecido una alta prevalencia de abuso infantil en este colectivo (Cole, 2003; van Nierop et al. 2014). En una revisión de cincuenta y dos estudios, Read et al. (2008) encontró que más del 50% de los hombres y del 60% de las mujeres habían sido abusados sexualmente durante su infancia. En otra investigación (n=17 337), aquellos que puntuaron alto en el Cuestionario de Adversidad en la Infancia tenían diez veces más probabilidades de ser prescritos antipsicóticos y diecisiete veces más de ser prescritos antidepresivos (Anda et al. 2017). Por último, un estudio concluyó que el porcentaje promedio ponderado de abuso encontrado en el historial clínico de una muestra

de pacientes psiquiátricos (n=755) era de 27.9%, pero que algunos tipos de abuso eran hasta nueve veces infrarreportados (Read et al. 2018). Por lo tanto, debido a la alta prevalencia de abuso sexual infantil, las personas con enfermedad mental son más propensas a participar en conductas sexuales riesgosas.

También se ha evidenciado que estas personas tienen una mayor probabilidad de contraer VIH (McCann, 2003; de Souza et al. 2007; Barbosa y Freitas 2011; Teixeira et al. 2013) e incluso, de perpetrar actos violentos (Ford 2003; Krüger y Rosema 2010; Varshney et al. 2016). Esta última problemática estaría vinculada a la violencia o agresión sexual entre pacientes, tema que, aunque menos debatido, ha suscitado grave atención en poblaciones femeninas (Mezey et al. 2005; Lawn y McDonald 2009; Clark y Fileborn 2011; Kulkarni y Galletly 2016). Investigaciones pioneras como la de Thomas et al. (1995) sugieren que al menos un tercio de las pacientes institucionalizadas (n=59) experimentan acoso durante su estancia. Barlow y Wolfson (1997) indicaron que es más de la mitad (n=90), incluyendo un porcentaje menor que tomó parte en actividades sexuales en contra de su voluntad. Con base en estos y otros estudios, Weinhardt et al. (1999) concluye que las violaciones sexuales ocurren con mayor frecuencia en mujeres con enfermedades mentales severas que en mujeres de la población general. Un estudio posterior en pacientes femeninas (n=50) reveló que el 67% fue acosado durante su hospitalización y el 45% fue víctima de abuso sexual (Victorian Mental Illness Awareness Council, 2013). Estos hallazgos concuerdan con los múltiples reportajes periodísticos sobre abuso sexual en contextos psiquiátricos que han sido publicados en los últimos años, pero que no son considerados en la literatura.

El derecho a la intimidad: debates y desafíos en el ámbito psiquiátrico.- Considerando lo expuesto, las instituciones hospitalarias se han visto en la obligación de brindar alguna tentativa de alivio a la problemática; no obstante, cualquier abordaje de este fenómeno implica necesariamente una serie de desafíos. El primero de ellos es eminentemente clínico puesto que enfrenta los derechos individuales de un paciente con otro y con la responsabilidad institucional de mantener un ambiente seguro para todos sus usuarios (Wright, McCabe y Kooreman 2012). El segundo, de corte ético, alude a las complejidades inherentes del tema de la sexualidad, el derecho a la misma y lo que ello implica en poblaciones vulnerables como el

colectivo de personas con enfermedades mentales (Hicks 2016). El tercero y último, de carácter práctico, destaca que, aunque existan algunas alternativas, no hay consenso en la forma “correcta” de permitir, regular o prohibir la actividad sexual en los pacientes psiquiátricos (Ford et al. 2003). Equilibrar el aspecto clínico, ético y práctico que implica la sexualidad de los pacientes psiquiátricos es, en el mejor de los casos, una tarea difícil y en el peor, una imposible.

Las personas hospitalizadas están forzadas por su entorno, o a menudo también por estrategias terapéuticas (Kastner y Sellbom 2014), a tener encuentros con otros usuarios, formando indefectiblemente nexos personales, que son el núcleo de su experiencia de hospitalización (Gilbert et al. 2008) y un potencial facilitador de su recuperación (Boucher et al. 2016). Estas relaciones intrahospitalarias pueden devenir en relaciones románticas o sexuales (Hales et al. 2006). Por consenso general, permitir las relaciones sexuales entre pacientes al estilo *laissez faire* no es viable, pues acarrear potenciales riesgos para ellos mismos, desde infecciones genitales hasta la posibilidad de explotación sexual (Dein et al. 2015).

Tabla 1. Posibles consecuencias de la relación sexual entre pacientes hospitalizados

Perjuicio al paciente

Abuso y explotación de entre pacientes
 Afectación de relaciones extrahospitalarias
 Embarazo no deseado
 Infección de transmisión sexual
 Lesión o daño corporal
 Violencia sexual y/o violación

Agravación de la enfermedad

Aparición de nueva sintomatología
 Exacerbación de los síntomas
 Socavamiento de la autoeficacia e independencia

Complicación del tratamiento

Afectación de la relación con el personal
 Anteposición de la relación personal al tratamiento
 Deterioro de la comunidad terapéutica

Riesgos para la institución hospitalaria

Desaprobación pública y/o mediática
 Litigación por responsabilidad institucional

Fuente: Kastner et al. 2014; Dein et al. 2015

Kastner y Sellbom (2014) van más allá y señalan que el solo vínculo, no necesariamente sexual, tiene efectos secundarios, como el deterioro de la comunidad terapéutica y la interferencia en la vida extrahospitalaria. Todavía, los pacientes no serían los únicos afectados. La institución sanitaria se expondría a demandas por responsabilidad jurídica (Mossman et al. 1997; Wright, McCabe y Kooreman 2012) y el personal de salud se enfrentaría a nuevos riesgos laborales, como acercamientos románticos indeseados y acoso sexual por parte de los usuarios (Spector et al. 2014; Kelly et al. 2016; Valente 2017). La Tabla 1 lista las posibles consecuencias de la relación sexual entre pacientes hospitalizados. Ciertamente, las relaciones sexuales entre pacientes tienen riesgos, pero dicho argumento ha sido aprovechado para justificar la innegociable prohibición de la expresión sexual en ciertos centros hospitalarios. Varias instituciones han implementado formal o informalmente políticas en contra de toda actividad que pueda ser considerada sexual (Ford 2003; Hicks 2016). En un estudio de 81 hospitales psiquiátricos, Buckley y Robben (2000) indicaron que de aquellos hospitales que poseían políticas, casi la mitad prohibían explícitamente el sexo. Bartlett et al. (2010), en un estudio posterior de 39 centros hospitalarios, reportó que un número considerable rechazaba la actividad sexual y algunas hasta el contacto físico. Considerando aquello, es esperable que, aunque compartan casi los mismos deseos y necesidades que la población general, no haya estudios que reporten una vida íntima y sexual satisfactoria en personas con enfermedades mentales severas y pacientes psiquiátricos hospitalizados (Östman 2014; de Jager y McCann 2017; Raisi et al. 2018).

Incluso, varios estudios sugieren que, debido a la falta de políticas y lineamientos formales, las decisiones del personal de enfermería respecto a la sexualidad de los atendidos son guiadas más por valores particulares y convención cultural que por criterios profesionales o consenso gremial (Mossman et al., 1997; Commons et al., 1992; Bartlett et al., 2010; Buckley y Robben, 2000; Ziliotto y Marcolan 2013; Brown et al 2014). Muchos enfermeros conciben la sexualidad como otra forma manifiesta de la dolencia, una que debe ser vigilada, controlada y sancionada (de Souza et al. 2007; Ziliotto y Marcolan 2014). Esto, en última instancia, responde a una visión institucional que anticipa el manejo de riesgos al bienestar holístico del usuario (Hughes et al. 2017). Bajo esta lógica, se castiga la franqueza del doliente y se fomenta un ambiente de silencio en el que pululan las injusticias

y atrocidades, dando lugar a casos excepcionales como los de profesionales de la salud mental abusando sistemáticamente de sus pacientes (Royal College of Psychiatrists 2017).

Pero la problemática se extiende más allá del personal de enfermería. Un estudio reciente sugiere que los pacientes con enfermedades mentales severas no revelan sus necesidades y problemas sexuales a sus médicos tratantes debido a la reticencia de estos últimos a discutir temas de índole sexual (Raisi et al. 2018). Otra investigación halló que menos del 40% de pacientes con enfermedades mentales severas recibieron exámenes de salud sexual durante las primeras doce semanas de manejo de caso (Corbett et al. 2017). Para Brown et al. (2014), es notable el grado en que el tema del sexo está relativamente ausente de los debates académicos sobre salud mental y al mismo tiempo, del tratamiento clínico, pese a que discutir sobre sexualidad con el paciente puede mejorar su calidad de vida (Persson et al. 2015). Para Kastner y Sellbom (2014), esto evidencia una característica persistente en los hospitales psiquiátricos, posible vestigio del antiguo modelo manicomial, caracterizada por la frase “fuera de la vista, fuera de la mente y no hablemos de ello [out of sight, out of mind and let’s not talk about it]”.

De la teoría a la práctica: la administración de la sexualidad en hospitales psiquiátricos. Dado que la sexualidad es un aspecto central y transversal de la experiencia humana resguardada en un derecho (Organización Mundial de la Salud 2015), es inconcebible e incluso moralmente reprochable ignorarla. El establecimiento de los derechos sexuales, también conocidos como derecho a la intimidad o derecho reproductivo, no son solo en aras de un mayor bienestar emocional, sino de una mejor salud en general (Deshays 2016). Teniendo en cuenta que la persona hospitalizada independientemente de la condición médica que la aqueja sigue siendo un sujeto de derecho, la máxima llama a concederles la mayor cantidad de derechos posibles sin que tenga efectos adversos a su rehabilitación o tratamiento (Ford et al., 2003). Bajo esta premisa, varios autores desde los noventa hasta el presente han abogado por el reconocimiento del derecho a la intimidad de pacientes psiquiátricos hospitalizados y la obligación de las instituciones de aceptar la sexualidad de sus usuarios de forma empática y humanitaria (Welch et al., 1996; Dobal y Torkelson 2004; Perlin et al., 2017; Hicks, 2016). Así, la polémica trascendió el ámbito clínico para integrarse a cabalidad en el plano ético.

En materia de ética, entendida como el conjunto de normas que regulan el comportamiento en comunidad, el ámbito judicial toma preponderancia. En cuanto a la problemática no solo existe un amplio marco jurídico que justifica el derecho a la intimidad de pacientes institucionalizados, sino que existen varios casos reconociendo dicho derecho (Hicks 2016; Wright, McCabe y Kooreman 2012). Uno de los más reconocidos es el caso de Wyatt v. Stickney en la década de los setenta, en el cual el fallo de la corte estadounidense dictaminó que la institución debe proveer, con adecuada supervisión, oportunidades aptas para la interacción con pacientes del sexo opuesto, anticipando la posibilidad de actividad sexual (Wright, McCabe y Kooreman 2012).

En otro caso más reciente, en el 2013, una corte francesa sancionó a un hospital de Bordeaux por prohibir la actividad sexual en sus instalaciones (Deshays 2016). Más aún, tratados de peso como el Convenio Europeo de Derechos Humanos (Tiwana et al. 2016) y la Ley Ómnibus de Reconciliación Presupuestaria (Dobal y Torkelson 2004) protegen el derecho a la intimidad de este colectivo.

Lawn y McDonald (2009) reconocen la dificultad de articular efectivamente el derecho a la intimidad de los pacientes con la responsabilidad institucional de los hospitales de prevenir los potenciales daños derivados de encuentros sexuales. Por una parte, la institución debe velar por la seguridad de las personas bajo su cuidado, pero por otra debe permitirles ejercitar su autonomía. En síntesis, se opone el concepto paternalístico de cuidado al concepto contractual del mismo, deviniendo en una paradoja (Deshays 2016). La decisión de prohibir u obstruir las relaciones solo debería aplicarse a pacientes incapaces de consentir o que tengan una comprensión insuficiente de sus elecciones dentro de un encuentro sexual (Brown et al. 2014). Esto es especialmente difícil si se consideran las formas de medir dicha competencia en los usuarios.

En este ámbito han surgido múltiples propuestas. Autores como Perlin et al. (2017) consideran que todo individuo es capaz de consentir, pero que la competencia para ello merece una evaluación de carácter situacional del acto considerado. De esta forma, han surgido propuestas para parametrizar esta capacidad a partir de pruebas de moral, análisis de la totalidad de circunstancias, naturaleza y consecuencias de la situación, sin llegar a un consenso (Welch y Clements 1996; Wright, McCabe y Kooreman 2012).

En la actualidad, la literatura concuerda en que los pacientes tienen un derecho inalienable a la sexualidad, incluso dentro del contexto hospitalario, pero también admite las dificultades prácticas que ello implica (Wright, McCabe y Kooreman 2012). Entre los desafíos reportados por las instituciones están responder a acercamientos sexuales no deseados, administrar las relaciones románticas, evaluar el consentimiento y regular el apetito sexual de los pacientes (Warner et al., 2004; Ford et al., 2003; Lawn y McDonald, 2009). Para sortear estas dificultades, se ha experimentado con distintas propuestas, entre las más populares y efectivas están la segregación de pacientes por género (Kulkarni y Galletny 2016) y los programas de educación sexual (Quinn y Happell 2013; Persson et al. 2015). No obstante, la mayor parte de la literatura resalta la importancia de tener, o en su defecto, diseñar y aplicar políticas formales que establezcan parámetros oportunos para la actividad sexual de los pacientes y asimismo guíen las respuestas del personal en un efecto por salvaguardar la integridad de todas las partes involucradas.

Uno de los primeros fue Subotsky (1993), quien recomendó la puesta en marcha de políticas sobre actividad sexual, prevención del acoso y manejo de acusaciones de abuso. Poco después, el Royal College of Psychiatrists (1996) publicó una serie de directrices para lidiar con el abuso sexual en centros psiquiátricos, las cuales tuvieron una acogida paulatina. En los setenta, un estudio reportó que ninguna de las 70 unidades psiquiátricas contactadas tenía políticas por escrito sobre sexualidad en usuarios (Keitner y Grof 1981). A finales de los noventa, otro informó que el 83% de hospitales de su muestra (n=57) tenían políticas formales para manejar la actividad sexual de los pacientes (Buckley y Hyde 1997), pero pocos años después, uno similar reveló un porcentaje del 56% (n=102). Por último, Bartlett et al. (2010), en una investigación más reciente, reveló que solo 17 de los 39 centros estudiados tenían una política por escrito sobre el tema.

Aunque hay evidencia de que hospitales y gobiernos estatales han desarrollado sus propias normativas adaptadas a su contexto, especialmente en Norteamérica, Europa y Oceanía (Broadmoore Hospital 2014; Ford et al. 2003; Government of New South Wales 2013; Lawn y McDonald 2009; Montana State Hospital 2015; State of New York 2010; Queensland State 2016; Welch y Clements 1996; State of Victoria, 2012), no se puede dar por sentada la ubicuidad de estas disposiciones.

Más aún, la escasez, invisibilidad o dispersión de investigaciones con respecto a la temática, especialmente en países latinoamericanos, es preocupante. Por ello, es imperativo recopilar la información presente que refiera a este fenómeno. De esta forma, se podrían resaltar los hallazgos de investigaciones pasadas y, de la misma manera, evidenciar las brechas en la literatura existente.

Sexualidad y enfermedad mental: el caso ecuatoriano.- En Ecuador, aunque la Constitución de la República del Ecuador (2008) recoge los derechos sexuales y el Ministerio de Salud Pública (2012) enfatiza su importancia en grupos vulnerables, no hay lineamientos concisos para abordar la problemática de la sexualidad en la enfermedad mental ni en contextos hospitalarios. Por lo tanto, es de suma importancia reunir, analizar y visibilizar la investigación local al respecto en aras de que esta pueda guiar futuras propuestas de política pública. Se procedió a revisar las principales bases de datos internacionales y la Red de Repositorios de Acceso Abierto del Ecuador (RRAAE), que engloba 51 repositorios ecuatorianos y más de 245 000 documentos de investigación nacional, pudiendo ser el espacio digital con mayor producción científica ecuatoriana. No se establecieron restricciones por año de publicación o tipo de investigación. Los criterios de selección fueron los siguientes:

1. Investigaciones relacionadas con personas con enfermedades mentales severas.
2. Investigaciones sobre temas de sexualidad, conducta sexual, relaciones sexuales o afines.
3. Estudios que analizan muestras ecuatorianas y/o en territorio ecuatoriano.

Los títulos de las publicaciones fueron escaneados por relevancia y se descartaron los duplicados. Se revisaron manualmente las referencias de los estudios preseleccionados por otras investigaciones relevantes. A continuación, se eliminaron duplicados y se excluyeron registros por inadmisibilidad temática o no cumplimentar los criterios de inclusión. Finalmente, se analizaron los estudios completos para determinar su elegibilidad, de los cuales se extrajo la selección final que forma la revisión. En la Figura 1 se puede observar los tiempos de identificación, cribado, elegibilidad e inclusión. Se incluyeron únicamente dos estudios en la revisión debido a que fueron los únicos en cumplir a cabalidad los tres criterios de selección propuestos y que abordan la temática expuesta en relación

con el contexto ecuatoriano. Es decir, los estudios finalmente incluidos en la revisión representan la investigación pública que existe en torno a la sexualidad en personas con trastornos psiquiátricos en Ecuador. Debido a la escasez de resultados, se optó por analizar exhaustivamente cada una de las investigaciones en temáticas independientes. La Tabla 2 muestra la data extraída en cuanto a diseño, contexto, participantes, objetivo y resultados relevantes por investigación.

Derecho a la intimidad y discapacidad mental leve.- García (2014), desde un abordaje descriptivo y transversal, encuestó a 30 operadores de justicia sobre aspectos jurídicos y éticos de los derechos sexuales de las personas con discapacidad mental leve para justificar su propuesta de reforma a un artículo del Código Penal que versa sobre dicha

temática. Entre los resultados más relevantes se destaca que el 57% de la muestra considera que las personas con discapacidad mental leve están amparadas por la Constitución, pero solo el 17% considera que ellos gozan de todos sus derechos. Entre las limitaciones del estudio cabe mencionar que la muestra no es representativa, no fue analizada en función de sus variables demográficas y no presenta un diseño muestral transparente. Además, el instrumento de medición fue realizado ad hoc sin presentar análisis de fiabilidad, validez y no tendenciosidad. García (2014) concluye que “las personas con discapacidad mental leve deben decidir libremente sobre su sexualidad sin restricción de ninguna naturaleza” y por lo tanto “es viable a que se reforme en el artículo 512, numeral 2 del Código Penal” que sanciona el acto sexual con personas de dicho colectivo.

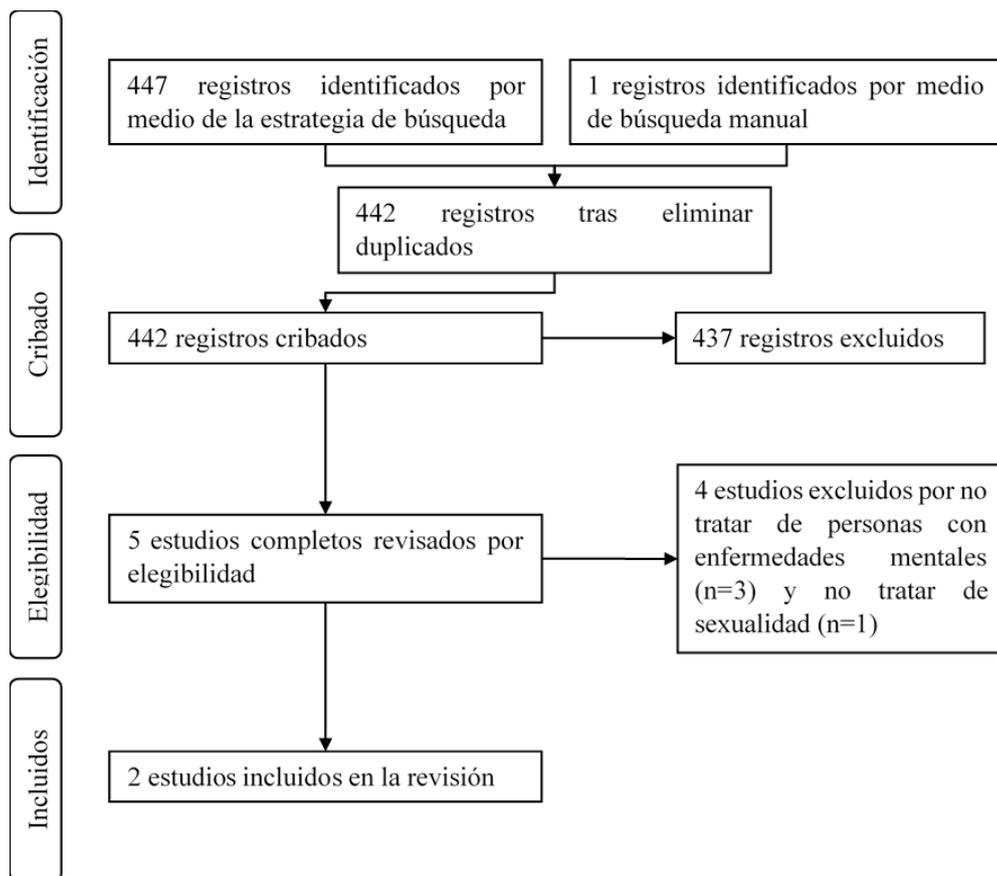


Figura 1. Identificación, cribado, elegibilidad e inclusión de estudios relevantes.

Conducta sexual en pacientes psiquiátricos.- Vega (2015), en un abordaje similar, revisó la historia clínica y encuestó a 71 pacientes de un hospital psiquiátrico. Entre los resultados relevantes se menciona que el 40% de la muestra se masturba compulsivamente, el 28% ha tenido contacto homosexual y el 21%, heterosexual. El 34% de los participantes reportaron haber practicado coito; no obstante, no se especifica si fue antes o después de su hospitalización. Por último, a partir de un instrumento psicométrico se determinó que el 80% presentaban una calidad de vida aceptable. Entre las limitaciones del estudio cabe señalar que no se presentaron análisis de fiabilidad ni validez del instrumento usado, el cual no ha sido previamente adaptado a muestras ecuatorianas. Como conclusión, la autora recomienda incluir la salud sexual en talleres de psicoeducación y aumentar la vigilancia a pacientes más vulnerables.

RECOMENDACIONES PARA FUTUROS ESTUDIOS

La sexualidad es un aspecto crítico de la calidad de vida de las personas con enfermedades mentales. Pese a su importancia, su investigación en Ecuador ha sido gravemente desatendida. Esto puede deberse a una multitud de factores, algunos concomitantes como la baja producción científica ecuatoriana en el área psiquiátrica y otros

preocupantes como la vigencia del tabú en torno a la sexualidad. Atendiendo las limitaciones de los estudios incluidos en la revisión presente, no es posible brindar un diagnóstico apropiado de la problemática ni mucho menos extraer deducciones lícitas de la data existente. Se requiere mayor investigación para poder arribar a soluciones adaptadas al contexto y eficaces que procuren un mayor bienestar al individuo.

Sin embargo, con base en la literatura internacional se puede afirmar con cierta seguridad que este grupo humano experimenta su sexualidad de forma similar al resto de individuos. Por lo tanto, las instituciones hospitalarias ecuatorianas deben dar respuesta a dichas condiciones, observando también las posibles consecuencias de esta. Posiblemente, una parte de los centros sanitarios adoptaron políticas de prohibición informal, de facto y guiadas por criterios más personales que profesionales.

A su vez, estas podrían ser ineficaces en suprimir la actividad sexual e incluso perjudiciales si se establece un ambiente de silencio favorable para el desarrollo de injusticias y abusos. En última instancia, la parte más afectada es la persona con enfermedad mental, a quien de todas formas se le suprime un derecho y un componente de su bienestar personal.

Como trabajo futuro se propone analizar la

Tabla 2. Resumen de la data extraída de la revisión

Autor, año	Diseño de investigación	Contexto	Participantes	Objetivo	Resultados relevantes
García (2014)	Estudio descriptivo-correlacional de corte transversal. Se utilizó la técnica de encuesta.	Función Judicial de la ciudad de Tulcán	30 operadores de justicia (Jueces, Ficales, Defensores Públicos y Personal Administrativo de la Función Judicial)	Proponer un proyecto de reforma al numeral 2 del artículo 512 del Código Penal ecuatoriano, a fin de que se garantice la libertad sexual de las personas con discapacidad mental leve.	La mayoría (57 %) considera que las personas con discapacidad mental leve están protegidas por la Constitución, pero solo una minoría (17 %) considera que estos gozan de todos sus derechos. También se diseñó una propuesta de reforma penal a un artículo del Código Penal.
Vega (2015)	Estudio descriptivo-observacional de corte transversal. Se utilizó la técnica de revisión documental y encuesta.	Hospital psiquiátrico privado sin fines de lucro regentado por una organización no gubernamental benéfica en Guayaquil	71 pacientes (67 % masculinos) con al menos una enfermedad mental severa, utilicen neurolépticos y hayan sido identificados con comportamiento sexual mal adaptado.	Evaluar la conducta sexual en pacientes con trastorno mental severo de un hospital psiquiátrico, mediante revisiones de historias clínicas y aplicación de cuestionarios.	El 40 % de la muestra se masturba compulsivamente, el 28 % tenía contacto homosexual y el 21%, contacto heterosexual. El 34 % practicaban coito, aunque no se especifica si antes o después de su hospitalización. Por último, a partir de un instrumento psicométrico se determinó que el 80 % presentan una calidad de vida aceptable.

vigencia del derecho a la sexualidad en los espacios hospitalarios, más allá del entorno psiquiátrico, con el fin de explorar su preeminencia en el ámbito médico ecuatoriano. También se sugiere investigar la sexualidad en personas con enfermedades mentales desde un enfoque exploratorio-descriptivo con el fin de construir una línea base desde la cual estudiar la problemática. Es imperativo diagnosticar de forma precisa la magnitud de la situación, describir las necesidades del grupo considerado y también contemplar las preocupaciones de las otras partes involucradas.

Esto permitirá elaborar y justificar la adopción de propuestas resolutorias, ya sean de corte tradicional como la adopción de políticas formales o experimental como la inclusión de programas de educación sexual. Por último, se exhorta a investigadores, profesionales del área médica e instituciones de salud a emprender acciones afirmativas a favor del derecho sexual de las personas con enfermedades mentales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abajobir, A., Kisely, S., Maravilla, J., Williams, G., & Najman, J. 2017. Gender differences in the association between childhood sexual abuse and risky sexual behaviours: A systematic review and meta-analysis. *Child Abuse & Neglect*, 63, 249-260.
- Anda, R., Brown, D., Felitti, V., Bremner, D., Dube, S., & Giles, W. 2007. Adverse Childhood Experiences and Prescribed Psychotropic Medications in Adults. *American Journal of Preventive Medicine*, 32(5), 389-394.
- Asociación Americana de Psiquiatría. 2000. *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (Cuarta ed., Revisado)*. Washington.
- Asociación Americana de Psiquiatría. 2013. *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (Quinta ed.)*. Washington.
- Barbosa, J., & Freitas, M. 2011. Vulnerabilidade em face das infecções sexualmente transmissíveis e HIV/aids nos roteiros sexuais de mulheres com transtornos mentais. *Revista Mineira de Enfermagem*, 15(2), 217-224.
- Barlow, F., & Wolfson, P. 1997. Safety and security: a survey of female psychiatric in-patients. *Psychiatric Bulletin*, 21, 270-272.
- Bartlett, P., Mantovani, N., Cratsley, K., Dillon, C., & Eastman, N. 2010. 'You May Kiss the Bride, But You May Not Open Your Mouth When You Do So': Policies Concerning Sex, Marriage and Relationships in English Forensic Psychiatric Facilities. *Liverpool Law Rev*, 31, 155-176.
- Boucher, M., Groleau, D., & Whitley, R. 2016. Recovery and severe mental illness: The role of romantic relationships, intimacy, and sexuality. *Psychiatric Rehabilitation Journal*, 39(2), 180-182.
- Bowers, L., Ross, J., & Cutting, P. 2014. Sexual behaviours on acute inpatient psychiatric units. *Journal of Psychiatric and Mental Health Nursing*, 21, 271-279.
- Broadmoor Hospital. 2014. *Policy R4: Patients Relationships*. Crowthorne, Reino Unido.
- Brown, S., Reavey, P., Kanyeredzi, A., Batty, & Richard. 2014. Transformations of self and sexuality: Psychologically modified experiences in the context of forensic mental health. *Health*, 18(3), 240-260.
- Buckley, P., & Hyde, J. 1997. State hospitals' responses to the sexual behavior of psychiatric inpatients. *Psychiatric Services*, 48(3), 398-399.
- Buckley, P., & Robben, T. 2000. A Content Analysis of State Hospital Policies on Sex Between Inpatients. *Psychiatric Services*, 51(2), 243-245.
- Civic, D., Walsh, G., & McBride, D. 1993. Staff Perspectives on Sexual Behavior of Patients in a State Psychiatric Hospital. *Hospital and Community Psychiatry*, 44(9), 887-889.
- Clark, H., & Fileborn, B. 2011. Responding to women's experiences of sexual assault in institutional and care settings. *ACSSA Wrap* (10), 1-19.
- Clayton, A., & Balon, R. 2009. Continuing Medical Education: The Impact of Mental Illness and Psychotropic Medications on Sexual Functioning: The Evidence and Management (CME). *The Journal of Sexual Medicine*, 6(5), 1200-1211.
- Commons, M., Bohn, J., Godon, L., Hauser, M., & Gutheil, T. 1992. Professionals' Attitudes towards Sex between Institutionalized Patients. *American Journal of Psychotherapy*, 46, 571-580.
- Constitución de la República del Ecuador. 2008.

- Corbett, R., Elsom, S., Sands, N., & Prematunga, R. 2017. An exploratory investigation of sexual health screening in the first 12 weeks of case management in populations with severe mental illness. *International Journal of Mental Health Nursing*, 26(2), 160-169.
- Cournos, F., Guido, J., Coomaraswamy, S., Meyer-Bahlburg, H., Sugden, R., & Horwath, E. 1994. Sexual activity and risk of HIV infection among patients with schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 151(2), 228-232.
- de Jager, J., & McCann, E. 2017. Psychosis as a Barrier to the Expression of Sexuality and Intimacy: An Environmental Risk? *Schizophrenia Bulletin*, 43(2), 236-239.
- de Souza, D., Gruber, C., Wainberg, M., Mattos, P., & Broxado, S. 2007. Sexuality, vulnerability to HIV, and mental health: an ethnographic study of psychiatric institutions. *Cad. Saúde Pública*, 23(9), 2224 - 2233.
- Dein, E., Simon, P., Volkonskaia, I., Kanyeredzi, A., Reavey, P., & Leavey, G. 2015. Examining professionals' perspectives on sexuality for service users of a forensic psychiatry unit. *International Journal of Law and Psychiatry*, 44, 15-23.
- Deshays, C. 2016. Sexuality in psychiatric institutions: Initiating some ethical reflections. *Sexologies*, 25, 47-50.
- Díaz, J. 2004. La sexualidad del paciente esquizofrénico y una política hospitalaria. *Anales de Psiquiatría*, 20(10).
- Díaz-Morfa, J. 2006. El paciente esquizofrénico y su sexualidad: conductas y trastornos sexuales. *Psiquiatría Biológica*, 13(1), 22-29.
- Dobal, M., & Diane, T. 2004. Making Decisions About Sexual Rights in Psychiatric Facilities. *Archives of Psychiatric Nursing*, 18(2), 68-74.
- Ford, E., Rosenberg, M., Holsten, M., & Boudreaux, T. 2003. Managing Sexual Behavior on Adult Acute Care Inpatient Psychiatric Units. *Psychiatric Services*, 54(3), 346-350.
- Gabay, P., Fernández, M., & Roldán, E. 2006. Sexualidad y esquizofrenia: Breve revisión del tema y resultados de una encuesta a pacientes en rehabilitación. *Rev. Arg. de Psiquiat.*, 136-144.
- García, M. 2014. *Vulneración al derecho constitucional de la libertad sexual de las personas con discapacidad mental leve (Tesis de grado)*. Tulcán: Universidad Regional Autónoma de los Andes.
- Gilbert, H., Rose, D., & Slade, M. 2008. The importance of relationships in mental health care: A qualitative study of service users' experiences of psychiatric hospital admission in the UK. *BMC Health Services Research*, 8(92).
- Government of New South Wales. 2013. *Sexual Safety of Mental Health Consumers Guidelines*. Nueva Gales del Sur: Autor.
- Hales, H., Romilly, C., Davison, S., & Taylor, P. 2006. Sexual attitudes, experience and relationships amongst patients in a high security hospital. *Criminal Behaviour and Mental Health*, 16(4), 254-263.
- Hicks, H. 2016. To the right to intimacy and beyond: a constitutional argument for the right to sex in mental health facilities. *NYU Review of Law and Social Change*, 40(4), 621-673.
- Hughes, E., Edmondson, A., Onyekwe, I., & Quinn, C. 2017. Identifying and addressing sexual health in serious mental illness: Views of mental health staff working in two National Health Service organizations in England. *International Journal of Mental Health Nursing*, 27(3), 966-974.
- Kastner, R., & Sellbom, M. 2014. Hypersexuality in college students: The role of psychopathy. *Personality and Individual Differences*, 53(5), 644-649.
- Keitner, G., & Grof, P. 1981. Sexual and emotional intimacy between psychiatric inpatients: formulating a policy. *Hospital and Community Psychiatry*, 32, 188-193.
- Keitner, G., Baldwin, L., & McKendall, M. 1986. Copatient relationships on a short-term psychiatric unit. *Hospital & Community Psychiatry*, 37(2), 166-170.
- Kelly, E., Fenwick, K., Brekke, J., & Novaco, R. 2016. Well-Being and Safety among Inpatient Psychiatric Staff: The Impact of Conflict, Assault, and Stress Reactivity. *Administration and Policy in Mental Health and Mental Health*, 43(5), 703-716.

- Kopeykina, I., Kim, H., Khatun, T., Boland, J., Haeri, S., Cohen, L., & Galynker, I. 2016. Hypersexuality and couple relationships in bipolar disorder: A review. *Journal of Affective Disorders*, 195(1), 1-14.
- Krüger, C., & Rosema, D. 2010. Risk factors for violence among long-term psychiatric in-patients: a comparison between violent and non-violent patients. *African Journal of Psychiatry*, 13, 366-375.
- Kulkarni, J., & Galletly, C. 2016. Improving safety for women in psychiatry wards. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 51(2), 192-194.
- Lawn, T., & McDonald, E. 2009. Developing a policy to deal with sexual assault on psychiatric in-patient wards. *Psychiatric Bulletin*, 33, 108 - 111.
- McCann, E. 2003. Exploring sexual and relationship possibilities for people with psychosis – a review of the literature. *Journal of Psychiatric and Mental Health Nursing*, 10, 640–649.
- McCann, E., Donohue, G., de Jager, J., van Os, J., Nugter, A., Stewart, J., & Eustace-Cook, J. 2018. Sexuality and intimacy among people with serious mental illness in hospital and community settings: a qualitative systematic review protocol. *JBIDatabase of Systematic Reviews and Implementation*, 16(2), 324–327.
- Mezey, G., Hassell, Y., & Bartlett, A. 2005. Safety of women in mixed-sex and single-sex medium secure units: staff and patient perceptions. *The British Journal of Psychiatry*, 187, 579-582.
- Ministerio de Salud Pública. 2012. *Manual del modelo de atención integral de salud - MAIS*. Quito.
- Modestin, J. 1981. Patterns of overt sexual interaction among acute psychiatric inpatients. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 64(5), 446-459.
- Montana State Hospital. 2015. *Policy and procedure: Patient sexual behavior*. Montana: Autor.
- Mossman, D., Perlin, M., & Dorfman, D. 1997. Sex on the Wards: Conundra for Clinicians. *Journal of the American Academy of Psychiatry and the Law*, 25, 441–460.
- Nakum, S., & Cavanna, A. 2016. The prevalence and clinical characteristics of hypersexuality in patients with Parkinson's disease following dopaminergic therapy: A systematic literature review. *Parkinsonism and related disorders*, 25, 10–16.
- Organización Mundial de la Salud. 2015. *Sexual health, human rights and the law*. Génova.
- Östman, M. 2014. Low satisfaction with sex life among people with severe mental illness living in a community. *Psychiatry Research*, 2016(3), 340-345.
- Östman, M., & Björkman, A. 2013. Schizophrenia and Relationships: The Effect of Mental Illness on Sexuality. *Clinical Schizophrenia & Related Psychoses*, 20-24.
- Perlin, M. 1993. Hospitalized Patients and the Right to Sexual Interaction: Beyond the Last Frontier? *NYU Review of Law and Social Change*, 20, 517–547.
- Perlin, M., Cucolo, H., & Lynch, A. 2017. Sex, Sexuality, Sexual Offending and the Rights of Persons with Mental Disabilities. *Laws*, 6(20).
- Persson, T., Drury, K., Gluch, E., & Wiviott, G. 2016. Sex Education Groups in a Psychiatric Day Hospital: Clinical Observations. *Journal of Sex & Marital Therapy*, 42(1), 18-26.
- Peterson, Z., Janssen, E., Goodrich, D., Fortenberry, D., Hensel, D., & Heiman, J. 2018. Child Sexual Abuse and Negative Affect as Shared Risk Factors for Sexual Aggression and Sexual HIV Risk Behavior in Heterosexual Men. *Archives of Sexual Behavior*, 47(2), 465–480.
- Quinn, C., & Happell, B. 2013. Talking About Sexuality With Consumers of Mental Health. *Perspectives in Psychiatric Care*, 49(1), 13-20.
- Quinn, C., & Happell, B. 2015. Supporting the Sexual Intimacy Needs of Patients in a Longer Stay Inpatient Forensic Setting. *Perspectives in Psychiatric Care*, 1-9.
- Raisi, F., Yahyavi, S., Mirsepassi, Z., Firoozikhojastefar, R., & Shahvari, Z. 2018. Neglected sexual needs: A qualitative study in Iranian patients with severe mental illness. *Perspectives in Psychiatric Care*.
- Read, J., Fink, P., Rudegeair, T., Felitti, V., & Whitfield, V. 2008. Child maltreatment and

- psychosis: A return to genuinely integrated bio-psycho-social model. *Clinical Schizophrenia and Related Psychoses*, 7, 235-254.
- Read, J., Harper, D., Tucker, I., & Kennedy, A. 2018. Do adult mental health services identify child abuse and neglect? A systematic review. *International Journal of Mental Health Nursing*, 27, 7-19.
- Royal College of Psychiatrists. 2017. Sexual boundaries in clinical practice: *Guidance for psychiatrists working in adult settings*. Londres.
- Spector, P., Zhou, Z., & Che, X. 2014. Nurse exposure to physical and nonphysical violence, bullying, and sexual harassment: a quantitative review. *International Journal of Nursing Studies*, 51(1), 72-84.
- State of New York. 2010. *Official Policy Manual of the Office of Mental Health: Patient Sexual Activity*. Nueva York.
- State of Queensland. 2016. *Sexual Health and Safety Guidelines – mental health, alcohol and drug services*. Queensland.
- State of Victoria. 2012. *Promoting sexual safety, responding to sexual activity, and managing allegations of sexual assault in adult acute inpatient units*. Melbourne.
- Subotsky, F. 1993. Sexual abuse in psychiatric hospitals: developing policies to aid prevention. *Psychiatric Bulletin*, 17, 274-276.
- Teixeira, M., Nogueira, L., & Crosland, M. 2014. Sexually transmitted diseases among psychiatric patients in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 18(1), 13-20.
- Thomas, C., Bartlett, A., & Mezey, G. 1995. The extent and effects of violence among psychiatric inpatients. *Psychiatric Bulletin*, 19, 600-604.
- Thompson, R., Lewis, T., Neilson, E., English, D., Litrownik, A., Margolis, B., . . . Dubowitz, H. 2017. Child Maltreatment and Risky Sexual Behavior: Indirect Effects Through Trauma Symptoms and Substance Use. *Child Maltreatment*, 22(1), 10(5), 1-11.
- Valente, S. 2017. Managing Professional and Nurse–Patient Relationship Boundaries in Mental Health. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services*, 55(1), 45-51.
- van Nierop, M., van Os, J., Gunther, N., van Zelst, C., de Graaf, R., ten Have, M., . . . van Winkel, R. 2014. Does social defeat mediate the association between childhood trauma and psychosis? Evidence from the NEMESIS-2 Study. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 129(6), 467-476.
- Varshney, M., Mahapatra, A., Krishnan, V., Gupta, R., & Deb, K. 2016. Violence and mental illness: what is the true story? *Journal of Epidemiology and Community Health*, 70(3), 223-225.
- Vega, V. 2015. *Evaluación de la conducta sexual en pacientes con trastorno mental severo en el área de Re-sidencia del Instituto de Neurociencias del año 2015*. Guayaquil. Universidad de Guayaquil.
- Warner, J., Pitts, N., Crawford, M., Serfaty, M., Prabhakaran, Prasmood, & Amin, R. 2004. Sexual activity among patients in psychiatric hospital wards. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 97, 477-479.
- Welch, S., & Clements, G. 1996. Development of a Policy on Sexuality for Hospitalized Chronic Psychiatric Patients. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 41, 273-279.
- Wright, E., McCabe, H., & Kooreman, H. 2012. Institutional Capacity to Respond to the Ethical Challenges of Patient Sexual Expression in State Psychiatric Hospitals in the United States. *Journal of Ethics in Mental Health*, 7, 1-5.
- Ziliotto, G., & Marcolan, J. 2013. Percepção de trabalhadores de enfermagem sobre sexualidade de portadores de transtornos mentais. *Acta Paulista de Enfermagem*, 26(1), 86-92.
- Ziliotto, G., & Marcolan, J. 2014. Representações sociais da enfermagem: a sexualidade de portadores de transtornos mentais. *Revista Mineira de Enfermagem*, 18(4), 966-972.
- Tiwana, R., McDonald, S., & Völlm, B. 2016. Policies on sexual expression in forensic psychiatric settings in different European countries. *International Journal of Mental Health Systems*,

Artículo de Revisión**Análisis del potencial genotóxico y carcinógeno asociado a los cigarrillos electrónicos****Genotoxic and carcinogenic potential associated with electronic cigarettes**

Isaac Armendáriz-Castillo¹, Santiago Guerrero¹, Antonella Vera-Guapi¹, Tiffany Cevallos-Vilatuña¹, Jennyfer M. García-Cárdenas¹, Patricia Guevara-Ramírez¹, Andrés López-Cortés¹, Andy Pérez-Villa¹, Verónica Yumiceba¹, Ana K. Zambrano¹, Paola E. Leone¹, César Paz-y-Miño¹.

¹ Centro de Investigación Genética y Genómica, Facultad de Ciencias de la Salud Eugenio Espejo, Universidad UTE, Quito, 170147, Ecuador.

*cesar.pazymino@ute.edu.ec

Doi: 10.26807/remcb.v1i41.157

Recibido 23-07-2019; Aceptado 15-05-2020

RESUMEN.- Diferentes estudios que comparan riesgos a la salud asociados a los usos de cigarrillos electrónicos y convencionales, se enfocan principalmente en compuesto químicos en común entre ambos sistemas. Por lo tanto, realizamos una revisión de compuestos químicos exclusivos de cigarrillos electrónicos. Los criterios de selección incluyeron artículos que reporten composición química y riesgos asociados a la salud, sin conflictos de interés. Todos los compuestos químicos fueron clasificados según el código del “Chemical Abstracts Service” para sustancias químicas. Un total de 57 compuestos fueron identificados en cigarrillos electrónicos. Para analizar los efectos carcinogénicos, un set de genes, previamente reportados como desregulados en el epitelio oral de usuarios de cigarrillos electrónicos, fueron genómicamente analizados en 32 estudios del “PanCancer Atlas”. Los riesgos a la salud más importantes incluyen: irritación de tracto respiratorio, ojos y piel con un 50% de incidencia. Los tipos de cáncer con mayor riesgo identificados fueron: ovario, útero, vejiga, pulmón, esófago y estómago. A pesar de ser considerados como menos dañinos que los cigarrillos convencionales, el uso de cigarrillos electrónicos no es recomendado para ningún usuario, debido a falta de evidencia experimental.

PALABRAS CLAVE: cigarrillos, electrónicos, genotóxicos, carcinógeno.

ABSTRACT.- Many studies, comparing the health associated risks of electronic cigarettes with conventional cigarettes, focus mainly on the common chemical compounds found between them. We therefore reviewed chemical compounds found exclusively in electronic cigarettes and describe their genotoxic and carcinogenic effects. The eligibility criteria included articles related exclusively to conventional and electronic cigarettes chemical composition. Articles which reported to be financed from cigarettes industries were excluded. Chemical compounds reported in the selected studies from conventional and electronic cigarettes were tabulated using the Chemical Abstracts Service registry number for chemical substances information. A total of 57 chemical compounds were exclusively reported to be present in electronic cigarettes. To further analyze e-cigarette carcinogenic effects, a gene set, previously reported to be deregulated in the oral epithelium of e-cigarettes users, was genomically analyzed in 32 PanCancer Atlas Studies. The crucial health risks identified were: eye, skin and respiratory tract irritation, with almost 50% of incidence. The main cancer risks associated with e-cigarettes were: ovarian, uterine, bladder, lung, esophageal and stomach carcinomas and adenocarcinomas. Despite being considered as less harmful for human health, the use of these devices is not recommended for first time users and it is considered hazardous for dual users.

KEY WORDS: electronics, cigarettes, genotoxic, carcinogenic

¿QUÉ SON LOS CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS?

Los cigarrillos electrónicos están disponibles comercialmente hace una década (Pisinger y Døssing 2014). Consisten de un atomizador dependiente de batería el cual calienta una esencia con o sin nicotina y lo convierte en vapor de agua (Pisinger y Døssing 2014). De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud el número de estudiantes de colegios y universidades que usan estos dispositivos ha aumentado en un 80% en el último año (Editorial 2019).

¿HAY ESTUDIOS DEDICADOS A ENTENDER LOS RIESGOS DE LOS CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS?

Diferentes estudios a escala global han analizado los riesgos asociados a los compuestos químicos encontrados en cigarrillos electrónicos y convencionales (Glantz 2014). Sin embargo, 34% de estos estudios presentan conflictos de interés, relacionados específicamente a ser financiados por empresas productoras de cigarrillos electrónicos o convencionales (Pisinger 2015).

A pesar del incremento del uso de estos dispositivos, ningún estudio ha analizado los riesgos asociados con los compuestos químicos que son exclusivos de los cigarrillos electrónicos.

EFFECTOS GENOTÓXICOS DE LOS CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS

La investigación en los efectos genotóxicos y carcinógenos de los cigarrillos electrónicos se ha enfocado principalmente en la composición de las esencias y el calentamiento del atomizador (Pisinger 2015). Actualmente, se conoce que la mayoría de esencias están compuestas de: glicol, nicotina, material particulado, metales, hidrocarburos aromáticos poli cíclicos (HAPs), nitrosaminas específicas del tabaco (NETs), carbonilos, compuestos orgánicos volátiles (COVs) y fenoles (Pisinger 2015).

A la fecha, pocos estudios sin conflictos de interés han asociado las esencias y el vapor de los cigarrillos electrónicos con los siguientes efectos a la salud: genotóxicos y citotóxicos a las células humanas (Bahl et al. 2012; Williams et al. 2013), carcinogénicos (Kim y Shin 2013), problemas cardiovasculares (Tsikrika et al., 2014) y defectos pulmonares (Vardavas et al. 2012). Adicionalmente, muchos estudios utilizan como referencia al cigarrillo convencional para estudiar los efectos asociados de los cigarrillos electrónicos

(Pisinger y Døssing 2014). Recientemente, usando secuenciación de ARN mensajero (ARNm) del epitelio oral de usuarios de cigarrillos electrónicos, se publicó una lista de genes desregulados en estos usuarios (Tommasi et al. 2019).

INVESTIGANDO LOS CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS

Se realizó una búsqueda de artículos en PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), donde se incluyeron artículos relacionados exclusivamente a reportar compuestos químicos identificados en cigarrillos electrónicos y excluyendo del análisis artículos con conflictos de interés.

Para filtrar los compuestos químicos exclusivos de los cigarrillos electrónicos, se añadió a la búsqueda compuestos reportados en cigarrillos convencionales. Se utilizaron 82 compuestos de (c), 98 de (Talhout et al. 2011), 50 de (Rustemeier et al. 2002), 30 de (Roemer et al. 2004), 95 de (U.S. Department of Health and Human Services. 2010) y 94 de (Fowles y Bates 2000). De igual manera, se identificaron compuestos químicos reportados solo en cigarrillos electrónicos, 29 de (Cheng 2014), 32 de (Pankow et al. 2018), 13 de (Hahn et al. 2014) y 61 de (Aszyk et al. 2018).

La búsqueda bibliográfica resultó en la identificación de 234 compuestos químicos, de los cuales, 150 fueron reportados en cigarrillos convencionales y 84 en los electrónicos. Mediante un diagrama de Venn (Figura 1) se compara ambas listas, y se filtraron 57 compuestos químicos exclusivos de los cigarrillos electrónicos y 27 compuestos en común con los convencionales.

CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA DE LOS COMPUESTOS

Para filtrar los compuestos químicos en común entre cigarrillos electrónicos y convencionales y solo enfocarse en los que sean exclusivos de los electrónicos, todos los compuestos químicos fueron clasificados de acuerdo al número de registro CAS (Chemical Abstract Service) (CAS 2019). De igual manera, todos los compuestos se clasificaron de acuerdo a potencial carcinógeno según la OMS (WHO 2019) como: grupo 1 (carcinógenos en humanos), grupo 2A (probablemente carcinógeno en humanos), grupo 2B (posiblemente carcinógeno en humanos), grupo 3 (no carcinógeno) y grupo 4 (probablemente no carcinógeno). Los compuestos no clasificados en ningún grupo se identificaron como "i.e" ("inadequate evidence").

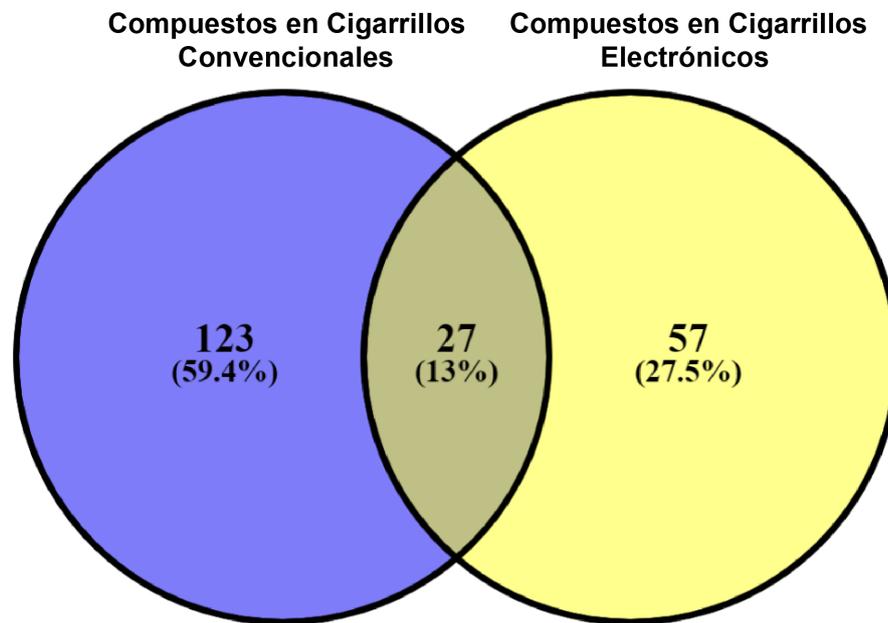


Figura 2. Diagrama de Venn mostrando el número de compuestos químicos únicos del cigarrillo electrónico y en común con el convencional.

RIESGOS ASOCIADOS A LA SALUD DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS DE CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS

Para cada compuesto se investigaron los efectos a la salud reportados en humanos y se encontraron los siguientes: irritación de ojos, piel y tracto respiratorio, efectos leves, problemas cardiovasculares, carcinógenos, neurotóxicos, dañinos en modelos animales, citotóxicos, problemas reproductivos y de desarrollo, irritación sistémica de órganos y efectos desconocidos a la salud.

La Figura 2, muestra el porcentaje de riesgos asociados a la salud de compuestos químicos exclusivos de cigarrillos electrónicos ($n=57$) y también de los compuestos en común con los cigarrillos convencionales ($n=27$). De este análisis, 3 riesgos a la salud son los más prevalentes: irritación de ojos, piel y tracto respiratorio (50% de incidencia), mientras que efectos cardiovasculares, carcinógenos y neurotóxicos, también se reportan en cigarrillos electrónicos, lo cual, concuerda con lo reportados por el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos, como

los efectos más frecuentes de uso de cigarrillos (CDC 2018). Adicionalmente, hay un 11% de compuestos cuyos efectos a la salud humana no han sido reportados y 7,7% de compuestos probados como dañinos en modelos animales. Finalmente, los efectos citotóxicos (13%) de los cigarrillos electrónicos son más altos que los reportados en cigarrillos convencionales (3%).

El 11% de compuestos de cigarrillos electrónicos, cuyos efectos en la salud son desconocidos (Figura 2A), son encontrados principalmente en las esencias utilizadas; por ejemplo, la etil vanilina es un componente principal de las esencias (Tierney et al. 2016). Se ha reportado que la vanilina y el cinemaldehído en las esencias de cigarrillos electrónicos, están relacionadas con toxicidad en células animales y humanas (Sassano et al. 2018). Muchos de los compuestos de las esencias, generalmente se han reportado como saludables al ser digeridos, pero poco se sabe de los efectos al ser inhalados en vapor (Aszyk et al. 2017). La mayoría de los fabricantes de esencias no incluyen toda la composición real en las etiquetas de las mismas, a pesar de conocer que algunos de estos compuestos son citotóxicos (Varlet 2015).

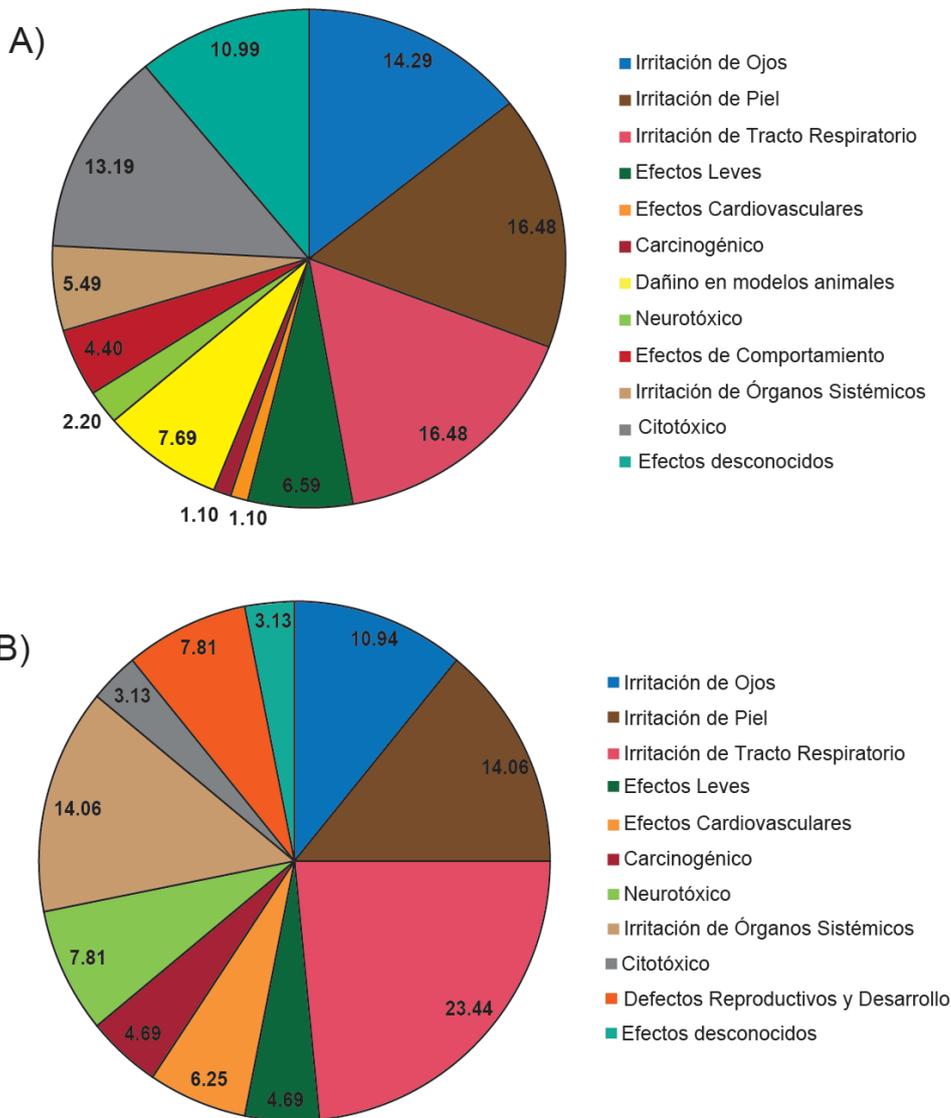


Figura 2. A) Riesgos a la salud asociados a los compuestos químicos de los cigarrillos electrónicos. B) Riesgos a la salud asociados a los compuestos químicos en común entre el cigarrillo electrónico y convencional

Utilizando el ensayo MTT (3-(4,5-dimethylthiazol2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide), algunos autores han reportado citotoxicidad en las esencias de cigarrillos electrónicos (Behar et al. 2019). Un estudio reciente, encontró que los efectos del uso de cigarrillos electrónicos causa una respuesta inflamatoria en las células pulmonares, similar a la reportada por el uso de cigarrillo convencional y pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva (Scott et al. 2018).

Estos hallazgos concuerdan con otro estudio, el cual sugiere que los principales componentes de las

esencias como el glicol y glicerol, al ser vaporizadas causan irritación en el tracto respiratorio (Callahan-Lyon 2014). Otra investigación (Czoli et al. 2019), reporta riesgos a la salud similares a los reportados en este artículo, en usuarios de cigarrillos electrónicos en Canadá.

ANÁLISIS GENÓMICO DE GENES ALTERADOS EN USUARIOS DE CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS

Una lista de 878 genes desregulados en usuarios de cigarrillos electrónicos (Tommasi et al. 2019) fue genómicamente analizada en la base de datos del

“cBioPortal for Cancer Genomics” (<https://www.cbioportal.org/>) (Cerami et al. 2012; Gao et al. 2013) y se seleccionaron los 32 estudios del “PanCancer Atlas” (Hoadley et al. 2018). Se identificaron las siguientes mutaciones: “amplifications, deep deletions, fusions and inframe, truncating and missense driver and passenger (D+P) mutations”.

Todas las mutaciones y alteraciones de cada estudio de cáncer encontradas en el “cBioPortal” fueron descargadas, tabuladas y clasificadas (Tabla 1). La Figura 3, muestra un gráfico de barras que resume todas las alteraciones genéticas normalizadas en los 878 genes desregulados en el epitelio oral de usuarios de cigarrillos electrónicos en los 32 estudios del “PanCancer Atlas”.

Las principales mutaciones fueron encontradas en cánceres de ovario, útero, pulmón, vejiga, esófago y estómago. Esto es una evidencia de como un set de genes desregulados en usuarios de cigarrillos electrónicos pueden causar alteraciones genéticas, lo cual puede resultar en una mayor predisposición de estos usuarios a desarrollar un tipo específico de cáncer.

CÁNCER Y CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS

A pesar de ser reportados como “más saludables” que los cigarrillos convencionales, los compuestos químicos de los cigarrillos electrónicos inducen efectos tóxicos en la salud humana, que pueden causar alteraciones genéticas que induzcan el desarrollo de cáncer en modelos animales (Canistro et al. 2017). Algunos carcinógenos ya conocidos como el “safrole” y “N’-Nitrosornicotina” han sido identificados en las esencias y en la saliva de usuarios de cigarrillos electrónicos respectivamente (Bode y Dong 2015; Bustamante et al. 2018).

La Figura 3 y Tabla 1, demuestran cómo estas alteraciones pueden conducir al desarrollo de diferentes tipos de cáncer. Los tipos de cáncer más alterados (útero y ovario), concuerdan con los reportados en cigarrillos convencionales (Felix et al. 2014). El riesgo de cáncer reportado en cigarrillos convencionales ha demostrado ser similar en usuarios de cigarrillos electrónicos (Simon 2015), por lo tanto, no se puede clasificar como “más saludable”, para usuarios primerizos, usuarios duales o fumadores de cigarrillo convencional que quieran dejar de fumar. Ya que el riesgo de desarrollar cáncer es similar.

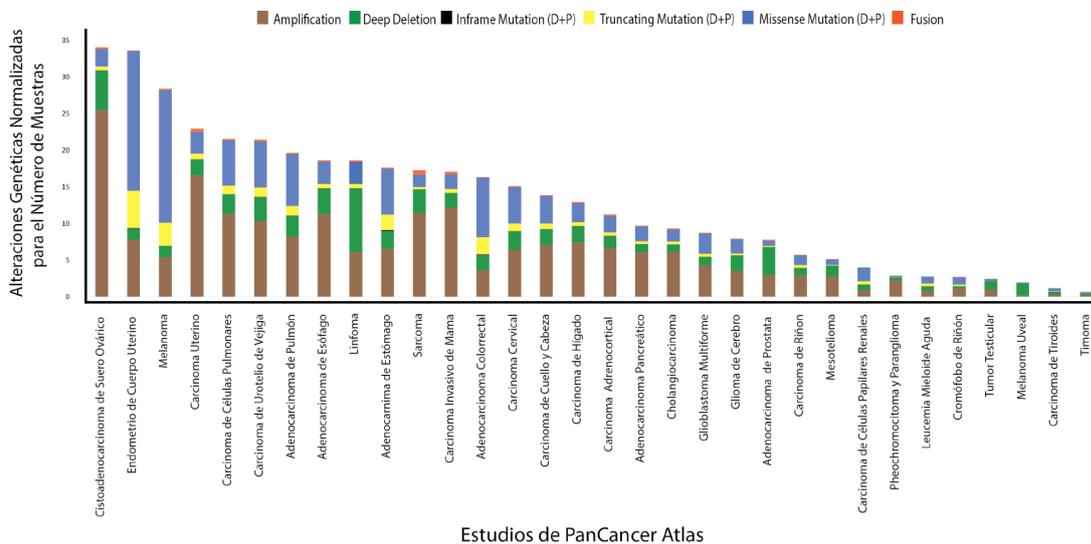


Figura 3. Gráfico de barras, que demuestra el número de mutaciones en estudios de cáncer de un set de 878 genes desregulados en usuarios de cigarrillos electrónicos.

Tabla 1 Variación en el número de copias y mutaciones de los 878 genes desregulados en usuarios de cigarrillos electrónicos en 32 estudios del PanCancer Atlas

Estudio de PanCancer	n	Amplification	Deep Deletion	Inframe Mutation (D+P)	Truncating Mutation (D+P)	Missense Mutation (D+P)	Fusion
Endometrio de Cuerpo Uterino	509	3958	772	51	2599	9693	33
Carcinoma Invasivo de Mama	996	12053	2042	21	546	2013	319
Cistoadenocarcinoma de Suero Ovárico	398	10147	2151	11	197	944	104
Melanoma	363	1960	556	7	1142	6579	62
Carcinoma de Células Pulmonares	469	5296	1252	16	548	2904	81
Adenocarcinoma de Pulmón	507	4157	1446	11	686	3570	92
Carcinoma de Urotelio de Vejiga	406	4215	1317	8	519	2551	88
Adenocarcinoma Colorrectal	526	1908	1089	53	1224	4277	30
Adenocarcinoma de Estómago	434	2841	1048	58	915	2746	46
Carcinoma de Cuello y Cabeza	496	3504	1082	13	361	1857	52
Carcinoma de Hígado	353	2615	793	7	171	930	52
Carcinoma Cervical	278	1792	695	7	283	1386	33
Glioma de Cerebro	507	1790	1072	11	111	986	45
Sarcoma	232	2657	753	0	65	391	135
Adenocarcinoma de Prostata	488	1462	1851	2	69	336	77
Adenocarcinoma de Esófago	182	2049	637	9	113	544	37
Glioblastoma Multiforme	378	1621	441	8	153	1049	28
Carcinoma de Riñón	354	1022	363	10	145	470	16
Adenocarcinoma Pancreático	175	1061	199	4	65	355	12
Carcinosarcoma Uterino	56	929	123	0	42	165	26
Carcinoma de Células Papilares Renales	274	238	213	8	128	497	9
Carcinoma Adrenocortical	89	594	145	4	39	201	17
Linfoma	37	224	322	2	22	111	3
Carcinoma de Tiroides	482	148	192	0	36	192	5
Leucemia Mieloide Aguda	190	138	136	0	68	179	0
Pheochromocitoma y Paraganglioma	161	360	67	0	5	24	5
Mesotelioma	82	224	124	2	8	57	9
Tumor Testicular	144	133	175	1	2	37	5
Cholangiocarcinoma	36	221	35	1	15	59	5
Cromóforo de Riñón	65	74	21	0	13	65	3
Melanoma Uveal	80	15	129	0	1	10	0
Timoma	123	27	33	1	4	14	0

n: número de pacientes por estudio; D+P: Mutaciones "Driver" y "passenger"

EFFECTOS DE COMPORTAMIENTO Y DESVENTAJAS DEL USO DE CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS

Algunos efectos de comportamiento relacionados a la adicción a la nicotina son usuales en usuarios primerizos de cigarrillos electrónicos; se ha reportado trazas de nicotina en esencias cuyas etiquetas dicen ser libres de la misma (Raymond et al. 2018). Esto puede causar que usuarios primerizos, generalmente adolescentes, necesiten incrementar la concentración de nicotina y eventualmente pasar a usar cigarrillos convencionales (Goldenson 2017). En los últimos años, el uso de cigarrillos electrónicos ha aumentado, su uso se promociona como una alternativa a dejar de fumar (Daniluk et

al. 2018). Sin embargo, debido a la alta publicidad e incremento en su tecnología, los cigarrillos electrónicos han llegado a usuarios que nunca antes han fumado, los cuales al ser encuestados, no conocen de ningún riesgo asociado a la salud por parte de estos dispositivos (Daniluk et al. 2018).

Los usuarios duales, es decir fumadores de ambos sistemas electrónicos y convencionales, son un grupo de alto riesgo. Estos usuarios pueden generar un mayor grado de adicción a la nicotina y a efectos asociados a la salud (Lee et al. 2018). Una investigación enfocada en biomarcadores por respuesta a tóxicos como, monóxido de carbono, 1-hidroxipireno y 4-metil-nitrosamina-1-(3-

pyridyl)-1-butanol, demostró que los usuarios duales presentan una alta expresión de biomarcadores comparados a otros usuarios (Czoli et al. 2018).

RECOMENDACIONES RESPECTO AL USO DE CIGARRILLOS ELECTRÓNICOS

A pesar de que los cigarrillos electrónicos presentan menos porcentaje de riesgos a la salud que los convencionales, no se puede concluir que su uso es más saludable. Hay diferentes efectos citotóxicos y genotóxicos aún desconocidos en compuestos químicos encontrados en las esencias. Un análisis bioinformático evidencia como un grupo de 878 genes desregulados en usuarios de cigarrillos electrónicos, pueden inducir a una alta tendencia a desarrollar diferentes tipos de cáncer, algunos similares a los que desarrollan usuarios de cigarrillos convencionales.

La adicción a la nicotina también puede incrementarse con el uso de cigarrillos electrónicos, debido a que las esencias presentan inexactitudes en la concentración de nicotina reportada en las etiquetas. Además, los usuarios duales se reportan como un grupo de alto riesgo, al estar expuestos, no solo a mayor concentración de nicotina, sino al doble de riesgos a la salud asociados. Finalmente, debido a la falta de evidencia experimental relacionada al uso de cigarrillos electrónicos, su uso no se debe recomendar como recreativo, para ningún usuario, especialmente adolescentes y jóvenes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aszyk J, Kubica P, Namieśnik J, Kot-Wasik A, y Wasik A. 2018. New approach for e-cigarette aerosol collection by an original automatic aerosol generator utilizing melt-blown non-woven fabric, *Analytica Chimica Acta* 1038 67–78, <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2018.08.015>

Aszyk J, Wozniak M, K, Kubica P, Kot-Wasik A, Namiesnik J, y Wasik A. 2017. Comprehensive determination of flavouring additives and nicotine in e-cigarette refill solutions, Part II: Gas-chromatography-mass spectrometry analysis, *Journal of Chromatography, A* 1517 156–164, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.08.057>

Bahl V, Lin S, Xu N, Davis B, Wang Y, y Talbot P. 2012. Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models, *Reproductive Toxicology (Elmsford N,Y)* 34(4) 529–537, <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.08.001>

Behar R, Z, Wang Y, y Talbot P. 2018. Comparing the cytotoxicity of electronic cigarette fluids aerosols and solvents, *Tobacco Control* 27(3) 325–333, <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2016-053472>

Bode A, M, y Dong Z. (2015). Toxic phytochemicals and their potential risks for human cancer, *Cancer Prevention Research (Philadelphia Pa.)* 8(1) 1–8, <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0160>

Bustamante G, Ma B, Yakovlev G, Yershova K, Le C, Jensen J, ... Stepanov I. 2018. Presence of the Carcinogen N'-Nitrosornicotine in Saliva of E-cigarette Users, *Chemical Research in Toxicology* 31(8) 731–738, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.8b00089>

Callahan-Lyon P. 2014. *Electronic cigarettes: Human health effects*, *Tobacco control* (Vol, 23 Suppl 2). <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2013-051470>

Canistro D, Vivarelli F, Cirillo S, Marquillas C, B, Buschini A, Lazzaretti M, ... Paolini M. 2017. E-cigarettes induce toxicological effects that can raise the cancer risk, *Scientific Reports* 7(1) 2028, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02317-8>

CAS. 2019. Chemical Abstracts Service, Retrieved from <https://www.cas.org/>

CDC. 2018. Health Effects of Cigarette Smoking, Retrieved from https://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/fact_sheets/health_effects/effects_cig_smoking/index.htm

Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross B, E, Sumer S, O, Aksoy B, A, ... Schultz N. 2012. The cBio Cancer Genomics Portal: An Open Platform for Exploring Multidimensional Cancer Genomics Data, *Cancer Discovery* 2(5) 401 LP-404, <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0095>

Cheng T. 2014. Chemical evaluation of electronic cigarettes, *Tobacco Control* 23 Suppl 2(suppl 2) ii11-7, <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2013-051482>

Czoli C, D, Fong G, T, Goniewicz M, L, y Hammond D. 2018. Biomarkers of exposure among “dual users” of tobacco cigarettes and electronic cigarettes in Canada, *Nicotine y Tobacco Research : Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, <https://doi.org/10.1093/ntr/nty174>

- Czoli C, D, Goniewicz M, L, Palumbo M, Leigh N, White C, M, y Hammond D. 2019. Identification of flavouring chemicals and potential toxicants in e-cigarette products in Ontario Canada, *Canadian Journal of Public Health*, <https://doi.org/10.17269/s41997-019-00208-1>
- Daniluk A, Gawlikowska-Sroka A, Stepien-Slodkowska M, Dzieciolowska-Baran E, y Michnik K. 2018. Electronic Cigarettes and Awareness of Their Health Effects, *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1039 1–8, https://doi.org/10.1007/5584_2017_83
- Editorial. 2019. Enlighten e-cigarettes, *Nature Medicine* 25(4) 531–531, <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0431-5>
- Felix A, S, Yang H, P, Gierach G, L, Park Y, y Brinton L, A. 2014. Cigarette smoking and endometrial carcinoma risk: the role of effect modification and tumor heterogeneity, *Cancer Causes y Control : CCC* 25(4) 479–489, <https://doi.org/10.1007/s10552-014-0350-1>
- Gao J, Aksoy B, A, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer S, O, ... Schultz N. 2013. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal, *Science Signaling* 6(269) p11, <https://doi.org/10.1126/scisignal.2004088>
- Glantz S. 2014. 129 public health and medical authorities from 31 countries write WHO DG Chan urging evidence-based approach to ecigs, Retrieved February 1 2019 from <https://tobacco.ucsf.edu/129-public-health-and-medical-authorities-31-countries-write-who-dg-chan-urging-evidence-based-approach-ecigs%0D>
- Goldenson N, I, Leventhal A, M, Stone M, D, McConnell R, S, y Barrington-Trimis J, L. 2017. Associations of Electronic Cigarette Nicotine Concentration With Subsequent Cigarette Smoking and Vaping Levels in Adolescents, *JAMA Pediatrics* 171(12) 1192–1199, <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2017.3209>
- Hahn J, Monakhova Y, B, Hengen J, Kohl-Himmelseher M, Schüssler J, Hahn H, ... Lachenmeier D, W. 2014. Electronic cigarettes: overview of chemical composition and exposure estimation, *Tobacco Induced Diseases* 12(1) 23, <https://doi.org/10.1186/s12971-014-0023-6>
- Hoadley K, A, Yau C, Hinoue T, Wolf D, M, Lazar A, J, Drill E, ... Laird P, W. 2018. Cell-of-Origin Patterns Dominate the Molecular Classification of 10000 Tumors from 33 Types of Cancer, *Cell* 173(2) 291–304,e6, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.022>
- Hoffmann D, y Hoffmann I. 1998. Letters to the Editor - Tobacco smoke components, *Beiträge Zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research* 18(1) 49–52, <https://doi.org/10.2478/cttr-2013-0668>
- Hua M, Omaiye E, E, Luo W, McWhirter K, J, Pankow J, F, y Talbot P. 2019. Identification of Cytotoxic Flavor Chemicals in Top-Selling Electronic Cigarette Refill Fluids, *Scientific Reports* 9(1) 2782, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38978-w>
- Jefferson Fowles Michael Bates D, N. 2000. *The Chemical Constituents in Cigarettes and Cigarette Smoke: Priorities for Harm Reduction*. (E, K, S, C, Epidemiology and Toxicology Group Ed.). Porirua New Zealand, Retrieved from https://books.google.com/ec/books/about/The_Chemical_Constituents_in_Cigarettes.html?id=LJKYnQEACAAJ_yredir_esc=y
- Kim H,-J, y Shin H,-S. 2013. Determination of tobacco-specific nitrosamines in replacement liquids of electronic cigarettes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography, A* 1291 48–55, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.035>
- Lee A, S, Hart J, L, Walker K, L, Keith R, J, y Ridner S, L. 2018. Dual Users and Electronic Cigarette Only Users: Consumption and Characteristics, *International Journal of Healthcare and Medical Sciences* 4(6) 111–116,
- Pankow J, F, Kim K, Luo W, y McWhirter K, J. 2018. Gas/Particle Partitioning Constants of Nicotine Selected Toxicants and Flavor Chemicals in Solutions of 50/50 Propylene Glycol/Glycerol As Used in Electronic Cigarettes, *Chemical Research in Toxicology* 31(9) 985–990, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.8b00178>
- Pisinger C. 2015. *A systematic review of health effects of Electronic Cigarettes*, Retrieved from https://www.who.int/tobacco/industry/product_regulation/BackgroundPapersENDS3_4November-.pdf

- Pisinger C, y Døssing M. 2014. A systematic review of health effects of electronic cigarettes, *Preventive Medicine* 69 248–260, <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2014.10.009>
- Raymond B, H, Collette-Merrill K, Harrison R, G, Jarvis S, y Rasmussen R, J. 2018. The Nicotine Content of a Sample of E-cigarette Liquid Manufactured in the United States, *Journal of Addiction Medicine* 12(2) 127–131, <https://doi.org/10.1097/ADM.0000000000000376>
- Roemer E, Stabbert R, Rustemeier K, Veltel D, , Meisgen T, , Reininghaus W, ... Podraza K, . 2004. Chemical composition cytotoxicity and mutagenicity of smoke from US commercial and reference cigarettes smoked under two sets of machine smoking conditions, *Toxicology* 195(1) 31–52, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2003.08.006>
- Rustemeier K, Stabbert R, Haussmann H,-J, Roemer E, y Carmines E, . 2002. Evaluation of the potential effects of ingredients added to cigarettes, Part 2: Chemical composition of mainstream smoke, *Food and Chemical Toxicology* 40(1) 93–104, [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(01\)00085-0](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(01)00085-0)
- Sassano M, F, Davis E, S, Keating J, E, Zorn B, T, Kochar T, K, Wolfgang M, C, ... Tarran R. 2018. Evaluation of e-liquid toxicity using an open-source high-throughput screening assay, *PLoS Biology* 16(3) e2003904, <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003904>
- Scott A, Lugg S, T, Aldridge K, Lewis K, E, Bowden A, Mahida R, Y, ... Thickett D, R. 2018. Pro-inflammatory effects of e-cigarette vapour condensate on human alveolar macrophages, *Thorax* 73(12) 1161 LP-1169, <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-211663>
- Simon S. 2015. American Cancer Society, Retrieved from <https://www.cancer.org/latest-news/study-smoking-causes-almost-half-of-deaths-from-12-cancer-types.html>
- Talhout R, Schulz T, Florek E, van Benthem J, Wester P, y Opperhuizen A. 2011. Hazardous compounds in tobacco smoke, *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8(2) 613–628, <https://doi.org/10.3390/ijerph8020613>
- Tierney P, A, Karpinski C, D, Brown J, E, Luo W, y Pankow J, F. 2016. Flavour chemicals in electronic cigarette fluids, *Tobacco Control* 25(e1) e10 LP-e15, <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2014-052175>
- Tommasi S, Caliri A, Caceres A, Moreno D, Li M, Chen Y, ... Besaratinia A. 2019. Dereglulation of Biologically Significant Genes and Associated Molecular Pathways in the Oral Epithelium of Electronic Cigarette Users, *International Journal of Molecular Sciences* 20(3) 738, <https://doi.org/10.3390/ijms20030738>
- Tsikrika S, Vakali S, Gennimata S, A, Palamidis A, Kaltsakas G, Koulouris N, y Gratziou C. 2014. Short term use of an e-cig: influence on clinical symptoms vital signs and eCO levels, *Tobacco Induced Diseases*, <https://doi.org/10.1186/1617-9625-12-S1-A30>
- U,S, Department of Health and Human Services. 2010. *How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease, How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease: A Report of the Surgeon General*, Centers for Disease Control and Prevention (US). Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21452462>
- Vardavas C, I, Anagnostopoulos N, Kougias M, Evangelopoulou V, Connolly G, N, y Behrakis P, K. 2012. Short-term pulmonary effects of using an electronic cigarette: impact on respiratory flow resistance impedance and exhaled nitric oxide, *Chest* 141(6) 1400–1406, <https://doi.org/10.1378/chest.11-2443>
- Varlet V, Farsalinos K, Augsburger M, Thomas A, y Etter J,-F. 2015. Toxicity assessment of refill liquids for electronic cigarettes, *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12(5) 4796–4815, <https://doi.org/10.3390/ijerph120504796>
- WHO. 2019. Monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans, Retrieved from <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>
- Williams M, Villarreal A, Bozhilov K, Lin S, y Talbot P. 2013. Metal and silicate particles including nanoparticles are present in electronic cigarette cartomizer fluid and aerosol, *PLoS One* 8(3) e57987, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057987>

Artículo de Revisión

Biological control of slugs with the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* Control biológico de babosas con el nemátodo *rhabditido* *Phasmarhabditis hermaphrodita*

Aníbal F. Córdor Golec¹

¹ Wageningen University. Organic Plant Production. The Netherlands

*anibalfcg@yahoo.com

Doi: 10.26807/remcb.v1i41.220

Recibido 5-10-2019; Aceptado 10-05-2020

RESUMEN.- Esta revisión literaria se basa en el control biológico de babosas usando el nemátodo *Phasmarhabditis hermaphrodita*. Se describe la efectividad y modo de acción del nematodo según el ambiente. Además de su método de aplicación y dosis, se compara con molusquicidas químicos y su asociación a la bacteria *Moraxella osloensis*.

P. hermaphrodita prefiere condiciones húmedas de suelo y actúa en babosas en estado juvenil de la especie *Deroceras*. Las aplicaciones parciales del nemátodo son menos costosas y deberían hacerse en lugares donde las babosas descansan. Existen otras especies de nemátodos controladores, no siendo efectivas para el control de babosas. Se requiere mayor investigación para probar en que momento actúa el nemátodo *P. hermaphrodita* pues no ha sido tan efectivo para el control de otras especies de babosas.

PALABRAS CLAVES: control biológico, nemátodo rhabditido *Phasmarhabditis hermaphrodita*, babosa *Deroceras reticulatum*, cultivos hortícolas, bacteria *Moraxella osloensis*.

ABSTRACT.- This literature review is based on the biological control of slugs using the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. It describes effectiveness and mode of action according to the environment. The method of application and doses compared to chemical molluscicides and the bacteria *Moraxella osloensis* is also described.

P. hermaphrodita seems to prefer soil moisture conditions and infect young slugs of the *Deroceras* species. Partial nematode applications are less expensive and should be done in slug resting areas. Other nematode species exist for slug control, but these are ineffective. More research is still needed to prove when the action stage of the nematode *P. hermaphrodita* is, because it has not been proven as effective for the control of many other slug species.

KEYWORDS: biological control, rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*, slug *Deroceras reticulatum*, horticultural crops, bacterium *Moraxella osloensis*.

INTRODUCTION

Slugs (Mollusca: Gastropoda) are highly problematic pests of floriculture, horticulture, and agriculture in many parts of the world, with *Deroceras reticulatum* generally being the most destructive species (Grewal et al.2001). Horticultural crops commonly damaged by slugs

are ripening strawberries and tomatoes. The underground portions of flowers and ornamentals are bored through and the emerging foliage is shredded (South 1992). Damage in green asparagus is observed because of its long growth period in the same field: its spears are deformed by tiny feeding marks on the growing tips (Ester et al. 2003). In

several crops, the presence of slugs and their faeces results in unmarketable products (Glen et al. 2000; Huiting and Ester, 2001). The most serious losses in agricultural crops due to slug damage occur with winter cereals: grains are hollowed out and potatoes have holes bored through them. Damage also occurs in the early growth stages of sugar beet, oilseed rape, field beans and forage crops (alfalfa, clover, lucerne, kale, cabbage and maize) (South 1992).

The rhabditid nematode, *Phasmarhabditis hermaphrodita*, is capable of infecting and killing a wide range of pest slug species from the families Arionidae, Limacidae, and Milacidae. Nonfeeding third stage (dauer) juveniles enter the shell cavity beneath the dorsal surface of the slug mantle, grow into hermaphrodite adults, and reproduce there. The shell cavity of infected slugs gradually becomes swollen with fluid and their ability to feed is inhibited. After the host slug dies, nematodes reproduce on the host cadaver, eventually producing juveniles that move into soil, where they can infect new hosts (Cross et al. 2001; Wilson et al. 1993). At least two generations of nematodes can be found in the swelling (Wilson et al. 1993).

The nematode is mass-reared in monoxenic liquid culture with the gram-negative bacterium *Moraxella osloensis* in fermenters. The product is available commercially in a water-dispersible formulation which is mixed with water and applied to soil. Plant damage control can be sustained for 5-8 weeks (Cross et al. 2001). In agriculture, a recommended dose is 300,000 nematodes per m² as a treatment for plant protection, as is used with sugar beet plants in the Netherlands (Ester and Geelen 1996).

Experiments with the nematode to control the small slug *Deroceras reticulatum* have showed some good control results. Wilson and Rae (2015) searched Scopus databases and found there to be fewer studies for *P. hermaphrodita* as compared to other entomopathogenic nematodes, and that there was still little knowledge regarding this nematode's biology and ecology. The aim of our work is to review previous papers regarding the effectiveness against slugs of applying *Phasmarhabditis hermaphrodita* to crops. We will then look at field strategies for more efficient slug control, such as how many slug species are controlled in one treatment, how many nematodes are suitable for slug control, and finally, if there is always an obligate action when rearing *P. hermaphrodita* with *Moraxella osloensis*.

DESCRIPTION OF RELEVANT *P. hermaphrodita* METHODOLOGIES FOR SLUG CONTROL

Tan and Grewal (2001) found that the dauer juveniles of *P. hermaphrodita* can be recovered and reproduce in slug cadaver or faeces. This has both negative and positive effects. A negative effect is that nematodes may lose their ability to infect living slugs, usually when used as an inundative biological control agent. On the other hand, the recovery and multiplication of dauer juveniles in nonparasitic conditions enhances nematodes, allowing them persist in the environment despite the lack of a host. In addition, Nermut et al. (2014) and McMillan et al. (2009) found that *P. hermaphrodita* can reproduce on many organic substrates, such as dead insects and vegetable residues. As a result, *P. hermaphrodita* may be suitable for long-term inoculative slug control.

P. hermaphrodita has been shown to infect and kill a wide variety of slugs, not only *Deroceras reticulatum* but also *Deroceras caruanae*, *Arion ater*, *Arion intermedius*, *Arion distinctus*, *Arion silvaticus*, *Tandonia budapestensis* and *Tandonia sowerbi*. All of this was under laboratory bioassays, however, and not enough field experiments exist that have shown effective slug control with this nematode. Slug body size is important for its susceptibility. One option is to apply nematodes when only juvenile slugs are present in the crops, as adults may be resistant (Wilson et al., 1993; Wilson, M and Gaugler, R. 2000). In a bioassay, Wilson et al. (1993), tested *P. hermaphrodita* with a dose of 1.9×10^5 dauer larvae. After 5-day infection period, the differences in mortality between nematode-treated and untreated slugs were highly significant ($P < 0.001$) for *D. reticulatum*, *D. caruanae* and *Arion intermedius*.

Iglesias et al. (2000) carried out a field test in Spain on lettuce using *P. hermaphrodita*, showed in comparison with the use of mini-pellets containing 5% metaldehyde (3 g pellets per m²) and a single dose of nematodes (3×10^9 per ha). Leaf damage caused by slugs was reduced sooner (from the first day following planting) with the pesticide than with the nematodes (which were effective starting the second week following planting). The weight of the lettuce heads and the number of marketable heads was also evaluated, and no significant differences were shown. The number of slugs within the harvested plants was significantly lower with metaldehyde treatment.

In order to reduce nematode dose, Hass et al. (1999) carried out a trial in plots of Chinese cabbage. Nematodes were applied in bands, along plant rows, and in spot applications around individual plants. The researchers concluded that focused (partial) treatments of soil around all plants to be protected from slug damage is a valuable method in reducing the overall nematode dose needed for control. It is a good method for controlling slug damage due to the delay in nematode action, and since a certain amount of slug damage can be tolerated. This was demonstrated with the log time to 50% reduction in slug damage (t_{50}) related to the area treated and the dose applied.

Grewal et al. (2001) mentioned that slugs possess a well-developed homing behaviour, with an ability to locate homing sites or shelters during the day. It was hypothesized that the application of nematodes (*P. hermaphrodita*) to the homing sites may be as effective as overall application to the entire area. This was tested in a bioassay arena, using 0.3×10^6 or 0.6×10^6 infective juveniles (IJs) per m^2 , either to the entire area or only under a 30 by 30-cm roofing shingle that served as an artificial slug shelter. In reducing the number of leaves and leaf area eaten, nematode treatment provided plant protection equal to or better than the metaldehyde treatment. A reduction of 63% in the total number of nematodes required was obtained with the rate 0.6×10^6 IJs per m^2 applied only under the shingles. This means an application of 1.1×10^9 IJs per ha vs the normally required dose of 3×10^9 IJs per ha.

An actual field trial with green asparagus was carried out by Ester *et al.* (2003). Three kinds of treatments were applied: 1 to 4 times during the spear season; doses of slug-parasitic nematodes (Nemaslug) (from 10000 to 600000 nematodes per m^2); salt in doses of 500-4000 kg NaCl; and metaldehyde pellets (0.35 kg a.i. per ha). The percentages of affected and unmarketable spears were evaluated. Satisfactory results were achieved with three applications in rows of 50000 nematodes per m^2 . Salt treatments with 2000 kg per ha (applied twice) or 1000 kg per ha (applied four times) provided significant slug control. Nevertheless, with metaldehyde the lowest percentage of damage was seen in the final harvest periods.

Ester et al. (2003), applied nematodes in a 0.6 m-wide band three times, at a rate of 50000 per m^2 . This proved to be the most protective treatment for brussels sprouts (buttons) against slug damage when compared to treatment with metaldehyde

bait pellets (448 g per ha, scattered by hand) and nematodes (50000 per m^2 , band application), both applied six times. Nematodes also provided a longer period of protection against slugs than metaldehyde when sprout damage was recorded.

Slug activity was quite high along the drill furrow in sugar beets that were grown in a rye cover crop. However, a dosage of 300000 nematodes per m^2 as a furrow treatment provided adequate slug control (Ester and Geelen, 1996). Glen et al. (2000) also found that exposing slugs to 300000 dauer juveniles in boxes for 3 or 5 days resulted in them being killed rapidly, within a few days of exposure.

Speiser and Andermatt (1996) did a field trial in Switzerland, demonstrating that nematodes can be effective for slug control. A pilot experiment (where a mixture of several vegetables and ornamental plants were sown) and an experiment with rape showed reduced leaf damage with the use of *P. hermaphrodita*. In the pilot experiment, the effect of the nematodes was similar to that of the metaldehyde treatment, but the effect was better in the experiment with rape.

Grubisic et al. (2003) carried out a trial in Croatia, where cabbage sown in plastic tunnels showed protection against slugs using *P. hermaphrodita*, and in particular against *D. reticulatum*, which showed significantly better results than a methiocarb treatment. The leaf damage observed at picking time was reduced from the 10th to the 30th day following application. For instance, on the 30th day there was 15% leaf damage with the chemical molluscicide, while damage was less than 5% using the nematode treatment. However, this technique is very restricted due to its high costs. Suitable temperatures for *P. hermaphrodita* growth and efficient slug parasitism were found in the 10 to 21° C range.

By using a dish trial, Kaya (2001) studied the effectiveness of entomopathogenic nematodes against *D. reticulatum* or *Limax marginatus*. The nematode *Heterorhabditis marelatus* had potential for controlling slugs (*D. reticulatum*), since a 100% mortality rate was obtained by introducing 1000 infective juveniles per cm^2 . It did not replicate on the host, however, and the high mortality control in the bioassay system masked the nematode's impact.

The storage stability of *P. hermaphrodita* could limit its shelf life. Grewal and Grewal (2003) carried out a series of experiments indicating that temperatures between 5 to 15 °C were an optimal range for

nematode storage, and that osmotic desiccation in 10% glycerol can increase survival at extreme temperatures (as high as 35 °C or as low as -20 °C). The resistance of osmotically desiccated nematodes to extreme temperature can enable their transport under non-refrigerated conditions, contributing to lower shipping costs.

DISCUSSION

Most of the experiments found were conducted under laboratory conditions or in mini plots. More research in the form of field experiments is needed to show the effectiveness of the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* against the slug *Deroceras reticulatum*. A common practice in field trials is to cover the plot borders with living grass sward and to plant the sensitive vegetables in a central area, such as in the experiments carried out by Iglesias et al. (2001) and Speiser and Andermatt (1996).

As shown in the reference herein cited, slug-parasitic nematodes have provided positive results for the control of slug damage in a wide range of crops in Europe.

P. hermaphrodita is recommended specifically for crops with underground production (green asparagus), high value crops, and for organic horticulture. Good slug control was obtained for brussels sprouts and salad vegetables (e.g. Chinese cabbage, radish, lettuce) (Speiser et al. 2001). *D. reticulatum* control seems to occur at all biological stages, as demonstrated in the plastic box trial carried out by Speiser et al. (2001), where reduced feeding and survival rates were seen, especially with higher nematode doses and a slug weight from 574 to 801 mg.

Under certain field conditions, the typical symptom of a swollen mantle, caused by the nematodes, was not always found, and neither was the effect of rapid death, such as in the experiment of Iglesias et al. (2000). The continued presence of some slugs even after nematode use diminished its preference on the market, especially for controlling slugs in lettuce crops.

According to Speiser and Andermatt (1996) and Iglesias et al. (2000), there were no significant differences between the use of chemical molluscicides and nematodes for slug damage and yields. Applying the biological method for slug control would depend on the development of a low-cost strategy to produce the nematode. Grubisic

et al. (2003) showed that the limiting factor in introducing *P. hermaphrodita* is its high cost. At the nematode treatment rate of 3×10^5 per m², the treatment is 100 times more expensive than a single application of chemical molluscicide (Speiser et al. 2001).

Partial nematode treatments seem to be a good alternative to slug control, since there is a reduction in the dose that must be applied. This is particularly true when slug resting areas can be identified. Ester et al. (2003) showed that control of slugs on asparagus spears was possible when small amounts of nematodes were applied during the critical harvest period. This small dose (50,000 nematodes per m²) is less than that usually recommended to control slugs in Chinese cabbage (300,000 nematodes per m²) mentioned by Wilson et al. (1995). Previously, Speiser and Andermatt (1994) had demonstrated slug damage control with a rate of 1 million nematodes per m² in field Chinese cabbage, cabbage, lettuce and tagetes.

The method of applying nematodes could also affect its effectiveness. Nematodes are thought to have a repellent effect, and slugs avoid resting on soil treated with nematodes (Wilson et al. 1994). Slugs climb up the plants avoiding contact with the parasite (Iglesias et al. 2000). However, Hass et al (1999) found that slugs were not repelled from nematode-treated areas. Slug damage may therefore not be impacted by a repellent effect, and more studies such as this are needed. The effectiveness of *P. hermaphrodita* could depend on soil conditions such moisture. Shallow incorporation of nematodes has proven beneficial in dry soil conditions (Glen et al. 1996).

El-Danasoury and Iglesias-Piñeiro (2017) concluded that by emulating winter climates on field lettuce in Spain, a reduction in slug damage could be observed when using *P. hermaphrodita*.

Due to the restriction on molluscicides use, research on environmentally friendly options is needed. An alternative could be the use of salts, while also observing the negative long-term effects of salt.

Port et al. (2003) monitored slugs on lettuce and Brussel sprout crops. By trapping and taking soil samples and applying different control methods (molluscicide pellets applied in the traditional way and where slugs were detected, as well as treatment with *P. hermaphrodita*). They suggest that growers can only be advised to make rational use of

molluscicides by predicting and detecting slug populations. The ELISA test for slug identification could be relevant in guiding how slug populations should be managed before planting, since all of the alternative treatments described above showed no difference with the traditional use of pellets, and failed to improve slug control. According to McKemey et al. (2006), the ELISA test appeared to be advantageous for identifying slugs.

The effectiveness of other nematode species in slug control has been shown to be limited. Kaya (2001) revealed the inefficiency of other nematodes (such as *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp.) against slugs. His surveys across the United States found that *P. hermaphrodita* was not naturally occurring. The slug species *Deroceras reticulatum* was tested with the nematode *Heterorhabditis marelatus*, and this led to slug mortality but not replication in the host. More scientific research on other slug species controlled by nematodes is needed.

Under laboratory conditions, Speiser and Andermatt (1996) found that the slug *Arion lusitanicus* was not highly sensitive to *P. hermaphrodita*, suggesting that probably slug control might be age or size-dependent. Dorler et al. (2019) did a pot experiment with lettuce and tested the slug *Arion vulgaris*. Metaldehyde, iron-III-phosphate and *P. hermaphrodita* were applied, and no slug herbivory was seen in the nematodes, probably due to slug size and repellence against nematodes. The different water regimes used did have any influence, either. Speiser et al. (2001) found that *A. lusitanicus* was only attacked and killed by nematodes in its early juvenile stages. *P. hermaphrodita* apparently attacked dorsally, through a small opening at the posterior end of the mantle. The larger a slug gets, the more difficult it becomes for nematodes to reach this opening. Frank (1998) mentioned that small *A. lusitanicus* slugs (weighing 60 mg) rest within soil crevices, while larger specimens (970-4490 mg) remain on the soil surface. It could thus be difficult for soil nematodes to infect large *A. lusitanicus* living on the soil surface. *Arion ater* has been reported to be killed by nematodes, but slowly.

Regarding the action of the bacterium living inside *P. hermaphrodita*, it has been found to be associated with several different bacteria rather than with one particular species. However, the nematode's yield in in vitro cultures and its pathogenicity to slugs differs among different species of bacteria.

CONCLUSIONS

- The use of *P. hermaphrodita* at the dauer larvae (infective juvenile) stage against slugs is recommended for horticultural crops such as green asparagus, brussels sprouts, cabbage, or lettuce.
- To reduce costs, focus should be given to slug resting areas for partial nematode applications.
- Nematode application should take place with moist soil conditions.
- Nematodes should be applied when slugs are at their juvenile size, before slugs turn into resistant adults.
- Osmotic nematode desiccation to extreme temperatures could improve its storage stability during transport.
- Cost/benefit and pesticide restrictions should be considered before choosing a slug control method.
- P. hermaphrodita* appeared to be more effective in controlling *Deroceras* slug species than *Arion* slug species.
- Other nematode species, such as *Heterorhabditis* or *Steinernema*, have not proven effective for slug control.
- Moraxella osloensis* is the commonly used bacterium for mass-producing *P. hermaphrodita*.

Acknowledgements

In memory of Dr. Jan Van Benzooijen, for guiding me in organizing certain ideas for this review, and graded it for the course "Fundamental and Applied Biology of Nematodes," during my Master's programme in Plant Sciences in Wageningen University - The Netherlands, in January 2004.

REFERENCES

- Cross JV, Easterbrook AM, Crook, AM, Crook, D, Fitzgerald, JD, Innocenzi, PJ, Jay, CN, Solomon, MG. 2001. Review: natural enemies and biocontrol of pests of strawberry in northern and central Europe. *Biocontrol Science and Technology* 11: 165-216.
- Dörler D, Scheucher A, Zaller J. 2019. Efficacy of chemical and biological slug control measures in response to watering and earthworms. *Scientific Reports* [Internet]. [Cited 2019 Jun 16]; 9: 2954. Available from: <https://www.nature.com/articles/>

s41598-019-39585-5

El-Danasoury H, Iglesias-Piñeira J 2017. Performance of the slug parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* under predicted conditions of winter warming. *Journal of Pesticide Science* 42(2): 62-66.

Ester A, Huiting HF, Molendijk, LPG, Vlaswinkel MET. 2003. The rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* Schneider as a potential biological agent to control field slugs *Deroceras reticulatum* (Muller) in Brussels sprouts. In: Slug and Snail Pests in agriculture, BCPC Symposium Proceedings, Vol. 80. p. 313-318.

Ester A, Geelen PMTM. 1996. Integrated control of slugs in a sugar beet crop growing in a rye cover crop. In: Slug and Snail Pests in agriculture, BCPC Symposium Proceedings, Vol 66, pp. 445-172.

Ester A, van Rozen K, Molendijk LPG. 2003. Field experiments using the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* salt as control measures against slugs in green asparagus. *Crop Protection* 22: 689-695.

Frank T. 1998. The role of different slug species in damage to oilseed rape bordering on sown wildflower strips. *Annals of Applied Biology* 133: 483-493.

Glen DM, Wilson MF, Wiltshire CW. 1989. Effects of seed-bed conditions on slug numbers and damage to winter wheat in a clay soil. *Annals of Applied Biology* 115: 177-190.

Glen DM, Wilson MJ, Hughes L, Cargeeg, P, Hajjar A. 1996. Exploring and exploiting the potential of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a biocontrol agent for slugs. Integrated control of slugs in a sugar beet crop growing in a rye cover crop. In: Slug and Snail Pests in agriculture, BCPC Symposium Proceedings, Vol 66, p. 271-280.

Grewal SK, Grewal PS. 2003. Effect of osmotic desiccation on longevity and temperature tolerance of *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Nematoda: Rhabditidae). *Journal of Parasitology* 89 (3): 434-438.

Grewal P S, Grewal SK, Taylor RAJ, Hammond RB. 2001. Application of molluscicidal nematodes

to slugs shelters: a novel approach to economic biological control of slugs. *Biological control* 22: 72-80.

Grubisic D, Ostrec L, Dusak I. 2003. Biological control of slugs in vegetable crops in Croatia. In: Slug and Snail Pests in agriculture, BCPC Symposium Proceedings, Vol 80, pp. 115-120.

Hass B, Glen DM, Brain P, Hughes LA. 1999. Targeting biocontrol with the slug-parasite nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* in slug feeding areas: a model study. *Biocontrol Science and Technology* 9: 587-598.

Huiting H, Ester A. 2001. Slakken moeilijk uit spruiten te houden. *Groenten Fruit* 30: 34-35.

Iglesias J, Castillejo J, Castro R. 2000. Field test using the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* for biocontrol of slugs in Spain. *Biocontrol Science and Technology* 11: 93-98.

Kaya H. 2001. Molluscicidal nematodes for biological control of pest slugs [Internet]. Slosson report 2000-2001. University of California. USA. [Cited 2020 May 24]. Available from: slosson.ucdavis.edu/newsletters/Kaya_200129028.pdf McKemey AR, Glen DM, Wiltshire CW, Symondson WOC. 2006. Molecular quantification of slug density in the soil using monoclonal antibodies. *Soil Biology and Biochemistry* 38(9): 2903-2909.

MacMillan K, Haukeland S, Rae R, Young I, Crawford J, Hapca S, Wilson M. 2009. Dispersal patterns and behaviour of the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* in mineral soils and organic media. *Soil Biology and Biochemistry* 41(7): 1483-1490.

Nermut J, Půža, Mráček Z. 2014. The effect of different growing substrates on the development and quality of *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Nematoda: Rhabditidae). *Biocontrol Science and Technology* 24(9): 1026-1038.

Port GR, Collier RH, Symondson WOC, Bohan, DA, Glen DM. 2003. Progress in improving the prediction and integrated control of slug damage in horticultural crops. In: Slug and Snail Pests in agriculture, BCPC Symposium Proceedings, Vol. 80. p. 301-306.

South A. 1992. Terrestrial slugs, biology, ecology and control, London: Chapman and Hall. 428 p.

- Speiser B, Andermatt M. 1996. Field trials with *Phasmarhabditis hermaphrodita* in Switzerland. In: Slug and Snail Pests in agriculture, BCPC Symposium Proceedings. Vol. 66.p.419-424.
- Speiser B, Zaller JG, Neudecker A. 2001. Size-specific susceptibility of the pest slugs *Deroceras reticulatum* and *Arion lusitanicus* to the nematode biocontrol agent *Phasmarhabditis hermaphrodita*. *Biocontrol* 46: 311-320.
- Speiser B. Glen D, Piggot S, Ester A, Davies K, Castillejo J, Coupland J. 2001. Slug damage and control of slugs in horticultural crops. Project: Novel technologies for integrated control of slug damage in key horticultural crops. [Internet] Partners: LARS, MicroBio Ltd., Applied Plant Research, IACR, FiBL, Department of Animal Biology - University of Santiago, Farm Forest Research. [Cited 2019 Jun 14]. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/10919097.pdf>
- Tan L Grewal S. 2001. Pathogenicity of *Moraxella osloensis*, a bacterium associated with the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*, to the slug *Deroceras reticulatum*. *Applied and Environmental Microbiology* 67(11): 5010-5016.
- Wilson MJ, Glen DM George SK. 1993. The rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a potential biological control agent for slugs. *Biocontrol Science and Technology*. 3: 503-511.
- Wilson MJ, Hughes LA., Jefferies D Glen DM. 1999. Slugs (*Deroceras reticulatum* and *Arion ater* agg.) avoid soil treated with the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. *Biological control* 16: 170-176.
- Wilson MJ, Glen DM, George SK Hughes LA. 1995. Biocontrol of slugs in protected lettuce using the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. *Biocontrol Science and Technology* 5: 233-242.
- Wilson M Gaugler R (n.d.). *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Rhabditida: Rhabditidae). [Internet]. In: Biological Control: A guide to natural enemies in North America. Anthony Shelton editor. Cornell University. USA. [Cited 2019 Jun 16]. Available from: <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/phasmarhabditis.php> .
- Wilson M Rae R. 2015. *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a Control Agent for Slugs. [Internet]. In: Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests. Sustainability in Plant and Crop Protection. Raquel Campos Herrera editor. Springer International Publishing. Switzerland. [Cited 2019 Jun 16]. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-319-18266-7_21.

ARTÍCULOS
CIENTÍFICOS

Artículo Científico**Determinación del potencial nematocida y nematostático
in vitro de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.)
sobre larvas J2 de *Globodera pallida* (Stone)*****In vitro* determination of the nematocidal and nematostatic
potential of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.)
on J2 larvae of *Globodera pallida* (Stone)**María Belén Arteaga¹, Carlos A. Soria¹ y María Eugenia Ordoñez^{1*}¹Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Ciencias Biológicas, Quito, Ecuador.

*meordonez@puce.edu.ec

Doi: 10.26807/remcb.v1i41.159

Recibido 12-08-2019 – Aceptado 13-05-2020

RESUMEN.- *Globodera pallida* genera pérdidas de hasta el 30 % en el rendimiento del cultivo de papa en el Ecuador. El control químico de la plaga supone riesgos de toxicidad al suelo y para el agricultor. En este estudio se determinó el potencial nematocida y nematostático *in vitro* del micelio en agar agua y del filtrado del caldo de cultivo de *Pleurotus ostreatus* en medio Sabouraud sobre larvas J2 de *G. pallida*. En el efecto del micelio se observó un mayor porcentaje de nematodos inmóviles (34 %) a las 24 horas de exposición, y el efecto nematocida más efectivo a las 72 horas, con una mortalidad del 80,3 %. No existió relación entre el porcentaje de J2 inmóviles, el tiempo de exposición y la concentración del filtrado en la actividad nematostática; sin embargo, el tratamiento con 100 % de concentrado y 8 h de exposición, dio como resultado un mayor porcentaje de nematodos inmóviles (65,2 %). El efecto nematocida del filtrado a una concentración del 100 % y 24 horas de exposición, fue la más efectiva, con una tasa de mortalidad de larvas del 41,6 %. El micelio y el filtrado de *P. ostreatus* presentaron actividad nematostática y nematocida *in vitro* frente a larvas de *G. pallida*.

PALABRAS CLAVE: Control biológico, *Globodera pallida*, nematodos fitoparásitos, *Pleurotus ostreatus*, papa.

ABSTRACT.- *Globodera pallida* generates yield losses of up to 30 % in Ecuadorian potato crops. Chemical control of this pest involves risks of toxicity to the soil and to the farmer. In this study, the nematocidal and nematostatic *in vitro* potential of the mycelium in water agar and culture broth filtrates of *Pleurotus ostreatus* in Sabouraud media on *G. pallida* J2 larvae was determined, as a control alternative. Regarding the effect of the mycelium, a greater percentage of immobile nematodes (34 %) was observed after 24 hours of exposure, and the nematocidal effect was more pronounced after 72 hours exposure with a mortality of 80.3 %. There was no relationship between the percentage of immobile J2, exposure time and the concentration of the filtrate in the nematostatic activity; however, the 100 % filtrate concentration and 8 h treatment exhibited a higher percentage of immobile nematodes (65.2 %). The nematocidal effect of the filtrate with a concentration of 100 % and 24 hours of exposure time, was the most effective with a larvae mortality rate of 41.6 %. The mycelium and filtrate of *P. ostreatus* showed nematostatic and nematocidal *in vitro* activity against *G. pallida* larvae.

KEYWORDS: Biological control, *Globodera pallida*, plant nematodes, *Pleurotus ostreatus*, potato.

INTRODUCCIÓN

Globodera pallida es un nematodo parásito de plantas de la familia Solanaceae. Es un endoparásito sedentario con notable dimorfismo sexual. Su principal hospedero es la papa y las hembras forman quistes en las raíces, lo que afecta al crecimiento de la planta y la producción de tubérculos. Más del 10 % de la producción mundial de papa se pierde cada año debido a la infestación por nematodos fitoparásitos (López Torres 2013). En el Ecuador *Globodera* ha llegado a generar pérdidas de hasta el 30 % en el rendimiento del cultivo (Revelo 2003). El control de nematodos, en general, es complicado dado que los agroquímicos deben llegar desde el suelo al sistema radicular de las plantas. Los nematodos causan daños en las raíces lo que impide la absorción de pesticidas sistémicos, y estos productos solamente reducen mas no eliminan las poblaciones del patógeno, lo que obliga al agricultor a realizar varias aplicaciones (Sierra 2014); además estos químicos son considerados compuestos tóxicos (Huang et al. 2015). Es por esto que el interés científico se ha centrado en el desarrollo de alternativas de control más amigables con el medio ambiente y con la salud de las personas, como es el control biológico.

Los hongos nematófagos, incluyendo *Pleurotus ostreatus*, pueden parasitar directamente a los nematodos a través de sus hifas, y/o secretar metabolitos y enzimas con efectos que comprometen su viabilidad (Regaieg et al. 2010). Se ha reportado más de 200 moléculas con actividad nematicida, y 23 especies de *Pleurotus* presentan esta actividad (Li y Zhang 2014).

Dada la necesidad de contar con una estrategia de manejo integrado de plagas amigables con la agricultura sostenible y con la salud humana, esta investigación buscó determinar la acción del micelio y del filtrado de cultivos de *P. ostreatus* sobre larvas libres J2 de *G. pallida in vitro*, y establecer si existen diferencias significativas entre la actividad nematicida y nematostática del micelio y del filtrado de *P. ostreatus*, frente a larvas J2 de *G. pallida*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Nematodos de *G. pallida* en forma de quistes fueron expuestos a extractos de raíz de papa para inducir la liberación de larvas J2, según el método descrito por Arntzen et al. 1993. El extracto de papa se obtuvo mediante la saturación del suelo estéril con agua destilada en macetas con plantas de papa variedad Leona Negra. El líquido obtenido

fue recirculado tres veces y filtrado por papel filtro para eliminar partículas de suelo. El extracto se almacenó en refrigeración a 4 °C para su futuro uso (Farrer y Phillips 1983).

Para determinar el efecto de las hifas, un disco de 5 mm de diámetro del hongo *P. ostreatus* previamente reactivado en medio con agar extracto de malta (MEA), fue colocado al centro de placas de cultivo celular Costar de seis pocillos conteniendo agar agua. Se incubaron las cajas a 27°C durante cinco días, y una vez colonizado el medio se inoculó con 1 ml de solución con un contenido de 25 larvas activas J2 por ml, previamente tratadas con una solución de estreptomycin al 5 % (Heydari et al. 2006; Palizi et al. 2009; Sierra 2014). La viabilidad de las larvas fue evaluada acorde a su motilidad y presencia/ ausencia de hifas alrededor del nematodo cada 24, 48 y 72 horas post-inoculación (hpi). Se realizaron comparaciones de los resultados mediante ANOVA de una vía con seis repeticiones.

Para determinar el efecto del filtrado, se colocó en placas de cultivo celular Costar de seis pocillos, 2 ml del filtrado del caldo de cultivo Sabouraud de *P. ostreatus* de cada concentración (0, 50, 75 y 100 %) con 1 ml de solución con 25 larvas activas J2/ml. Las placas se mantuvieron dentro de una incubadora a 19-20 °C, y se analizó la actividad a las 8, 12 y 24 hpi (Meyer et al. 2004). A cada filtrado se añadió una solución de 1 % de antibiótico-antimicótico Gibco® (10,000 unidades/mL penicilina, 10,000 µg/mL estreptomycin, and 25 µg/mL de anfotericina B) previo a su uso (Nayar et al., 1991). Se utilizó NaOH como indicador de viabilidad. Los datos se analizaron mediante un diseño completamente al azar (DCA) en arreglo factorial 4 x 3 con seis repeticiones.

Para establecer si existieron diferencias significativas entre los efectos del micelio y filtrado se realizó una prueba de t de Student al 95 % entre el número de nematodos muertos del tratamiento 24 hpi hifas y el tratamiento 24 hpi concentración 100 % filtrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de las Hifas. - Hubo crecimiento direccionado de hifas de *P. ostreatus* hacia las larvas a las 24 horas de exposición. Se observó penetración del hongo por orificios corporales del nematodo, y hubo la presencia de secreciones en forma de gotas en los extremos de las hifas (Fig. 1A- B). A las 48 hpi el 53,7 % de las larvas estaban colonizadas por el hongo, y a las 72 hpi el 80,3 %

se encontraban totalmente cubiertas por micelio (Figura 1A y B). Se observó, también, restos de cuerpos de nematodos digeridos por el hongo. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Heydari et al. 2006 y Palizi et al. 2009. El tratamiento con mayor número de nematodos inmóviles (34 %) fue el de 24 hpi, y luego este porcentaje se redujo ya que las hifas iniciaron el proceso de colonización y digestión (Aguilar Marcelino et al. 2017). El ANOVA indicó diferencias altamente significativas entre tratamientos tanto para la actividad nematocida como para la nematostática (Tabla 1).

Desde la primera observación en el ensayo (24 h), se identificó la presencia de pequeñas gotas en los extremos de las hifas de *P. ostreatus*. Se notó que estas secreciones fueron más frecuentes en los extremos de hifas en las porciones más antiguas del micelio. Kwok et al. 1992 identificaron secreciones de *P. ostreatus* como ácido trans-2-decenodioico. Cuando los nematodos entran en contacto con estas secreciones tóxicas, sufren parálisis y lisis de su cutícula. Las secreciones intracelulares una vez expuestas al medio externo estimulan el crecimiento de hifas en dirección a los nematodos.

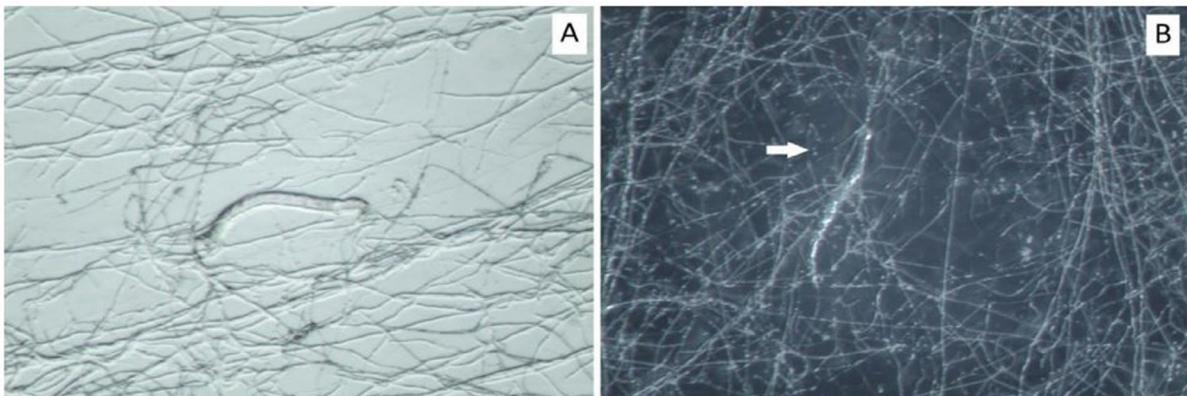


Figura 1. Hifas de *Pleurotus ostreatus* sobre larvas J2 de *Globodera pallida*. A) Hifas penetrando el orificio anterior y posterior de la larva. B) Observación de gotas secretadas por hifas de *P. ostreatus* (flecha) en presencia de una larva J2.

Tabla 1. ANOVA de resultados de la actividad nematocida (A) y nematostática (B) de hifas de *Pleurotus ostreatus* sobre larvas J2 de *Globodera pallida*.

A	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1 637,805	5	327.561	152.313	0,000
Dentro de grupos	62.367	29	2.151		
Total	1 700,171	34			
B	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	157.376	5	31.475	20.667	0,000
Dentro de grupos	44.167	29	1.523		
Total	201.543	34			

Efecto de los Filtrados. - Se observó que los filtrados del caldo de cultivo de *P. ostreatus*, en todas sus concentraciones, exhibieron un efecto nematocida y nematostático en las larvas J2 de *G. pallida*. Se encontró que al adicionar 1 % NaOH al medio, los nematodos que se encontraban paralizados retomaban la movilidad, lo que no se observó en los nematodos considerados muertos los cuales permanecían como en línea recta, sin movimiento (Figura 2A-C).

El tratamiento con concentración del filtrado de 100 % y 24 hpi obtuvo la mayor tasa de mortalidad con 41,6 %. Este resultado con *Globodera* es considerado relativamente bajo, ya que en otras investigaciones la actividad nematocida de los

filtrados del caldo de cultivo de *P. ostreatus* sobre larvas J2 de *Meloidogyne javanica* y *Heterodera schachtii* fue del 100 % y el 97 % respectivamente, a las 24 h de exposición (Heydari et al. 2006, Palizi et al. 2009).

En cuanto a la actividad nematostática, no existió relación entre el porcentaje de J2 inmóviles, el tiempo de exposición y la concentración del filtrado; sin embargo, el tratamiento 100 % - 8 hpi fue el que exhibió mayor porcentaje de nematodos inmóviles (65,2%). Esto sugiere que el efecto nematostático del filtrado proveniente del cultivo de *P. ostreatus* tiene un pico de actividad a las 8 h y se mantiene durante las primeras 24 h de exposición (Palizi et al. 2009) (Figura 3A y B).



Figura 2. Efecto del filtrado de clado de cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre larvas J2 de *Globodera pallida*. A) Forma corporal recta de nemátodos inmovilizados por filtrados del cultivo expuestos durante 10 segundos a una solución 1 % NaOH. B) Imagen del mismo campo óptico de nemátodos inmóviles expuestos durante un minuto a una solución 1 % NaOH. C) Imagen del mismo campo óptico de nemátodos inmóviles expuestos durante tres minutos a una solución de 1 % NaOH, se observa como retoman su movimiento a medida que aumenta el tiempo de exposición al NaOH, la flecha indica una larva muerta.

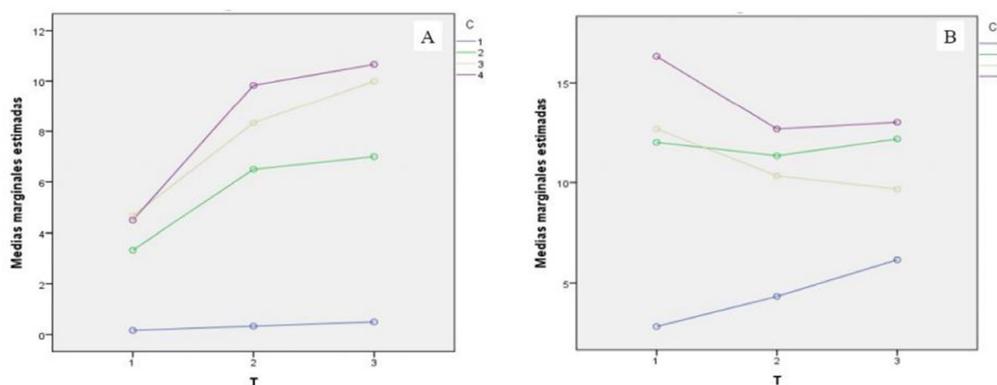


Figura 3. Efecto nematocida (A) y nematostático (B) de filtrados del caldo de cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre larvas J2 de *Globodera pallida* luego de ocho, 12 y 24 horas de exposición (T 1-3) a concentraciones 0, 50, 75, 100 % (C 1-4). Medias marginales estimadas A y B: promedio de nemátodos muertos / tiempo.2.

El NaOH permitió determinar que solamente aquellos nematodos que continuaron presentando una forma corporal recta después de adicionar este indicador químico, debían ser considerados muertos (Figura 2C). La reacción se explica debido al aumento en el pH del medio lo que desencadena la activación de bombas de transporte activo en los órganos quimiorreceptores de nematodos (Xiang y Lawrence 2016). Esta es una técnica fácil y rápida para determinar con mayor certeza los efectos de los filtrados de caldo de cultivo sobre la viabilidad de los nematodos. Se observó que nematodos que estaban solamente inmovilizados, reaccionaban al cambio en el pH del medio alterando su forma corporal de apariencia recta a curva o en forma de gancho. Es posible que los resultados obtenidos por Heydari et al. 2006 y Palizi et al. 2009 mencionados anteriormente, donde los porcentajes de mortalidad reportados fueron mucho mayores a los obtenidos en este estudio, pero al no haber utilizado indicadores como el NaOH, se podría asumir que, algunos de estos nematodos estaban únicamente paralizados y no muertos.

La prueba t de Student determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos hifas y filtrados concentración 100% de *P. ostreatus* a las 24 h de exposición, siendo el tratamiento 24 h concentración 100 % filtrado el que presentó una mayor toxicidad contra *G. pallida* (Tabla 2).

Los datos obtenidos en esta investigación soportan la hipótesis de que *P. ostreatus*, tanto hifas como filtrados del caldo de cultivo, presentan actividad nematocida y nematostática contra juveniles J2 de *G. pallida*. Contrario a lo que se creía anteriormente, los hongos cultivados en medio líquido presentan metabolitos con actividad no solo nematostática, sino también nematocida.

Se cree que exotoxinas provenientes de *P. ostreatus*, las cuales son secretadas hacia el medio, son las responsables del efecto nematocida. Es necesario identificar los componentes de los filtrados de caldos de cultivo de *P. ostreatus* con el fin de aislar sustancias nematocidas.

Tabla 2. Prueba de t de Student entre los tratamientos 24 horas concentración 100 % filtrado y 24 horas hifas de *Pleurotus ostreatus* sobre larvas J2 de *Globodera pallida*.

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior	
J2 muertos	Se asumen varianzas iguales	0,862	0,38	4.404	10	0,001	-5	1.135	-7,53	-2,47
	No se asumen varianzas iguales			4.404	8.538	0,002	-5	1.135	-7,59	-2,41

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento a Katerine Orbe y Pablo Llumiquinga del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Departamento de Protección Vegetal, por proporcionar los nematodos utilizados en los ensayos. Este trabajo fue financiado por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador como parte de los fondos de investigación N13394 asignados al Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arntzen FK, Visser JHM, Hoogendoorn, J. 1993.

Hatching of *Globodera pallida* juveniles by diffusate of potato genotypes, differing in tolerance to *G. pallida*. *Annals of Applied Biology*. 123(1):83-91.

Aguilar Marcelino L, Sánchez J, Mendoza de Gíves P. 2017. Uso biotecnológico de productos obtenidos a partir de *Pleurotus* spp. en el control de nematodos parásitos de importancia pecuaria. *La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas Pleurotus spp.* (1):297-309.

Degenkolb T, Vilcinskis A. 2016. Metabolites

- from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as alternatives for biological control. Part II: metabolites from nematophagous basidiomycetes and non-nematophagous fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 100(9):3813–3824.
- Farrer LA, Phillips MS. 1983. In vitro hatching of *Globodera pallida* in response to *Solanum vernei* and *S. tuberosum* × *S. vernei* hybrids. *Revue de nématologie*. 6(2):165-169.
- Genier HA, De Freitas Soares EF, De Queiroz, JH, De Souza Gouveia A, Araújo JV, Braga FR, Kasuya MCM. 2015. Activity of the fungus *Pleurotus ostreatus* and of its proteases on *Panagrellus* sp. larvae. *African Journal of Biotechnology*. 14(17):1496–1503.
- Heydari R, Pourjam E, Mohammadi Goltapeh E. 2006. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot Nematode, *Meloidogyne javanica* in vitro. *Plant Pathology Journal*. 5(2):173–177.
- Huang X, Zhang K, Yu Z, Li G. 2015. Microbial control of phytopathogenic nematodes. En B. Lugtenberg (Ed.). *Principles of Plant-Microbe Interactions*. pp. 155–164.
- Kwok OCH, Plattner R, Weisleder D, Wicklow DT. 1992. A nematicidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526. *Journal of chemical ecology*, 18(2):127-136.
- Li G, Zhang K. 2014. Nematode-toxic fungi and their nematicidal metabolites. In *Nematode-Trapping Fungi*; Zhang, K., Hyde, K., Eds. Dordrecht, The Netherlands. pp 313–375.
- López Torres ME. 2013. Evaluación de genes de resistencia a virus y nematodos mediante marcadores moleculares en *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* del banco de germoplasma de papas de la Universidad Austral de Chile (No. 635.217/L864) Tesis de maestría.
- Meyer SL, Huettel RN, Liu XZ, Humber RA, Juba J, Nitao JK. 2004. Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode and root-knot nematode egg hatch and juvenile motility. *Nematology*, 6(1):23-32.
- Nayar JK, Crowder CG, Knight JW. 1991. In vitro development of *Brugia pahangi* and *Brugia malayi* in cultured mosquito thoraces. *Acta tropica*. 48(3):173-184.
- Palizi P, Goltapeh EM, Pourjam E, Safaie N. 2009. Potential of oyster mushrooms for the biocontrol of sugar beet nematode (*Heterodera schachtii*). *Journal of Plant Protection Research*. 49(1):27–33.
- Regaieg H, Ciancio A, Raouani NH, Grasso G, Rosso L. 2010. Effects of culture filtrates from the nematophagous fungus *Verticillium leptobactrum* on viability of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 26:2285–2289.
- Revelo J. 2003. Manejo integrado del nematodo quiste de la papa (*G. pallida*) en Ecuador. XXXV Reunión Anual de la Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos. 27-28. Guayaquil.
- Sierra J. 2014. Evaluación de la acción nematicida in vitro e in vivo de especies de *Pleurotus* spp., sobre los nematodos *Meloidogyne* spp. y *Radopholus* spp. asociados a los cultivos de tomate y plátano. Universidad Nacional de Colombia, Colombia. Tesis de Maestría.
- Xiang N, Lawrence KS. 2016. Optimization of in vitro techniques for distinguishing between live and dead second stage juveniles of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita*. *PloSone*. 11(5):e0154818.

Artículo Científico

Stegana penicillata (Kertész, 1901) (Diptera, Drosophilidae) collected at the Panguana Biological Field Station in the Huánuco Region of Peru

Ocurrencia de *Stegana penicillata* (Kertész, 1901) (Diptera, Drosophilidae) en la Estación Biológica Experimental de Panguana, Región de Huánuco, Perú

Gerhard Bächli¹ and Carlos R. Vilela^{2*}

¹ Universität Zürich-Irchel, Institut für Evolutionsbiologie und Umweltwissenschaften, Zürich, Switzerland. gerhard.baechli@ieu.uzh.ch

² Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, São Paulo - SP, Brazil. crvilela@ib.usp.br

* Corresponding author: crvilela@ib.usp.br

Doi: 10.26807/remcb.v41i01.236

Recibido 12-02-2020; Aceptado 11-05-2020

ABSTRACT. Among 210 undetermined Neotropical Drosophilidae collected by Michael von Tschirnhaus, at the Panguana Biological Field Station in the Huánuco Region of Peru, a male of *Stegana penicillata* (Kertész 1901) was identified, analyzed and photomicrographed. This is the second record of a male of *S. penicillata* in Peru and the first record of this species in the Huánuco Region.

KEYWORDS: Amazonian Peru, habitus; male terminalia; new record; photomicrographs.

RESUMEN. Se reporta la ocurrencia y se presenta el análisis morfológico y fotográfico de un macho de *Stegana penicillata* (Kertész 1901) identificado entre 210 individuos pertenecientes a la familia Drosophilidae colectados por Michael von Tschirnhaus en la Estación Biológica Panguana de la Región Huánuco en Perú. Este hallazgo es el segundo registro de un macho de *S. penicillata* en Perú y el primer registro de esta especie en la región de Huánuco.

PALABRAS CLAVES: Amazonía Peruana, habitus; terminalia masculina; nuevo registro; fotomicrografías.

INTRODUCTION

In late 1981, Michael von Tschirnhaus collected a variety of samples from the Panguana Biological Field Station, a private and protected area in the Huánuco Region, Peru. This area is located in a primary lowland rainforest of Amazonian Peru and more details can be found in Kovařík et al. (2015). The collection included 210 undetermined Neotropical Drosophilidae, from which one Peruvian male specimen of *Stegana penicillata* (Kertész 1901), originally described in the

monotypic genus *Pyrgometopa*, was identified. The identification of this rare species was made possible, in large part, due to the fine high-resolution optical photomicrographs and SEM micrographs of *Stegana penicillata* included in a recently published paper (Pirani and Grimaldi 2019).

Interestingly, only four other *Stegana penicillata* have been reported in Peru, a female holotype from Callanga, and three nontype specimens (one male and two females) from the Cusco Region. Thus,

the specimen described herein from Panguana represents the second male *S. penicillata* from Peru and the first record of this rare and striking species in the Huánuco Region.

Notably, the type locality of *S. penicillata* originally cited by Kertész (1901) was simply Peru (Callanga). It is believed that this location corresponds to a small community in the Challabamba municipality of the Paucartambo Province in the Cusco Region, and is probably close to the Callanga River that is situated in the middle of the Parque Nacional del Manú.

In the present study, 18 habitus and close-up photomicrographs of the male Peruvian *Stegana penicillata* are provided. Our work aimed to complement the images published for both sexes by Pirani and Grimaldi (2019: 448-449). In fact, we have included 14 terminalia photomicrographs of the same fly to supplement the drawings in the aforementioned report (p. 451).

MATERIAL AND METHODS

Label data attached to the specimen was cited in full with slashes and double slashes indicating line changes and label changes, respectively. Our own notes and interpretations are enclosed in brackets. Unless otherwise indicated, all photomicrographs in the same plate were taken and enlarged to the same magnification.

1 ♂, ZMUZ (#262) dissected, labelled: “Peru: Panguana [Panguana Biological Field Station and Private Protected Area] / 9°36'53”S 74°55'57” W / 2.ix-20.x.1981 / Tschirnhaus leg. // X256 [Pe0256] [collector code] / Rio [Río] Llulapichis [misspelled, should read Llullapichis], an eastern tributary of Río Pachitea / Prov. [Province, currently Region] Huánuco, roof of [a grey-green] tent [in primary forest, aspirated] // ♂ // 262 [our own code] // *Stegana* / *penicillata* (Kertész) / Bächli & Vilela det.” Refer to Vilela and Bächli (2000) and Bächli et al. (2004) for terminalia preparations and terminology, and to Vilela and Bächli (2019) for photomicrograph procedures.

RESULTS AND DISCUSSION

Stegana Meigen, 1830

Stegana penicillata (Kertész 1901) (Figs. 1-32)

Pyrgometopa penicillata Kertész, 1901: 420; Hendel, 1901: 233 (distribution); Wheeler 1981:(affiliation); Bächli 1984: 36 (type material); Brake and Bächli 2008: 291 (affiliation);

Stegana penicillata (Kertész 1901): Pirani and Grimaldi 2019: 447-454 (proposed new combination, redescription, figures, distribution).

Diagnosis. Refer to Pirani and Grimaldi 2019: 447.

Supplementary description to Pirani and Grimaldi (2019).

The general color of this specimen is brownish, which is in contrast to being described as black by Kertész (1901) or blackish-brown by Pirani and Grimaldi (2019). The color variation (brownish) is most likely due to the long-term storage in ethanol. Otherwise, the description by Pirani and Grimaldi (2019) fully applies, despite missing several setae and having some that are damaged. The resting insertion sockets clearly allow identification. Frons in the lower third medially, slightly protruding (Fig. 13). Male terminalia sclerite terminology adopted in the present paper, but differing from those used by Pirani and Grimaldi (in parentheses) include aedeagal apodeme (phallapodeme), aedeagus (postgonites), decasternum (subepandrial sclerite), dorsal arch (pregonite), outer paraphysis (no name), distal segment of posterior ejaculatory duct or endophallus (basiphallus+distiphallus+epiphallus), ventral rod of aedeagal apodeme (phallic guide).

Terminalia ♂ (Figs. 19-32). Epandrium (Figs. 19-22) microtrichose, except for the narrow anterior and ventral stripes, mostly setose on the anteroventral surface, in addition to two parallel rows of setae, one adjacent to the distal margin, mostly bearing larger setae, and one medially, bearing smaller setae; devoid of a ventral lobe. Cercus (Fig. 20) positioned lower, narrow, densely setose, devoid of microtrichia, anteriorly articulated to the lower posterior margin of the epandrium; ventral lobe absent. Surstylus (Fig. 20) somewhat rectangular, medially folded slightly over itself, deeply concave, double-walled, dorsoposterior margin concave, pointed inwards medially, somewhat embracing the cercus tip, mediodistally bearing a single, peg-shaped preniseta, adjacent and preceded by a tuft of ca. 10 ventral, tiny setulae and ca. 30 mediodorsal, long, distally waved, sharply pointed setae on the inner ventral surface, not microtrichose, not fused to epandrium. Decasternum (Figs. 21, 22) sclerotized, H-shaped, anterodorsally deeply concave. Dorsal arch (Figs. 27-32) strongly sclerotized, mediodistally square-shaped, serrate. Hypandrium (Fig. 31) tongue-shaped in ventral view, arms strongly divergent, anterior margin strongly convex, posterior margin concave; posterior hypandrial

process absent; gonopod not recognizable, most probably fused to the posterior hypandrial margin. Aedeagus (Figs. 17, 18, 27-32) weakly sclerotized, dorsoventrally flatten, distally banner petal-shaped in the dorsal and ventral views, slightly shorter than the aedeagal apodeme, fused to each other; medioproximal margin sinuate, ventral margin medially extended backwards as a short, narrow, emarginated strip (Figs. 28, 29, 32), laying between the ventral rod and distal opening of the posterior

ejaculatory duct (gonopore). Inner paraphysis unrecognizable, either fused to the dorsal arch or aedeagus. Outer paraphysis (Figs. 28-32) relatively small, isosceles triangle-shaped, widely separated, perpendicular to the aedeagus and separate from it by an interval greater than usual, articulated to the posterior hypandrial margin by membranous tissue, bearing 3 tiny setulae near the inner margin, arranged in a curved row. Aedeagal apodeme (Fig. 28) laterally flatten, anteriorly expanded laterally,



Figures 1–6. *Stegana penicillata* (Kertész 1901), male from Panguana, Peru, habitus, five views and one close-up of the head: 1, left lateral, 2, left oblique dorsal, 3, idem but even more oblique, 4, head and thorax, dorsal, 5, thorax and abdomen, dorsal, 6, close-up of the head, dorsal. Images in Figures. 1-5 and Fig. 6 were acquired at different magnifications. Scale bars = 1 mm, and 0.2 mm, respectively.

slightly sinuate in the lateral view; ventral rod strongly sclerotized, dorsoventrally flatten, shorter than the ribbon-like projection of the aedeagus ventral margin, bow-shaped in the lateral view, laterally expanded distally, articulated to the posterior hypandrium margin medially. Ejaculatory apodeme (Figs. 23-26) large, slightly shorter than the aedeagal apodeme, heavily sclerotized; handle slightly sinuate, rod-shaped, oblique to and arising from the anterodorsal edge of the basal plate, the latter shorter than aedeagus, distally emarginate,

dorsoventrally shallowly concave, bearing two groups of five apparently membranous foramina near the anterior edge (Fig. 26), lateral margin with a hook medially (Figs. 24, 26).

Distribution (according to Pirani and Grimaldi 2019). Brazil (States of Acre, Amazonas and São Paulo), French Guyana and Peru (Cusco and Huánuco Regions [New record]).

Biology. Morge (1956) reported observing larvae of



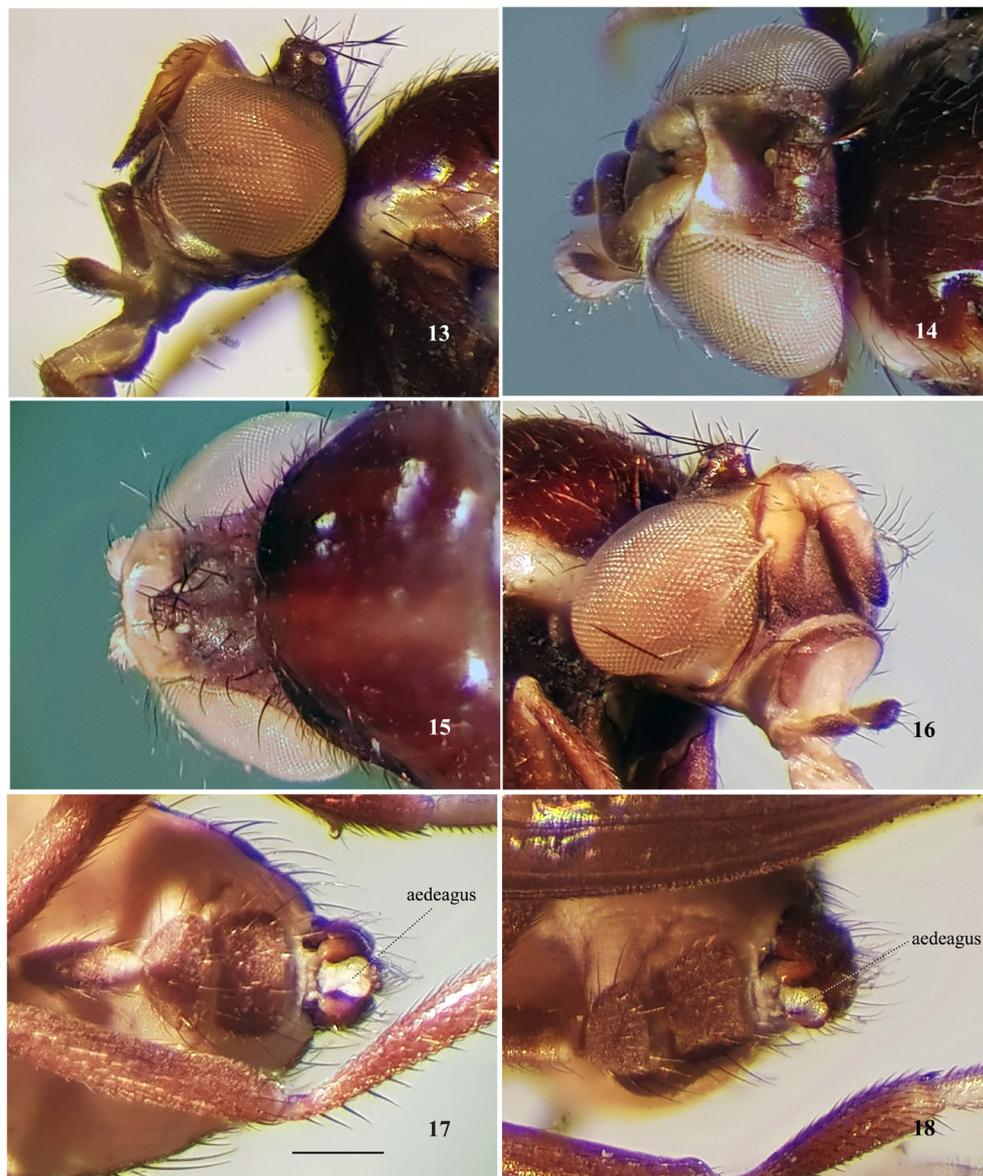
Figures 7–12. *Stegana penicillata* (Kertész 1901), male from Panguana, Peru, six close-ups of the head: 7, left oblique anterior, 8, left oblique dorsal, 9, dorsal, 10, frontal, 11, ventral, 12, left oblique posterior. Images in Figures. 7-11 and Fig. 12 were acquired at different magnifications. Scale bars = 0.5 mm and 0.2 mm, respectively.

Stegana coleoprata below the bark of fallen birch trees and Pirani and Grimaldi (2019: 453) stated “A few breeding records have reported them [*Stegana* spp.] emerging from trunks and branches of fallen, decaying trees”, and suggested there must be some association with the flowerheads of *Vernonia* sp. (Asteraceae) since pollen grains of this plant were attached to the spines on the first tarsomere of the hind leg of one male Peruvian specimen.

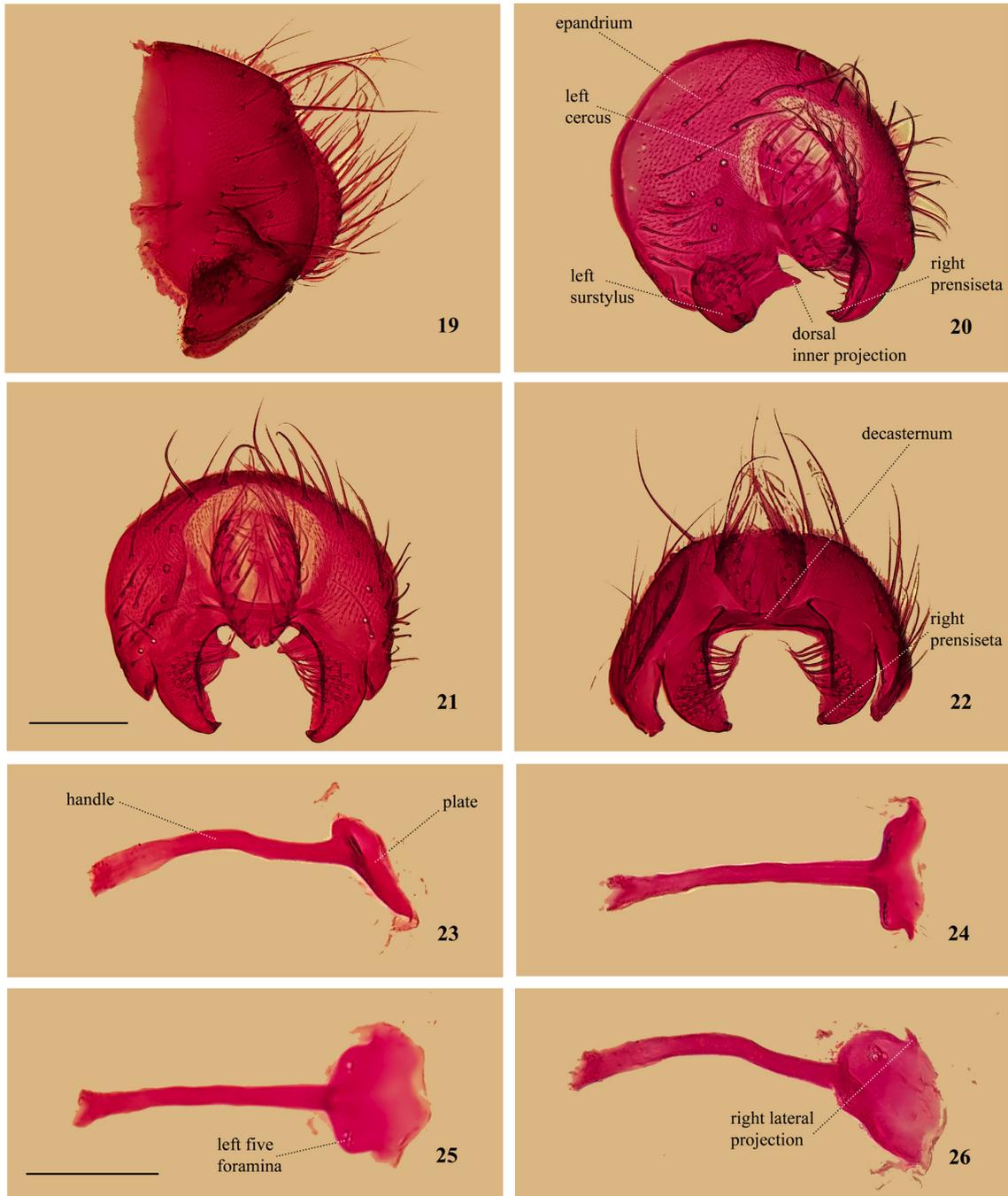
Comments. This fly, collected in Amazonian Peru, became the third male and twelfth specimen of *Stegana penicillata* on record.

Funding

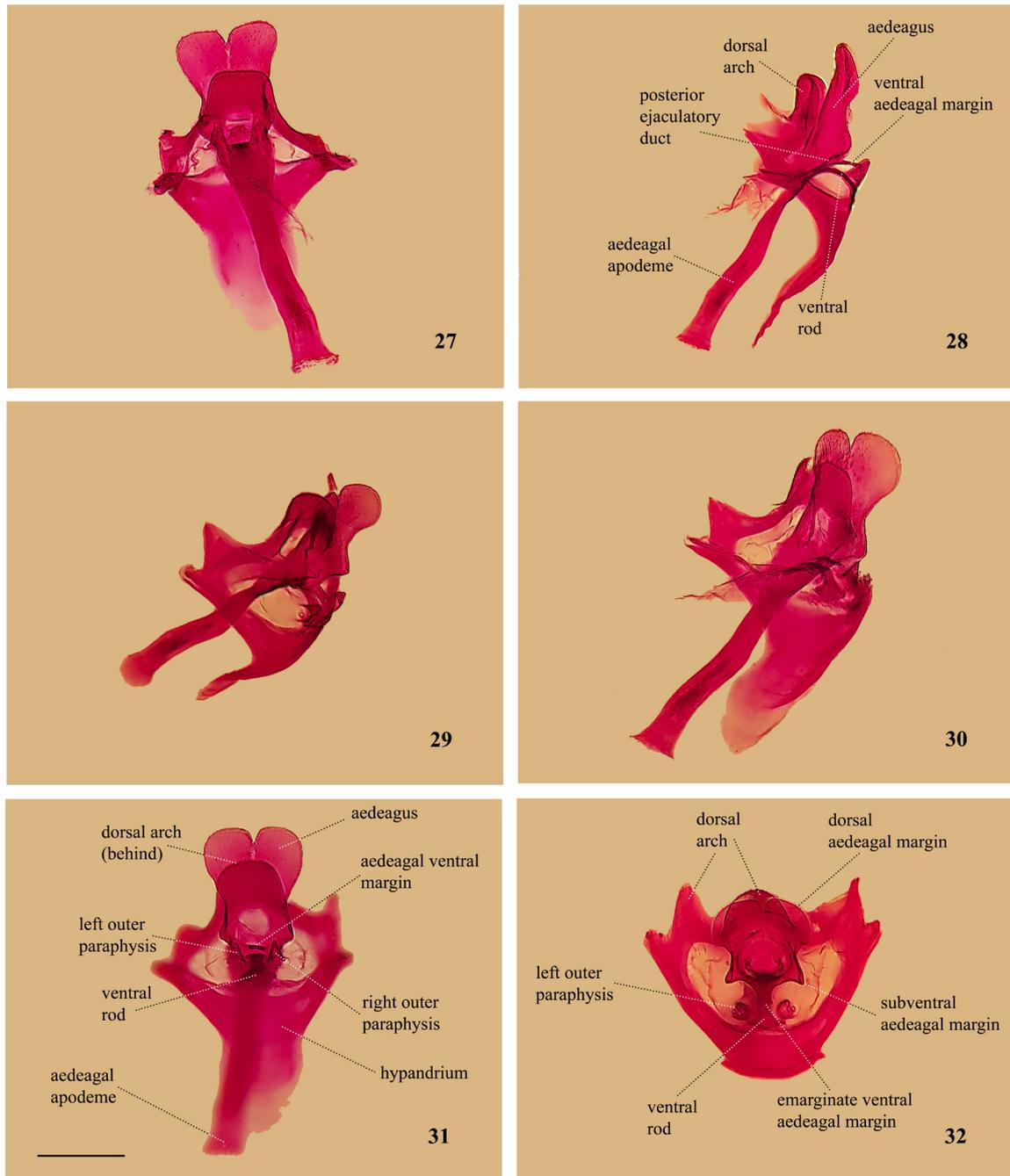
This research did not receive any financial support from funding agencies in the public, commercial, or nonprofit sectors.



Figures 13–18. *Stegana penicillata* (Kertész 1901), male from Panguana, Peru, four close-ups of the head (13-16) and two terminalia (17,18): 13, left lateral, 14, anterodorsal, 15, posterodorsal, 16, right laterofrontal, 17, ventral, 18, left oblique ventral. Note: the whitish aedeagus strongly contrasts with the dark brown epandrium and surstyli. Scale bar = 0.2 mm



Figures 19–26. *Stegana penicillata* (Kertész 1901), male from Panguana, Peru, 19–22, four views of the external male terminalia (epandrium, cerci and surstyli), 23–26, ejaculatory apodeme, idem: 19, left lateral to 22, ventral posterior and 23, left lateral to 26, oblique dorsal. Images in Figures. 19–22 and Figures. 23–26 were acquired at different magnifications. Scale bars = 0.1 mm.



Figures 27-32. *Stegana penicillata* (Kertész 1901), male from Panguana, Peru, internal male terminalia (hypandrium, aedeagus, aedeagal apodeme and outer paraphyses), six views: 27, dorsal to 32, posterior. Scale bar = 0.1 mm.

Acknowledgments

We are indebted to Michael von Tschirnhaus (Germany) who donated the specimen, Robert Ryan Geyer for reviewing the English text, and Beatriz Goñi (UdelaR) for translating some parts of the manuscript from English to Spanish.

BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

Bächli G. (1984). Catalog of the types of Drosophilidae in the Hungarian Natural History Museum, Budapest (Diptera). *Folia entomologica Hungarica*, 45: 27-41.

Bächli G, Vilela CR, Escher AS and Saura A. (2004). The Drosophilidae (Diptera) of Fennoscandia and Denmark. *Fauna Entomologica Scandinavica*, v. 39. Leiden. Brill. 362 p.

Brake I and Bächli G. (2008). Drosophilidae (Diptera). World Catalogue of Insects, vol. 7, 412 pp. Apollo Books, Stenstrup.

Hendel F. 1901. Diptera (review). Wiener entomologische Zeitung, 20: 233-234.

Kovářík F, Teruel R, Lowe G and Friedrich S. (2015). Four new scorpion species (Scorpiones: Buthidae) from Amazonian Peru. Occasional Publications in Scorpiology 210, 1-40. DOI: 10.18590/euscorpius.2015.vol2015.iss210.1

Kertész K. (1901). Neu und bekannte Dipteren in der Sammlung des Ungarischen National-Museums. Természetrázi Füzetek 24, 403-432, 1 pl.

Laštovka P and Máca J. (1982). European and North American species of the genus *Stegana* (Diptera, Drosophilidae). *Annotationes Zoologicae und Botanicae* 149, 1-38.

Morge G. (1956). Über Morphologie und Lebensweise der bisher unbekanntten Larven von *Palloptera usta* Meigen, *Palloptera ustulata* Fallén und *Stegana coleoprata* Scopoli (Diptera). *Beiträge zur Entomologie*, 6: 124-137.

Pirani G and Grimaldi DA. (2019). Rediscovery, redescription, and reclassification of the rare and unusual fly *Pyrgometopa penicillata* Kertész (Diptera: Drosophilidae). *Zootaxa* 4661(3), 445-456. DOI: 10.11646/zootaxa.4661.3.2

Vilela CR and Bächli G. (2000). Morphological and ecological notes on the two species of *Drosophila* belonging to the subgenus *Siphlodora* Patterson

& Mainland, 1944 (Diptera, Drosophilidae). *Mitteilungen der schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* 73, 23-47.

Vilela CR and Bächli G. (2019). On the identities of *Rhinoleucophenga pallida* Hendel and *Rhinoleucophenga obesa* (Loew) (Diptera, Drosophilidae), with description of a new sibling species from Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 63(2), 149-182. DOI: 10.1016/j.rbe.2019.01.001

Wheeler MR. (1981). The Drosophilidae: A taxonomic Overview. In: Ashburner M, Carson HL and Thompson JN Jr. (eds), *The Genetics and Biology of Drosophila*, vol. 3a, pp. 1-97. Academic Press, London.

Artículo Científico**Análisis comparativo del estado ecológico de la vegetación acuática en dos humedales altoandinos del volcán Antisana****Comparative analysis of the ecological state of the aquatic vegetation on two high Andean wetlands in Antisana volcano.**Maria Gracia Portilla¹ y Esteban Terneus¹¹Universidad Internacional del Ecuador. Escuela de Gestión Ambiental.

*maria-graciap@hotmail.com

Doi: 10.26807/remcb.v1i41.224

Recibido 29-11-2019 – Aceptado 18-05-2020

RESUMEN.- Los humedales altoandinos son reconocidos a nivel mundial como los ambientes más frágiles por sus características, amenazas y alto significado social y económico, debido a los servicios ecosistémicos que brindan. Estos humedales encierran una riqueza biológica poco explorada, de la que algunos grupos como plantas acuáticas y algas pueden ser utilizados como bioindicadores de calidad ambiental. En el presente estudio se analizó la composición de plantas acuáticas y algas filamentosas en dos humedales al pie del volcán Antisana (Pugllohuma y Patugllana), en el Área de Conservación Hídrica Antisana ACHA. Con el propósito de conocer su estado y salud ecológica, se analizaron factores fisicoquímicos de agua, nutrientes, hierro y sulfatos. Se realizó el muestreo en época lluviosa y seca entre 2018-2019. En total se registraron 17 especies de plantas acuáticas y 8 géneros de algas filamentosas en los dos humedales. La riqueza y diversidad de plantas acuáticas fue mayor en Patugllana, evento relacionado con la concentración de nutrientes, sulfatos y alta conductividad del humedal, las especies más abundantes fueron *Callitriche* sp., *Lemna gibba*, y *Lilaea scilloides*. En Pugllohuma con concentraciones algo mayores, las especies más abundantes fueron *Gunnera magellanica*, *Callitriche* sp. *Ranunculus flageliformis*; la cobertura de algas filamentosas fue más alta, con niveles máximos de 100% de cobertura, mayor a la de otras plantas acuáticas y el género más abundante fue *Oedogonium*. Los humedales en época seca perdieron casi toda el agua, cambiando drásticamente su estructura y composición habitual.

PALABRAS CLAVES: Algas filamentosas, hierro, nutrientes, plantas acuáticas, sulfatos.

ABSTRACT.- The high Andean wetlands are worldwide as very fragile ecosystems because of their characteristics, threats and high social and economic value due to the benefits they provide. These wetlands contain a poor explored biological richness where groups like algae and aquatic plants could be used as bio indicators of environmental quality. In this study, the composition of aquatic plants and filamentous algae was analyzed in two wetlands in Antisana volcano, Patugllana and Pugllohuma in the “Área de Conservación Hídrica Antisana” (ACHA), in order to know about their condition and ecological health, physiochemical factors of the water, nutrients, iron and sulfates were analyzed during the wet and dry seasons. 17 species of aquatic plants and 8 genders of filamentous algae were found in the two wetlands. The highest species richness was found in Patugllana which was related to higher concentration of nutrients, sulfates and high conductivity in this wetland. The most abundant species found in this wetland were *Callitriche* sp., *Lemna gibba*, and *Lilaea scilloides*. In Pugllohuma the iron concentration was higher, the aquatic vegetation cover was lower. *Gunnera magellanica*, *Callitriche* sp. *Ranunculus flageliformis* were the most abundant species. Filamentous algae coverage were higher than that recorded in other aquatic plants, *Oedogonium* were the most abundant genus. During the Dry season, both Wetlands lost most of their water, changing dramatically their original structure and composition.

KEY WORDS: Aquatic plants, filamentous algae, iron, nutrients, sulfates.

INTRODUCCIÓN

Los humedales son intervenidos y maltratados por el ser humano a lo largo del tiempo, lo que genera degradación y pérdida del ecosistema como tal (Ahumada et al. 2011). Son ecosistemas acuáticos transitorios o permanentes de suma importancia para la investigación científica, favorecen el desarrollo de flora, fauna nativa y de especies migratorias. Además, son reservorios de agua y considerados como amortiguadores que reducen la probabilidad de un evento de inundación (Jara et al. 2017). Los humedales altoandinos son reconocidos a nivel mundial como ambientes frágiles por sus características, amenazas y alto significado social y económico, debido a los servicios ecosistémicos que brindan, paso para especies migratorias, reservorios naturales, hábitat para muchas especies endémicas, entre otros (WWF 2005).

En el Ecuador existen varios tipos de humedales los cuales fueron categorizados por la Convención RAMSAR (2006) en tres grandes grupos; Humedales marino costeros, humedales continentales y humedales artificiales. Poseen un rol ecológico vital en base a preservación de la calidad ambiental, ya que ayudan a regular el clima, son reservorios de agua y en caso de algún desastre funcionan como amortiguadores (MAE 2015). Algunos humedales han desaparecido debido al mal manejo, sobreexplotación y falta de conocimiento de su importancia ecológica.

Se tiene poca información histórica sobre humedales en el Ecuador. Esto genera un vacío de información al momento de emprender actividades de recuperación y conservación. Resulta necesario profundizar e incrementar los estudios de estos ecosistemas, sobre todo por su alto valor ecológico (Viveros 2016). Algunos estudios realizados por EcoCiencia (Fundación de Estudios Ecológicos) en Ecuador, han revalorizado estos ecosistemas para conservarlos y han capacitado a las comunidades que viven de los humedales y cerca de ellos para conseguirlo (Flachier 2005).

Los humedales encierran una riqueza biológica poco explorada, en la que algunos grupos como plantas acuáticas y algas son utilizados como bioindicadores de calidad ambiental (Soria 2016). Entendiéndose como bioindicadores a los distintos componentes bióticos los cuales deben presentar características de sensibilidad, ante diferentes condiciones de alteración del ambiente donde viven (Zurlini y Girardin 2008). Para ello las poblaciones de especies que se utilizan como bioindicadores

deben ser abundantes, y tener un rango estrecho en su límite de tolerancia, esto las vuelve más útiles como indicador ecológico (Tenjo y Cárdenas 2015). Las plantas acuáticas son productores primarios en los ecosistemas lacustres, y forman parte de la dinámica trófica. Su presencia genera mayor disponibilidad de microhábitats, además contribuyen en los ciclos de nutrientes, ya que intervienen en el proceso de transformación y liberación de materia orgánica, promoviendo la actividad microbiana (Ramos et al. 2013). Las plantas acuáticas, además de su importancia como organismos y recurso hidrobiológico, señalan el estado de conservación de los humedales (UICN 2016). Sin embargo, la abundancia excesiva de macrófitas puede provocar ausencia de oxígeno dentro de un ecosistema acuático, conjuntamente con el proceso de descomposición de materia orgánica dentro del sistema. Al generar ambientes de sombra, las plantas sumergidas y algunas algas no liberan oxígeno al medio, lo cual impide su crecimiento y por ende origina un desequilibrio en la funcionalidad ecológica del ecosistema (Jaramillo y Flores 2012).

Otro grupo importante lo constituyen las algas filamentosas, conocidas como algas verdes, también productoras primarias, se desarrollan bajo una variada gama de condiciones ambientales; por lo tanto, algunas especies han sido utilizadas como indicadores de contaminación. Este grupo es uno de los más diversos en agua dulce (Aquino 2011).

Tanto las plantas acuáticas y algas necesitan de elementos principales para su crecimiento, desarrollo y reproducción, la presencia de nutrientes es de suma importancia para estos organismos y necesitan de ellos para realizar diferentes procesos bioquímicos, principalmente la formación de aminoácidos (Ballesteros 2011, Terneus et al. 2020). Las variables físicas-químicas del agua pueden estar reflejando las intervenciones antropogénicas, estos factores o variables ambientales influyen de igual manera en la presencia y abundancia de la vegetación acuática, como el pH, temperatura, oxígeno, conductividad, entre otras (Terneus 2002). La estacionalidad es otro factor importante que modifica estos ecosistemas acuáticos. La dinámica de la vegetación acuática se entiende de mejor manera si se consideran las características ecológicas en fase húmeda y seca (Rial 2004, Rial et al. 2016).

Los humedales altoandinos del Antisana han sido intervenidos y drenados con el fin de promover

actividades ganaderas. Los desechos orgánicos generados por estos animales alteran la composición química del agua, aportando una alta cantidad de nutrientes, que al momento de acumularse provocan eutrofización (Molina et al. 2018), como un proceso de acumulación o enriquecimiento de nutrientes en el agua, que provoca un crecimiento exponencial de productores primarios (Bojorge y Cantoral 2016), estos procesos alteran la salud ecológica del ecosistema en su conjunto.

La preservación y conservación de los humedales es de principal preocupación ya que a nivel mundial estos ecosistemas aportan agua, recurso vital indispensable, el cual debe ser conservado y suministrado de manera segura y bajo una gestión responsable (MAE 2015a). El objetivo del presente estudio fue establecer la calidad ecológica de dos humedales del Área de Conservación Hídrica Antisana mediante el análisis de la estructura y composición florística de las plantas acuáticas y algas filamentosas y generar insumos técnicos que faciliten la toma de decisiones de manejo para su conservación. Para conseguirlo es importante generar información sobre los patrones de distribución espacial de plantas acuáticas y algas filamentosas en función de las preferencias de nutrientes y características físico químicas del agua.

MATERIALES Y METODOS

Área de Estudio

Los humedales de estudio se encuentran ubicados dentro del Área de Conservación Hídrica Antisana ACHA (Figura 1), la cual es manejada por la Empresa Pública Metropolitana de Agua Potable y Saneamiento (EPMAPS), junto al Fondo para la protección del Agua FONAG. ACHA está localizada en la parroquia de Archidona, provincia de Napo (FONAG 2017), se ubica sobre los 4 000 msnm. Dentro del área se tiene ecosistemas de páramo y bosques andinos que albergan una gran biodiversidad. Debido al deshielo del volcán Antisana, en el sector nacen ríos importantes, los que enriquecen el entorno paisajístico y ecológico de la zona (MAE 2015b).

Los humedales estudiados fueron Pugllohuma y Patugllana, estos han sido alterados a lo largo del tiempo, debido a la presencia de ganado, desde la época colonial, y en la actualidad se los ha reubicado (FONAG 2017). Los dos humedales se encuentran un poco más arriba de los 4100 msnm y presentan características geográficas parecidas. Es importante mencionar que el humedal Pugllohuma se encuentra en un nivel de alteración mayor, debido a la creación de canales artificiales de evacuación de agua.

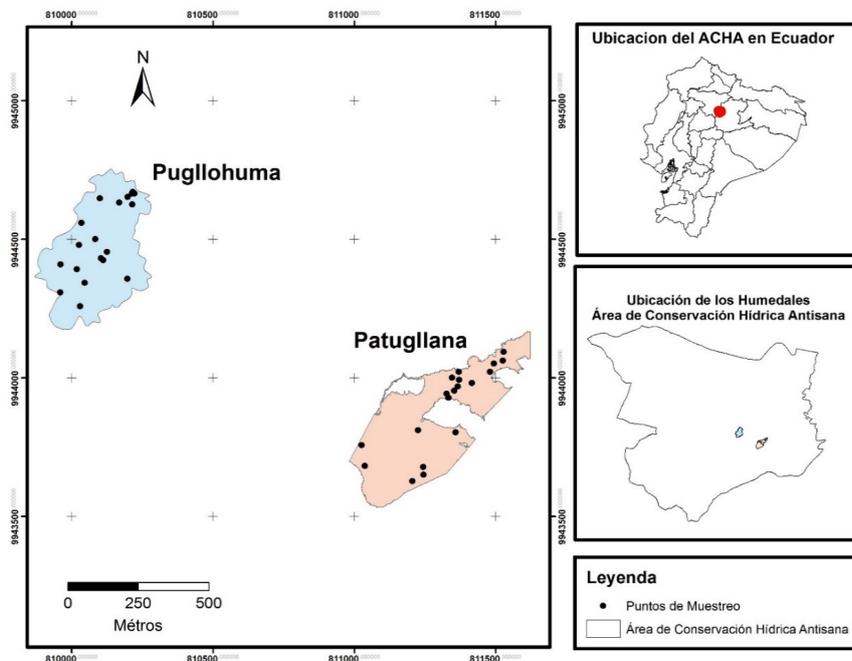


Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo en los humedales Pugllohuma y Patugllana en el Área de Conservación Hídrica Antisana (ACHA).

Se realizaron dos muestreos con el fin de contar con información entre la época lluviosa (diciembre 2018) y la seca (febrero 2019). El humedal Pugllohuma actualmente se encuentra restaurado mediante la implementación de diques, los cuales impiden la pérdida de agua del humedal, debido a la presencia de drenes o canales que fueron creados años atrás, con el fin de evacuar el agua del humedal y mantener el ganado en la zona. Este trabajo es una restauración física realizada por el FONAG.

Selección de los Puntos de Muestreo

Los puntos de muestreo dentro de los humedales fueron seleccionados mediante un proceso aleatorio utilizando el programa ArcGis 10. 2, el muestreo al azar o aleatorio, es uno de los más aplicados en estudios ecológicos (Bolfor 2000). En cada humedal se establecieron 19 puntos de muestreo, cada uno equivale a un cuadrante de vegetación el cual estuvo delimitado por un marco plástico (1m x 1m) provisto por una lámina transparente. Este número se obtuvo mediante la aplicación de la fórmula del Número del tamaño de muestra ($N = (Sx)^2 / 0,010 (x)^2$), el resultado de N se refiere al número de réplicas o cuadrantes requeridos para tener un dato estadísticamente representativo (Yánez 2005), esto se aplicó con el fin de reducir el error estadístico. Para la formula ($N = (Sx)^2 / 0,010 (x)^2$) se utilizaron datos de riqueza de plantas acuáticas, los cuales fueron tomados en una salida previa de reconocimiento de los humedales. Se sacaron promedios de los datos de riqueza de especies y su varianza asociada para aplicar la fórmula en conjunto de puntos (10) tomados como un premuestreo.

Levantamiento de información en campo

Se utilizó un cuadrante provisto de una lámina plástica transparente de 1 m² para medir y determinar el porcentaje de cobertura (Terneus 2002) tanto de plantas acuáticas como de algas filamentosas, en cada punto de muestreo se anotaron los datos de cobertura vegetal de cada especie, en relación al porcentaje del área total del cuadrante de muestreo que equivale al 100%.

Se tomaron muestras de plantas acuáticas y algas filamentosas para su identificación taxonómica en laboratorio, las plantas acuáticas fueron colectadas en fundas plásticas y las algas filamentosas fueron preservadas en frascos ámbar con lugol (0,5 ml x 100 ml) para evitar que estas se desintegren y facilitar su identificación (Samanez et al. 2014). Posteriormente fueron etiquetadas con su respectiva ubicación, nombre y número de muestra,

para luego transportarlas en un cooler con el fin de mantenerlas en ambientes frescos (con temperatura menor a 10° C) y oscuros (Aquino 2011). Para la identificación de plantas acuáticas se utilizaron claves taxonómicas y las muestras fueron prensadas y secadas en el Herbario de la Universidad Católica del Ecuador. Las algas fueron observadas e identificadas en el Laboratorio de Biología de la Universidad Internacional del Ecuador.

Análisis de laboratorio

Físico – química de agua

Los parámetros físico-químicos (conductividad, pH, oxígeno, temperatura, sólidos totales) fueron tomados in situ con un multiparámetros HANNA 9829, los nutrientes (nitritos, nitratos y fosfatos), hierro y sulfatos se midieron con un espectrofotómetro 9300 YSI Eco Sense; esto se realizó en cada punto de muestreo donde se registró de manera simultánea la cobertura vegetal, con el fin de establecer patrones de relación con las variables abióticas y preferencias de hábitat (Terneus 2002). En las lagunillas donde no hubo cobertura vegetal, se tomó únicamente muestras de agua para los análisis fisicoquímicos.

Análisis de Datos (Análisis Canónico de Correspondencia CCA)

Con el fin de determinar el estado ecológico de los dos humedales, se realizó un análisis canónico de correspondencia (CCA) en el que interactúan los factores bióticos y abióticos de los humedales. Todas las variables tomadas fueron tabuladas en Excel y analizadas con el programa Paleontological Statistics PAST 3.0. Este análisis es utilizado para determinar la magnitud de relación existente entre distintas variables tanto bióticas como abióticas y observar si son dependientes o independientes unas de otras, y establecer las preferencias de estas interacciones entre los sitios de muestreo (Gómez et al. 2017).

RESULTADOS

Vegetación Acuática

En las dos épocas de muestreo (lluviosa y seca) se identificaron 17 especies vegetales en los dos humedales estudiados. La mayor abundancia de plantas acuáticas vasculares se registró en el humedal Patugllana, con un total de 16 especies, mientras que en Pugllohuma se registraron 10 especies, de estas especies nueve están compartidas entre los dos humedales (Tabla 1).

En época lluviosa la presencia de plantas acuáticas fue mayor en los dos humedales, en Patugllana

se registraron 13 especies y en Pugllohuma 10 especies. Por el contrario, en época seca en Patugllana se observaron 12 especies, mientras que en Pugllohuma solo 6.

En Pugllohuma, las especies con mayor porcentaje de cobertura fueron: *Gunnera magellanica* con un rango de variación entre 60-65% y *Callitriche* sp. con 30-80 % en época lluviosa; mientras que la más abundante en época seca fue *Callitriche* sp. con un

25-60% (Tabla 1). El porcentaje de cobertura de algas filamentosas varió entre 5 a 100%. El género *Sphagnum* sp1. estuvo presente únicamente en este humedal y en época lluviosa.

Los porcentajes de cobertura vegetal acuática son mayores en Patugllana. Los géneros con mayor cobertura fueron; *Lemna* entre el 0-80%, *Callitriche* con 5-75 % y *Lilaea* con 2-50% en época lluviosa. Los porcentajes promedio de cobertura fueron

Tabla 1. Rangos de variación (niveles mínimos - máximos) de los porcentajes de cobertura en plantas acuáticas y algas filamentosas en los humedales de estudio en época lluviosa y seca

Nº	Plantas acuáticas	Familia	% Cobertura Pugllohuma		% Cobertura Patugllana	
			lluviosa	seca	lluviosa	seca
1	<i>Sphagnum</i> sp.	Sphagnaceae	10-25	0	5-60	0
2	<i>Sphagnum</i> sp1.	Sphagnaceae	0-10	0	0	0
3	<i>Sphagnum</i> sp2.	Sphagnaceae	0	0	25-30	0
4	<i>Gunnera magellanica</i> Lam.	Gunneraceae	60-65	10-60	5-5	5-10
5	<i>Callitriche</i> sp.	Callitrichaceae	30-80	25-60	5-75	10-75
6	<i>Juncus stipulatus</i> Nees & Meyen.	Juncaceae	2-55	0	3-25	0
7	<i>Isolepis inundata</i> R. Br.	Cyperaceae	2-10	10-50	0	0-20
8	<i>Caltha sagittata</i> Cav.	Ranunculaceae	0	0	3-50	0-10
9	<i>Ranunculus flagelliformis</i> Sm.	Ranunculaceae	13-35	5-25	3-30	0
10	<i>Lilaea scilloides</i> (Poir.) Hauman.	Juncaginaceae	0-2	5-11	2-50	5-60
11	<i>Montia fontana</i> L.	Portulacaceae	7-15	25-45	0-80	0-5
12	<i>Azolla filiculoides</i> Lam.	Apiaceae	0	0	45-689	16-469
13	<i>Cotula mexicana</i> (De) Cabrera.	Asteraceae	0-5	0	0-7	0-8
14	<i>Marchantia</i> sp1.	Marchantiaceae	0	0	0-20	0-30
15	<i>Lachemilla</i> sp1.	Rosaceae	0	0	2-10	0
16	<i>Lemna gibba</i> L.	Lemnaceae	0	0	0-80	0-80
17	<i>Nasturtium</i> sp1.	Brassicaceae	0	0	0	0-25
18	Algas filamentosas (grupo general)		5-100	10-25	1-20	3-15
Nº	Algas filamentosas	Familia	% Cobertura Pugllohuma		% Cobertura Patugllana	
			lluviosa	seca	lluviosa	seca
1	<i>Spirogyra</i>	Zygnemataceae	3-80	0-15	0-80	0-10
2	<i>Ulothrix</i>	Ulotrichaceae	0	0-40	0	0-5
3	<i>Oedogonium</i>	Oedogoniaceae	55-90	0	5	0
4	<i>Closterium</i>	Closteriaceae	4-10	0	2-10	0-5
5	<i>Meugotia</i>	Zygnemataceae	3-20	0	0	10-40
6	<i>Zygnema</i>	Zygnemataceae	5-33	15-100	3-15	30-90
7	<i>Vaucheria</i>	Vaucheriaceae	0	0-30	0	0-15
8	<i>Microcystis</i>	Microcystaceae	0	0	0-10	0

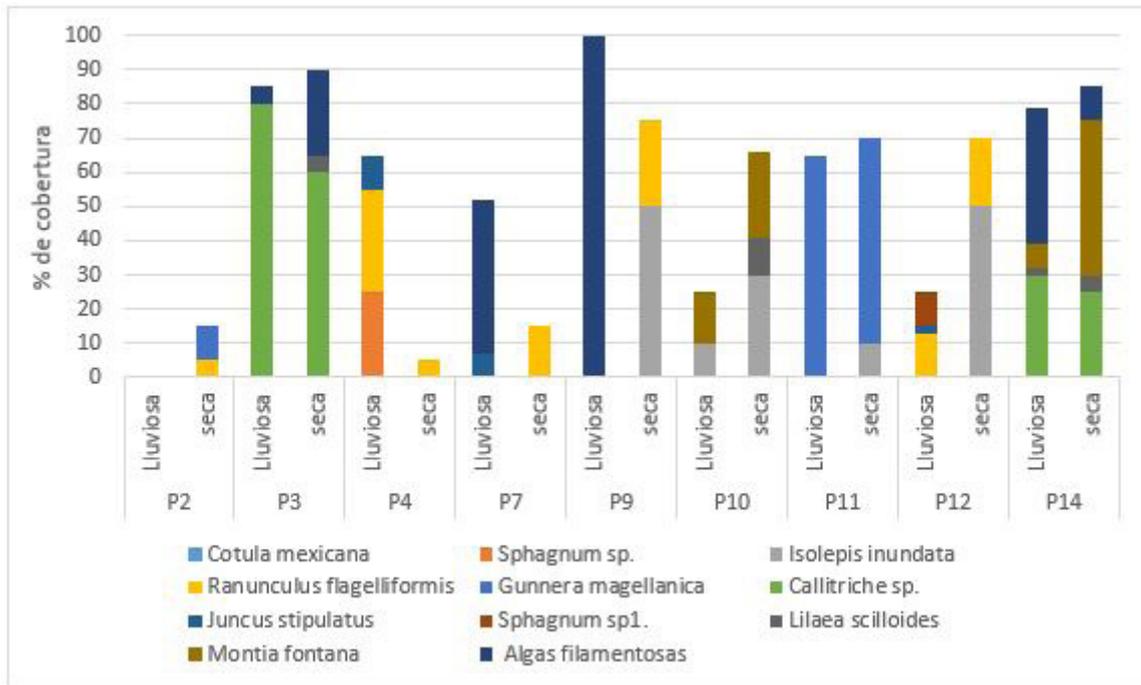


Figura 2. Cambios en la vegetación acuática en Pugllohuma entre época lluviosa y seca, comparación de los porcentajes de cobertura vegetal de plantas acuáticas en el humedal por cada punto de muestreo

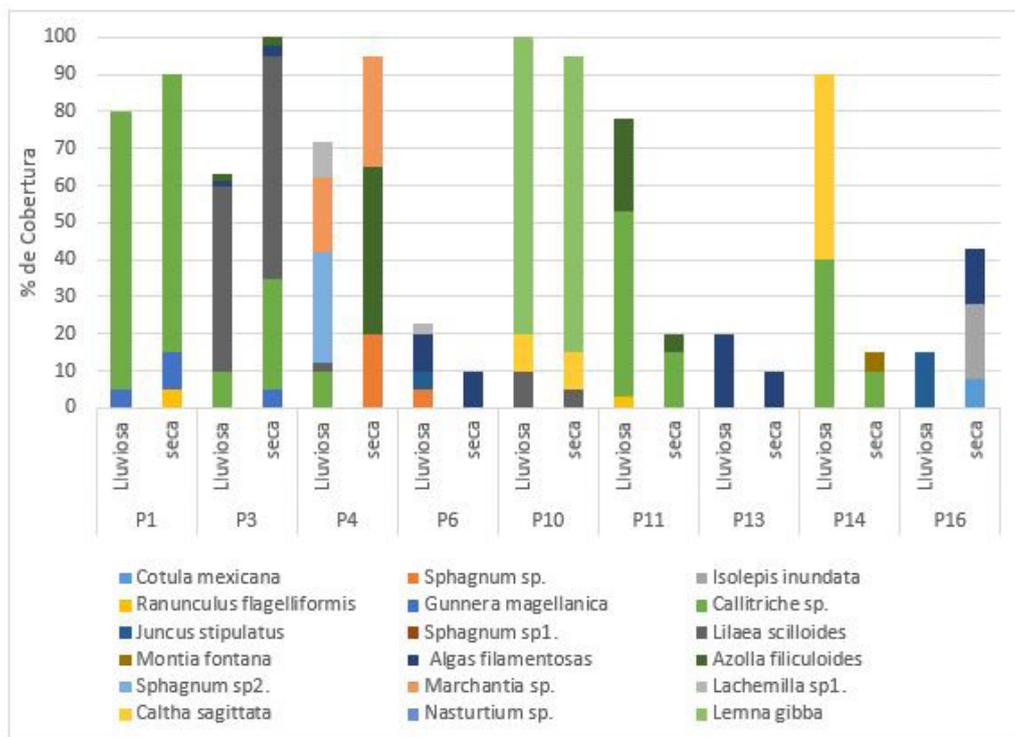


Figura 3. Cambios de la vegetación acuática en Patugllana entre época lluviosa y seca, comparación de los porcentajes de cobertura vegetal de plantas acuáticas en el humedal por cada punto de muestreo.

similares en época seca. *Nasturtium*, fue registrado solo en época seca y *Lachemilla* desapareció en esta época (Tabla 1).

En época seca se observaron cambios en la composición de la vegetación acuática de los humedales (Figura 2). En Pugllohuma la especie más repetitiva dentro de los puntos de muestreo fue *Isolepis inundata* con porcentajes de cobertura de hasta 50%. Otra especie abundante fue *Ranunculus flagelliformis*, la cual se observó en la mayoría de puntos. En época lluviosa los organismos más abundantes fueron las algas filamentosas con porcentajes de hasta el 100% (Figura 2), las cuales desaparecieron en época seca en la mayoría de puntos.

En Patugllana en los puntos: p6, p13 y p14, se observa cambios drásticos en cuanto a la presencia y abundancia de especies en época seca, en estos puntos aparece *Isolepis inundata* y los porcentajes de cobertura bajan de 80% a 40% (Figura 3).

Se observó un total de 8 géneros de algas filamentosas en los dos humedales. En Pugllohuma 6 y en Patugllana 8, de los cuales 6 son compartidos.

El género *Spirogyra* estuvo presente en los dos humedales y en las dos épocas estudiadas (lluviosa y seca). El porcentaje de cobertura de algas fue mayor en Pugllohuma (Tabla 1).

El género *Oedogonium* fue el de mayor cobertura en el humedal Pugllohuma en época lluviosa con un porcentaje de entre 55-90 %, otro género abundante fue *Spirogyra*, (Figura 4). En época seca se ve un cambio drástico en los puntos p3 y p14, en donde desaparecen algunos géneros, pero aparecen otros como *Ulothrix*, *Vaucheria* y *Zygnema*. El género más abundante fue *Zygnema* con un rango de variación entre 5 y 33 % de cobertura (Tabla 1).

En Patugllana el género de mayor cobertura fue *Spirogyra* con hasta el 80 %. (Tabla 1). En época seca se observaron cambios en p3 y p6 en donde aparecen géneros nuevos como *Zygnema*, *Vaucheria* y *Meugotia* (Figura 4).

En época seca se observó un gran cambio ya que debido a la falta de agua estas algas disminuyeron (Figura 4). Los géneros *Ulothrix* y *Vaucheria*, se observaron únicamente en época seca y en baja abundancia (Tabla 1). La mayoría de géneros poseen mayor cobertura en época lluviosa, con

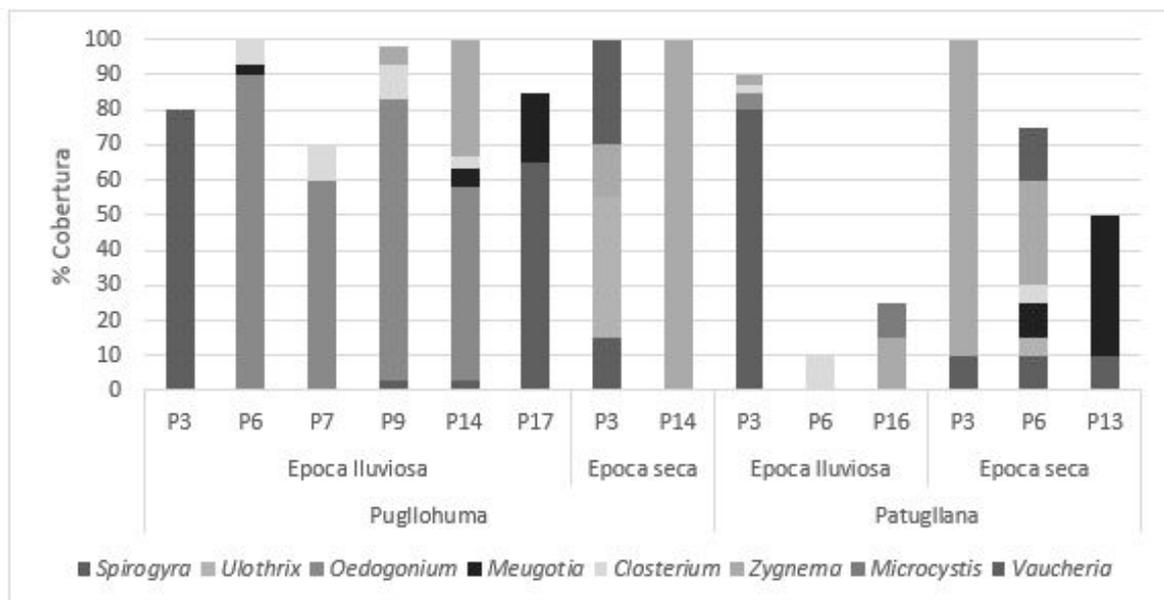


Figura 4. Cambios de la presencia de algas filamentosas en los humedales Pugllohuma y Patugllana entre época lluviosa y seca. Comparación de los porcentajes de cobertura de algas filamentosas por puntos de muestreo.

excepción de *Ulothrix*, *Vaucheria* y *Zygnema* las cuales poseen un alto porcentaje y abundancia en época seca.

Composición físico química del agua

Se observaron algunas diferencias en la composición físico química del agua entre los dos humedales, los componentes más sobresalientes y distintivos fueron los niveles de hierro y sulfatos presentes. En Pugllohuma los niveles de hierro fueron altos con un rango de variación entre 0,06 a 1 < mg/l época lluviosa. Los niveles de sulfatos, con un rango entre 0 a 8 mg/l, 0 a 1,01 mg/l de nitratos y 0,04 a 0,88 mg/l de fosfatos (Tabla 2).

En Patugllana los valores de hierro fueron bajos, con un rango entre 0,04 a 0,87 mg/l en época lluviosa. Se obtuvieron niveles de sulfatos, con rangos entre 0 a 57 mg/l. En base a los nutrientes se observaron mayores concentraciones de fosfatos y nitratos en Patugllana en época lluviosa con rangos de variación entre 0,11 a 0,92 mg/l de nitratos y los nitritos de 0,2 a 10 mg/l.

La conductividad y los sólidos totales fueron mayores en Patugllana en época lluviosa con rangos entre 81 a 228 μ S de conductividad y 40 a 114 ppm de STD (Tabla 2).

En la Tabla 2 se observa que el pH en los dos humedales fue ligeramente ácido acercándose a neutro, con un rango de variación entre 5 a 7 en Pugllohuma y de 6 a 7, 9 en Patugllana en época lluviosa y seca. Es importante señalar que cada humedal es un conjunto de lagunillas, y cada lagunilla posee su composición fisicoquímica particular.

En época seca en Pugllohuma, los niveles de hierro fueron bajos con valores de 0,04 a 0,06 mg/l. los sulfatos aumentaron, en el punto 3, en época lluviosa se tiene un valor de 0 y en seca subió hasta 8 mg/l. Los fosfatos aumentan de igual manera en el P3 y P14, con valores de 1,05 y 2,3 mg/l. La conductividad y los sólidos totales aumentaron en los dos puntos de muestreo en época seca. Los valores más altos fueron de 171 μ S de conductividad y 85 ppm en el punto 14. En Patugllana los niveles de hierro fueron mayores que en época lluviosa, con valores superiores a 1 mg/l.

Los niveles de sulfatos aumentaron notablemente en época seca, en donde se tiene valores que triplican los niveles obtenidos en época lluviosa, como en el caso del P1 en donde en época lluviosa se registró 5 mg/l de sulfatos y en época seca 80 mg/l. Los

Tabla 2. Rangos de variación (valor mínimo - máximo) de las variables físico químicas analizadas en los humedales, en época lluviosa y seca.

Parámetros	Pugllohuma				Patugllana			
	E. lluviosa		E. seca		E. lluviosa		E. seca	
	min	max	min	max	min	max	min	max
ph	5,42	7,54	6,22	6,28	6	7,9	5,95	6,95
% DO (oxígeno disuelto)	21,3	109,8	40,1	61	48,4	127,5	27,1	72,2
mg/L OD (oxígeno disuelto)	0,11	7,39	2,77	4,22	2,83	7,21	1,54	4,93
US conductividad (μ S)	1,42	283	165	171	81	228	2,33	710
STD (ppm) Sólidos totales disueltos	31	133	82	85	40	114	12,8	260
Temperatura ($^{\circ}$ C)	8,77	14,4	8,93	9,38	8,49	18,18	8,75	15,45
Nitritos (mg/l)	0	0,07	0,002	0,004	0	0,06	0	0,037
Nitratos (mg/l)	0	1,01	0,209	0,345	0,118	0,925	0,142	0,695
Fosfatos (mg/l)	0,04	0,88	1,05	2,3	0,2	10	0	2,5
Sulfatos (mg/l)	0	8	8	14	0	57	0	80
Hierro (mg/l)	0,06	mayor a 1	0,04	0,06	0,04	0,87	0,06	0,6

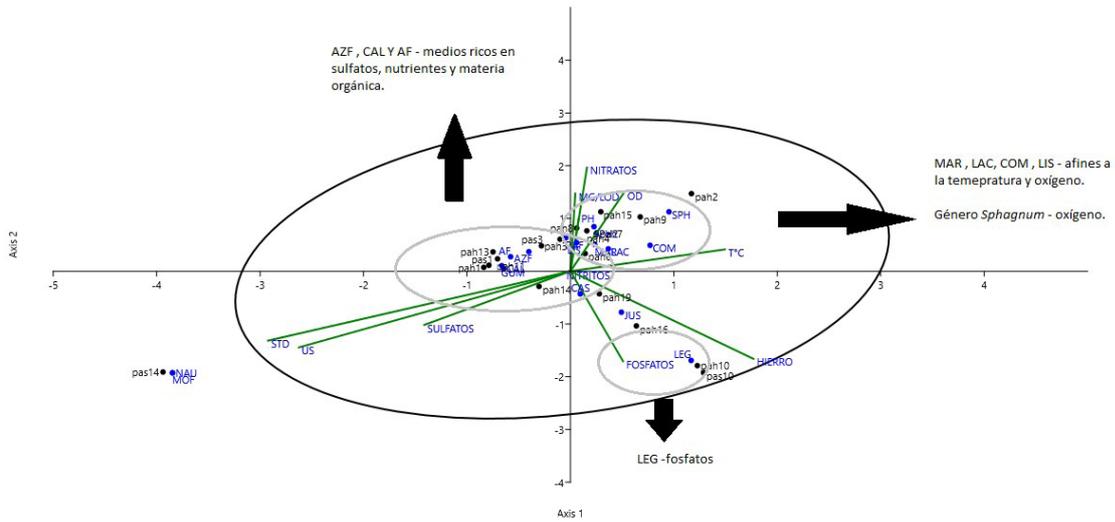


Figura 6. Análisis de correspondencia Canónica CCA sobre la correlación entre plantas acuáticas y variables físico químicas del agua, en época lluviosa (pah) y seca (pas), en el humedal Patugllana. Variables: Puntos de muestreo , variables bióticas y abióticas. (ISI)Isolepis inundata, (LIS) Lilaea scilloides, (CAL) Callitriche sp. , (GUM) Gunnera magellanica, (JUS) Juncus stipulatus, (RAF) Ranunculus flageliformis, (COM) Cotula Mexicana, (MOF)Montia Fontana , (SHP) Sphagnum sp., (CAS) Caltha sagittata, (AZF) Azolla filiculoides, (LEG) Lemna gibba, (MAR) Marchantia sp., (LAC) Lachemilla sp1., (CAS) Caltha sagittata ((AF) algas filamentosas.

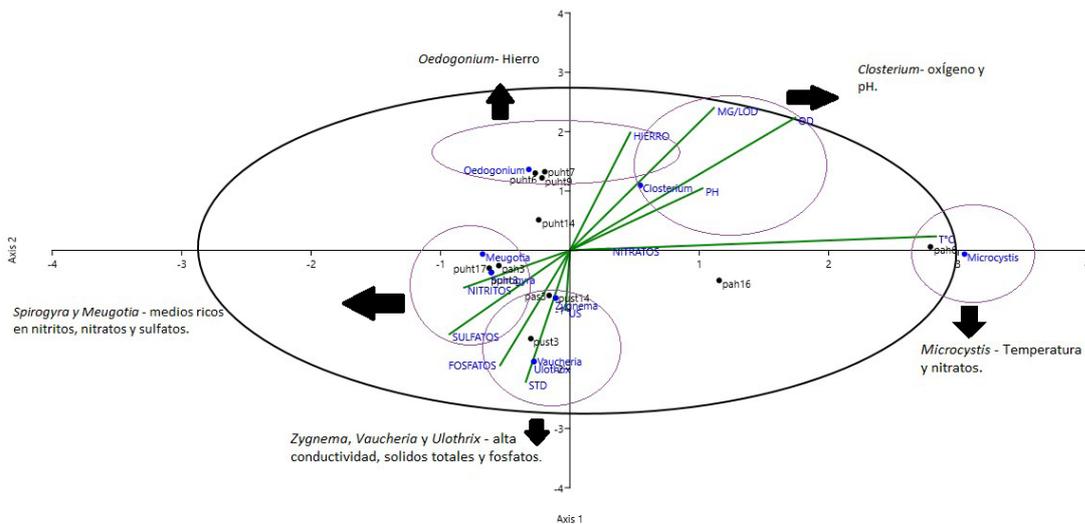


Figura 7. Análisis de Correspondencia Canónica en base a la correlación entre algas filamentosas y variables físico químicas del agua en los humedales. Pugllahoma época lluviosa (puh), Pugllahoma época seca (pus), Patugllana época lluviosa (pah) y Patugllana época seca (pas).

que conforman los humedales, se encuentran llenas de agua y con una alta cobertura vegetal acuática, tanto de plantas acuáticas como algas filamentosas. En época seca el humedal Pugllohuma pierde casi completamente el agua debido a la presencia de canales artificiales que lo drenan. Patugllana no la pierde completamente, pero si se observan cambios en base a la estacionalidad, debido a las altas temperaturas y bajas precipitaciones.

Comunidades de plantas acuáticas

En humedales temporales o transitorios, algunas especies de plantas acuáticas pueden permanecer sin agua durante largos periodos de tiempo, hasta la próxima inundación. Estos organismos presentan adaptaciones morfológicas y estructurales que les permite mantenerse en ambientes que se encuentran en cambio constante (Pérez et al. 2015).

Por esta razón, las comunidades vegetales anfibias son capaces de adaptarse y sobrevivir a cambios drásticos de sequía e inundación, una de estas especies es *Ranunculus* sp., la cual es capaz de sobrevivir debido a adaptaciones morfológicas vegetativas (Flores et al. 2005). Otra especie abundante en época seca fue *Gunnera magellanica*, una especie anfibia, por ende, sobrevive sin problema a los cambios generados por la estacionalidad (Figuras 2 y 3).

La abundancia de especies indica suelos ricos en materia orgánica (Schmidt y Vargas 2012) especies como *Juncus stipulatus*, e *Isolepis inundata*, usualmente se desarrollan sobre suelos en condiciones de intensa variabilidad (Terneus et al. 2019, Schmidt y Vargas 2012), por efectos de la estacionalidad, lo que los hace suelos muy ricos en nutrientes. Se confirma entonces que la disponibilidad de nutrientes en el sustrato y en el agua influyen en la distribución y riqueza de macrófitas (Terneus et al. 2020, Kiersch et al. 2003). Una de las especies más abundantes en los dos humedales fue *Callitriche* sp., la cual posee una forma de vida enraizada flotante y necesitan de sustratos suaves y ricos en materia orgánica para desarrollarse (Terneus 2002), lo cual se ve reflejado en las características abióticas que presentan los humedales (Tabla 2).

Azolla filiculoides y *Lemna gibba* son especies que están presentes en aguas eutrofizadas con elevadas concentraciones de fósforo. El carácter invasor de estas especies suele manifestarse cuando las concentraciones de fósforo superan los 0,9 mg/l (Cirujano et al. 2014). La abundancia de

estas poblaciones impide el crecimiento de otras especies fotosintetizadoras debido al recubrimiento del espejo de agua, impidiendo el paso de la luz. En el caso de Patugllana, existen puntos donde se observaron concentraciones mayores a 1 mg/l, esto explica la abundancia de estas especies manifiestas en porcentajes de cobertura alta (Tabla 1). Además, los patrones ecológicos de la vegetación acuática en este humedal muestran dependencia por la presencia de nitritos y nitratos, como nutrientes, y altas conductividades como determinantes para la presencia de ciertas especies (Figura 6).

En las lagunillas donde la cobertura de plantas acuáticas fue alta, la cantidad de oxígeno disminuyó a comparación con lagunillas con poca vegetación acuática. Este es un patrón que también se expresa en lagunas más grandes y que a pesar de tener una dinámica hidrológica distinta se mantiene, como lo demuestran los estudios realizados por Terneus et al. 2019 en las lagunas de El Voladero, al pie del Volcán Chiles.

En definitiva, los patrones ecológicos de la cobertura vegetal en el humedal Pugllohuma muestran una estrecha dependencia por la presencia de fosfatos, sulfatos y hierro como elementos determinantes de su composición florística (Figura 5), tanto en época seca como en lluviosa, donde la cercanía al volcán Antisana podría estar incidiendo en las condiciones ambientales de este humedal.

Comunidades de algas filamentosas

En referencia a la composición de algas filamentosas, en el humedal Pugllohuma la cobertura en época lluviosa fue alta, mayor que la cobertura de plantas acuáticas (Figura 4). El género con más dominancia fue *Oedogonium*, el cual se presenta en aguas blandas y ricas en compuestos húmicos y hierro. En algunos casos aparecen como epifitas en macrófitas (Cambra y Aboal 1992), las cuales brindan pequeñas cantidades de fósforo al ecosistema y esto es absorbido por estas algas. Las cantidades de hierro dentro de este humedal fueron altas, lo cual contribuye a la abundancia de este género (Tabla 2). Se ha observado también similares asociaciones entre plantas acuáticas y algas en las lagunas volcánicas de El Voladero, al norte del Ecuador, donde la concentración de nutrientes (nitratos y fosfatos) son determinantes en esta simbiosis (Terneus et al. 2019).

Zygnema, estuvo presente en época lluviosa y seca en Pugllohuma (Tabla 1), este género es común en pozas de agua poco profundas, en donde pueden

desarrollarse y formar masas exuberantes (Bellinger y Singee 2010). En época seca este género aumentó su cobertura y abundancia debido a la pérdida de agua mostrando aglomeraciones de crecimiento observables a simple vista.

En Patugllana se observó un alto porcentaje de cobertura de algas, pero menor a Pugllohuma, *Spirogyra* fue el género dominante, se lo observó en los dos humedales y estuvo presente en época lluviosa y seca (Tabla 1). Este género es uno de los más comunes en agua dulce y está presente en ríos, arroyos y aguas estancadas (Quiquiri 2017). Posee un rango ecológico amplio, es capaz de triplicar su biomasa en tan solo tres días (Cambra y Aboal 1992), es común en pequeñas pozas y forma “blooms” algales en la superficie de los cuerpos de agua, y más aún si los niveles de nutrientes son altos (Bellinger y Sigee 2010), lo que guarda relación con la presencia de nutrientes en los humedales estudiados (Tabla 2).

El género *Meugeotia* es parte de uno de los grupos de algas verdes más evolucionados, sus filamentos son capaces de formar densas ovas en aguas estancadas (Gómez y Sánchez 2017). Crece en aguas acidas, y es considerado como indicador de un cambio ambiental temprano (Bellinger y Sigee 2010). Este género se observó en bajos porcentajes en el humedal Pugllohuma y únicamente en época lluviosa, mientras que en Patugllana se la observó en época seca (Tabla 1).

Tanto las algas como las plantas acuáticas se encuentran asociadas a la zona litoral en humedales y lagunas, esto debido a que es la vía principal por donde llegan los nutrientes, es la conexión principal entre la zona terrestre y acuática (Wehr et al. 2015).

Las algas al igual que las plantas acuáticas poseen estrategias que les permiten permanecer latentes durante los cambios drásticos que se dan en los humedales por estacionalidad, una de estos géneros es *Closterium*, el cual es capaz de sobrevivir en sequía y oscuridad por largos periodos (Wehr et al. 2015). Una razón atribuible a su presencia en los humedales estudiados.

En definitiva, los patrones ecológicos de la presencia de algas filamentosas en los humedales estudiados muestran una estrecha dependencia por altas conductividades, nitratos y temperatura como elementos determinantes de su composición florística (Figura 7), tanto en época seca como lluviosa.

Físico – química de agua

En Pugllohuma las concentraciones de hierro fueron superiores a 1mg/l, en las lagunillas con más concentración de hierro se observó menor diversidad de plantas acuáticas y en algunos casos nula, posiblemente debido a que las concentraciones altas de hierro pueden inhibir su crecimiento, este compuesto es indispensable para todos los organismos, pero en bajas cantidades (González et al. 2000).

Según los promedios de sulfatos se puede observar una gran diferencia entre los humedales ya que en Pugllohuma las concentraciones fueron bajas y en Patugllana el valor promedio en época lluviosa fue de 10,49 mg/l (Tabla 2).

La mayoría de cuerpos de agua de alta montaña en el Ecuador son de origen glaciar y han sido calificados como oligotróficos, de pH generalmente ácido, baja conductividad y alta transparencia (Ramos et al. 2013). Sin embargo, en este caso, la conductividad fue alta en los dos humedales, al igual que los sólidos totales, estos dos parámetros se correlacionan ya que la cantidad de sólidos totales aportan iones minerales al sistema y la conductividad refleja la concentración de iones en el agua, por consiguiente, la capacidad de conducir la electricidad en el medio acuático. Estos niveles altos de conductividad, la mayoría de veces, están asociados a niveles altos de intervención antrópica o a actividad volcánica natural, debido a la presencia de sales minerales (Terneus et al. 2019), como podría ser el caso, debido a la proximidad de estos humedales al volcán Antisana.

Los resultados obtenidos demuestran que estos ecosistemas acuáticos son bastante particulares y poseen características que determinan dinámicas ecológicas propias, no necesariamente comparables con otras lagunas o ríos, cuyas dinámicas ecológicas son distintas, por lo tanto, estos ecosistemas deberían tener un tratamiento específico y un cuerpo legal que los ampare, tomando en cuenta algunos aportes obtenidos durante esta investigación.

CONCLUSIONES

Se pudo observar que cada humedal estudiado posee características que los vuelven muy particulares, tanto en su composición físico química como biótica. Es importante resaltar que el humedal Pugllohuma posee un grado alto de alteración, mayor al humedal Patugllana, lo cual se ve reflejado en su composición biótica. Estos ecosistemas están en constante cambio debido a la estacionalidad que

es drástica en la zona donde se encuentran, lo cual permite a estos ecosistemas reflejar su alta dinámica ecológica.

El humedal Pugllohuma perdió totalmente el agua, esto se puede deber a la presencia de drenes que fueron construidos anteriormente, con el objetivo de evacuar el agua y mantener el ganado.

Este humedal posee altos niveles de hierro lo cual es propio del ecosistema, debido al tipo de suelo de la zona y su composición geológica natural. Por su parte Patugllana no se encuentra intervenido, lo cual contribuye a su mejor estado de salud ecológica y por consiguiente asegura su permanencia en el tiempo.

RECOMENDACIONES

Los humedales estudiados presentan características particulares, las cuales los hacen ecosistemas de alta importancia que deben ser protegidos y manejados correctamente. La presencia de plantas acuáticas y algas filamentosas confirman la capacidad de los humedales, su productividad y estado ecológico, por lo que se recomienda tener un seguimiento de las especies que aparecen en ellos y en conjunto analizar nutrientes y distintos factores físico-químicos del agua, que intervienen en el desarrollo y crecimiento de estos organismos.

Tanto Pugllohuma como Patugllana son humedales transitorios que dependen de la estacionalidad climática. Por lo tanto, este es un factor de suma importancia a tomar en cuenta en temas de manejo y monitoreo de estos cuerpos de agua, lo que demanda la implementación de estaciones de monitoreo hidrobiológico.

Para entender de mejor manera la físico-química de estos cuerpos de agua y su composición biótica, es recomendable analizar a detalle y de manera paralela los suelos de estos humedales, con el fin de conocer más o fondo su composición y diferencias.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Internacional del Ecuador por el apoyo. A FONAG (Fondo para la protección de agua) y EPMAPS (Empresa Pública Metropolitana de Agua Potable y Saneamiento), quienes permitieron realizar el estudio en el Área de Conservación Hídrica Antisana, y colaboraron con la logística. A Katya Romoleroux y al Herbario de La Universidad Católica del Ecuador por su apertura. A Manuel Cobo por su ayuda y trabajo en el campo. También a Luis Cárdenas por su

colaboración en la creación del mapa, a Patricio Yáñez en la metodología y estadística, y a Mateo Gómez de la Torre en análisis de datos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahumada M, Aguirre F, Contreras M, Figueroa A. 2011. Guía para la conservación y seguimiento ambiental de humedales Andinos. Gobierno de Chile.

Aquino E. 2011. Colecta de microalgas. Monografía. Facultad de Oceanografía, Pesquería y Ciencias Alimentarias. Universidad Nacional Federico Villareal. Perú.

Ballesteros J. 2011. La Nutrición de las Plantas. Agricultura biológica. Huerta Familiar. Consultado 10 de mayo del 2019. Obtenido desde: <https://agroecologia2011.wordpress.com/2011/02/20/la-nutricin-de-las-plantas/#comments>.

Bellinger E, Sigee D. 2010. Algas de Agua dulce. Identificación y usos como bioindicadores. Wiley-Blackwell.

Bojorge M, Cantoral E. 2016. La importancia ecológica de las algas en los ríos. *Hidrobiológica* 26 (1). México.

Cambra J, Aboal M. 1992. Algas verdes filamentosas de España. Distribución y ecología. *Linnetica* 8, 213-220.

Cirujano S, Meco A, García P. 2014. Flora acuática española. Hidrofitos vasculares. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.

Convención Ramsar. 2006. Manual de la Convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971) 4a. edición. Secretaria de la Convención de Ramsar, Gland (Suiza).

Flachier A. 2005. Complejos de turberas Ñucanchi Turupamba. En: Izurieta. X. Turberas altoandinas. Espacios frágiles de vida y cultura. Proyecto Peatlands in the Tropical Andes. Quito.

Flores M, Alegría J, Granda A. 2005. Diversidad florística asociada a las lagunas andinas Pomacocha y Habascoca, Junín. *Rev. Perú biol.* 12 (1).

FONAG. 2017. Contratar la intervención biofísica en los márgenes del Arenal dos, de la unidad hidrográfica Jatunhuaycu en el Antisana. Programa de Recuperación de la Cobertura Vegetal. Quito.

- Gómez A, Valderrama L, Rivera C. 2017. Comunidades de macrófitas en ríos andinos: composición y relación con factores ambientales. *Acta biol. Colombia* 22(1) 45-58.
- Gómez M, Sánchez P. 2017. Diversidad y potencialidad bioindicadora de las algas de la provincia de Albacete. *SABUCO* (12), 43-77.
- Jara E, Gómez J, Montona H, Sánchez T, Tapia L, Cano N, Dexter A. 2017. Acumulación de metales pesados en *Calamagrostis rigina* y *Myriophyllum quitense* evaluadas en cuatro humedales altoandinos del Perú. *Arnaldoa* 24 (2): 583-589. Trujillo.
- Jaramillo M, Flores E. 2012. Fitorremediación mediante el uso de dos especies vegetales *Lemna minor* y *Eichornia crassipes* en agua residuales producto de la actividad minera. Tesis de grado. Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.
- Kiersch B, Muhleck R, Gunkel G. 2003. Las macrófitas de algunos lagos alto andinos del Ecuador y su bajo potencial como bioindicadores de eutrofización. Universidad Técnica de Berlín, Departamento de Manejo de la Calidad de Agua, Strasse des 17. Juni 135, Sekr. KF 4, 10623 Berlín, Alemania.
- Ministerio del Ambiente. 2015a. Humedales del Ecuador. Ecuador. Consultado 11 de enero del 2019. Obtenido desde: <http://suia.ambiente.gov.ec/web/humedales>.
- Ministerio del Ambiente. 2015b. Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Ecuador. Reserva Ecológica Antisana. Consultado el 12 de diciembre del 2018 Obtenido desde: <http://areasprotegidas.ambiente.gov.ec/es/areas-protegidas/reserva-ecol%C3%B3gica-antisana>
- Molina M, Terneus E, Yáñez P, Cueva M. 2018. Resiliencia de la comunidad fitoplanctónica en la laguna andina de Papallacta y sus afluentes, ocho años después de un derrame petrolero. *Revista de ciencias de la vida La Granja* 28 (2) 66 - 82.
- Mostacedo B, Frederichsen. T. 2000. Manual de métodos básicos de muestreo y análisis en Ecología Vegetal. Bolivia.
- Pérez N, Arias J, Quiroz J. 2015. Variación espacio temporal de plantas acuáticas en el complejo cenagoso del bajo Sinu, Córdoba, Colombia. *Acta biol. Colombia*, 20 (3) 155-165.
- Ramos C, Cárdenas N, Herrera Y. 2013. Caracterización de la comunidad de macrófitas acuáticas en lagunas del Páramo de La Rusia (Boyacá, Colombia). *Revista Ciencia en Desarrollo*. 4(2): 73-82.
- Rial A. 2004. Ensayo acerca de la dinámica temporal de la vegetación en un humedal de los llanos de Venezuela. *Fundación de la Salle*. 127-139.
- Rial A, León B, Terneus E, Tongnelli M. 2016. Estado de conservación y biodiversidad de agua dulce en los Andes tropicales. Capítulo: Estado de conservación y distribución de las plantas acuáticas. UICN Lista Roja de los Andes Tropicales. *Research Gate*. pp. 87-104.
- Samanez I, Rimarachin V, Palma C, Arana J, Ortega H, Correa V, Hidalgo M. 2014. Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas en aguas continentales del Perú. Ministerio del Ambiente Perú.
- Schmidt U, Varga O. 2012. Comunidades vegetales de las transiciones terrestre-acuáticas del páramo de Chingaza. Colombia. *Rev. Biol. Trop.* 60. (1).
- Soria I. 2016. Evaluación de la calidad ecológica del río Jatunhuayco en la zona asociada a la captación de agua EPMAPS utilizando comunidades de macroinvertebrados como indicadores de calidad de agua. Trabajo de titulación. Escuela Politécnica Nacional. Quito.
- Tenjo A, Cárdenas E. 2015. Importancia y utilidad de los bioindicadores acuáticos. *Biodiversidad Colombia*. Bogotá.
- Terneus E. 2002. Comunidad de plantas acuáticas en lagunas de los páramos del norte y sur del Ecuador. *Caldasia* 24(2) 379-391.
- Terneus E, Cueva M, Molina M, Rancies M. 2011. Informe Final del Monitoreo Limnológico y macroinvertebrados en las zonas remediada de la laguna de Papallacta. Trabajo de Titulación. UIDE.
- Terneus, E, Vallejo, B, Gómez, M. 2019. Impacto del cambio climático sobre la flora acuática de las Lagunas Verdes, volcán Chiles, Ecuador. *Biota Colombiana*, 20(2), 20-31.
- Terneus E, Vallejo B, Gómez M. 2020. Trophic status index of lentic systems from the diversity of aquatic plants from continental Ecuador (IMAE). *Caldasia* 42(1):115-128.

Viveros M. 2016. Evaluación de la calidad de agua a través del método BMWP en el humedal Santa María del lago de la ciudad de Bogotá. Trabajo de Titulación. Universidad Militar Nueva Granada. Facultad de Ingenierías. Bogotá.

Wehr J, Sheath R, Kociolek P. 2015. Algas de Agua dulce de Norte América, ecología y clasificación. Elsevier. Book.

World Wildlife Fund. 2005. Humedales Altoandinos estrategia regional. Taller de comunicaciones Word Wildlife Colombia, 19p.

Yáñez P. 2005. Biometría y Bioestadística fundamentales. Analizando la estructura numérica de la información en proyectos ecológicos. Quito. 130pp.

Zurlini G, Girardin P. 2008. Introducción al principal problema “Indicadores ecológicos a múltiples escalas”. Indicadores ecológicos. 8: 781-782.

Artículo Científico

Actividad bactericida del agua de plata coloidal sobre indicadores de calidad microbiológica: un estudio a partir de muestras ambientales

Bactericidal activity of the colloidal silver water upon microbiological quality indicators: an analysis from environmental samples

Puente-Balda M.B¹, Gudiño-Gomezjurado M.E², Granda-Moreno E.^{3*}

¹Agronaturaliza. Calle Vicente Cadena y Galo Molina. CP: 170602. Sector La Magdalena. Quito-Ecuador.

²Escuela de Ciencias Biológicas e Ingeniería, Universidad de Investigación de Tecnología Experimental Yachay, Hacienda San José, s/n, Urcuquí, Ecuador.

³Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Avenida 12 de octubre 10-76 y Roca. CP: 17012184. Quito-Ecuador

*egrandam@puce.edu.ec

Doi: 10.26807/remcb.v1i41.221

Recibido 14-11-2019; Aceptado 15-05-2020

RESUMEN. - El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad bactericida del agua de plata coloidal sobre los microorganismos indicadores de la calidad microbiológica aislados a partir de muestras de: (i) agua de 16 canales de riego en la provincia de Tungurahua-Ecuador y (ii) los utensilios e insumos de una cocina en una cafetería en Quito-Ecuador. Para esto se confrontó 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm de agua de plata coloidal durante 15, 30 y 60 minutos con los crecimientos equivalentes a A_{625} de 0,08-0,1 de las cepas de: *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Una vez estandarizada la técnica se comparó la densidad poblacional de: mesófilos aerobios, *E. coli* -coliformes totales y enterobacterias de 16 muestras de agua de canales de riego y de 11 superficies de preparación de alimentos antes y después de la exposición a 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm de la suspensión de plata coloidal. La plata inhibió el crecimiento de todos los grupos microbianos evaluados en los canales de riego excepto en el 31,3 % ($n = 5$) de los casos en los que a 4 ppm de plata los recuentos de las bacterias mesófilas aerobias estuvieron en un rango de entre 10×10^2 UFC/mL y 40×10^2 UFC/mL. Para el caso de las muestras recolectadas en la cafetería, los recuentos de mesófilos aerobios disminuyeron en el 64,3 % ($n = 9$) del total de superficies muestreadas mientras que el número de *E. coli* - coliformes totales disminuyó en el 93 % ($n = 13$) de las áreas muestreadas a partir los 5 minutos de exposición con de 4 ppm de agua de plata coloidal.

PALABRAS CLAVES: canal de riego, coliformes, enterobacterias, mesófilos aerobios, plata coloidal,

ABSTRACT. - The aim of this study was to evaluate the bactericidal activity of colloidal silver on microorganisms classified as indicators of microbiological quality which were isolated from samples of: (i) water of 16 irrigation canals in the province of Tungurahua – Ecuador and (ii) utensils and supplies from the kitchen in a café located in Quito – Ecuador. For this, silver water with a concentration of 4 ppm, 10 ppm, or 15 ppm was applied during 15, 30 or 60 minutes on cell suspensions equivalent to A_{625} between 0,08 – 0,1 of the strains: *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. After the standardization of the technique, we compared the population density of: aerobic mesophilic bacteria, *E. coli* – coliform and Enterobacteriaceae in 16 samples of irrigation canal water and 11 samples of food preparation surfaces,

before and after exposure to 4 ppm, 10 ppm or 15 ppm of colloidal silver. Regarding the irrigation canal water, the treatments inhibited the growth of all the evaluated microbial groups except in 31,3 % ($n = 5$) of the cases where exposure to 4 ppm of colloidal silver resulted in aerobic mesophilic bacteria counts ranging between 10×10^2 CFU/mL and 40×10^2 CFU/mL. In the case of samples collected in the cafe, the mesophilic bacteria counts decreased in 64,3 % ($n = 9$) of the total sampled surfaces, whereas counting of *E. coli* – coliform decreased in 93 % ($n = 13$) of the sampled areas after 5 minutes of exposure to 4ppm of colloidal silver.

KEYWORDS: aerobic mesophilic bacteria, coliform, colloidal silver, Enterobacteriaceae, irrigation canal water.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son seres vivos con gran capacidad de adaptación al entorno en el que se encuentran. Uno de los factores que permite este hecho es la adquisición de genes que les confieren características de supervivencia frente a condiciones adversas (Chen y Xiuping 2017; García et al. 2013; Papadimitriou et al. 2015). En la actualidad se han descrito procesos de resistencia a diferentes familias de antibióticos (Bado et al. 2018; Ferreira et al. 2017; Sabtu et al. 2015) y desinfectantes, en especial los compuestos derivados de amonio (Tezel y Pavlostathis 2015) o a compuestos clorados (Khan et al. 2016). La resistencia a los desinfectantes tiene impacto en la salud pública ya que estas sustancias constituyen uno de los primeros mecanismos profilácticos para el control de infecciones tanto a nivel terapéutico como en la industria de alimentos (Martínez-Suárez et al. 2016; Tipton et al. 2018). Frente a estos antecedentes surge la necesidad de investigar la actividad bactericida de nuevos compuestos que pueden ser utilizados como nuevos desinfectantes. Entre ellos se encuentran los coloides de plata en suspensión acuosa. Es por esto que, en el presente trabajo nos planteamos como objetivo evaluar la actividad bactericida del agua de plata coloidal en diferentes grupos de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica, que fueron aislados a partir de muestras de: (i) agua de 16 canales de riego en la provincia de Tungurahua-Ecuador y (ii) los utensilios e insumos de una cocina en una cafetería en Quito-Ecuador.

MATERIALES Y METODOS

Microorganismos utilizados y condiciones de crecimiento.- Para la ejecución de este trabajo se utilizaron las siguientes cepas: *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Choleraesuis ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Estos microorganismos fueron mantenidos en

congelación a -20 °C, en viales de caldo BHI a los que se añadió una solución crioprotectora de glicerol con concentración final del 1:5 (v/v).

Cribado de la actividad bactericida del agua de plata coloidal.- Un vial de cada cepa bacteriana se reconstituyó de manera directa. Cada tubo de 1,5 mL se incubó a 35 °C durante 30 minutos y se vertió y homogeneizó su contenido en 5 mL de BHI hasta estandarizar el inóculo a A_{625} entre 0,08 y 0,1, equivalente a la densidad poblacional teórica de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. A partir de esta suspensión se efectuaron diluciones seriadas en agua de peptona 0,1% (p/v) hasta 10^{-6} ($1,5 \times 10^2$ UFC/mL). Cada dilución se mezcló en proporción 1:1 con las soluciones de 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm de agua de plata coloidal (ARGENTUM CP). Al cabo de 15, 30 y 60 minutos de exposición de las diluciones de cada cepa con las 3 concentraciones de agua de plata coloidal se inocularon 4 estrias de cada mezcla en cajas Petri que contenían el medio de cultivo TSA (Tripticasa Soya Agar) y se incubó a 35 °C durante 24 horas.

Para cada tratamiento se efectuaron 4 réplicas técnicas, y se incubaron bajo las mismas condiciones los controles del: (i) medio de cultivo, (ii) agua de peptona 0,1% (p/v), (iii) agua de plata coloidal y (iv) de cada cepa bacteriana. Transcurrido el tiempo de incubación los resultados se interpretaron como presencia (+) o ausencia (-) de crecimiento.

Actividad bactericida del agua de plata coloidal en muestras de agua de canales de riego.- Las muestras de agua se recolectaron a partir de 16 canales de riego, alimentados por el río Pachanlica. Estos canales se encuentran en los cantones Ambato, Cevallos y Pelileo de la provincia de Tungurahua (Tabla S1, Material Suplementario). A partir de cada canal se tomaron en un recipiente de plástico estéril 1 000 mL de agua, aproximadamente a una profundidad de entre 5 cm y 10 cm, y se

transportaron y mantuvieron a 4 °C hasta realizar los análisis. Con el propósito de determinar la carga microbiana (mesófilos aerobios, *Escherichia coli*, coliformes totales y enterobacterias) se realizaron diluciones de cada muestra en agua de peptona 0,1% (p/v) hasta la dilución 10^{-3} . A partir de cada dilución se sembró 1 mL de estas en las placas de Petrifilm 3M™ correspondientes a cada grupo de microorganismos, conforme las especificaciones del fabricante. Transcurrido el período de incubación a 35 °C entre 24 y 48 horas se realizó el recuento de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por cada mililitro de agua.

Para evaluar la actividad bactericida del agua de plata coloidal sobre las bacterias presentes en los canales de riego se diluyó una muestra de agua con 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm de agua de plata coloidal en una proporción 1:1. Una vez transcurridos 15, 30 y 60 minutos de exposición se procedió a sembrar en placas Petrifilm 3M™ y a incubarlas conforme se describió anteriormente antes de realizar los recuentos de las UFC.

Actividad desinfectante del agua de plata coloidal en superficies.- El análisis de la actividad desinfectante del agua de plata coloidal se efectuó en 14 áreas de preparación de los alimentos de una cafetería de la ciudad de Quito (Tabla S2, Material Suplementario). Para esto: se tomaron muestras de hisopados correspondientes a 100 cm² de cada una de las superficies. El hisopo se colocó en un tubo con 5 mL de caldo TAT (Triptona Azolectina Tween) antes de ser transportado al laboratorio. De cada superficie se tomaron tres muestras, dos a las que se les añadió agua de plata coloidal en proporción 1:1 con una concentración de 4 ppm y 10 ppm, respectivamente y una tercera que sirvió como control de crecimiento. Un mililitro de cada muestra se sembró en placas Petrifilm 3M™ con el propósito de realizar el recuento de mesófilos aerobios, *Escherichia coli* y coliformes totales, tal como se mencionó previamente y antes de realizar los recuentos de las UFC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El agua de plata coloidal inhibe el crecimiento bacteriano de manera selectiva. Los resultados de este estudio demuestran que la actividad bactericida del agua de plata coloidal depende del microorganismo. En primer lugar, la inhibición de crecimiento de las bacterias Gram negativas ocurrió a menor concentración y tiempo de exposición que en *S. aureus* ATCC 6538 (Tabla 1). Este hecho, posiblemente se debe a las diferencias

en la estructura celular bacteriana. La pared de las bacterias Gram positivas es más gruesa que la de las bacterias Gram negativas (Mai-Prochnow et al. 2008) lo que dificultaría la difusión de las partículas de plata para alcanzar el espacio periplasmático y actuar sobre la diana biológica que inhibe al crecimiento de este microorganismo.

Por otro lado, entre las bacterias Gram negativas el efecto bactericida de los coloides de plata difiere según la especie. Para *S. Cholerae* ATCC 10708, 10 ppm de agua plata coloidal durante 30 minutos de exposición inhibieron el crecimiento de $\leq 1,5 \times 10^6$ UFC/mL; mientras que a esas condiciones el crecimiento de *E. coli* ATCC 11229 y *P. aeruginosa* ATCC 15442 no se vio afectado (Tabla 1). Esta variación en la susceptibilidad probablemente se debe a la adquisición de mecanismos de resistencia propios de una determinada especie.

El agua de plata coloidal inhibe el crecimiento de indicadores de calidad microbiológica de muestras ambientales de agua.- Al evaluar el efecto del agua de plata coloidal en muestras obtenidas de 16 canales de riego de la provincia de Tungurahua-Ecuador encontramos que el 100 % ($n = 16$) de las muestras presentaron contaminación por bacterias mesófilas aerobias (Tabla 2). Esto se podría esperar ya que son muestras ambientales que no han sido sometidas a ningún tipo de tratamiento de desinfección o esterilización.

En cuanto a las enterobacterias, el 56,3 % ($n = 9$) de las muestras presentaron recuentos de entre 10×10^2 UFC/mL y 70×10^2 UFC/mL para este grupo de microorganismos (Tabla 2). De estas 9 muestras el 31,3 % ($n = 5$) estuvieron contaminadas con coliformes totales y el 6,3% ($n = 1$) con *E. coli*.

El agua de plata coloidal, en todas las concentraciones evaluadas inhibió el crecimiento de: (i) *E. coli*, (ii) los coliformes fecales y (iii) las enterobacterias en todas las muestras de agua (Datos no presentados). Sin embargo, en el 31,3 % ($n = 5$) de las muestras persistieron las bacterias mesófilas aerobias en un rango de entre 10×10^2 UFC/mL y de 40×10^2 UFC/mL después del tratamiento con 4 ppm de agua de plata coloidal (Tabla 3).

Con base a estos resultados el efecto de la concentración de los coloides de plata sobre el grupo de microorganismos que se analice es variable, tal como se han descrito en estudios previos a partir de microorganismos aislados de diferentes muestras (Bonifaz 2015; Jara 2015; Vaca 2015).

Tabla 1. Actividad bactericida del agua de plata coloidal frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Choleraesuis ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Densidad bacteriana y tiempo de exposición del agua de plata coloidal			<i>E. coli</i> ATCC 11229	<i>S. choleraesuis</i> ATCC 10708	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>P. aeruginosa</i> ATCC15442
1,5 x 10 ⁸ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	+
	10 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	+
	15 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	+
1,5 x 10 ⁷ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	+
	10 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	-
	15 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	-
1,5 x 10 ⁶ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	+	+	-
		30 min	+	-	+	-
		60 min	+	-	-	-
	10 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	-	+	+
		60 min	-	-	+	-
	15 ppm	15 min	-	-	+	-
		30 min	-	-	+	-
		60 min	-	-	+	+
1,5 x 10 ⁵ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	-	+	+
		30 min	-	-	-	-
		60 min	+	-	-	-
	10 ppm	15 min	+	-	+	-
		30 min	-	-	+	-
		60 min	-	-	+	-
	15 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
1,5 x 10 ⁴ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	-	+	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	10 ppm	15 min	+	-	+	-
		30 min	-	-	+	-
		60 min	-	-	+	-
	15 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-

Continuación Tabla 1. Actividad bactericida del agua de plata coloidal frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Choleraesuis ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Densidad bacteriana y tiempo de exposición del agua de plata coloidal			<i>E. coli</i> ATCC 11229	<i>S. choleraesuis</i> ATCC 10708	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>P. aeruginosa</i> ATCC15442
1,5 x 10 ³ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	10 ppm	15 min	-	-	+	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	15 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
1,5 x 10 ² UFC/mL	4 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	10 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	15 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-

El símbolo (+) representa presencia de crecimiento, el símbolo menos (-) indica ausencia de crecimiento.

Tabla 2. Recuento del número de UFC/mL de mesófilos aerobios, coliformes totales, *Escherichia coli* y enterobacterias de las muestras de agua no tratadas de los canales de riego del río Pachanlica

Canal de riego	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	<i>E. coli</i> (UFC/mL)	Enterobacterias (UFC/mL)
Mocha Huachi	60 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	10 x 10 ²
Alborno Naranjo	19 x 10 ⁴	30 x 10 ²	20 x 10 ²	70 x 10 ²
Sevilla Chica	10 x 10 ³	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Mondongo	40 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	10 x 10 ²
Alborno Baja	32 x 10 ³	20 x 10 ²	<10 x 10 ²	30 x 10 ²
Los Cruces	28 x 10 ³	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	60 x 10 ²
Mocha Quero Ladrillos	30 x 10 ²	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
La Victoria	30 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
San José	18 x 10 ³	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	20 x 10 ²
La Torre	31 x 10 ³	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	30 x 10 ²
Pachanlica	60 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
San Miguel	11 x 10 ³	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	40 x 10 ²
Porvenir o García Moreno	20 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Cisneros Alta o San Cristóbal	14 x 10 ³	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Las Brevas	90 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Troya Huasinga	36 x 10 ³	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	60 x 10 ²

En base a los resultados expuestos es necesario efectuar estudios posteriores que permitan estandarizar los procesos y realizar ensayos a mayor escala. Esto permitirá disminuir la carga bacteriana en caudales naturales de agua a través de la utilización de las partículas de coloidales de plata.

El agua de plata coloidal: una alternativa para la desinfección de superficies de preparación de alimentos.- De las muestras tomadas sobre superficies de una cafetería, el 100 % ($n = 14$) presentaron contaminación con bacterias mesófilas aerobias y el 64,3 % ($n = 9$) con coliformes totales-*E. coli*.

Tras la exposición de los hisopados con el agua de plata coloidal los recuentos de mesófilos aerobios disminuyeron en el 64,3 % ($n = 9$) (Tabla 4). Sin embargo, en los tubos con las muestras de tablas de picar, mesones de material de trabajo y de preparación de alimentos y utensillos de postres, persistieron microorganismos viables (Tabla 4 y Tabla S2). Los coloides de plata a concentración de 10 ppm disminuyeron los recuentos de coliformes

totales-*E. coli* en todas las muestras evaluadas, excepto en el mesón de acero inoxidable con material de trabajo (Tabla 4 y Tabla S2).

Estos resultados sugieren que los microorganismos presentes en estos lugares de muestreo posiblemente desarrollaron resistencia frente a este desinfectante. Este hecho podría estar asociado a un mecanismo bacteriano de resistencia cruzada a compuestos a los cuales estos microbios hayan sido expuestos previamente, tal como se ha visto con el empleo inadecuado de los antibióticos (Karkman et al. 2018; Khan et al. 2016; Liu et al. 2018; Zhang et al. 2017).

Considerando el efecto desinfectante del agua de plata coloidal, demostrado con nuestros resultados, esta suspensión podría presentar importancia biotecnológica para el control de potenciales microorganismos patógenos. No obstante, resultan necesarias futuras investigaciones encaminadas a evaluar en modelos experimentales e *in situ* el efecto de la aplicación directa de esta suspensión a nivel ambiental sin que afecte a los seres humanos ni a los animales.

Tabla 3. Efecto de 4 ppm del agua de plata coloidal sobre el crecimiento de las bacterias mesófilas aerobias de las muestras de agua de los canales de riego del río Pachanlica.

Canal de riego	4 ppm		
	15 min	30 min	60 min
Mocha Huachi	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	10×10^2
Albornoz Naranjo	40×10^2	40×10^2	20×10^2
Sevilla Chica	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
Mondongo	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
Albornoz Baja	10×10^2	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
Los Cruces	10×10^2	20×10^2	10×10^2
Mocha Quero Ladrillos	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
La Victoria	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
San José	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
La Torre	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
Pachanlica	10×10^2	$<10 \times 10^2$	10×10^2
San Miguel	10×10^2	10×10^2	$<10 \times 10^2$
Porvenir	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
Cisneros Alta	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
Las Brevas	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$
Troya Huasinga	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$	$<10 \times 10^2$

Tabla 4. Recuento del número de UFC/mL de mesófilos aerobios y de coliformes totales-*Escherichia coli* en muestras de superficies de una cafetería

Muestra	Control	Mesófilos aerobios (UFC/20 cm ²)						Coliformes totales- <i>Escherichia coli</i> (UFC/20 cm ²)					
		4 ppm			10 ppm			4 ppm			10 ppm		
		1 min	5 min	1 min	1 min	5 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
S1	*MNPC	380	340	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S2	60	0	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S3	10	20	60	0	10	10	10	0	0	0	0	0	0
S4	MNPC	RES 46 x 10 ²	RES 34 x 10 ²	RES 42 x 10 ²	480	30	10	20	10	10			
S5	790	160	190	10	70	70	0	0	0	0	0	0	0
S6	MNPC	180	80	30	70	70	0	50	0	0	20	0	0
S7	† RES 22 x 10 ²	290	600	290	0	0	0	0	70	60	0	0	0
S8	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	40	100	40	20	50	50
S9	MNPC	RES 6 x 10 ²	RES 40 x 10 ²	RES 32 x 10 ²	RES 22 x 10 ²	RES 22 x 10 ²	MNPC	MNPC	RES 26 x 10 ²	RES 30 x 10 ²	RES 44 x 10 ²	RES 24 x 10 ²	RES 24 x 10 ²
S10	MNPC	MNPC	RES 22 x 10 ²	RES 32 x 10 ²	RES 32 x 10 ²	RES 52 x 10 ²	MNPC	MNPC	300	240	170	230	230
S11	RES 60 x 10 ²	RES 14 x 10 ²	RES 36 x 10 ²	1350	1220	1220	90	90	370	250	40	30	30
S12	1050	40	0	90	70	70	10	10	0	0	0	0	0
S13	RES 50 x 10 ²	1080	1020	600	710	710	70	70	0	0	20	0	0
S14	730	200	200	90	60	60	20	20	0	0	0	0	0

*MNPC: Muy numeroso para contar; † Recuento Estimado Estándar

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por el financiamiento de la presente investigación como parte de los Proyectos: “Determinación de la concentración mínima inhibitoria del Agua de Plata coloidal frente a microorganismos patógenos y sus posibles beneficios como desinfectante natural”, número código J13128 y “Aplicaciones del Agua de Plata como agente bactericida en varias matrices intervinientes en el proceso de elaboración de alimentos listos para el consumo en las Cafeterías”, número código K13101. Además, al Ing. Juan Carlos González por la asesoría en el análisis de datos. PBMB agradece al ingeniero Asael Sánchez y al geógrafo Juan Carlos Mena por el asesoramiento y determinación de coordenadas de los lugares de muestreo en los canales de riego.

REFERENCIAS

- Bado I, Papa-Ezdra R, Delgado-Blas JF, Gaudio M, Gutiérrez C, Cordeiro NF, García-Fulgueiras V, Araújo Pirez L, Seija V, Medina JC, et al. 2018. Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in the Intensive Care Unit of Uruguay's University Hospital Identifies the First rmtC Gene in the Species. *Microb Drug Resist.* 24(7):1012–1019. doi:10.1089/mdr.2017.0300. <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2017.0300>.
- Bonifaz Panamá DA. 2015. Evaluación de la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo en cafeterías de una institución de educación superior. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Chen Z, Xiuping J. 2017. Thermal Resistance and Gene Expression of both Desiccation-Adapted and rehydrated *Salmonella enterica* Serovar Thyphimurium Cells in Aged Broiler Litter. *Applied Environ Microbiol.* 83(12):1–14. doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.00367-17>.
- Ferreira JC, Penha Filho RAC, Andrade LN, Berchieri Junior A, Darini ALC. 2017. Diversity of plasmids harboring bla_{CMY-2} in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from poultry in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 88(4):361–364. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2017.04.014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.04.014>.
- García E, Alonso Á, Platas G, Sacristán S. 2013. The endophytic mycobiota of *Arabidopsis thaliana*. *Fungal Divers.* 60(1):71–89. doi:10.1007/s13225-012-0219-0.
- Jara Santamaría VM. 2015. Efecto antibacteriano del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación aislados de manos de manipuladores de alimentos de cuatro cafeterías de un centro de educación superior. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Karkman A, Do TT, Walsh F, Virta MPJ. 2018. Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. *Trends Microbiol.* 26(3):220–228. doi:10.1016/j.tim.2017.09.005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.005>.
- Khan S, Beattie TK, Knapp CW. 2016. Relationship between antibiotic- and disinfectant-resistance profiles in bacteria harvested from tap water. *Chemosphere.* 152:132–141. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.02.086. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.086>.
- Liu SS, Qu HM, Yang D, Hu H, Liu WL, Qiu ZG, Hou AM, Guo J, Li JW, Shen ZQ, et al. 2018. Chlorine disinfection increases both intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in a full-scale wastewater treatment plant. *Water Res.* 136:131–136. doi:10.1016/j.watres.2018.02.036. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.036>.
- Mai-Prochnow A, Clauson M, Hong J, Murphy AB. 2016. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Sci Rep.* 6(November):1–11. doi:10.1038/srep38610. <http://dx.doi.org/10.1038/srep38610>.
- Martínez-Suárez J V., Ortiz S, López-Alonso V. 2016. Potential impact of the resistance to quaternary ammonium disinfectants on the persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environments. *Front Microbiol.* 7. doi:10.3389/fmicb.2016.00638.
- Papadimitriou K, Zoumpopoulou G, Foligné B, Alexandraki V, Kazou M, Pot B, Tsakalidou E. 2015. Discovering probiotic microorganisms: In vitro, in vivo, genetic and omics approaches. *Front Microbiol.* 6(FEB):1–28. doi:10.3389/fmicb.2015.00058.
- Sabtu N, Enoch DA, Brown NM. 2015. Antibiotic resistance: What, why, where, when and how? *Br Med Bull.* 116(1):105–113. doi:10.1093/bmb/ldv041.

Tezel U, Pavlostathis SG. 2015. Quaternary ammonium disinfectants: Microbial adaptation, Degradation and ecology. *Curr Opin Biotechnol.* 33(Mic):296–304. doi:10.1016/j.copbio.2015.03.018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2015.03.018>.

Tipton KA, Chin C-Y, Farokhyfar M, Weiss DS, Rather PN. 2018. Role of Capsule in Resistance to Disinfectants, Host Antimicrobials, and Desiccation in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 62(12):1–6. doi:<https://doi.org/10.1128/AAC.01188-18>.

Vaca Báez DA. 2015. Determinación de la concentración mínima inhibidora (CMI) de la plata coloidal sobre el crecimiento de microorganismos patógenos en carne fresca vacuna. Universidad Tecnológica Equinoccial.

Vollmer W, Blanot D, De Pedro MA. 2008. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev.* 32(2):149–167. doi:10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x.

Zhang Y, Gu AZ, He M, Li D, Chen J. 2017. Subinhibitory Concentrations of Disinfectants Promote the Horizontal Transfer of Multidrug Resistance Genes within and across Genera. *Environ Sci Technol.* 51(1):570–580. doi:10.1021/acs.est.6b03132.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla S1. Ubicación geográfica de los canales de riego muestreados originados a partir del río Pachanlica en la provincia de Tungurahua-Ecuador

Cantón	Parroquia	Canal de riego	Coordenadas	Altura (msnm)*
Ambato	Picaihua	La Victoria	Norte: 9856699 y Este: 768850	2 667
		Troya Huasinga	Norte: 9856397 y Este: 768896	2 611
Cevallos	Cevallos	Mocha Huachi	Norte: 9851982 y Este: 763179	2 985
	Benítez	Sevilla Chica	Norte: 9853216 y Este: 767875	2 701
		Las Cruces	Norte: 9852022 y Este: 767890	2 701
		Mondongo	Norte: 9852545 y Este: 768737	2 764
		Albornoz Baja	Norte: 9852162 y Este: 768141	2 711
Pelileo	Chiquicha	Albornoz-Naranjo	Norte: 9861948 y Este: 772952	2 596
		Pachanlica	Norte: 9861464 y Este: 772876	2 655
		Cisneros Alta	Norte: 9863557 y Este: 772090	2 334
		San José	Norte: 9863135 y Este: 773092	2 316
		San Miguel	Norte: 9863282 y Este: 773329	2 363
	García Moreno	Porvenir	Norte: 9855570 y Este: 772449	2 675
		Pelileo	Mocha Quero Ladrillos	Norte: 9849763 y Este: 774003
	La Torre		Norte: 9857205 y Este: 770086	2 492
	Las Brevas		Norte: 9856967 y Este: 769956	2502

* msnm: metros sobre el nivel del mar.

Tabla S2. Codificación de las superficies muestreadas en una cafetería

Codificación	Tipo de superficie
S1	Mesón de acero inoxidable de preparación de sánduches.
S2	Mesón de acero inoxidable de preparación de sánduches y de ensaladas.
S3	Mesón de acero inoxidable de preparación de ensaladas y de corte de verduras.
S4	Tabla de picar.
S5	Mesón de expendio de comida.
S6	Mesa de preparación de infusiones y de café.
S7	Bandeja de plástico.
S8	Tabla de picar papas de plástico.
S9	Mesón de acero inoxidable con material de trabajo.
S10	Mesón de acero inoxidable para preparación de comida.
S11	Mesón de acero inoxidable para preparación de postres.
S12	Paleta de madera utilizada para mecer comida.
S13	Mesón de acero inoxidable para preparación de jugos.
S14	Mesón de acero inoxidable con platos limpios.