

CATÁLOGO MICROHISTOLÓGICO DE MACRÓFITAS ACUÁTICAS DE DOS HUMEDALES COSTEROS DE CHILE: UNA HERRAMIENTA PARA ESTUDIOS TRÓFICOS EN AVES ACUÁTICAS HERBÍVORAS

Microhistological catalogue of aquatic macrophytes from two coastal wetlands in Chile: a tool for trophic studies on herbivorous waterbirds

CARLOS VELÁSQUEZ^{1, 2}, CRISTINA SAN MARTÍN³, EDUARDO JARAMILLO³ & PATRICIO A. CAMUS⁴

¹Programa de Magíster en Ciencias Mención Recursos Hídricos, Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

²Instituto de Fomento Pesquero, Dr. Marín 340, Coquimbo, Chile.

³Instituto de Ciencias de la Tierra, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

⁴Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, y Centro de Investigación en Biodiversidad y Ambientes Sustentables CIBAS, Universidad Católica de la Santísima Concepción, CP 4090541, Concepción, Chile.

Correspondencia: Carlos Velásquez, cfvelasque@gmail.com

ABSTRACT. - We compile a reference catalogue of epidermic structures of leaf tissues of 12 aquatic macrophytes from the two coastal wetlands of Punta Teatinos (~29°S, Coquimbo) and Río Cruces (~39°S, Valdivia). This was made based on a microhistological analysis of fresh feces from two herbivorous waterbirds, the Red-gartered Coot and the Black-necked Swan. These birds feed mainly on dominant macrophytes present in their habitat. Our catalogue provides a useful tool for trophic studies involving these birds and for the detection of future changes in the richness, composition and distribution of macrophyte species.

Manuscrito recibido el 31 de julio de 2018, aceptado el 13 de diciembre de 2018.

El análisis micro-histológico de heces constituye un método práctico, no invasivo (*i.e.*, no requiere de la muerte del animal) y económico para determinar el espectro trófico de las aves acuáticas herbívoras (Owen 1975, Krapp & Reinecke 1992, Gallina 2011). El análisis consiste básicamente en la identificación de las estructuras epidérmicas vegetales que quedan parcialmente intactas en las heces (Johnson *et al.* 1983 a), ya que la epidermis vegetal es resistente al proceso de digestión debido a que está conformada por celulosa, cutícula y lignina (Johnson *et al.* 1983 b, Durant 2013). El contorno y tamaño de dichas estructuras epidérmicas difieren entre especies de macrófitas (Bianco *et al.* 2005), lo cual facilita la determinación de la composición de la dieta de las especies animales que las consumen. Sin embargo, para identificar confiablemente las especies vegetales en muestras dietarias (*e.g.*, heces, estómagos) es necesario contar con un catálogo

histológico de referencia para cada área de estudio (*e.g.*, Carrière 2002, Castellaro *et al.* 2007, Ahmed *et al.* 2015, Metna *et al.* 2015).

Aunque varios estudios sobre la dieta de aves herbívoras en Chile están basados en el análisis de la estructura epidérmica de la plantas consumidas (*e.g.*, López-Calleja & Bozinovic 1999, Corti & Schlatter 2002, Valenzuela 2002, Norambuena & Bozinovic 2009, Cursach *et al.* 2015), no existe un catálogo histológico que pueda ser usado como una referencia estable. Tomando en cuenta esta necesidad, aquí proporcionamos un catálogo de reconocimiento microhistológico de macrófitas acuáticas presentes en dos humedales costeros de Chile.

Nuestro catálogo incluye la descripción de las células epidérmicas del tejido foliar (*i.e.*, contorno y tamaño de las células) de 12 especies de macrófitas acuáticas recolectadas en dos humedales costeros de Chile: punta

Tabla 1. Derecha. Composición taxonómica y forma de crecimiento de las macrófitas acuáticas de los humedales de estudio. Familias: Po = Potamogetonaceae, As = Asteraceae, Ch = Chenopodiaceae, Hy = Hydrocharitaceae, Ha = Haloragaceae, On = Onagraceae, Al = Alismataceae, Cy = Cyperaceae, Ju = Juncaceae. Forma de crecimiento: S = sumergida, N = natante, FL = flotante libre, E = emergida.

Especie	Nombre común	Familia	Forma de crecimiento
Humedal Punta Teatinos			
<i>Stuckenia pectinata</i> (L.) Börner	Huiro	Po	S
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) Scott.	Hierba sosa	Ch	E
<i>Cotula coronopifolia</i> L.	Botón de oro	As	E
Humedal del Río Cruces			
<i>Egeria densa</i> Planch.	Luchecillo	Hy	S
<i>Potamogeton pusillus</i> L.	Huiro	Po	S
<i>Potamogeton lucens</i> L.	Huiro	Po	N
<i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell.) Verdc.	Pinito de agua	Ha	S
<i>Limnobium laevigatum</i> (Humb. and Bonpl. ex Willd.) Heine	Hierba guatona	Hy	FL
<i>Ludwigia peploides</i> (H.B.K.) Raven	Clavito de agua	On	N
<i>Sagittaria montevidensis</i> (Cham. et Schlecht.) Bogin	Flecha de agua	Al	E
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey) Steud.	Totora	Cy	E
<i>Juncus balticus</i> Willd.	Junquillo	Ju	E



Figura 1. Macrófitas acuáticas representativas de los humedales Punta Teatinos, Región de Coquimbo, centro-norte de Chile y río Cruces, Región de Los Ríos, centro-sur de Chile. (a) *Stuckenia pectinata*, (b) *Sarcocornia fruticosa*, (c) *Cotula coronopifolia*, (d) *Egeria densa*, (e) *Potamogeton pusillus*, (f) *Potamogeton lucens*, (g) *Myriophyllum aquaticum*, (h) *Limnobium laevigatum*, (i) *Ludwigia peploides*, (j) *Sagittaria montevidensis*, (k) *Schoenoplectus californicus*, y (l) *Juncus balticus*.

Teatinos (29°50'S; 71°20'O) en la Región de Coquimbo, centro-norte de Chile, y río Cruces (39°40'S; 73°10'O) en la Región de Los Ríos, centro-sur de Chile. Las especies de macrófitas analizadas fueron: a) *Stuckenia pectinata*, b) *Sarcocornia fruticosa*, c) *Cotula coronopifolia*, d) *Egeria densa*, e) *Potamogeton pusillus*, f) *Potamogeton lucens*, g) *Myriophyllum aquaticum*, h) *Limnobiium laevigatum*, i) *Ludwigia peploides*, j) *Sagittaria montevidensis*, k) *Schoenoplectus californicus*, y l) *Juncus balticus* (Tabla 1 y Fig. 1). Estas especies representan a nueve familias y cuatro formas de crecimiento (ver Ramírez & San Martín 2006; Tabla 1).

El catálogo fue elaborado como parte de un estudio sobre el espectro trófico de la tagua común (*Fulica armillata*) y del cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) (Velásquez 2018). La tagua común es una de las aves más abundantes en el humedal de punta Teatinos (Carlos Velazquez, observacion personal), a la vez que

el cisne de cuello negro es hoy una de las aves acuáticas más abundantes en el humedal del río Cruces (Jaramillo *et al.* 2018). Las macrófitas estudiadas fueron escogidas sobre la base de dos criterios: i) son las especies más representativas en cada uno de los humedales antes mencionados (Velásquez 2018), y ii) la mayoría de ellas son los componentes más frecuentes en la dieta de la tagua común y del cisne de cuello negro (Ruíz 1993, Corti & Schlatter 2002).

Las muestras de macrófitas de los humedales de punta Teatinos y del Río Cruces las obtuvimos durante mayo de 2016 y septiembre de 2015, respectivamente. Estas fechas coinciden con la obtención de muestras de heces de taguas y cisnes (ver Material y Métodos en Velásquez 2018). De cada especie de macrófita recolectamos seis muestras en sitios donde las aves acuáticas pueden acceder a las mismas (*e.g.*, zona ribereña o periferia acuática y zona de aguas someras [$\sim 0,5-2$ m]).

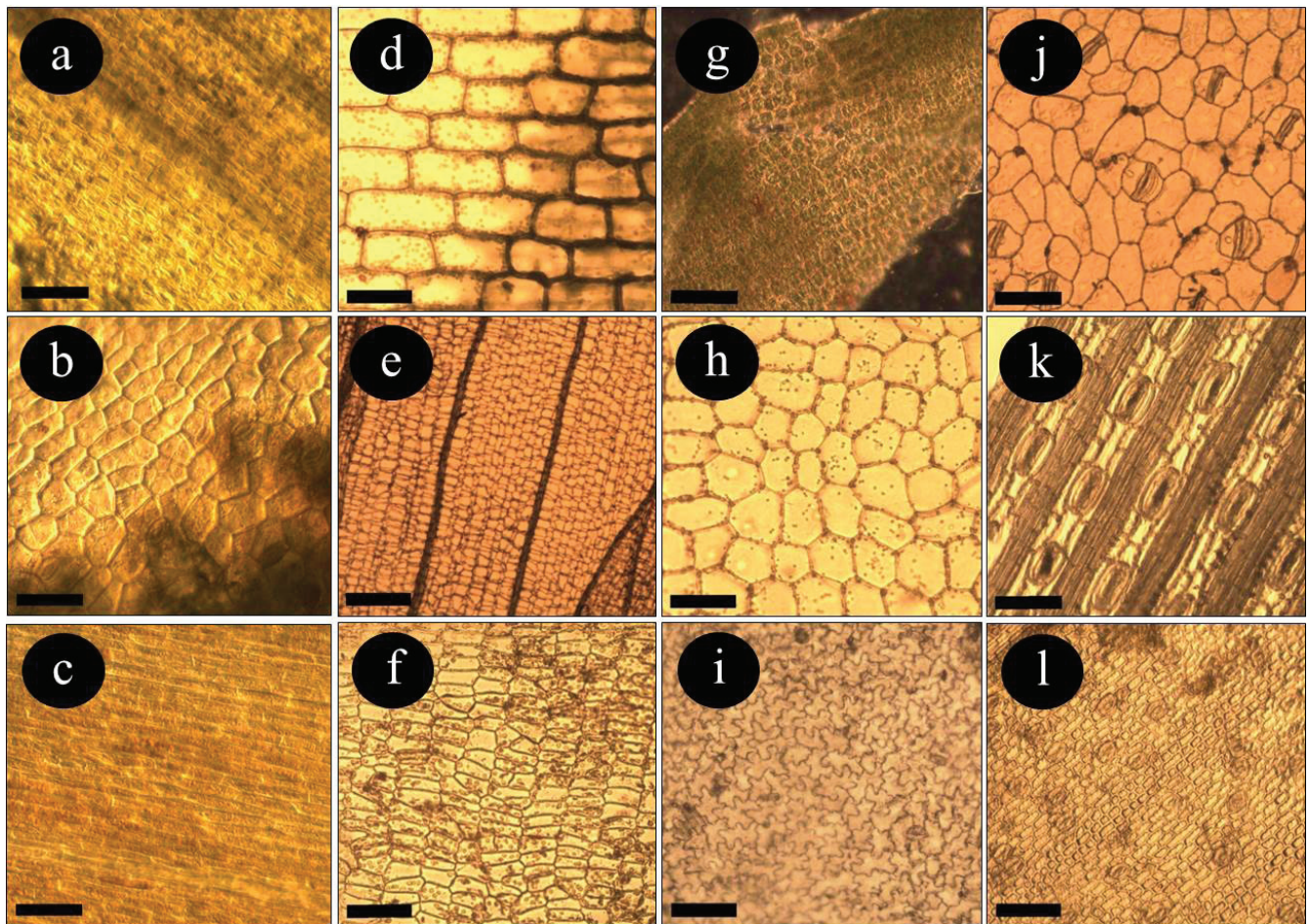


Figura 2. Características del contorno y tamaño de las células epidérmicas del tejido foliar de 12 especies de macrófitas de los humedales Punta Teatinos, Región de Coquimbo, centro-norte de Chile y Río Cruces, Región de Los Ríos, centro-sur de Chile. (a) *Stuckenia pectinata*, (b) *Sarcocornia fruticosa*, (c) *Cotula coronopifolia*, (d) *Egeria densa*, (e) *Potamogeton pusillus*, (f) *Potamogeton lucens*, (g) *Myriophyllum aquaticum*, (h) *Limnobiium laevigatum*, (i) *Ludwigia peploides*, (j) *Sagittaria montevidensis*, (k) *Schoenoplectus californicus*, y (l) *Juncus balticus*. Magnificación = 10x; barra negra = 200 μ m.

Para evitar el deterioro del tejido epidérmico durante el transporte del material vegetal al laboratorio, extendimos cada muestra y la depositamos entre hojas de papel de periódico. En el laboratorio rehidratamos las muestras con agua destilada antes de extraer el tejido epidérmico. Este procedimiento lo realizamos mediante un macerado de la estructura foliar de cada una de las especies de macrófitas intentando simular los efectos mecánicos del proceso de digestión por parte de las aves (Johnson *et al.* 1983a). El envés y haz del tejido foliar fueron macerados de manera simultánea, ya que las aves no diferencian estas estructuras al momento de ingerirlas enteras (Owen 1975, Johnson *et al.* 1983b).

Posteriormente depositamos parte del macerado sobre un portaobjetos para la obtención de imágenes digitales de alta resolución a través de una cámara fotográfica (ACCU-SCOPE) conectada a un microscopio óptico Olympus CX31-P (magnificación 10x). Las fotografías las procesamos con el programa Micrometrics SE Premium®.

Las imágenes obtenidas muestran que las células

epidérmicas del tejido foliar son específicas de cada especie de macrófitas (Fig. 2). Encontramos que las células epidérmicas difieren principalmente en el contorno y tamaño (Fig. 2). Basados sobre la geometría celular establecimos seis categorías de contorno: i) semi-cuadrada con disposición uniforme, ii) lobulada con disposición irregular, iii) alargada con disposición irregular, iv) rectangular, v) semi-redonda con disposición uniforme, y vi) sinuosa con disposición irregular (ver Fig. 2). En el caso del tamaño establecimos tres categorías: i) <50 µm de longitud, ii) 50-100 µm de longitud, y iii) 100-200 µm de longitud (ver Fig. 2). Cabe destacar que las categorías morfológicas indicadas anteriormente fueron muy notorias al momento de identificar las células vegetales en las heces de taguas y cisnes (ver Fig. 3).

En síntesis, el presente catálogo incluye tres secciones: i) imágenes de la estructura y forma de las especies de macrófitas seleccionadas (Fig. 1), ii) imágenes microscópicas de las células epidérmicas del tejido foliar de cada especie (Fig. 2), y iii) imágenes microscópicas de las células epidérmicas y fragmentos macroscópicos de

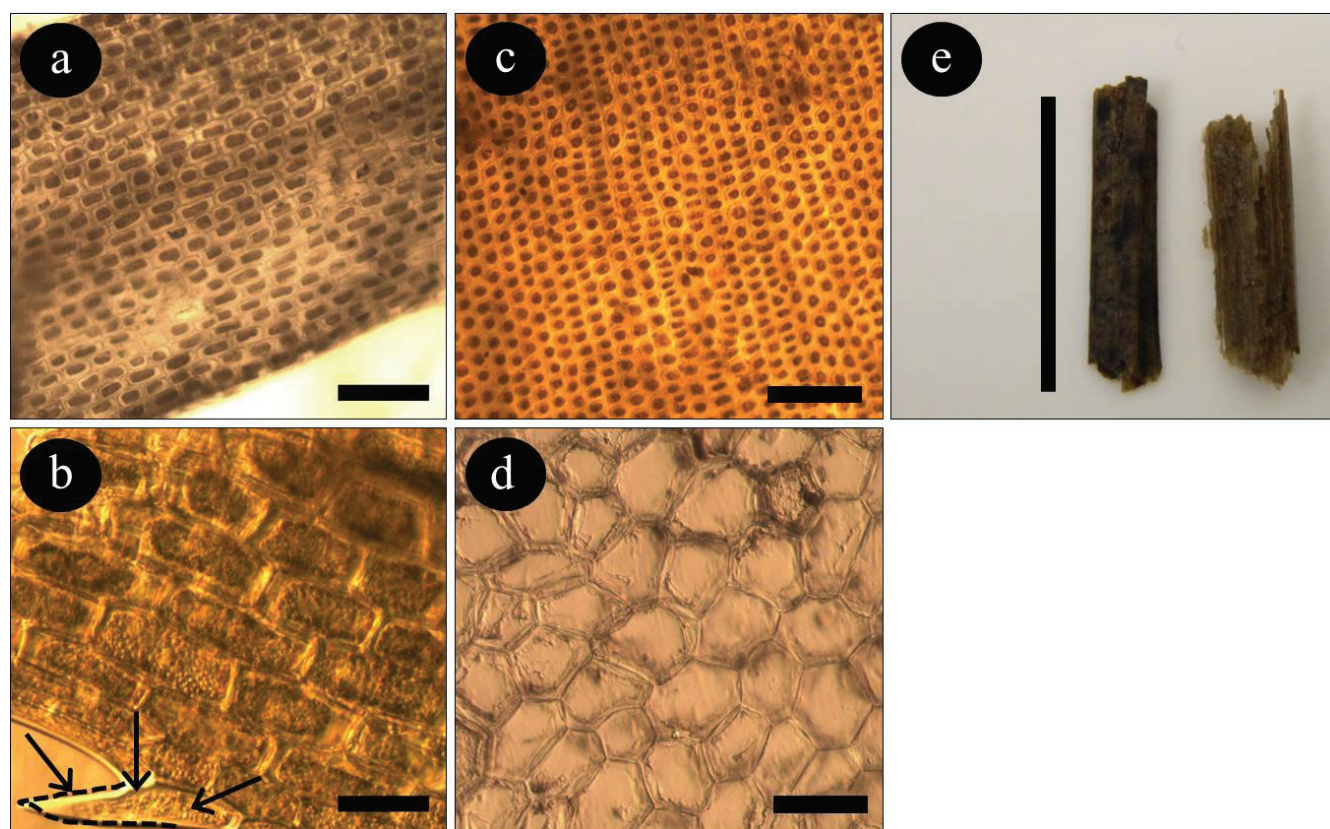


Figura 3. Muestras microscópicas de células epidérmicas (10x magnificación; barra negra vertical = 1,5 cm) y de fragmentos macroscópicos (barra negra horizontal = 200 µm) de macrófitas encontradas en heces de la tagua común (*Fulica armillata*) y del cisne de cuello negro (*Cygnus melancoryphus*). (a) *Stuckenia pectinata*, (b) *Egeria densa*, (c) *Potamogeton pusillus*, (d) *Limnobium laevigatum*, (e) *Schoenoplectus californicus*. Las flechas negras en *E. densa* (b) indican el diente del borde foliar, un rasgo taxonómico distintivo de esta especie. Compárese la similitud del contorno y tamaño de las células del tejido foliar detectadas en heces con las fotografías de la Figura 2.

especies de macrófitas detectadas en heces de la taguas y cisnes (Fig. 3).

La información contenida en este catálogo podrá facilitar el análisis de la dieta y ecología trófica de las aves acuáticas que habitan los humedales de Chile (ver Tabla 1). Esto incluye la identificación confiable de las especies vegetales consumidas, la determinación de la ocurrencia de cada especie en las heces (e.g., Corti & Schlatter 2002, Oliveira *et al.* 2002, Metna *et al.* 2015), la estimación de la amplitud del nicho trófico y la sobre-posición trófica entre especies de aves (e.g., López-Calleja & Bozinovic 1999, Gantz *et al.* 2016), la evaluación de preferencias dietarias si se dispone de datos de oferta ambiental (e.g., Cursach *et al.* 2015), y la opción de servir como indicador de cambios vegetacionales (e.g., Velásquez 2018). De esta forma, el catálogo puede proveer información relevante para programas de conservación y manejo de vida silvestre.

AGRADECIMIENTOS.- Este estudio fue financiado por el Programa de Monitoreo Ambiental del humedal del río Cruces y sus ríos tributarios (Convenio: UACH-ARAUCO). CV agradece el apoyo de la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias (UACH), Vicerrectoría de Investigación y Creación Artística (Proyecto I-2015-10; UACH) y Beca Asistencia Académica, Dirección de Postgrado (2015-2016; UACH).

LITERATURA CITADA

- AHMED, T., K.H.A.N. FIFULLAH & P. CHANDAN. 2015. Photographic key for the microhistological identification of some plants of Indian Trans-Himalaya. *Notulae Scientia Biologicae* 7: 171-176.
- BIANCO, C.A., T.A. KRAUS & A.C. VEGETTI. 2005. *La hoja, morfología externa y anatomía*. Universidad Nacional de Río Cuarto y Universidad Nacional del Litoral, Córdoba, Argentina. 196 pp.
- CARRIÈRE, S. 2002. Photographic key for the microhistological identification of some Arctic vascular plants. *Arctic* 55: 247-268.
- CASTELLARO, G., F. SQUELLA, T. ULLRICH, F. LEÓN & A. RAGGI. 2007. Algunas técnicas microhistológicas utilizadas en la determinación de la composición botánica de dietas de herbívoros. *Agricultura Técnica* 67: 86-93.
- CORTI, P. & R.P. SCHLATTER. 2002. Feeding ecology of Black-necked Swan *Cygnus melanocoryphus* in two wetland of Southern Chile. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 37: 9-14.
- CURSACH, J.A., J.R. RAU, C. TOBAR, J. VILUGRÓN & L.E. DE LA FUENTE. 2015. Alimentación del Cisne de cuello negro *Cygnus melanocoryphus* (Aves: Anatidae) en un humedal marino de Chiloé, sur de Chile. *Gayana* 79: 137-146.
- DURANT, D. 2013. The digestion of fibre in herbivorous Anatidae: a review. *Wildfowl* 54: 7-24.
- GALLINA, S. 2011. Técnicas para conocer la dieta. Pp. 235-258, in Gallina, S. & C. López-González (eds.) *Manual de técnicas para el estudio de la fauna*. Universidad Autónoma de Querétaro, A.C. Querétaro, Mexico.
- GANTZ, A., J.R. RAU, S. SADE & M. YAÑEZ. 2016. Evaluación de dos métodos de análisis dietarios aplicados en la bandurria *Theristicus melanopsis* (Gmelin 1789) y el queltehue *Vanellus chilensis* (Molina 1782). *Gayana* 80: 61-66.
- JARAMILLO, E., N.A. LAGOS, F.A. LABRA, E. PAREDES, E.O. ACUÑA, D. MELNICK, M. MANZANO, C. VELÁSQUEZ & C. DUARTE. 2018. Recovery of Black-necked Swans, macrophytes and water quality in a Ramsar wetland of southern Chile: assessing resilience following sudden anthropogenic disturbances. *Science of the Total Environment* 628: 291-301.
- JOHNSON, M.K., H. WOFFORD & H.A. PEARSON. 1983a. *Microhistological techniques for food habits analyses*. Department of Agriculture, Forest Service, New Orleans, EE.UU. 40 pp.
- JOHNSON M.K., H. WOFFORD & H.A. PEARSON. 1983b. Digestion and fragmentation: influence on herbivore diet analysis. *Journal of Wildlife Management* 47: 877-879.
- KRAPU, G.L. & K.J. REINECKE. 1992. Foraging Ecology and Nutrition. Pp. 1-29, in Batt B.D.J., A.D. Afton, M.G. Anderson, C.D. Ankney, D.H. Johnson, J.A. Kadle & G.L. Krapu (eds.) *Ecology and Management of Breeding Waterfowl*. University of Minnesota Press, Minneapolis, EE.UU.
- LÓPEZ-CALLEJA, M.V. & F. BOZINOVIC. 1999. Feeding behavior and assimilation efficiency of the Rufous-tailed Plantcutter: a small avian herbivore. *Condor* 101: 705-710.
- METNA, F., A. LARDJANE-HAMITI, N. BOUKHEMZA-ZEMMOURI, M. BOUKHEMZA, S. MERABET & R. ABBA. 2015. Diet of the Coot *Fulica atra* (Aves, Rallidae) in the nature reserve of Lake Réghaïa (Algiers, Algeria). *Zoology and Ecology* 25: 34-45.
- NORAMBUENA, C.M. & F. BOZINOVIC. 2009. Health and nutritional status of a perturbed Black-necked Swan (*Cygnus melanocoryphus*) population: diet quality. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 40: 607-616.
- OLIVEIRA, P., P. MARRERO & M. NOGALES. 2002. Diet of the endemic Madeira Laurel Pigeon and fruit resource availability: a study using microhistological analyses. *Condor* 104: 811-822.
- OWEN, M. 1975. An assessment of fecal analysis technique in waterfowl feeding studies. *Journal of Wildlife Management* 39: 271-279.
- RAMÍREZ, C. & C. SAN MARTÍN. 2006. Diversidad de macrófitos chilenos. Pp. 21-60, in Vila, I., A. Veloso, R. Schlatter & C. Ramírez (eds.) *Macrófitas y vertebrados de los sistemas límnicos de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago.
- RUÍZ, J.E. 1993. *Estudio ecológico en tres especies de Taguas residentes en el Santuario de la Naturaleza del río Cruces*.

- Tesis de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- VALENZUELA, J. 2002. *Conducta territorial y alimentaria de la caranca* (*Chloephaga hybrida* Molina, 1782) *en el litoral pacífico de Chiloé insular*. Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- VELÁSQUEZ, C. 2018. *Caracterización trófica del cisne de cuello negro* *Cygnus melancoryphus* (Aves: Anatidae), *bajo fluctuaciones estacionales del nivel de agua en un humedal Ramsar del sur de Chile*. Tesis de Magíster en Ciencias Mención Recursos Hídricos, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.