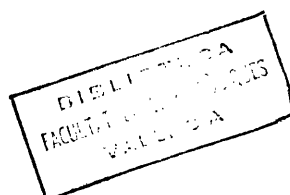


UNIVERSIDAD DE VALENCIA  
(FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS)

VARIACIÓN MORFOMÉTRICA, ISOENZIMÁTICA Y DEMOGRÁFICA  
EN POBLACIONES DE *BRACHIONUS PLICATILIS*:  
DIFERENCIACIÓN GENÉTICA Y PLASTICIDAD FENOTÍPICA

*Manuel Serra Galindo*  
1987



UMI Number: U607658

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U607658

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.  
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against  
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC  
789 East Eisenhower Parkway  
P.O. Box 1346  
Ann Arbor, MI 48106-1346

"-Siendo vosotros -dijo a estos señores- del corto número de sabios que sin duda a nadie matan por dinero, os ruego que me digáis cuáles son vuestras ocupaciones.

"-Disecamos moscas -respondió el filósofo-, medimos líneas, combinamos números, estamos conformes acerca de dos o tres puntos que entendemos y divididos sobre dos o tres mil que no entendemos."

(Voltaire, *Micromegas*)

En la lámina de la derecha, aspecto general y detalles de individuos de varias especies de *Brachionus*; entre ellos, Figs. 1 a 8, *Brachionus plicatilis*, según su primera descripción (Müller, O.F., 1786. *Animalcula infusoria fluviatilis et marina, quae defexit, systemartice descripsit et ad vivum delineari curavit ...*. Havniae: LVI+367 pp.)

Tab. I.





## Agradecimientos

Han sido muchas las personas que me han ayudado en varias formas, y a todas ellas debo expresarles mi agradecimiento. Estoy altamente reconocido a la Dra. Maria Rosa Miracle Solé, directora de esta tesis, por sus orientaciones y su asistencia durante el desarrollo del estudio. También le agradezco la confianza que me ha demostrado en todo momento. Agradezco al Dr. Eduardo Vicente Pedrós sus sugerencias sobre el mejor uso de los medios puestos a mi disposición y por el apoyo que me ha prestado. Al Dr. Charles King le debo valiosísimas sugerencias acerca del análisis de isoenzimas. A los doctores Manuel Yúfera Ginés y Francisco Amat Doménech, del Instituto de Investigaciones Pesqueras, les agradezco la cesión de cepas de rotíferos y de algas. A Laura Serrano Jiménez debo reconocerle su ayuda en la realización de algunas de las experiencias más laboriosas. Maria José Carmona Navarro y Angeles Esparcia Collado realizaron aportaciones siempre interesantes en la revisión del manuscrito, y me asistieron en las tareas de laboratorio. El Dr. Rafael Romero Villafranca y Juan José Tarín Folgado me cedieron programas de ordenador que fueron de gran utilidad. A Alicia Nebot Bartoll y a Cuca Orero Clavero les debo su paciente labor de edición. Mediante sus indicaciones o su cuidadoso trabajo manual, también han colaborado conmigo Karmen Rojo Morato, Manuela Ros Martínez, Teresa Alfonso Aguado, Amparo Carmona Navarro, Carmina Castells Muñoz, Rafa Oltra Crespo, Carmen Tort Donada, Juan José Estruch Miñana, Amparo Sanz Grau, Maria Jesús Pujalte Domarco, Juan Carlos Tormo Albert, Salvador Peiró y José del Ramo Romero.

Debo un agradecimiento muy especial al Departamento de Ecología de la Universidad de Valencia, por los medios puestos a mi disposición y por el apoyo que me han mostrado sus miembros, a todo lo cual también ha contribuido el Departamento de Microbiología de la misma Universidad. A los Centros de Calculo de la Universidad Politécnica de Valencia y de la Universidad de Valencia les agradezco haberme dejado usar su material informático. Por último, deseo dar las gracias al Instituto Nacional de Ayuda y Promoción del Estudiante del Ministerio de Educación y Ciencia por la beca concedida para la realización de este estudio.

## ÍNDICE

1. Introducción general, 1.
2. Descripción, lugares de muestreo y métodos de cultivo, 5.
  - 2.1 Descripción de la especie, 5.  
(Descripción morfológica, 6. Reproducción, 13)
  - 2.2 Áreas de muestreo, 14.
  - 2.3 Métodos de cultivo, 23.  
(Aislamiento de cepas, 23. Cultivo de algas y rotíferos, 23)
3. Distribución de *Brachionus plicatilis* en relación con sus especies congénicas en la zonas húmedas del mediterráneo español, 31.
  - 3.1 Introducción, 31.
  - 3.2 Material y Métodos, 32.
  - 3.3 Resultados, 35  
(Distribución global del género *Brachionus*, 35. Distribución de *B. plicatilis* en relación con sus especies congénicas, 37)
  - 3.4 Discusión, 43.
4. Análisis biométrico, 47.
  - 4.1 Introducción, 47.
  - 4.2 Material y Métodos, 53.
  - 4.3 Resultados, 56.  
(Biometría I: Resultados generales, 56. Biometría I: Diferencias morfológicas entre clones. Variabilidad genética, 62. Biometría I: evaluación de la variación estacional, 66. Biometría I: Variación geográfica, 69. Biometría I: Análisis conjunto de las muestras, 70. Biometría II: Variación genética, 74. Biometría II: Efectos de la temperatura y de la salinidad, 81. Biometría II: Análisis estadístico conjunto, 82)
  - 4.4 Discusión, 85.  
(Aspectos metodológicos, 85. Importancia de la variación genética en la morfología de *B. plicatilis*, 86. Importancia de la variación ambiental en la morfología de *B. plicatilis*, 87. Variación morfológica en la naturaleza, 90)
5. Análisis de isoenzimas, 93.
  - 5.1 Introducción, 93.
  - 5.2 Material y Métodos, 94.
  - 5.3 Resultados y Discusión, 97.  
(Variabilidad entre cepas tipo, 97. Variabilidad estacional y geográfica, 99. Interpretación genética de los resultados, 102)

**6. Efecto de la salinidad y de la temperatura sobre la dinámica poblacional de tres cepas de *Brachionus plicatilis*. Algunas aportaciones metodológicas, 109.**

6.1 Introducción, 109.

6.2 Material y Métodos, 111.

6.3 Desarrollo de modelos: análisis y discusión, 118.  
(Consideraciones previas, 118. Caracterización de los modelos, 120. Comparación numérica entre modelos, 127)

6.4 Resultados, 132.  
(Análisis de supervivencia, 132. Comportamiento reproductivo, 138. Diferencias entre la dinámica poblacional de hembras míticas y amíticas, 147. Análisis de la tasa intrínseca de aumento, 148. Relaciones entre los parámetros demográficos, 152)

6.5 Discusión, 160.  
(Efecto de la temperatura sobre los parámetros de reproducción y de aumento poblacional, 161. Efecto de la salinidad sobre los parámetros de reproducción y de aumento poblacional, 164. Características diferenciales de las cepas estudiadas, 165. Relaciones de  $R_0$  y  $r$  con los demás parámetros demográficos, 167. Supervivencia, 169. Duración de la vida en relación con el tiempo de generación, 172)

**7. Consideraciones finales y conclusiones, 175.**

7.1 Consideraciones finales. Perspectivas, 175.

7.2 Conclusiones, 179.

**Bibliografía, 185.**

**Apéndices, 199.**

A. Datos correspondientes a la Biometría I, 201.

B. Resultados de los análisis multivariantes (Biometrías I y II), 213.

C. Datos correspondientes a la Biometría II, 217.

D. Derivación de las expresiones para los parámetros demográficos según los Modelos II y III, 233.

E. Datos correspondientes a las tablas de vida (Capítulo 6), 241.





## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los rotíferos, con algo más de 100 géneros, representan únicamente una pequeña fracción del reino animal, pero constituyen lo esencial, junto con cladóceros y copépodos, del zooplankton de las aguas epicontinentales (Pourriot, 1965; Ruttner-Kolisko, 1974). Aunque, debido a su pequeño tamaño, las biomasas de las poblaciones de rotíferos no llegan a ser elevadas, estos organismos realizan una función ecológica fundamental en los ecosistemas de agua dulce y salobres. Esto se debe, primordialmente, a sus elevadas tasas de reproducción, a la diversificación de sus tolerancias a factores físico-químicos, y a que se alimentan de recursos heterótrofos y autótrofos muy amplios (Dumont, 1977).

Particularmente, en las masas pequeñas de agua de las regiones templadas, las comunidades de rotíferos manifiestan una elevada diversidad específica, espacial y temporalmente. Incluso en una pequeña área geográfica, las masas de agua epicontinentales pueden mostrar un amplio espectro de características bióticas y abióticas, sujetas a fuertes variaciones estacionales. Las especies de rotíferos, con sus distintas morfologías y funciones, se ajustan a las diferencias entre sus habitats (Ruttner-Kolisko, 1974; Miracle, 1977; Dumont, 1983) y a las etapas que va determinando la sucesión de las estaciones (Hutchinson, 1967; Miracle, 1974 y 1977). Por ello, el análisis de la estructura de la comunidad de rotíferos, de sus cambios y de los factores que los determinan constituye un tema central en los estudios limnológicos.

Las investigaciones ecológicas sobre rotíferos han puesto de manifiesto la importancia que tiene un conocimiento más profundo de su biología, y de las particularidades de las distintas especies. Los determinantes del ciclo reproductivo, los rasgos demográficos, los mecanismos fisiológicos que gobiernan la tolerancia a factores del medio, el comportamiento, la morfología fina, etc. han recibido una creciente atención en la última década, frecuentemente motivada desde un enfoque ecológico de los problemas. Así, se ha ido mostrando que las especies de rotíferos ofrecen una fascinante diversificación a partir de unos elementos comunes muy singulares, tanto en los rasgos morfológicos más conspicuos, como en las características que se acaban de mencionar.

Otra cuestión suscitada a partir de los estudios de campo es la de la existencia de una variabilidad en los niveles taxonómicos inferiores, la cual puede llegar a ser muy importante. Para explicarla, se han postulado tanto fenómenos de introgresión entre especies (véase Pejler, 1977a) como de variación intraespecífica genética o ambiental (p.e., King, 1977a; Gilbert, 1980a). Las investigaciones acerca de la variación morfológica intraespecífica han recibido

una especial atención por ser ésta fácilmente observable (p.e., la ciclomorfosis, que ocupa capítulos enteros en libros de limnología general; véase Hutchinson, 1967). Además, entre los fenómenos más interesantes y mejor conocidos en rotíferos se encuentran casos de variación morfológica dentro de una especie (p.e., los morfotipos de *Asplanchna*; Gilbert, 1980a y b, y 1981). Sin embargo, en conjunto estos estudios sólo han ofrecido una cierta evidencia de que no existe un modelo general -genético o ambiental- que explique la variación intraespecífica de los rotíferos.

Por otro lado, la importancia de la variabilidad morfológica dentro de algunas especies ha motivado estudios para la detección de variabilidad mediante técnicas demográficas e isoenzimáticas (p.e., King, 1977a; Snell y Winkler, 1984). Estos estudios han incrementado la información disponible acerca de la estructura genética de las poblaciones de rotíferos, mostrando que, en ocasiones, bajo una supuesta continuidad temporal existen poblaciones fragmentadas en clones distintos, que se sustituyen unos a otros por competencia (King, 1967).

Al igual que la Teoría Ecológica se ha nutrido en parte del desarrollo de la Limnología, la comprensión de procesos como los mencionados supone aportaciones interesantes a la Ecología y la Genética Evolutiva. Los rotíferos y cladóceros son organismos de partenogénesis cíclica, lo cual les confiere unas propiedades particularmente adecuadas para el esclarecimiento de algunos problemas de evolución, donde la sexualidad tiende a enmascarar procesos de selección. Además, es relativamente sencillo obtener clones para investigaciones en el laboratorio, eliminando de esta manera, en gran parte, la heterogeneidad genética (Young, 1979a y b). Estas y otras muchas características de los rotíferos también son de interés en biología de poblaciones (p.e., en estudios de senescencia, colonización de ambientes temporales, determinación de ciclos biológicos, etc.).

Una de las especies de rotíferos más utilizadas en estudios experimentales es *Brachionus plicatilis*. Esto se debe a la facilidad de su cultivo y a su interés aplicado. La posibilidad de crecer en un alto rango de salinidades, y especialmente en valores altos de este parámetro, ha hecho que sea extensamente utilizada en acuicultura como alimento de peces marinos en sus etapas tempranas de desarrollo (véanse, p.e., Hirata *et al.*, 1983; Fukusho *et al.*, 1985). Por ello, se dispone de bastante información sobre su biología fundamental, sus hábitos de alimentación y los rasgos más importantes de su fisiología (p.e., Hirayama y Ogawa, 1972; Hirayama y Kusano, 1972; Hirayama *et al.*, 1973; Hirayama y Watanabe, 1973; Walker, 1981). La especie posee una amplia distribución geográfica y también una diversidad morfológica que se ha utilizado con propósitos taxonómicos, distinguiéndose formas y variedades (Sudzuki, 1964; Kutikova, 1970; Koste, 1978). Otros datos de tipo morfológico, genético y fisiológico sugieren la existencia de una extensa variabilidad

intraespecífica que se ha ido investigando en estos últimos años (p.e., Yúfera, 1982; Snell y Winkler, 1984; Ruttner-Kolisko, 1985).

*Brachionus plicatilis* es muy frecuente en los humedales endorreicos y costeros de la península ibérica. Estas masas de agua constituyen un ejemplo de lo comentado más arriba, ya que ofrecen una amplia gama de características físico-químicas y biológicas, dentro de un área geográfica de extensión media. Por ejemplo, las zonas húmedas del litoral mediterráneo español componen una estructura análoga a la de un archipiélago alargado de islas muy diversificadas. Estas características hacen que dichos ecosistemas sean especialmente adecuados para estudiar la variabilidad de las poblaciones que los componen.

El presente trabajo es un estudio de la variabilidad intraespecífica de las poblaciones de *Brachionus plicatilis* en aguas de la península ibérica, y se centra particularmente en los rasgos ecológicos de dicha variabilidad. Para ello se emplean distintas metodologías, aplicadas, según los casos, a datos de campo y de laboratorio. El estudio se estructura como se indica a continuación.

El Capítulo 2 se ocupa de aspectos preliminares y en él se describe la especie objeto de estudio, las áreas de muestreo y los métodos de cultivo empleados. El Capítulo 3 aborda el estudio de la distribución de *B. plicatilis* en relación a los principales parámetros físico-químicos del agua. En este estudio se compara dicha distribución con la propia de las restantes especies del género *Brachionus* tratados como un todo, utilizándose para ello datos sobre zooplancton recopilados y cedidos por M.R. Miracle y datos de la físico-química de los ambientes en que se encontraban, resumidos en López (1983). La metodología empleada comprende el uso de técnicas multivariantes con las que se logra caracterizar las preferencias de *B. plicatilis*, así como su mayor o menor tolerancia a la variación de los parámetros estudiados.

El Capítulo 4 estudia, desde una perspectiva biométrica y multivariante, las poblaciones naturales de *B. plicatilis* y las compara con poblaciones clónicas de laboratorio, cultivadas en condiciones controladas. Tiene como objeto descubrir la estructura espacial y temporal de la variación, en forma y tamaño, de la lóriga de estos organismos, asignándola a las componentes genéticas o ambientales del fenotipo. El estudio se completa con experiencias de laboratorio para evaluar la importancia del genotipo, de la temperatura y de la salinidad en la variación morfológica.

El Capítulo 5 aborda el análisis de la variabilidad isoenzimática en poblaciones de *B. plicatilis*, estableciéndose la politipia y el polimorfismo genético de dichas poblaciones. También se discuten los probables mecanismos de aislamiento genético y mantenimiento del polimorfismo que sugieren los resultados.



En el Capítulo 6 se estudia el análisis de la dinámica poblacional de las cepas de *B. plicatilis*, seleccionadas a partir de los resultados de los capítulos precedentes, cultivadas en diferentes condiciones de salinidad y temperatura. El objetivo principal de este capítulo es mostrar la adaptación de las cepas a sus condiciones de procedencia y analizar los mecanismos reproductivos y de supervivencia que actúan sobre esta adaptación. Fenómenos colaterales como la función del ciclo sexual, la duración de la vida y la estructura de supervivencia también son estudiados y discutidos. Además, en este capítulo se desarrollan diferentes modelos para la estimación de parámetros demográficos y se discute su idoneidad.

Por último, en el Capítulo 7 se lleva a cabo una breve discusión de carácter general de los resultados obtenidos. En cualquier trabajo de investigación se intenta contestar interrogantes pero, casi invariablemente, se abren otros muchos. El presente estudio no es una excepción, y de la elaboración de los resultados obtenidos ha surgido una serie de problemas interesantes, algunos de los cuales se plantean y formulan en dicho capítulo. Para terminar, se exponen las conclusiones del trabajo.

## 2. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE, LUGARES DE MUESTREO Y MÉTODOS DE CULTIVO

### 2.1. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

*Brachionus plicatilis* Müller 1786 (sinónimos: *B. mülleri* Ehreberg 1834, *B. hepatolomeus* Gosse 1851 y *B. orientalis* Rodewald 1937) es un miembro de la familia Brachionidae (Orden Ploimida, Superorden Monogononta, Clase Rotatoria; Koste, 1978). La posición taxonómica de *Brachionus plicatilis*, relativa a otras especies, está bien asentada aun cuando el género no ha sido revisado desde 1940 (Ahlstrom, 1940; véase Walker, 1981).

Sin embargo, la utilización de la categoría de especie en un sentido genético clásico se complica severamente cuando se intenta aplicar a los rotíferos monogonontes. Esto es debido a que la reproducción sexual es poco frecuente en algunos de estos rotíferos y, como se comentará más abajo, se ha cuestionado la relevancia de la sexualidad como mecanismo de intercambio genético. Además, muchas formas poseen un elevado grado de variabilidad y en algunos casos se ha observado introgresión entre "especies" (Pejler, 1977a).

Debido a consideraciones como las anteriores, Ruttner-Kolisko (1974) optó explícitamente por el uso del concepto de especie como especie evolutiva (Simpson, 1961) para los rotíferos. Así, en su clasificación advierte que la forma *Brachionus plicatilis* debe considerarse más como un ecotipo que como una especie y la clasifica junto con otros *Brachionus* (*B. urceolaris* Müller 1773, *B. sessilis* Varga 1951, *B. rubens* Ehreberg 1838, entre otros) en el grupo ("Formenkreiss") *urceolaris*. Una clasificación parecida es propuesta por Koste (1980; "Formenkreis" *urceolaris*; grupo de especies *plicatilis*). Ambos autores coinciden en señalar que la morfología de *B. plicatilis* está claramente diferenciada de la de las restantes especies, siendo su rasgo más característico la presencia de cuatro lóbulos en la parte anterior de la placa ventral de la lóriga.

El rotífero *B. plicatilis* es un organismo planctónico que habita preferentemente en ambientes atalasalinos de elevada alcalinidad (Margalef, 1955; Pejler, 1974; Walker, 1981), siendo frecuente su presencia en lagunas endorreicas (Margalef, 1955), aunque también lo es en lagunas litorales salobres (Bérzins, 1960). Su distribución es cosmopolita y se ha encontrado en todas las regiones biogeográficas excepto en la Antártida (Pejler, 1977b), siendo más abundante en aguas subtropicales. Gracias a sus mecanismos de dispersión, su presencia en el zooplancton depende más de su tolerancia y de su eficacia bajo distintos factores ecológicos que de sus posibilidades de llegar a un medio dado.

El rotífero *B. plicatilis* ha sido observado en amplios rangos de los principales parámetros físico-químicos, caracterizándose como eurihalino y politérmico (Walker, 1981). Puede vivir en un rango de salinidad que va, como mínimo, desde 1 g/l hasta 97 g/l (Ito 1956; 1960) y soporta ascensos bruscos de los valores de este parámetro (Epp y Winston, 1977). Las temperaturas a las que ha sido observado varían desde 5°C (Walker, 1973) hasta 30°C (Yúfera, 1983). Por otro lado, su tolerancia a las altas salinidades indica que posee cierta tolerancia a las bajas concentraciones de oxígeno (Walker, 1981).

Por su función trófica *B. plicatilis* es un organismo filtrador, que crea una corriente mediante su corona ciliada para atraer a las partículas de las cuales se alimenta. En general, se acepta que se trata de un organismo polífago, poco selectivo, habiéndose citado en la literatura los siguientes tipos de alimento: algas planctónicas verdes, pardas o rojas, así como cianobacterias, levaduras y bacterias (Ito e Iwai, 1957; Ito, 1960; Hirata y Mori, 1967; Theilaker y McMaster, 1971; Hirayama y Watanabe, 1973; Pourriot, 1977; entre otros). Sin embargo, es posible que realice una selección por el tamaño y por la actividad de las partículas que captura (Chotiyuputta y Hirayama, 1978). Hino y Hirata (1980) encontraron que el tamaño máximo de partículas que puede ingerir oscila entre 2 y 28  $\mu\text{m}$ .

### Descripción morfológica

Los rotíferos poseen una gran variedad de aspectos externos con la característica común de una corona ciliada que, por asimilarse a una rueda, les da nombre. Por su organización morfológica y anatómica estos animales son modelos reducidos de metazoos complejos. Esto es debido a su pequeño tamaño, a la especialización de sus órganos - constituidos por un número pequeño de células-, a su sistema nervioso central y a la diversidad de sus órganos receptores, entre otras características (Clément, 1977).

Son seres pseudocelómados, por lo que su cavidad secundaria no está limitada externamente por un epitelio (Clément, 1980). Su organización celular tiene un acusado carácter sincitidial (véanse Ruttner-Kolisko, 1974; Clément, 1977) y son eutélicos, esto es, durante el desarrollo postembrionario no existe división celular (véase Clément, 1980).

La forma externa de la hembra de *Brachionus plicatilis* es aproximadamente la de un ovoide truncado en su extremo agudo -apical o anterior- y aplastado ventralmente. En el extremo truncado, formando parte de la cabeza, se sitúa la corona ciliada, mientras que en el extremo opuesto existe una prolongación alargada que se denomina pie. Tanto la cabeza como el pie pueden retraerse, penetrando en el tronco y dejando ver más claramente la forma de la lóriga o caparazón cuticular, cuya longitud oscila típicamente entre 125 y 315  $\mu\text{m}$  (Walker,

1981). La lóriga está constituida por dos placas -ventral y dorsal- soldadas y forma el exoesqueleto del cuerpo (figura 2.1).

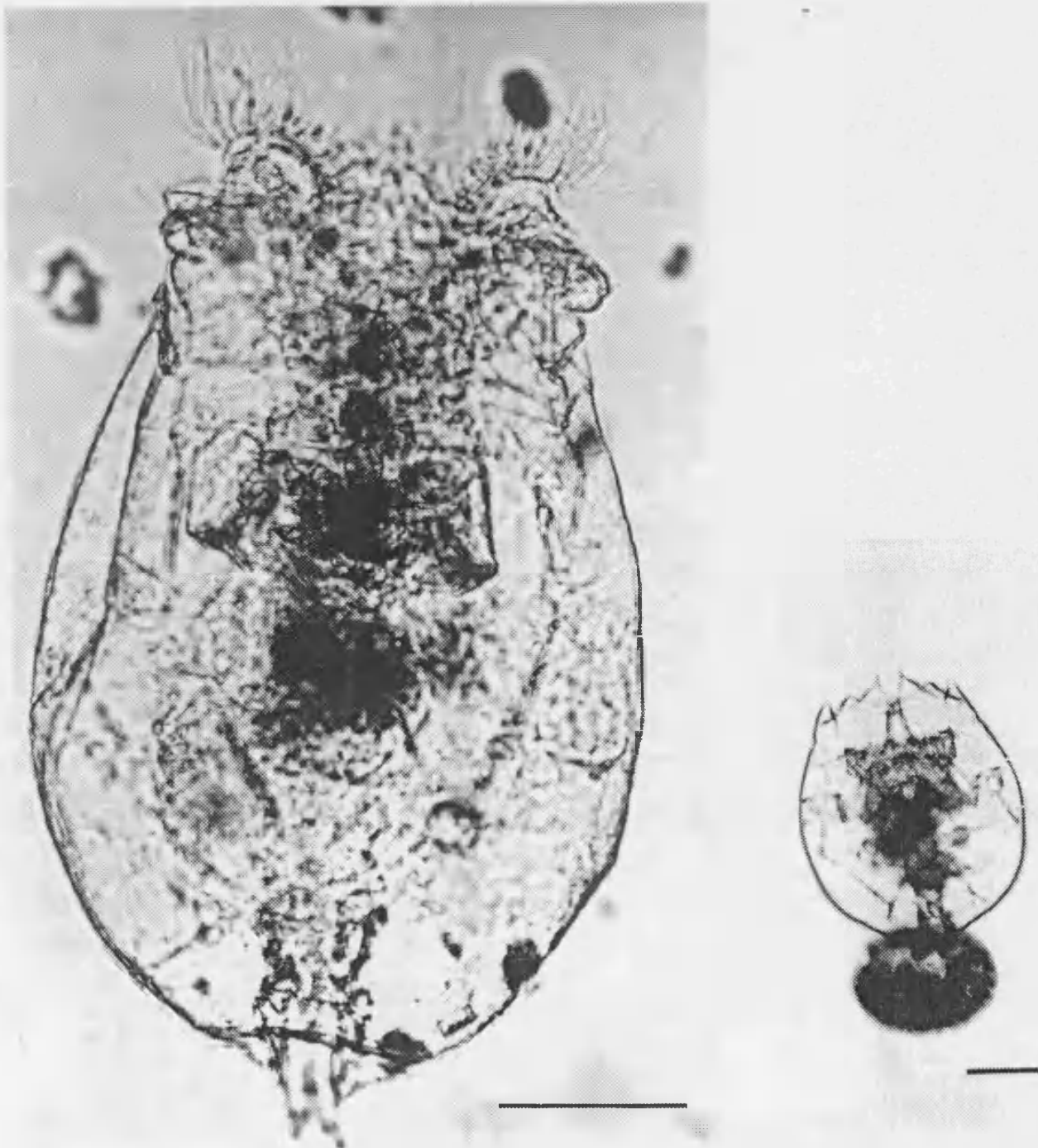


Figura 2.1. Aspecto general de la hembra de *Brachionus plicatilis* Derecha, individuo con la cabeza totalmente y el pie parcialmente distendidos. Izquierda, individuo mostrando los caracteres de la parte anterior de la lóriga. Las barras horizontales equivalen a 50  $\mu\text{m}$ .

1981). La lóriga está constituida por dos placas -ventral y dorsal- soldadas y forma el exoesqueleto del cuerpo (figura 2.1).

*Figura 2.1.* Aspecto general de la hembra de *Brachionus plicatilis* Derecha, individuo con la cabeza totalmente y el pie parcialmente distendidos. Izquierda, individuo mostrando los caracteres de la parte anterior de la lóriga. Las barras horizontales equivalen a 50  $\mu\text{m}$ .

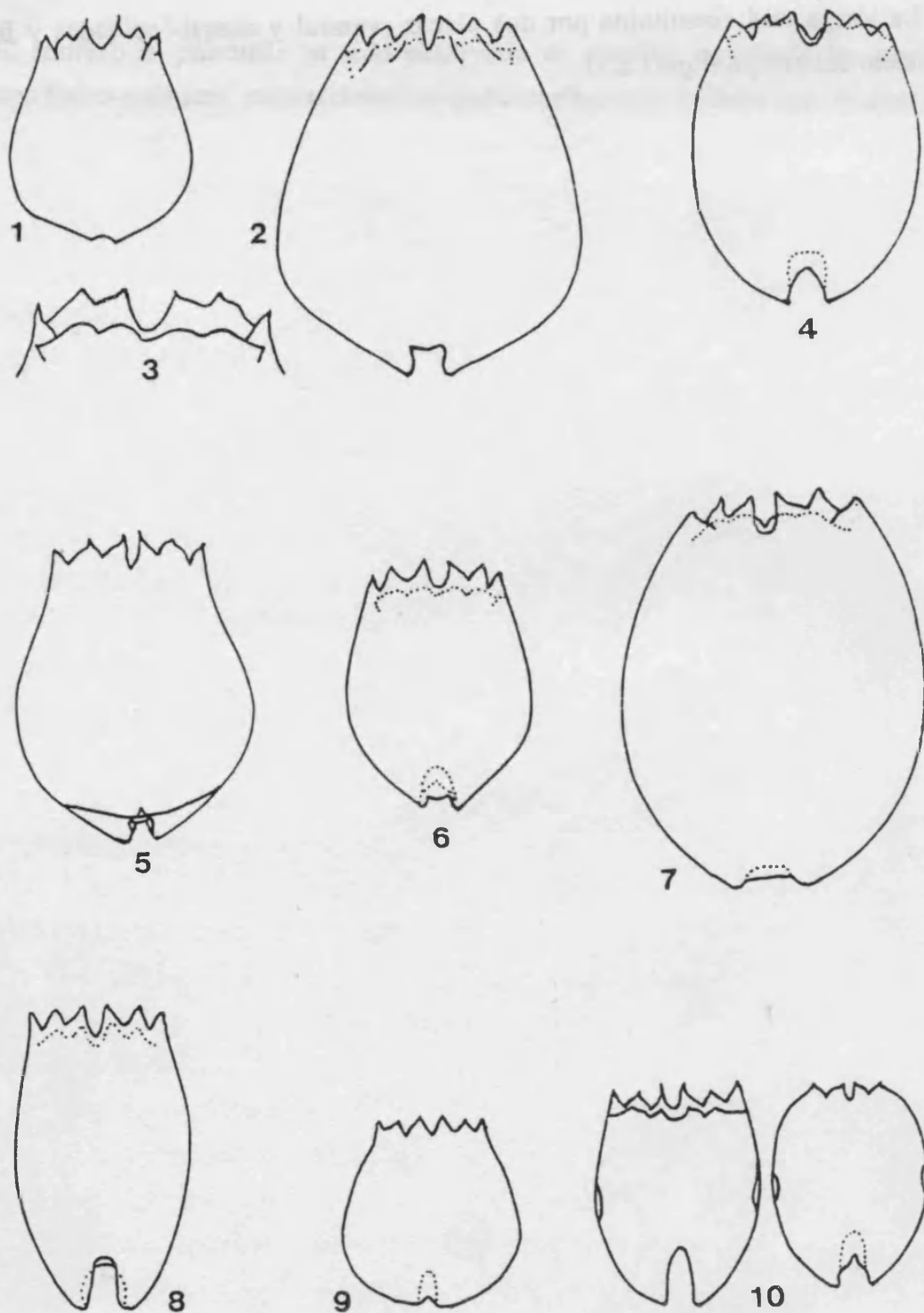


Figura 2.2. Forma de la lóriga de *Brachionus plicatilis*. 1, 2 y 3, *Brachionus plicatilis plicatilis* Müller, según Ahlstrom (Koste, 1978); 4, *B. plicatilis plicatilis* Müller, según Kutikova (1970); 5, *B. plicatilis f. longicomis* Fadeew según Ahlstrom (Koste, 1978); 6, *B. plicatilis f. longicomis* Fadeew, según Kutikova (1970); 7, *B. plicatilis f. asplanchnoides* Charin, según Kutikova (1970); 8, *B. plicatilis f. decemcornis* Fadeew, según Fadeew (Kutikova, 1970); 9, *B. plicatilis f. rotundiformis* Tschugunoff, según Kutikova (1970); 10, *B. plicatilis f. orientalis* Rodewald, según Rudesco (Kutikova, 1970). (En el uso de la categoría de forma se sigue a Koste, 1980).

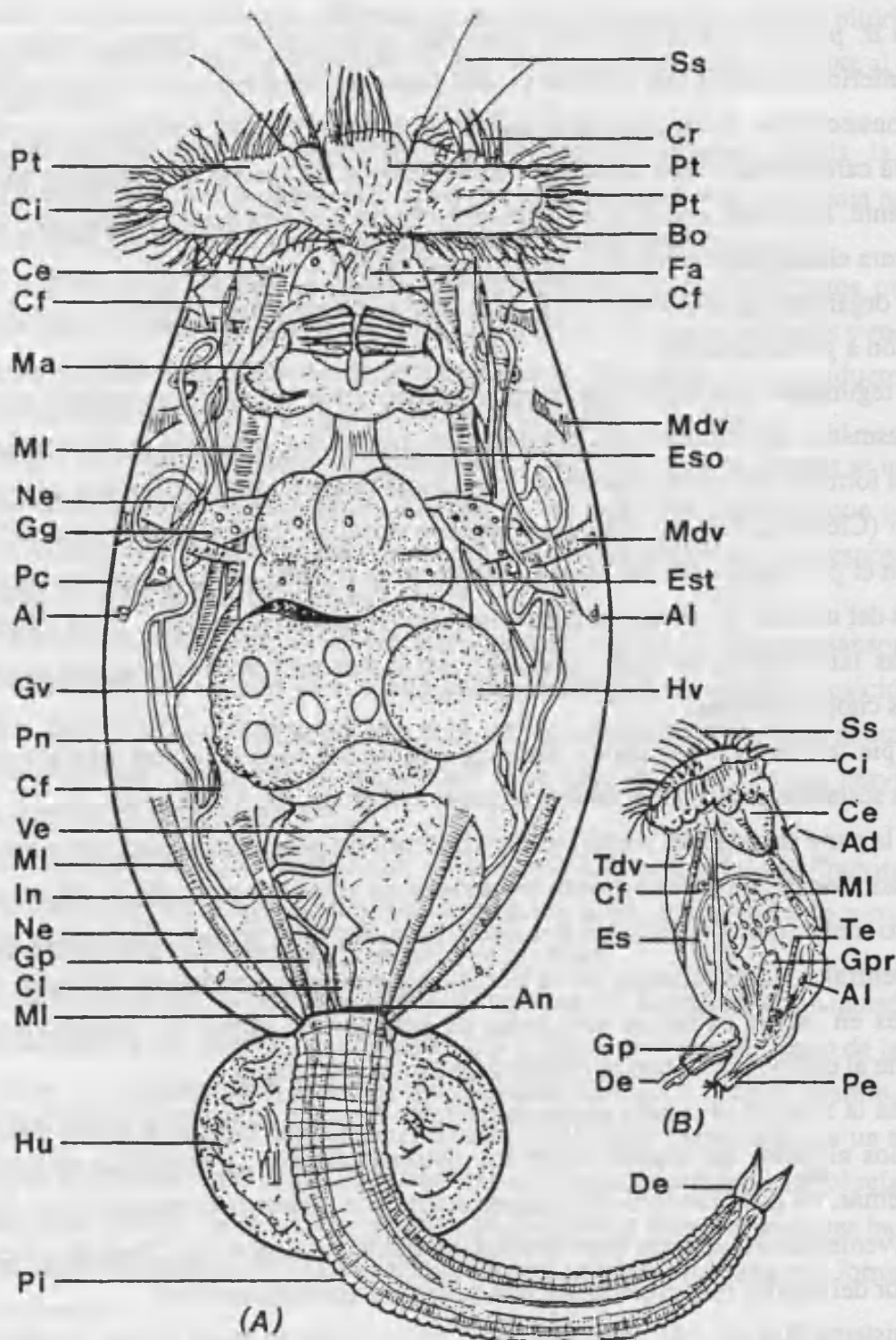


Figura 2.3. *B. plicatilis* (modificado a partir de Koste, 1980): (a) hembra, aspecto ventral; (b) macho, aspecto lateral. *Ad*, antena dorsal; *An*, ano; *Al*, antena lateral; *Bo*, boca; *Ce*, cerebro; *Cf*, célula flamígera; *Ci*, cíngulo; *Cl*, cloaca; *Cr*, cirro; *De*, dedo; *Es*, espermatozoides; *Eso*, esófago; *Est*, estomago; *Fa*, faringe; *Gg*, glándula gástrica; *Gp*, glándula pedal; *Gpr*, glándula prostática; *Gv*, germovitelario; *Hu*, huevo; *In*, intestino; *Ma*, mástax; *MI*, músculo longitudinal; *Ne*, nervio; *Ss*, seda sensitiva; *Pc*, pared del cuerpo; *Pe*, pene; *Pi*, pie; *Pn*, protonefridio; *Pt*, pseudotroco; *Tdv*, tubo digestivo vestigial; *Te*, testículo; *Ve*, vesícula.

En *B. plicatilis* la placa dorsal tiene seis prolongaciones agudas, o espinas, en su extremo anterior, mientras que la placa ventral posee en dicho extremo cuatro lóbulos más o menos pronunciados. Estos caracteres tienen valor taxonómico, siendo los cuatro lóbulos ventrales la característica más claramente definitoria de la especie, tal y como se ha indicado anteriormente. La lóriga, como se muestra en la figura 2.2, está sujeta a variación, lo cual se ha usado para el establecimiento de formas taxonómicas.

La organización anatómica del *B. plicatilis* se muestra en la figura 2.3, y se describe a continuación a grandes rasgos.

El tegumento sincitidial que cubre el tronco y pie del rotífero contiene una lámina intracitoplasmática de naturaleza escleroproteínica que realiza la función de exoesqueleto. Esta lámina está formada por yuxtaposición de estructuras tubulares perpendiculares a la superficie del cuerpo (Clément, 1977) y posee un espesor variable: gruesa en el tronco (lóriga), se adelgaza en el pie, especialmente entre sus segmentos anulares, permitiendo así la retracción telescópica del mismo. Su grosor también aumenta con la edad del animal. En la lóriga existen dos antenas laterales en su parte posterior, así como numerosas invaginaciones de las membranas citoplasmáticas.

El pie termina en dos dedos, en cada uno de los cuales se abre una glándula que secreta una sustancia cementante, de forma que el rotífero puede fijarse al sustrato.

En la parte anterior del cuerpo (cabeza), el rotífero posee una corona con cinco lóbulos poco marcados en cuyo borde se inserta un cinturón de cilios (cíngulo). Estos cilios poseen un movimiento metacrónico y acentúan el aspecto de rueda de la corona cuando está activa. En posición central y sobresaliendo de la corona aparece el pseudotroco, formado por tres expansiones en cuyos extremos se inserta un penacho de cirros. El pseudotroco limita parcialmente al campo bucal, que es ciliado y en forma de embudo.

Toda la zona de la cabeza posee abundantes sensores mecánicos -sedas- y químicos, estos últimos alojados en fosetas. Entre los sensores destaca la existencia de una antena dorsal. Además, en posición inmediatamente dorsal con respecto al pseudotroco afloran los canales provenientes del aparato retrocerebral, de función desconocida. Todo el epitelio de la zona anterior del cuerpo está cubierto por una cutícula extracitoplasmática.

El sistema digestivo del animal empieza en un conducto bucal ciliado, formado por el epitelio de la zona anterior. Este conducto está separado de la faringe por un tenue velo que impide el retroceso de la comida ingerida. En la parte posterior de la faringe, el tubo digestivo forma una invaginación en la cual se encuentra alojado el mástax o aparato masticador. Consta de un complejo de músculos, sensores, glándulas y estructuras duras (mandíbulas). El mástax de *B. plicatilis* es del tipo maleado, el cual se considera el tipo de mástax menos especializado de los rotíferos. Del mástax parte el esófago conduce a un amplio estómago, en donde vierten



su contenido dos grandes glándulas gástricas situadas lateralmente. Un esfínter pilórico separa el estómago del intestino, que es de paredes finas y densamente ciliadas, y se abre al exterior a través de una cloaca.

Limitada por el tubo digestivo y el tegumento externo queda la cavidad pseudocelomática en la cual se alojan el sistema excretor, los músculos, el sistema nervioso, y el germovitelario, junto con las glándulas gástricas nombradas anteriormente.

El aparato excretor protonefridial está constituido por dos conductos principales ramificados cuyos canales secundarios terminan en células flamíferas, -ciliadas y rodeadas de una delgada lámina basal- que realizan una función filtradora. Los conductos de los protonefridios desembocan en una vejiga contráctil que se abre a la cloaca.

Existen músculos circulares y longitudinales. Las fibras de estos últimos se insertan en la pared de la cavidad pseudocelomática por uno de sus extremos, mientras que por el otro extremo se fijan, o bien al extremo del pie, o bien a la corona de cilios y son responsables de la contracción de estas partes del cuerpo.

El sistema nervioso conecta los efectores musculares con los órganos sensoriales que incluyen, entre otros, las antenas ya citadas y una mancha ocular u ocelo en posición anterodorsal. Ito e Iwai (1957) han descrito una serie de respuestas fototácticas y geotácticas en *Brachionus plicatilis* que ponen de manifiesto la capacidad de su sistema nervioso para coordinar este tipo de reacciones.

Por último, el aparato reproductor de la hembra consta de un germovitelario, de naturaleza sincitidial, en el que no hay una separación nítida entre vitelario y ovario. Del germovitelario parte un oviducto que desemboca en la cloaca.

En *B. plicatilis* existe un marcado dimorfismo sexual. El macho es de tamaño mucho menor que la hembra -en general, su longitud varía entre un tercio y un cuarto de la longitud de la hembra- y su organización está muy simplificada. El macho tiene el aparato digestivo atrofiado, por lo que la cavidad del cuerpo está casi completamente ocupada por un testículo y dos glándulas accesorias. En el testículo existen espermatozoides con una morfología similar a la típica de estas células. Junto a ellos, también se encuentran unas formaciones bastonoides que no son células (Clément, 1977) aunque inicialmente se pensó que eran una forma especial de espermatozoide.

El macho posee aparato excretor y un cerebro sin manchas oculares. Externamente presenta una corona ciliada simple que rodea a la zona apical con abundantes sedas sensibles. En la parte posterior del cuerpo aparece, junto a un pequeño pie con sus glándulas pedias, un pene conspicuo.

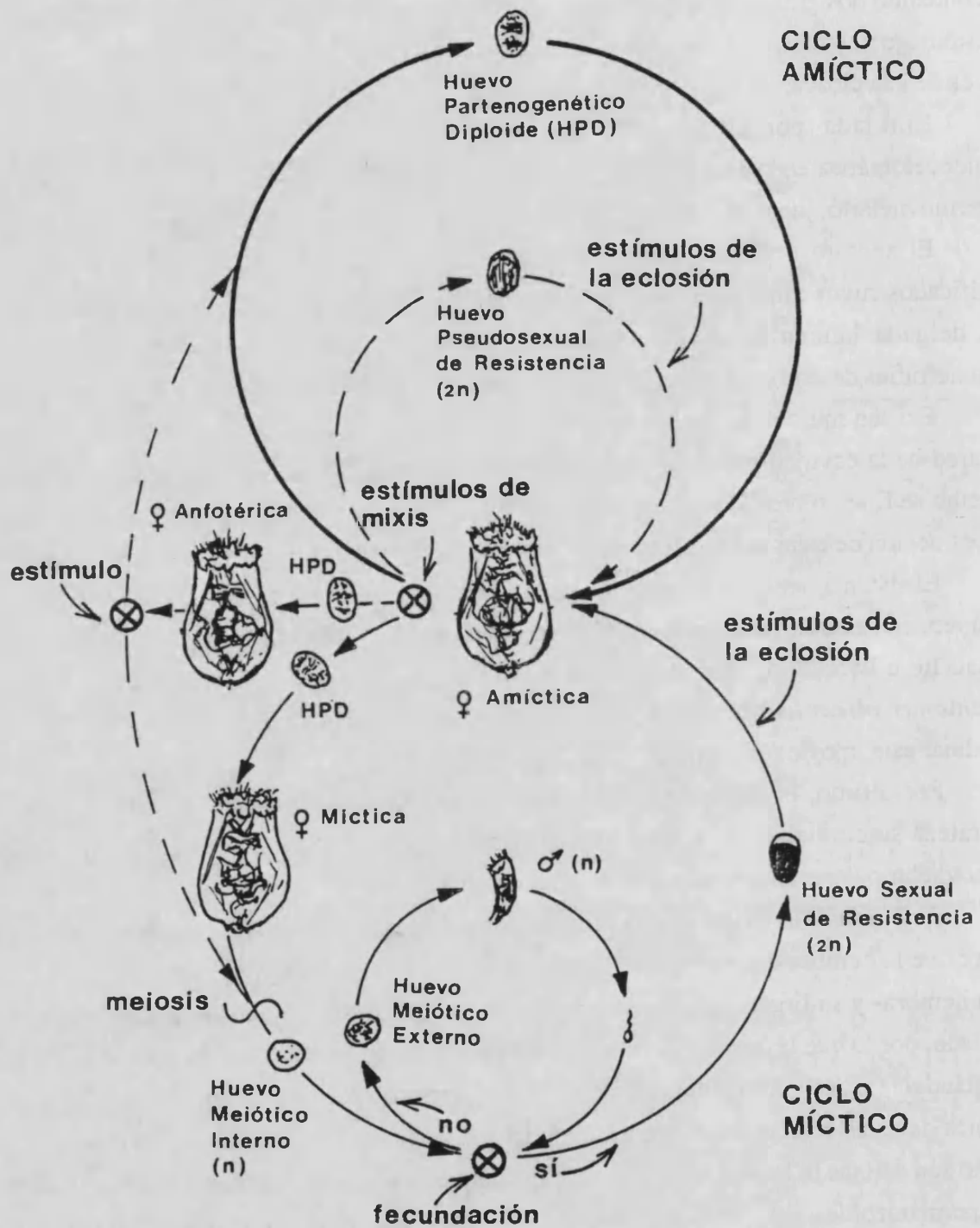


Figura 2.4. Ciclo reproductivo de los rófiteros monogonontes. Las líneas de trazo continuo indican los fenómenos observados en la generalidad de estos organismos y el grosor de la línea denota la mayor frecuencia de algunos procesos. Las líneas discontinuas representan los ciclos hipotéticos u observados sólo en algunos géneros. Los puntos en donde se opta entre varias alternativas se representan mediante el símbolo de llave (círculo con aspa).

## Reproducción

El ciclo reproductivo de *B. plicatilis* presenta de las características generales del ciclo de los rotíferos monogonontes (figura 2.4), el cual ha sido especialmente estudiado en los generos *Asplanchna* y *Brachionus* (King y Snell, 1977a, 1977b; Gilbert y Litton, 1978; Ruttner-Kolisko, 1983; Lubzens *et al.*, 1985).

La reproducción es heterogónica: eminentemente partenogenética y ocasionalmente sexual (Blackwelder y Shepherd, 1981). En la forma partenogenética de reproducción una hembra amíctica y diploide da lugar a un huevo también diploide que transporta adherido a ella; el huevo producido sin la intervención de meiosis o fecundación genera al desarrollarse una hembra diploide. Esta secuencia puede repetirse un número indefinido de veces hasta que uno o varios estímulos externos, junto con una disponibilidad interna del animal (Rougier y Pourriot, 1977; Clément y Pourriot, 1980), ocasionan la aparición de hembras míticas. Estas hembras no se distinguen morfológicamente de las hembras amícticas.

El mecanismo de inducción de hembras míticas no está bien determinado pero se ha puesto en relación con altas densidades poblacionales (Gilbert, 1977; King y Snell, 1980, trabajando con *Asplanchna girodi*), con cambios bruscos de temperatura (Epp y Lewis, 1979) y con disminuciones bruscas de salinidad (Lubzens *et al.*, 1985), entre otros factores.

Las hembras míticas producen mediante meiosis huevos haploides que si no son fecundados darán lugar a machos. Cuando los huevos haploides son transportados por las hembras, se distinguen fácilmente de los huevos diploides por su menor tamaño. Los machos, haploides y producidos por partenogénesis meiótica, son de vida más corta que las hembras. se muestran muy activos en la natación y no ingieren alimento, viviendo a expensas de sus reservas (Epp y Lewis, 1979). Los machos fecundan a las hembras míticas perforando el tegumento de las mismas. Debido al grosor del tegumento, la fecundación se realiza preferentemente en hembras jóvenes y en aquellas zonas del tronco de donde parte el pie o la corona ciliada. Las formas bastonoides que existen en el testículo del macho parecen desempeñar una función importante en la perforación del tegumento (Clément, 1977).

Si los huevos haploides, todavía dentro de la hembra, son fecundados, pasarán a formar un huevo diploide de resistencia, el único huevo de origen sexual que aparece en el ciclo. Este tipo de huevo posee una cubierta endurecida, es más oscuro que el huevo partenogenético y en uno de sus extremos presenta una cámara más clara en forma de casquete.

Los huevos de resistencia pueden soportar condiciones adversas -p.e., desecación- durante largos períodos de tiempo. Bajo estímulos complejos, en la actualidad mal conocidos,

el huevo de resistencia eclosiona dando lugar a hembras diploides amícticas que reinician el ciclo partenogenético. La eclosión de los huevos de resistencia requiere que éstos hayan pasado por un periodo de oscuridad (Minkoff *et al.*, 1983).

Junto al esquema general que se ha expuesto más arriba, se han descrito variaciones en algunos géneros. Así, se ha observado y estudiado la existencia de hembras anfotéricas en *Asplanchna* (Ruttner-Kolisko, 1977; Snell y King, 1977). Estas hembras son capaces de generar tanto huevos amícticos como mícticos. También se ha descrito la existencia de huevos de resistencia no fertilizados (Ruttner-Kolisko, 1977 y 1983).

La reproducción partenogenética, unida a un ciclo de vida corto, permite unas tasas de reproducción elevadas y, como consecuencia, la rápida colonización de ambientes. La función de la fecundación en estos organismos está en controversia. A la hipótesis clásica -incremento de variabilidad por recombinación- algunos autores anteponen la hipótesis según la cual esta forma de reproducción tiene como función fundamental la producción de huevos de resistencia (Ruttner-Kolisko, 1974; King, 1980; Ruttner-Kolisko, 1983).

## 2.2. ÁREAS DE MUESTREO

El conjunto de lagunas de donde proceden las muestras y datos empleados en el presente trabajo se muestran en la figura 2.5. Como puede observarse en ella, se trata de un rosario de lagunas del litoral mediterráneo español desde Almería hasta Gerona, excepción hecha de La Celadilla (número 18), que es una laguna del interior. Otras muestras no mediterráneas son las originarias del Centro de Cádiz del Instituto de Investigaciones Pesqueras, situado en la costa atlántica. Probablemente las cepas cedidas por este centro fueron aisladas de los esteros próximos a la ciudad de Cádiz (M. Yúfera, *comunicación personal*). Las cepas cedidas por el Centro de Torrelasal del Instituto de Investigaciones Pesqueras fueron aisladas en las marismas contiguas (F. Amat, *comunicación personal*). La situación geográfica de ambos centros también se señala en la figura 2.5.

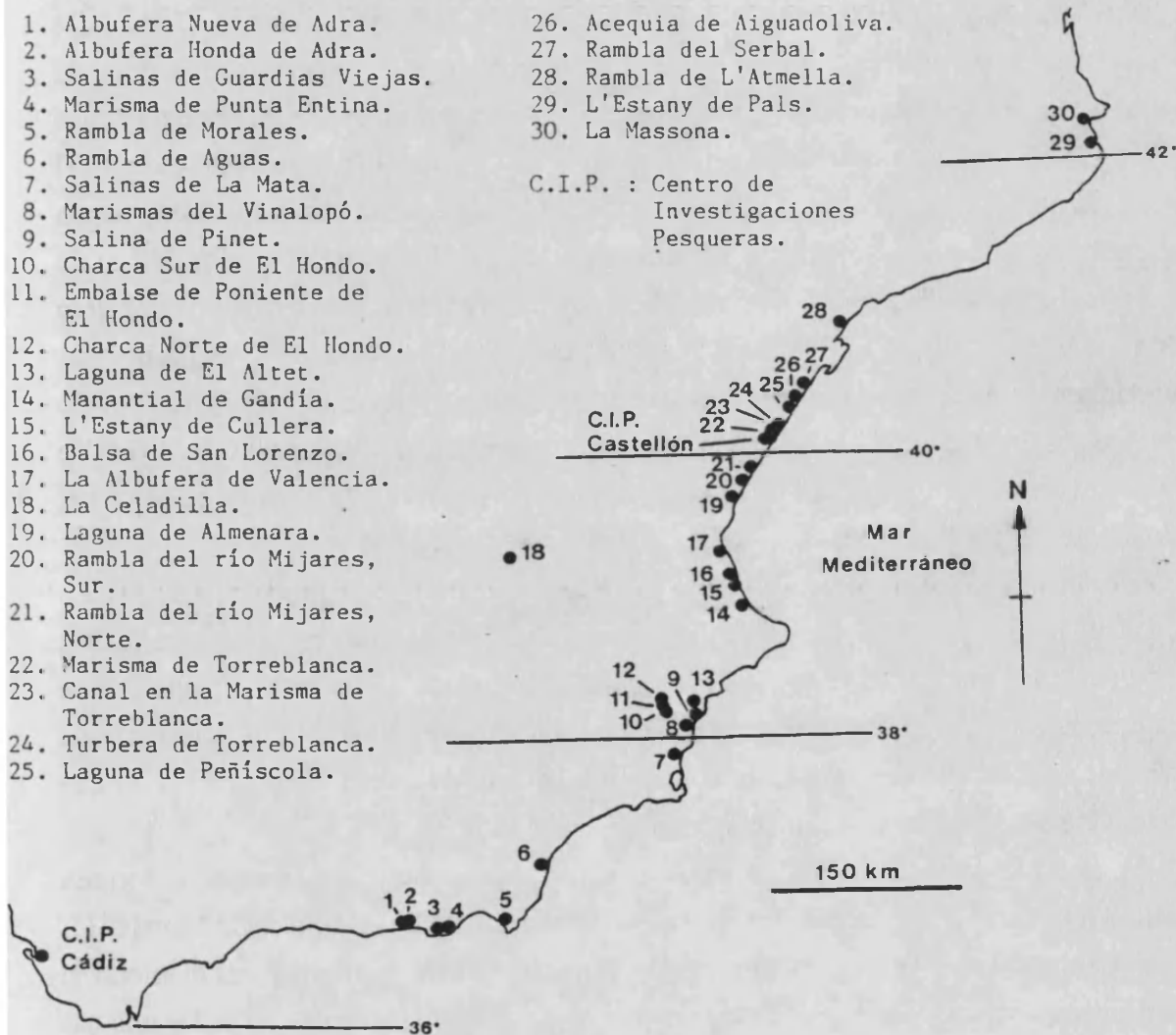


Figura 2.5. Origen geográfico de las muestras.

A continuación se enumeran las lagunas siguiendo el eje de la costa mediterránea, describiéndose brevemente su situación y morfología.

*Lagunas de Almería (1-6).* La Albufera Nueva (1) y la Albufera Honda (2) de Adra pertenecen a un mismo sistema. Están rodeadas de invernaderos y sometidas a vertidos de desechos agrícolas y aterramientos. Su configuración actual corresponde a remodelaciones de una zona lagunar mucho más amplia en el pasado. La Laguna Nueva apareció durante el presente siglo como consecuencia de riadas que cerraron una pequeña ensenada. Tiene forma alargada paralela a la costa, siendo sus dimensiones de unos 900 m de largo por 350 m de ancho. Su profundidad llega hasta los 3 m. La laguna está rodeada de carrizos y posee gran cantidad de macrófitos. La Albufera Honda posee dos cubetas separadas por un estrangulamiento de su contorno que llega casi a cerrarse por efecto de la vegetación. Su profundidad máxima es de al menos 3.5 m, siendo la superficie una extensión de 700 m de largo y 150 m de ancho. En ninguna de estas dos lagunas se observa una comunicación con el mar.

Las masas de agua 3 y 4 pertenecen a un área de marismas y salinas abandonadas. La primera de ellas (3) corresponde a las Salinas de Guardias Viejas, construidas y sometidas a una importante explotación en el pasado, pero ahora abandonadas. Esta masa de agua recibe aportes esporádicos de agua marina y puede llegar a secarse en verano. Las Marismas de Punta Entina (4), constituyen una gran extensión inundada de forma irregular, por lo que presentan fuertes oscilaciones en el nivel del agua.

En la costa almeriense es frecuente que los lechos fluviales semisecos formen pequeñas lagunas más o menos estables en sus desembocaduras. Las Ramblas de Morales (5; al este del Cabo de Gata) y de Aguas (6; cerca de Mojacar) forman sendas lagunas al aflorar el agua dulce que circula por las gravas de los respectivos lechos. En la formación de las mismas también entra agua infiltrada desde el mar. La primera de ellas es tan sólo un somero afloramiento de agua en un punto del cauce. La segunda recibe más aporte de agua dulce y forma una verdadera laguna en ocasiones dividida en dos charcas.

*Lagunas de Murcia y Alicante (7-13).* En las proximidades de Torrevieja está la Laguna Salada de la Mata (7). Es una laguna extensa (3650 m x 2750 m) que posee un canal de comunicación con el mar por el que entra agua marina cuando se requiere para llenar la laguna de Torrevieja, la cual se utiliza para la explotación salina.

Cerca de la desembocadura del río Vinalopó existe una zona de marisma (Marisma del Vinalopó, 8) junto a la cual se encuentra la salina de Pinet (9). Este área se alimenta de

excedentes de aguas del interior, de la ciudad de Elche y del humedal del Hondo de Elche. Las salinas también reciben aportes del mar.

Ligeramente hacia el interior se sitúa el Hondo de Elche. Se trata de una zona húmeda situada en una depresión del terreno por debajo del nivel del mar. En esta depresión existen tres masas de agua que, siguiendo la dirección Sur-Norte, son Charca Sur (10), Embalse de Poniente (11) y Charca Norte (12). La primera y la última son charcas de tamaño mediano (500 m y 800 m de longitud respectivamente) y de forma irregular, con surgencias de agua a través de sus lechos. Estas dos lagunas están comunicadas por un canal artificial que lleva el agua de la Charca Norte a la Charca Sur, bordeando el Embalse de Poniente. De la Charca Sur parte un canal hacia la costa. De esta forma, el agua más salada de las charcas no se mezcla con el agua del embalse en el cual se recogen aguas de los ríos Vinalopó y Segura. En el embalse se acumula el agua y desde allí es bombeada para el riego.

La laguna de El Altet (13) se encuentra situada en una depresión del terreno por debajo del nivel del mar del cual recibe aportes por filtración. Su forma es redondeada, siendo sus dimensiones de 200 x 300 m y su profundidad llega hasta los 2.6 m. La laguna está rodeada de un terreno elevado, salvo por un lado en el cual el terreno es más bajo y se abre a una zona inundada muy somera y con carrizos.

*Lagunas de Valencia (14-17).* En la costa baja de la comarca de La Safor se encuentran L'Ullal de Gandia (14) y L'Estany de Cullera (15). La primera es una surgencia de agua dulce y de pequeñas dimensiones (10 x 10 m), siendo la segunda una laguna alargada y perpendicular a la costa. L'Estany de Cullera recibe aportes de agua dulce por su extremo opuesto al mar y aportes de agua salada por filtración a través de la barra arenosa que la separa del mar. Esta situación da lugar a una estratificación de ambos tipos de agua.

Sobrepasando el Júcar hacia el norte, entre Cullera y la ciudad de Valencia, existen dos masas de agua que probablemente son vestigio de una única zona inundada. Son la Laguna de San Lorenzo (16), superficial y de forma aproximadamente redondeada (350 x 200 m) y la Albufera de Valencia (17). Esta última laguna tiene una extensión mucho mayor que las restantes (5000 x 3250 m) y es poco profunda (0.7 m de profundidad media), pero en algunos puntos muy limitados llega a alcanzar los 3 m.

*La Celadilla (18).* Aproximadamente a la latitud de la Albufera de Valencia, pero en el interior -a unos 200 km de la costa, cerca de Belmonte (Cuenca)- se encuentra la laguna de La Celadilla (18) que forma parte de un conjunto de varias lagunas. Se trata de una laguna endorreica que recibe agua de las formaciones cretácicas que la rodean. Su forma es alargada y es muy poco profunda (0.5 m), formando en un extremo una cubeta más honda (1.5 m).

*Lagunas de Castellón y Tarragona (19-28).* La laguna de Almenara (19) es una laguna de dos cubetas ocasionalmente aisladas. La cubeta sur, más extensa y alargada, llega a una profundidad de 7.5 m. La laguna limita por sus lados este y sur, con un carrizal inundado, y recibe aporte de agua de mar por filtración.

A unos 20 km más al Norte se encuentra la desembocadura del río Mijares. En ella existen dos lagunas: Rambla de Mijares, laguna Sur (20) y laguna Norte (21). Ambas son perpendiculares a la línea de costa y están separadas del mar por una barra de grava y arena.

En la costa baja de Torreblanca aparece una extensa marisma, con zonas de inundación temporal y alguna pequeña laguna. Junto al marjal de Torreblanca (22) existen canalizaciones de drenaje (23) y lagunas artificiales (24) creadas por la extracción de turba que se lleva a cabo en el lugar.

Separada del Marjal de Torreblanca por una pequeña cadena montañosa (Sierra de Hirta) se encuentra la laguna de Peñíscola (25), pequeña y de profundidad algo mayor de 1 m, originada por una surgencia de agua. Cerca de ésta, y en las proximidades de Vinaroz, existen dos lagunas parecidas entre sí: la laguna de Aiguadoliva (26) y la Rambla del Serbal (27). Ambas se encuentran en la desembocaduras de cauces de agua y están influidas por el agua marina. Unas características parecidas posee la laguna de L'Atmella (28) situada en la provincia de Tarragona.

*Lagunas de Gerona (29 y 30).* Situada ya en la región septentrional del Mediterráneo español, en la desembocadura del río Daró, está L'Estany de Pals y Basses de Cau Coll (29), que es una masa de agua de forma alargada y se abre al mar mediante un canal.

Por último, La Massona (30) es una laguna alargada (1000 m x 100 m) perpendicular al mar y forma parte de un sistema de masas de agua localizado entre las desembocaduras de los ríos Muga y Fluvià, de los cuales recibe aportes de agua dulce. A través de la franja de arena que la separa del mar se infiltra agua marina en esta laguna, dando lugar a una estratificación debida al agua salada que se sitúa en el fondo. La laguna posee una profundidad que llega a los 10 m.

Las masas de agua que se acaban de reseñar han sido consideradas en diferentes partes del presente trabajo según se describe a continuación.

En los años 1980-81 (primavera, verano y otoño de 1980 e invierno de 1981) se recolectó una serie de muestras en las zonas húmedas del litoral mediterráneo español para realizar un estudio integrado de la limnología de las mismas, según un proyecto de investigación dirigido por Ramón Margalef y desarrollado por el Departamento de Ecología de la Universidad de Barcelona. *Brachionus plicatilis* resultó ser un de los rotíferos más



frecuentes en dichas muestras, por lo que en el presente trabajo se han utilizado datos y muestras procedentes del citado estudio limnológico con un doble propósito: (1) realizar un análisis de la distribución de *B. plicatilis*, con especial atención a su diferenciación respecto de las otras especies de su género, y (2) efectuar un estudio biométrico de las poblaciones de *B. plicatilis*.

Para llevar a cabo el primer propósito citado se han utilizado datos físico-químicos y del zooplancton, según se encuentran en López (1983) y Miracle (manuscrito en preparación). La tabla 2.1 muestra la relación de masas de agua y época de muestreo en las cuales se encontraron individuos de las especies del género *Brachionus*, de un total de más de 50 localidades a lo largo del litoral mediterráneo español y muestreadas en las cuatro estaciones del año. Por su parte, la tabla 2.2 caracteriza físico-químicamente el conjunto de lagunas, ramblas, salinas y marismas muestreadas por López (1983) y Miracle, así como el subconjunto de localidades determinado por la presencia de *Brachionus* (i.e., las indicadas en la tabla 2.1). Una caracterización físico-química mucho más completa se puede encontrar en el referido trabajo de López (1983).

En la tabla 2.3 se especifican y caracterizan físico-químicamente aquellas muestras (lugares y épocas de muestreo) en las que se encontraron *B. plicatilis* en número suficiente para llevar a cabo un estudio biométrico. Estas muestras, salvo la correspondiente a La Celadilla, pertenecen también al citado conjunto recolectado por M. R. Miracle en los años 1980-81 (simultáneamente a la toma de muestras realizada por López), y fueron fijadas con formol (4%) *in situ*.



Tabla 2.1. Lista de lugares y épocas de recolección en donde aparecieron individuos del género *Brachionus*, de entre 57 localidades de las zonas húmedas del mediterráneo español, muestreadas en cada estación anual (Miracle, manuscrito en preparación; P: Primavera; V: Verano; O: Otoño; I: Invierno. Los lugares 18 y 30 no se consideran en el estudio sobre la distribución de las especies del género *Brachionus*).

1. Albufera Nueva de Adra (P, V, O, I)	15. L'Estany de Cullera (P, V, O, I)
2. Albufera Honda de Adra (P, O, I)	16. Balsa de San Lorenzo (P, V, O, I)
3. Salinas de Guardias Viejas (P, O)	17. La Albufera de Valencia (P, V, I)
4. Marismas de Punta Entina (O)	19. Laguna de Almenara (P, V, O)
5. Rambla del Río Morales (O)	20. Rambla del Mijares, Sur (P, V)
6. Rambla del Río De Aguas (P, O)	21. Rambla del Mijares, Norte (P, O, I)
7. Salinas de la Mata (P, O, I)	22. Marisma de Torreblanca (O)
8. Marismas del Vinalopó (P, V, I)	23. Canal en marisma de Torreblanca (P, V, O, I)
9. Salinas del Pinet (O)	24. Turbera de Torreblanca (P)
10. Charca Sur de El Hondo (P, V, O, I)	25. Laguna de Peñiscola (O, I)
11. Embalse de Poniente de El Hondo (P, V, I)	26. Acequia de Aiguadoliva (P, V, I)
12. Charca Norte de El Hondo (P, V, O, I)	27. Rambla del Serbal (I)
13. Laguna de El Altet (P, V, O)	28. Rambla de L'Atmella (V)
14. Manantial de Gandia (P, V)	29. L'Estany de Pals (V)

Tabla 2.2. (I) Rangos para diversos parámetros físico-químicos encontrados por López (1983) en un conjunto de 57 localidades de las zonas húmedas costeras del mediterráneo español. (II) Rangos para dichos parámetros en las muestras seleccionadas por la presencia de individuos del género *Brachionus* (Cond.: conductividad; Alc.: alcalinidad. Fosfato medido como fósforo reactivo total).

	Cond., µS/cm	pH,	Alc., meq/l	O <sub>2</sub> , ml/l	Ca <sup>2+</sup> , meq/l	Na <sup>+</sup> , meq/l	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , µM
(I)							
Mínimo	465	6.9	1.25	0.00	1.7	0.6	0.009
Máximo	>50000	9.8	19.55	14.075	351.0	3410.0	69.563
(II)							
Mínimo	465	7.0	1.25	0.37	1.2	0.6	0.009
Máximo	>50000	7.8	9.13	14.07	96.7	1410	6.03

Tabla 2.3. Valores de algunos parámetros limnológicos para las lagunas y fechas en las cuales se recolectaron muestras de *B. plicatilis* (Cond.: conductividad; Temp.: temperatura; Alc.: alcalinidad; Muestra: denominación de las muestras en el texto. Fosfato medido como fósforo reactivo total)<sup>a</sup>.

Laguna	Epoca	Cond., μS/cm	Temp., °C	pH	Alc., meq/l	Ca <sup>2+</sup> , meq/l	O <sub>2</sub> , ml/l	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , μM	Mues- tra
Albufera Nueva de Adra (1)	Primavera	3315	20.2	9.1	1.86	1.8	9.40	0.330	M1P
	Verano	4000	27.8	9.4	3.16	1.9	8.17	0.188	M1V
	Otoño	3450	20.0	8.9	4.12	4.9	5.12	0.049	M1O
Albufera Honda de Adra (2)	Primavera	4080	22.2	8.9	7.63	1.2	-	-	M2P
Charca Sur de El Hondo (2)	Primavera	12800	19.0	8.7	4.84	17.0	6.73	0.400	M10P
	Otoño	7800	12.0	7.8	5.05	35.4	3.69	0.937	M10O
	Invierno	9600	14.9	8.4	6.29	19.5	5.86	0.367	M10I
Charca Norte de El Hondo (12)	Verano	19500	30.0	8.4	4.00	15.3	8.17	0.357	M12V
Laguna de El Altet (13)	Verano	23900	28.1	7.6	6.14	15.6	0.37	0.434	M13V
	Otoño	14400	13.6	7.7	5.28	38.5	4.15	0.009	M13O
La Celadilla (18)	Verano	36000	17.0	8.0	-	-	7.60	-	M18V
Laguna de Almenara (19)	Verano	8000	30.0	8.4	3.44	14.9	5.78	0.420	M19V
La Massona (30)	Verano	8700	26.1	8.3	4.28	8.0	6.09	0.370	M30V

a. Datos físico-químicos tomados de López (1983), excepto los de La Celadilla que han sido facilitados por C. Castells.

Tabla 2.4. Origen geográfico y temporal, junto con algunas características del agua de donde fueron aisladas, de las distintas cepas de *B. plicatilis*, cuya denominación en el texto se reseña. Las medidas expresadas entre paréntesis no corresponden al momento de la recolección de *B. plicatilis*, y se han tomado de López (1983).

Origen		Número de cepas	Conduc-tividad, mS/cm	Tempera-tura, °C	pH	Denomi-nación <sup>a</sup>
Lugar	Epoca (fecha)					
I	Albufera Honda de Adra (2)	1	5.8	23.2	9.1	AD
	Laguna de El Altet (13)	1	22.5	26.6	(7.6-8.3)	SPO (SP)
	La Celadilla (18)	1	36.0	17.0	8.0	CU
	Marjal de Torreblanca (22)	1	(7.0->50)	(11.0-28.2)	(7.5-8.0)	CA
	Centro de Castellón (I.I.P.) <sup>b</sup>	1	≈50.	≈26.	-	FCA
	Centro de Cádiz (I.I.P.) <sup>b</sup>	2 <sup>c</sup>	≈50.	≈28.	-	FCB (SI), FCS (BS)
II	Albufera nueva de Adra (1)	8	6.0	18.0	8.6	C1P
		9	6.0	17.5	7.6	C1O
	Albufera Honda de Adra (2)	5	6.0	17.0	8.5	C2P
		8	6.0	17.0	8.0	C2O
	Charca Sur de El Hondo (10)	12	14.0	21.5	8.5	C10P
		9	14.0	20.0	8.2	C10O
	Laguna de El Altet (13)	4	14.0	20.0	7.6	C13O

a. La denominación se refiere a cepas o a conjuntos de cepas. Cuando más de una denominación ha sido utilizada en la bibliografía, los pseudónimos se indican entre paréntesis.

b. I.I.P.: Instituto de Investigaciones Pesqueras; las condiciones reseñadas son las del cultivo en el centro que cedió las cepas.

c. Se trata de dos cepas muy diferenciadas y caracterizadas por Yúfera (1983).

En la tabla 2.4 se presenta la localidad geográfica y la época de recolección de las muestras de donde fueron aisladas las cepas de *Brachionus plicatilis* en las que se basa una parte importante de este estudio. En dicha tabla también se hace constar la temperatura, la conductividad y el pH del agua cuando las muestras fueron recolectadas.

### 2.3. MÉTODOS DE CULTIVO

#### Aislamiento de cepas

La relación de cepas de *Brachionus plicatilis* empleadas en los estudios de laboratorio se presenta en la tabla 2.4, junto con el lugar y fecha de procedencia y algunas características del agua en la que fueron recolectadas.

Cada una de las cepas procede de un solo individuo aislado de una muestra viva. Las distintas muestras fueron recolectadas en aguas naturales mediante una red de Nylal de 50  $\mu\text{m}$  de poro, excepto en el caso de las cepas procedentes de los Centros del Instituto de Investigaciones Pesqueras, las cuales fueron cedidas por las colecciones de dichos centros.

El aislamiento de los individuos para la formación de las cepas se realizó mediante sucesivas capturas con pipeta tipo Pasteur bajo un estereomicroscopio, lavándolos en agua de mar diluida hasta una salinidad de 12 g/l. Posteriormente se dejó medrar a los individuos aislados en pocillos, pasándose el cultivo a tubos cuando se alcanzaba una densidad poblacional alta.

Todo el proceso para establecer las cepas se llevó a cabo a 25°C en cámaras constantemente iluminadas. El tamaño de los tubos y el volumen de medio de cultivo fue progresivamente mayor, acorde con el número de individuos que fueron apareciendo. La salinidad del medio fue de 12 g/l y a los rotíferos se les alimentó con *Tetraselmis sp.*

#### Cultivo de algas y rotíferos

Los cultivos de mantenimiento y experimentales de rotíferos exigen que éstos se encuentren en un medio controlado cuyas características -incluyendo recursos alimenticios- deben ser adecuados para el crecimiento de cepas con distintas propiedades. A su vez, el medio de cultivo debe permitir la variación de alguno de sus parámetros, manteniendo otros constantes, para estudiar la respuesta de los organismos a estas variaciones. La necesidad de

un recurso alimenticio complica el cultivo de estos rotíferos, pues una alimentación con partículas inertes es posiblemente ineficaz (Scott, 1983) o desaconsejable. Por ello, un gran número de investigadores cultivan rotíferos en medios donde, previamente, se ha hecho crecer un organismo que les servirá de alimento.

Las consideraciones anteriores, y otras propias de los diseños experimentales, se concretan para el presente trabajo en los siguientes requisitos: (1) el medio de cultivo debe ser adecuado para el crecimiento de un gran número de cepas con, presumiblemente, diversas respuestas a las características del medio; (2) el medio de cultivo debe permitir modificaciones simples destinadas a la variación de salinidad y a la corrección de ésta en cualquier fase del proceso de cultivo; (3) en todas las variantes del medio de cultivo debe crecer el alga utilizada como alimento de los rotíferos; (4) el medio de cultivo, en sus características invariantes, debe estar lo suficientemente optimizado, permitiendo la expresión de una respuesta diferencial en relación a los factores que se estudian.

Existen otros criterios de índole más práctico que se irán comentando según surjan. En cualquier caso, los criterios enunciados hicieron que se estableciera la rutina de cultivo que a continuación se describe.

Como alimento vivo se escogió el alga prasinofícea *Tetraselmis sp.* (cedida por el Centro de Castellón del Instituto Investigaciones Pesqueras). Se trata de un alga flagelada, de geometría cuasi elipsoidal y de unos 13  $\mu\text{m}$  de longitud. Esta última característica hace que el alga se encuentre entre los alimentos que pueden ser ingeridos, en razón a su tamaño, por *B. plicatilis*. Hino y Hirano (1980) determinaron que este rotífero puede ingerir partículas que van de 2 a 28  $\mu\text{m}$ .

La respuesta de *B. plicatilis* a distintas concentraciones algales de *Tetraselmis suecica* fue estudiada por Yúfera (1983) en un rango que va desde 0.1 a  $0.7 \times 10^6$  células/ml. En este estudio Yúfera encontró que las tasas instantáneas de crecimiento y la densidad máxima de los cultivos de rotíferos no mostraban relación con la concentración algal en el rango ensayado. Por el contrario las tasas de filtración sí responden al incremento de la concentración de alimento, pero esta respuesta se atenúa según crece la densidad algal y a partir de  $0.3 \times 10^6$  células/ml la tasa de filtración se mantiene constantemente a niveles bajos (aprox. 5  $\mu\text{l}/\text{ind}\cdot\text{min}$ ). Por último, la tasa de ingestión crece linealmente con la densidad del alimento. Los resultados de Yúfera se pueden interpretar considerando que las densidades algales superiores a  $0.3 \times 10^6$  células/ml corresponden a un exceso de comida. Esto explicaría que (1) variaciones por encima de este nivel de alimento no causen una respuesta en el comportamiento alimenticio del rotífero (tasa de filtración), y (2) el incremento del alimento ingerido, que se refleja en la variación de la tasa de ingestión con la concentración algal, no tenga consecuencias en los parámetros del crecimiento poblacional. Esto es lo esperable en las

situaciones en las que el alimento deja de ser un factor limitante de la dinámica de la población, por lo que se puede suponer que la sobrealimentación no tiene consecuencias biológicas relevantes en *B. plicatilis*.

En estas condiciones es probable que el exceso de algas ingeridas se limite a atravesar el tubo digestivo sin ser digerido más que en parte (Doohan, 1973; Pourriot, 1977). La misma conclusión es sugerida por la observación de los excrementos de rotíferos realizada durante el presente trabajo.

El comportamiento de los cultivos de rotíferos descrito más arriba sugiere que una concentración entre  $0.3$  y  $0.7 \times 10^6$  células/ml del alga *Tetraselmis sp.* es un alimento adecuado para los cultivos de rotíferos usados en este trabajo. En primer lugar, el exceso de alimento hace que el comportamiento del rotífero sea independiente de pequeños cambios en la cantidad de alimento, introducidos por error o por aclaramiento a lo largo de una experiencia. En segundo lugar, al encontrarse el cultivo de rotíferos optimizado en relación al alimento, se pueden poner de manifiesto más claramente los efectos de aquellos factores que se deseen estudiar.

Por otro lado, el alga *Tetraselmis sp.* se adaptó bien a las distintas salinidades experimentales (9, 12, 24 g/l) y en todas ellas creció con la suficiente rapidez y densidad final ( $10^6$  células/ml) para que fuese factible su uso en las experiencias diseñadas. En este sentido, se ha preferido que las algas utilizadas como alimento estuviesen cultivadas en las mismas condiciones de salinidad que los cultivos de rotíferos a los que se destinaron. De esta manera, los rotíferos ingieren alimento vivo y en buen estado de reproducción.

Otros autores (Snell y Carrillo, 1984; Minkoff *et al.*, 1983) optan por un esquema algo distinto, según el cual las algas se cultivan en condiciones uniformes y se transfieren, por centrifugación y resuspensión, a los distintos medios de cultivo de rotíferos.

En el método seguido aquí, el alimento podría tener cualidades ligeramente diferentes dependiendo de la salinidad a la que fuera cultivado, pero se ha preferido este riesgo de error a aquel que comporta proporcionar alimento con distinto grado de adaptación al medio. Es frecuente observar que cuando se cambia bruscamente la salinidad del medio, las algas suelen sedimentar y disminuyen su tasa de crecimiento, aunque sea sólo transitoriamente. No se observó un efecto parecido con el cambio de temperatura.

El medio de cultivo de algas y rotíferos puede ser un medio natural -con o sin modificaciones- o un medio artificial de composición bien definida (King y Snell, 1978; Scott, 1983). La utilización de un medio artificial tiene como ventaja la repetibilidad, pero requiere un mayor conocimiento de los requisitos nutricionales de los rotíferos que se cultivan. Pourriot (1965), que fue el iniciador del cultivo de rotíferos en medios artificiales, comprobó que algunos de estos requisitos son dependientes de la especie e incluso difieren entre cepas

de una misma especie, y además pueden ser muy específicos en relación al nutriente requerido. Por ejemplo, Scott, en los trabajos de 1981 y 1983, demostró que *Brachionus plicatilis* necesita de la vitamina B<sub>12</sub>, pudiéndola tomar directamente del medio o a través de las algas.

Consideraciones como las anteriores hacen que muchos autores opten por cultivar el rotífero *B. plicatilis* en medios naturales o seminaturales (p.e., Hirayama y Ogawa, 1972; Yúfera *et al.*, 1983; Minkoff *et al.*, 1983; Lubzens *et al.*, 1985). En estos casos el medio consta frecuentemente de agua de mar tratada y, si se requiere, diluida hasta la salinidad deseada. El tratamiento suele orientarse a homologar el agua (filtración, esterilización), a su fertilización, y a la adición de vitaminas y oligoelementos para que permita cultivos densos de organismos.

En este trabajo se ha optado por utilizar agua de mar diluida y fertilizada con la solución *f/2* de Guillard y Ryther (1962) según se presenta en la tabla 2.5. Variantes de este método han sido utilizadas por otros autores que trabajan con *B. plicatilis* (p.e., Lubzens, 1981; Minkoff *et al.*, 1983).

La rutina de cultivo de algas y de su uso en los cultivos de mantenimiento y experimentales de *B. plicatilis* se esquematiza en la figura 2.6.

El agua de mar se recogía en el puerto de Valencia (grifos sitos en la lonja de pescado) y se almacenaba en una cámara fría a 4°C. Antes de usarse se filtraba por gravedad con papel de filtro y se mezclaba con agua destilada hasta obtener, de forma aproximada, la salinidad deseada (9, 12 ó 24 g/l). El agua de mar diluida se sometía a una esterilización en recipientes de 1 a 6 l, mediante autoclavado a 120°C durante 20 min. Una vez estéril y atemperada, el agua era fertilizada con las soluciones que se indican en la tabla 2.5, que a su vez habían sido esterilizadas por calor húmedo o filtración.



Tabla 2.5. Concentración en el medio de cultivo para algas de los productos fertilizantes. (Guillard y Ryther, 1962).

Nutriente	Concentración, mg/l
NaNO <sub>3</sub> <sup>a</sup>	75.00
NH <sub>4</sub> Cl <sup>a</sup>	25.00
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O <sup>a</sup>	5.72
Oligoelementos <sup>b</sup>	
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.0098
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.0220
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.0100
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.0060
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.1800
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	3.15
Na <sub>2</sub> EDTA	4.36
Vitaminas <sup>c</sup>	
Tiamina · HCl	0.0001
Biotina	0.0005
B12	0.0005

a. La solución madre se esteriliza mediante autoclave (120°C, 20 min).

b. La solución madre, conteniendo a todos los oligoelementos reseñados, se esteriliza en autoclave (120°C, 20 min) e incluye Na<sub>2</sub>EDTA como

c. La solución madre contiene a todas las vitaminas reseñadas y se esteriliza por filtración a través de una membrana de 0.45 µm.

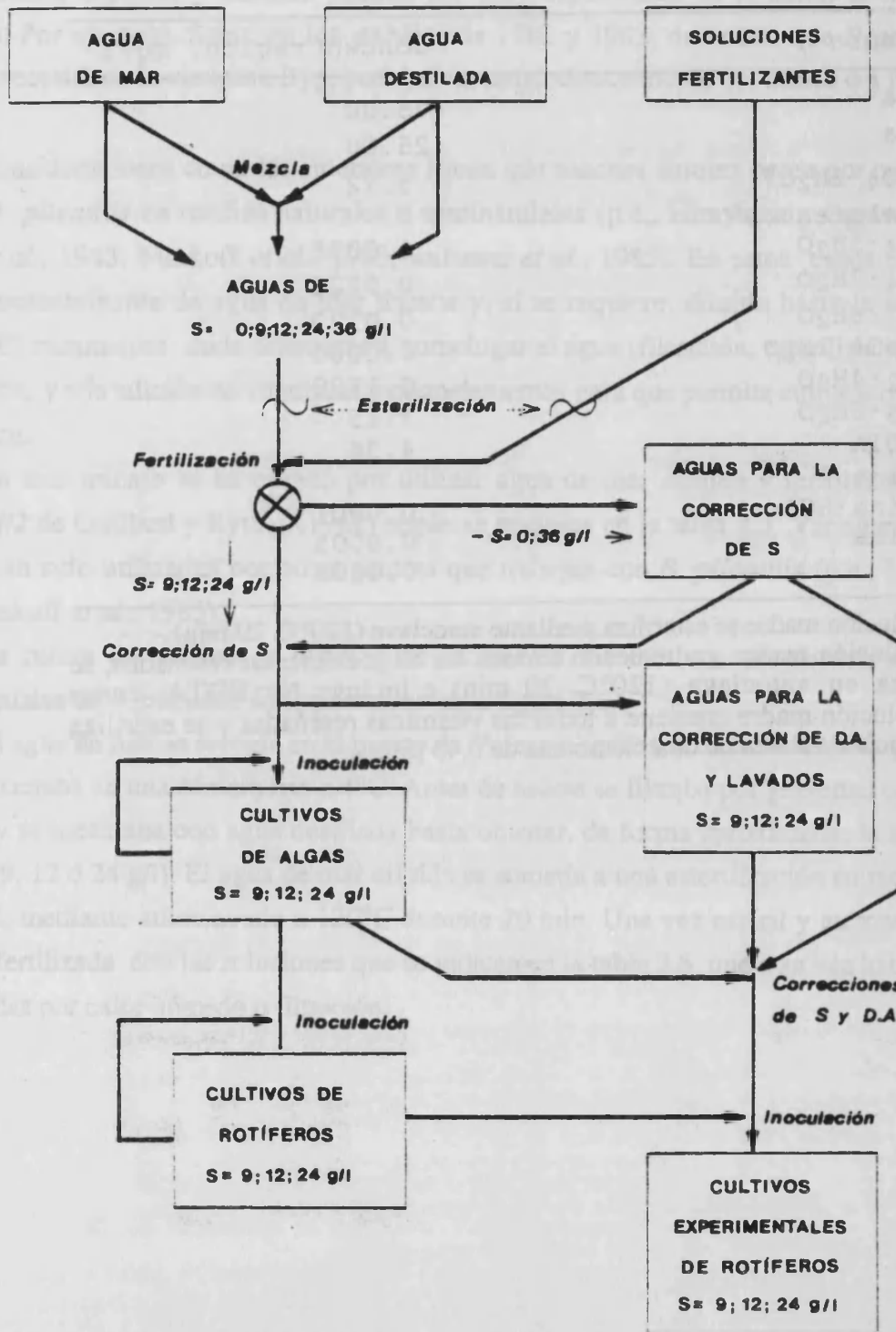


Figura 2.6. Rutina de cultivo para el mantenimiento de las cepas y para la experimentación con las mismas. Los puntos en donde se opta entre varias alternativas se representan mediante el símbolo de llave (círculo con aspa). S: salinidad; D.A., densidad algal.

Aguas de 0 g/l de salinidad (agua destilada) y de aproximadamente 36 g/l (agua de mar sin diluir) también eran sometidas a igual proceso que las aguas de 9, 12 y 24 g/l, utilizándose posteriormente para corregir la salinidad de los medios de cultivo.

Una vez fertilizada, se corregía la salinidad del agua destinada a los cultivos de algas, mediante las soluciones arriba indicadas (0 g/l y 36 g/l, aprox.) y un salinómetro YSI Model 33. Los medios resultantes eran utilizados para el cultivo del alga *Tetraselmis sp.* y para algunas operaciones de manipulación de rotíferos y de algas (lavado, aislamiento, dilución, etc.).

En los cultivos de algas, se inoculaba *Tetraselmis sp.* en el medio y se dejaba crecer a 25°C en condiciones de iluminación constante (PAR: aprox. 35  $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ ). El cultivo se sometía a una aireación forzada por burbujeo de aire filtrado mediante algodón graso. Este burbujeo continuo proporciona los gases necesarios para el crecimiento algal y mantiene una distribución uniforme que iguala la exposición de las células a la luz. El cultivo de algas así obtenido no está libre de bacterias.

Los cultivos de algas pueden contaminarse de forma fortuita con ciliados u hongos, inutilizándose para el cultivo de los rotíferos. En estos casos, si la totalidad de cultivos llegaba a contaminarse, se procedía al aislamiento del alga por micropipeteo bajo un estereomicroscopio o por siembra en placa de agar, aunque este último método es lento y las algas, al resuspenderse, tardan en recuperar su movilidad. Los cultivos algales dedicados al mantenimiento de rotíferos no fueron estrictamente controlados en su salinidad, la cual podía alterarse durante el periodo de crecimiento algal.

Los rotíferos fueron mantenidos en tubos de 10 ml, (al menos tres tubos por cepa) a una salinidad de aproximadamente 12 g/l, a 25°C e iluminación constante (PAR: aprox. 35  $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ ). Estos cultivos eran alimentados sustituyendo parte del medio por medio fresco rico en algas, repitiéndose esta operación semanalmente. Durante la alimentación se observaba el cultivo mediante un estereomicroscopio para vigilar su estado, y cuando era necesario se renovaba el recipiente del cultivo.

**Tabla 2.6.** Condiciones utilizadas para el recuentos de algas mediante el contador automático de partículas.

Electrolito	Isotón
Impedancia de apertura	5 Kohms
Atenuación	32
Corriente	10 mA
Volumen de aspiración	500 $\mu\text{m}$
Diámetro de la apertura	140 $\mu\text{m}$
Constante de calibración	21
Rango de medida <sup>a</sup>	
diámetro inferior	5.92 $\mu\text{m}$
diámetro superior	13.05 $\mu\text{m}$
Valor utilizado <sup>b</sup>	cuentas corregidas

a. Los diámetros que se reseñan son para esferas de igual volumen que las partículas correspondientes.

b. La adecuación de los rangos se comprobó mediante recuento al microscopio en una cámara de Neubauer.

Para medios de cultivos experimentales y preexperimentales, se seleccionaron cultivos algales en fase exponencial de crecimiento y la salinidad del medio era corregida si se había alterado durante el periodo de crecimiento algal. En algunas experiencias también se ajustaba la concentración algal, para lo cual el número de células de un cultivo denso era evaluado mediante un contador automático de partículas Coulter-Counter ZM, con las condiciones que se indican en la tabla 2.6. Posteriormente al recuento, la concentración algal del cultivo se llevaba al valor deseado, mediante dilución de éste con medio fresco de la misma salinidad.

### 3. DISTRIBUCIÓN DE *BRACHIONUS PLICATILIS* EN RELACIÓN CON SUS ESPECIES CONGENÉRICAS EN LAS ZONAS HÚMEDAS DEL LITORAL MEDITERRÁNEO ESPAÑOL

#### 3.1. INTRODUCCIÓN

En los humedales de la costa mediterránea española, las poblaciones de rotíferos constituyen una parte importante del zooplancton, y frecuentemente la biomasa de estas poblaciones sobrepasa a la de los restantes grupos del zooplancton. Dos géneros muy característicos en estas aguas son *Brachionus* y *Synchaeta*. Aunque hay algunas especies de *Brachionus* con una distribución restringida, las especies más frecuentes en Europa tienen un carácter marcadamente cosmopolita, y su distribución parece estar principalmente determinada por las características de las aguas. Un ejemplo de lo críticas que pueden ser estas características se tiene en el caso de *Brachionus variabilis*. Esta especie apareció masivamente en Bélgica durante el verano, muy cálido, de 1976, para reaparecer brevemente en el verano de 1977. Después desapareció definitivamente (Dumont, 1983). Dumont concluye a partir de estas observaciones: "La desaparición de *B. variabilis* de Bélgica indica que una especie desaparece tan pronto como las condiciones de su nicho ecológico no se prolongan por más tiempo".

Entre las especies de rotíferos es común la presencia en una misma agua de especies congénéricas (véase, p.e., Miracle, 1974), pero sin embargo, si se analizan con detalle sus distribuciones, se puede observar algún tipo de segregación entre ellas. Cuando dos especies están alejadas filogenéticamente, no es raro que las diferencias entre ellas afecten a sus respectivas relaciones bióticas. Son diferencias en los espectros tróficos o en sus potencialidades como presas. Por ello, la coexistencia de estas especies no plantea ninguna paradoja. Simplemente sus nichos ecológicos se segregan principalmente en ejes bionómicos, los cuales no tienen proyección sobre coordenadas espacio-temporales. Esta posibilidad se podría extender a especies congénéricas. Pero dichas especies, al estar cercanas filogenéticamente, comparten un importante núcleo común de características y entre ellas es mucho más probable una intensa interacción competitiva, si concurren en un mismo lugar y momento.

El estudio de la segregación ecológica entre especies que habitan un ambiente o conjunto de ambientes se puede abordar mediante diversas técnicas. En algunos trabajos se atiende a la abundancia de las especies en distintos puntos y momentos. Así lo hace Miracle

(1974 y 1975) al estudiar la comunidad zooplanctónica del lago de Banyolas, utilizando técnicas estadísticas multivariantes. Dicha segregación también se puede estudiar analizando los valores de parámetros ambientales en muestras, clasificadas según la presencia de las distintas especies. Esta aproximación es la empleada por Green (1971), mediante el uso del análisis discriminante sobre muestras de parámetros físico-químicos.

La última aproximación comentada permite precisar los factores ambientales que influyen en la segregación de especies, pero está sujeta a algunos problemas, dado que presta atención a presencias, algunas de las cuales pueden ser fortuitas. El mantenimiento de poblaciones bajas de una especie dentro del nicho de otra es posible mediante una dinámica de recolonización y extinción, un proceso que puede ser recurrente. Además, hay que tener en cuenta que la abundancia, relativa o absoluta, tiene más que ver con el éxito en la competencia y, en consecuencia, con el nicho efectivo, mientras que la presencia se relacionaría principalmente con tolerancias y, por ello, con el nicho fundamental.

Este capítulo está centrado en el estudio de la distribución de *Brachionus plicatilis*. Trata de conocer aquellos parámetros físico-químicos que afectan a la distribución conjunta del género *Brachionus* en el área mediterránea española, para, a continuación, estudiar la distribución diferencial de *B. plicatilis* con respecto a sus especies congénicas, tratadas unitariamente. Asimismo se evalúa la capacidad de *B. plicatilis* para vivir en rangos más o menos amplios de los parámetros limnológicos. Este aspecto se aborda utilizando métodos estadísticos descriptivos y de selección de variables discriminantes para distintos niveles de abundancia relativa de los rotíferos que se estudian (tendiéndose a evitar los problemas asociados al considerar únicamente presencias y ausencias). Para ello se pone en relación la información sobre los parámetros físico-químicos de las zonas húmedas del litoral mediterráneo, obtenida por López (1983), con la composición poblacional de la comunidad zooplanctónica, analizada simultáneamente por Miracle (manuscrito en preparación).

### 3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos analizados en este capítulo tienen su origen en el muestreo de 57 masas de agua del litoral mediterráneo español durante cuatro campañas, una por estación, realizadas por otros autores en 1979 y 1980, tal y como se describe en el capítulo anterior. Estos autores realizaron medidas físico-químicas *in situ* y tomaron simultáneamente muestras de agua para análisis químicos, y muestras de zooplancton, recolectadas mediante una red de Nytal (50  $\mu$ m de poro).

**Tabla 3.1.** Presencia y frecuencia relativa, respecto al total de zooplacton, del género *Brachionus* en las áreas húmedas del litoral mediterráneo español, caracterizadas aquí por su mineralización y por su estado trófico (*i.e.*,  $\text{PO}_4^{3-}$ , ácido fosfórico reactivo y lábil). Las áreas húmedas se clasifican de acuerdo con López (1983), siguiendo el orden decreciente de la influencia marina. I, manantiales de agua dulce calcificada. II, lagunas costeras hipertróficas de agua dulce. III, lagunas costeras eutróficas de agua dulce. IV, lagunas costeras sulfatadas de salinidad intermedia. V, marjales de aguas salobres. VI, marjales hiperhalinos y salinas abandonadas. VII, salinas en explotación. (Alc: alcalinidad).

Tipo de agua	Presencia, %	Frecuencias medias, %	Conductividad, $\mu\text{S}/\text{cm}$	Alcalinidad, meq/l	$\text{Ca}^{2+}$ , meq/l	$\text{Cl}^-:\text{SO}_4^{2-}:\text{Alc}$ , en eq	$\text{Na}^+:\text{Mg}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$ , en eq	$\text{PO}_4^{3-}$ , $\mu\text{M}$
I	47.60	4.17	3372	4.1	10.7	8: 2:1	2:0.6:1	0.17
II	73.68	21.96	2820	2.7	4.4	7: 4:1	4:2.0:1	2.06
III	57.10	23.04	3211	4.7	6.9	4: 2:1	3:1.0:1	0.25
IV	71.88	12.99	13704	5.4	24.8	22: 9:1	5:1.3:1	0.34
V	42.20	0.74	13415	4.4	23.4	35: 5:1	7:1.2:1	0.13
VI	10.70	0.83	42803	3.7	51.7	221:37:1	14:3.0:1	0.51
VII	11.10	2.08	48797	3.4	51.0	317:41:1	18:4.0:1	0.33

El recuento de las muestras se efectuó con un invertoscopio y se determinó la frecuencia relativa de cada especie (M.R. Miracle, manuscrito en preparación). López (1983) analizó 17 parámetros físico-químicos, estableciendo una tipificación de las masas de agua del litoral mediterráneo español. Según este trabajo, éstas se agrupan en siete tipos dependiendo, principalmente, del grado de mineralización, del tipo de influencia marítima y continental, y del grado de eutrofia de las aguas. Estos tipos se especifican en la tabla 3.1, indicándose los correspondientes valores medios de las principales características para cada uno de ellos.

En primer lugar se ha estudiado la distribución del género *Brachionus*, calculando los porcentajes de presencia, así como la proporción media de individuos, del género *Brachionus* en muestras obtenidas en los distintos tipos de agua y estaciones del año.

El estudio de la distribución de *Brachionus plicatilis* en relación a sus especies congénicas se llevó a cabo agrupando a estas últimas y tratándolas unitariamente, para lo cual se sumaron en cada muestra las frecuencias relativas de todas las especies de *Brachionus*, a excepción hecha de *B. plicatilis*. Las muestras para las cuales la proporción total de *Brachionus* fue baja (inferior al 0.1%) fueron desestimadas.

Los datos así considerados fueron analizados mediante dos aproximaciones. En la primera se atendió únicamente a la presencia o ausencia de *B. plicatilis* y sus especies congénicas, generándose tres grupos de muestras: (1) muestras en las que la única especie de *Brachionus* presente era *B. plicatilis*, (2) muestras en las que *B. plicatilis* estuvo presente junto a alguna otra especie de *Brachionus*, y (3) muestras en las que *B. plicatilis* estuvo ausente, pero se encontraron individuos de otras especies del género *Brachionus*. Estos grupos se caracterizaron mediante la media y la desviación típica de los parámetros físico-químicos. Asimismo, se realizó un análisis discriminante paso a paso (ADI 3.1) sobre las muestras agrupadas de esta forma.

El análisis discriminante establece unas variables abstractas denominadas variables canónicas, (Legendre y Legendre, 1983) que son combinaciones lineales de las variables primitivas (en este caso, parámetros físico-químicos). Las variables canónicas están ordenadas de mayor a menor poder discriminante y cada una de ellas acumula el máximo posible de dicho poder. El criterio de discriminación es la razón Lambda de Wilks (Cooley y Lohnes, 1971; Legendre y Legendre, 1983). El sistema iterativo paso a paso elimina aquellos parámetros que no hacen un aporte significativo a la discriminación, bien porque no tienen relevancia en la segregación de las muestras, bien porque son redundantes con otras variables con mayor relevancia en la discriminación. Los parámetros físico-químicos, previamente a su uso en estos análisis fueron transformados logarítmicamente -excepto el pH- con objeto de que se ajustasen a las condiciones paramétricas del modelo discriminante.



En una segunda aproximación las muestras definidas por variables físico-químicas se agruparon en tres clases, según los intervalos de abundancia relativa, en porcentaje, de *B. plicatilis* (a partir de 0 y hasta 1, a partir de 1 y hasta 10, y a partir de 10). La misma agrupación se realizó atendiendo a la abundancia relativa de las restantes especies de *Brachionus*. Para estas 6 clases (3 niveles de abundancia relativa para *B. plicatilis* y 3 niveles para las restantes especies de *Brachionus*) se hallaron las medias y las desviaciones típicas de los 17 parámetros físico-químicos.

Por último, se llevaron a cabo tres análisis discriminantes paso a paso (ADI 3.2, 3.3 y 3.4) sobre las muestras definidas por la transformación logarítmica de los parámetros físico-químicos -excepto el pH que no fue transformado- y agrupadas en dos grupos, según distintos criterios. En el análisis discriminante 3.2, las muestras con presencia de *B. plicatilis* fueron asignadas al primer grupo y las muestras con presencia de otras especies de *Brachionus* se asignaron al segundo. En el ADI 3.2 las muestras con una proporción de *Brachionus plicatilis* superior al 1% fueron asignadas al primer grupo, mientras que las correspondientes a una presencia superior al 1% de los otros *Brachionus* fueron asignadas al segundo grupo. En el análisis 3.3 se procedió igual que en el 3.2, pero en este caso las muestras debían superar una proporción del 10% para ser asignadas a uno u otro grupo. Siguiendo este método, algunas muestras fueron asignadas a ambos grupos. En algún caso estos análisis discriminantes se acompañaron de análisis de correlación lineal ( $r$ ; Sokal y Rohlf, 1979), con objeto de estudiar la relación entre las variables discriminantes y las restantes variables.

Todos los cálculos se llevaron a cabo utilizando las rutinas de programación BMDP (véase Afifi y Azen, 1979) implantadas en un ordenador IBM-AT.

### 3.3. RESULTADOS

#### Distribución global del género *Brachionus*

Según los datos recopilados aquí, el género *Brachionus* está representado por diez especies en los humedales del litoral mediterráneo español, aun cuando las abundancias relativas de estas diez especies son muy desiguales. Por orden de importancia, las especies de *Brachionus* encontradas son: *Brachionus plicatilis*, *B. angularis*, *B. quadridentatus*, *B. calyciflorus*, *B. urceolaris*, *B. leydigi*, *B. bidentatus*, *B. rubens*, *B. bennini* y *B. variabilis*.

Tabla 3.2. Media y desviación típica (DT) de los parámetros físico-químicos que se indican, para muestras obtenidas en aguas costeras del litoral español, agrupadas por la presencia de *Brachionus plicatilis* y de otras especies de *Brachionus*.

Parámetro	A. Ausencia de <i>B. plicatilis</i> Presencia de otros <i>Brachionus</i> . (n= 23)		B. Presencia de <i>B. plicatilis</i> Presencia de otros <i>Brachionus</i> - (n= 38)		C. Presencia de <i>B. plicatilis</i> Ausencia de otros <i>Brachionus</i> . (n= 16)	
	media	DT	media	DT	media	DT
Conductividad, mS/cm	8.76	13.29	10.62	12.01	21.15	18.37
Temperatura, °C	16.4	4.5	21.8	6.3	18.4	5.5
pH	8.1	0.4	8.6	0.7	8.4	0.6
Alcalinidad, meq/l	4.4	1.5	4.5	2.1	4.8	1.4
Cl <sup>-</sup> , meq/l	130	285	116	225	350	485
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , meq/l	26	35	36	34	56	51
Ca <sup>2+</sup> , meq/l	17	16	16	20	36	29
Mg <sup>2+</sup> , meq/l	29	57	31	51	66	91
Na <sup>+</sup> , meq/l	112	234	118	223	327	446
K <sup>+</sup> , meq/l	1.9	4.3	1.9	3.8	5.5	8.6
O <sub>2</sub> , ml/l	7.0	2.0	6.7	2.7	5.3	2.6
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , µgatN/l	1.4	1.5	1.2	1.7	0.6	1.3
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , µgatN/l	113.0	244.0	24.3	33.6	26.9	43.2
SiO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , µatSi/l	128	117	198	123	166	122
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , µM	0.26	0.41	0.75	1.21	0.21	0.13
Fe, mg/l	0.16	0.16	0.17	0.28	0.26	0.31
Mn, mg/l	0.09	0.08	0.11	0.17	0.14	0.11

De entre ellas, las cuatro últimas aparecen muy esporádicamente y con bajas abundancias relativas.

La tabla 3.1 presenta los porcentajes de aparición del género *Brachionus* en los siete tipos de masas de agua caracterizados por López (1983). En dicha tabla se puede observar que el género *Brachionus* está presente en una fracción importante del conjunto de lagunas costeras (tipos II, III y IV), y poseen una presencia media en surgencias de agua dulce (tipo I) y marjales salobres (tipo V). Sólo una pequeña fracción (alrededor del 10%) de sistemas hiperhalinos (tipos VI y VII) cuentan con la presencia de individuos del género *Brachionus*. Sin embargo, las frecuencias relativas medias de individuos del género *Brachionus* se corresponden sólo parcialmente con los porcentajes de aparición de este taxon (tabla 3.1), destacando mucho más su preferencia por las lagunas litorales en sentido estricto (tipos II, III, IV). El género *Brachionus* tiende a evitar las aguas de más alta salinidad pero es bastante abundante en las aguas de salinidad intermedias, y especialmente en las lagunas de tipo IV, de características atalasoalinas. En estas lagunas, el  $\text{SO}_4^{2-}$  y, en menor medida, el  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$  constituyen una componente importante de la mineralización de las aguas.

Las especies de *Brachionus*, consideradas globalmente y en relación al ciclo anual, evitan el invierno y muestran una preferencia por presentarse en primavera, aun cuando la frecuencias relativas más importantes se alcanzan en verano. Se encontraron especies del género *Brachionus* en el 47% de las muestras de primavera (con una abundancia relativa media para el total de muestras del 6.27%), en el 42% de las muestras de verano (10.18% de abundancia relativa media), en el 43% de las muestras de otoño (5.00% de abundancia relativa media) y en el 32% de las muestras de invierno (con sólo un 0.57% de abundancia relativa media). Con respecto a estos datos debe tenerse en cuenta que las muestras de verano no se refieren exactamente al mismo número de lagunas que las muestras de las restantes estaciones, ya que algunas charcas y marjales se secan totalmente durante la estación cálida.

#### **Distribución de *B. plicatilis* en relación con sus especies congénéricas**

*Brachionus plicatilis* posee sus mayores abundancias relativas en las aguas de tipo IV y durante el verano (figura 3.1), y según se observa en la tabla 3.2, muestra una marcada preferencia, en relación a los restantes *Brachionus*, por aguas más mineralizadas, y con concentraciones de oxígeno ligeramente menores. Estas características se aprecian especialmente cuando se comparan las aguas habitadas por especies de *Brachionus* diferentes de *B. plicatilis* con las aguas en donde *B. plicatilis* es el único *Brachionus* presente (grupos A

y C respectivamente; tabla 3.2). Pero en un número considerable de muestras (cerca del 50% de aquellas en las que aparece *Brachionus*), *B. plicatilis* se presenta acompañado de especies congénéricas. Las aguas en donde ocurre esta coincidencia son aguas de salinidad intermedia en cuya mineralización tiene peso el  $\text{SO}_4^{2-}$ . Es decir, el grupo B (tabla 3.2) tiene una conductividad media mayor que el grupo A, siendo también mayor la concentración de  $\text{SO}_4^{2-}$  en el grupo B que en el A; sin embargo, la concentración de  $\text{Cl}^-$  es mayor en A que en B. Las aguas en las que *B. plicatilis* aparece junto con alguna otra especie de *Brachionus* son también más cálidas y ligeramente más eutróficas que las restantes.

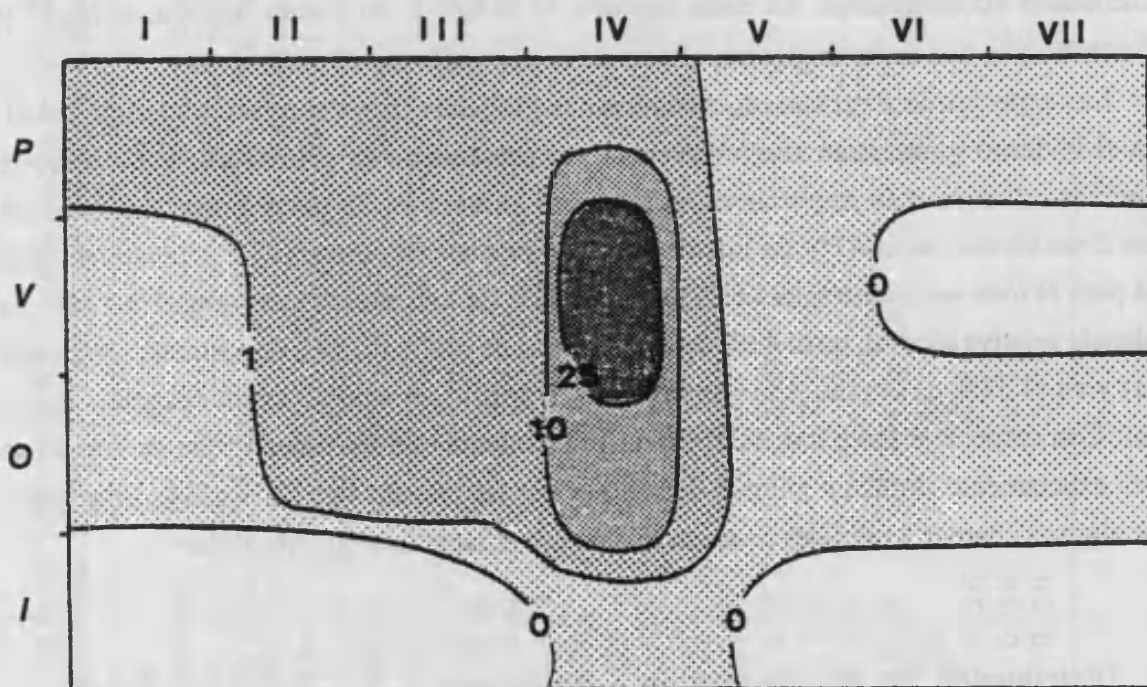


Figura 3.1. Distribución de *Brachionus plicatilis* en las zonas húmedas del mediterráneo español. Las isolíneas representan los porcentajes medios con respecto a el total del zooplancton, como una función del tipo de agua (I a VII) y la estación del año (P: primavera; V: verano; O: otoño; I: invierno).

Tabla 3.3. Coeficientes tipificados, constantes y valores propios asociados a las variables canónicas de los análisis discriminantes que se indican.

	ADI 3.1		ADI 3.3	ADI 3.4
	1	2		
Temperatura	-3.430	-0.417	-	-
K <sup>+</sup>	0.282	-0.201	0.876	-
Ca <sup>2+</sup>	-	-	-	1.323
Constante	9.385	4.179	0.312	-2.561
Valor propio	0.186	0.162	0.111	0.434

Tabla 3.4. Número de muestras de las zonas húmedas del litoral mediterráneo español, agrupadas según los porcentajes que se indican de *Brachionus plicatilis* y de otras especies de *Brachionus*.

	otros <i>Brachionus</i> , %				Total
	0	]0;1]	]1;10]	]10;-]	
<i>Brachionus plicatilis</i> , %					
0	-	11	12	0	23
]0;1]	8	7	3	5	23
]1;10]	4	5	7	2	18
]10;-]	4	2	3	4	13
Total	16	25	25	11	77

Cuando los datos agrupados como expresa la tabla 3.2 se someten a un análisis discriminante (ADI 3.1; tabla 3.3), únicamente dos variables son incorporadas a la discriminación: la temperatura y el ión potasio. La primera variable canónica, correlacionada positivamente con la temperatura, discrimina principalmente entre el grupo B (lado positivo) y los restantes (lado negativo). La segunda variable canónica, correlacionada positivamente con el  $K^+$ , separa al grupo C (semieje positivo) de los grupos A y B (semieje negativo). La discriminación es bastante eficaz en la segregación del grupo A, y un 74% de muestras de este grupo son correctamente clasificadas por el análisis. El análisis es algo menos eficaz en lo que se refiere a la discriminación del grupo B (61% de las muestras correctamente clasificadas) y se obtuvieron resultados más pobres (38% de las muestras correctamente clasificadas) con el grupo en donde *B. plicatilis* era la única especie de *Brachionus* presente (grupo C).

La elaboración de datos que se acaba de presentar no tiene en cuenta el nivel de la frecuencia relativa de *B. plicatilis* y de sus especies congénicas. Por ello, y con objeto de atender este aspecto, se han fraccionado las muestras en niveles de abundancia relativa, con los resultados que se presentan en las tablas 3.4 y 3.5.

Observando la tabla 3.4 se puede comprobar que los valores de la diagonal principal (excluyendo la fila y columna de totales) no son desdeñables, indicando una cierta correspondencia de la distribución de *B. plicatilis* con la distribución conjunta de las demás especies de *Brachionus*. Pero también existen valores importantes alejados de la diagonal, señalando situaciones en donde uno de los grupos domina sobre el otro. Esta dominancia no es simétrica y mientras existen muestras con una importante proporción de *B. plicatilis* en donde no existen otros *Brachionus*, la situación inversa no se ha encontrado; lo cual es especialmente relevante dado que se está comparando una sola especie con un conjunto de éstas.

En la tabla 3.5 se muestra una caracterización de los parámetros físicos-químicos correspondientes a las muestras agrupadas según distintos niveles de abundancia relativa de *B. plicatilis*, así como de las restantes especies de *Brachionus*. Para el nivel de abundancia más bajo, los valores que se presentan en la referida tabla no guardan relaciones claras entre sí y con los restantes valores. En cambio, en los niveles medio y alto se ponen de manifiesto algunas regularidades significativas. De nuevo aparece aquí la preferencia de *B. plicatilis* por aguas con mayor mineralización y con menores niveles de oxígeno. Esta tolerancia a bajas concentraciones de oxígeno puede ser muy acusada habiéndose encontrado una abundancia relativa de 25% a una concentración de oxígeno de 0.37 ml/l.

Los valores de las desviaciones típicas para las frecuencias media y alta indican que *B. plicatilis* habita aguas con un amplio rango de características físico-químicas, aun si se le

Tabla 3.5. Valores medios y desviaciones típicas (DT) de los parámetros físicos-químicos que se indican, para muestras agrupadas por tres niveles de abundancia relativa de *B. plicatilis* (a) y de otros *Brachionus* diferentes (b); ( $n_a$ , número de muestras promediadas para *B. plicatilis*;  $n_b$ , número de muestras promediadas para otros *Brachionus*; Cond.: Conductividad; Temp.: Temperatura; Alc.: Alcalinidad).

Parámetro		]0;1]		]1;10]		]10;-]	
		$n_a=23; n_b=25$		$n_a=18; n_b=25$		$n_a=13; n_b=11$	
		media	DT	media	DT	media	DT
Cond., mS/cm	a	12.7	13.9	16.8	19.1	11.0	9.0
	b	13.8	15.3	8.9	10.8	3.5	1.8
Temp., °C	a	20.6	5.1	20.0	6.9	22.1	7.2
	b	18.9	5.5	19.0	6.7	23.4	5.6
pH	a	8.6	0.5	8.5	0.7	8.5	0.8
	b	8.3	0.5	8.2	0.6	8.9	0.7
Alc., meq/l	a	5.4	2.0	3.6	1.3	4.3	2.1
	b	5.0	2.0	4.0	1.4	3.9	2.3
Cl <sup>-</sup> , meq/l	a	173	349	275	421	82	64
	b	191	318	96	202	18	12
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , meq/l	a	42	41	50	50	32	20
	b	43	40	30	32	12	5
Ca <sup>2+</sup> , meq/l	a	19	20	32	34	15	12
	b	21	20	17	20	4.4	1.3
Mg <sup>2+</sup> , meq/l	a	39	64	56	88	24	16
	b	45	67	25	45	8	5
Na <sup>+</sup> , meq/l	a	167	305	268	418	81	59
	b	179	282	95	197	21	12
K <sup>+</sup> , meq/l	a	3.1	7.1	4.1	5.9	1.0	0.6
	b	3.1	5.1	1.3	3.1	0.4	0.2
O <sub>2</sub> , ml/l	a	6.1	1.8	6.1	2.5	6.7	4.3
	b	5.7	2.0	6.9	1.8	8.9	3.3
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , µgatN/l	a	1.5	1.8	0.4	0.5	1.1	2.1
	b	1.2	1.7	1.1	1.6	1.7	1.7
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , µgatN/l	a	32	38	21	41	18	24
	b	93	237	34	47	33	32
SiO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , mgatSi/l	a	175	112	187	155	217	89
	b	182	142	153	125	192	76
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , µM	a	0.29	0.17	0.82	1.51	0.77	1.10
	b	0.28	0.24	0.49	0.87	1.36	1.80
Fe, mg/l	a	0.17	0.16	0.31	0.45	0.10	0.05
	b	0.21	0.31	0.16	0.19	0.09	0.00
Mn, mg/l	a	0.12	0.17	0.14	0.18	0.09	0.07
	b	0.12	0.15	0.10	0.15	0.08	0.10

compara con el conjunto de sus especies congénicas. En dichos niveles de frecuencia, *B. plicatilis* posee mayores dispersiones para todos los parámetros relacionados con la mineralización, para la temperatura, la concentración de oxígeno, el nivel de nitritos y el de silicatos.

También se puede observar en la tabla 3.5 que aunque *B. plicatilis* está bien adaptado a aguas bastante mineralizadas, las mayores proporciones las alcanza en aguas ligeramente más dulces. Igual tendencia, pero mucho más acusada, presenta el conjunto de los restantes *Brachionus*.

Con objeto de identificar más claramente los parámetros que pudieran determinar la distribución diferencial de *B. plicatilis*, respecto a las restantes especies del género, se llevaron a cabo tres análisis discriminantes (3.2, 3.3 y 3.4) oponiendo dos grupos de muestras (*B. plicatilis* vs. otras especies de *Brachionus*), según se indica en el apartado de Material y Métodos. El análisis discriminante 3.2 (dos grupos y 115 casos: 54 en el grupo de muestras con presencia de *B. plicatilis* y 61 en el grupo de otras especies de *Brachionus*), no seleccionó ninguna variable físico-química, siendo la conductividad la variable que más cerca estuvo de ser seleccionada. Por el contrario, cuando sólo se incluyen en cada grupo las muestras con una proporción de *B. plicatilis* o de otro *Brachionus* superior al 1%, el correspondiente análisis discriminante (ADI 3.3; tabla 3.3), selecciona un único parámetro físico-químico, el ión potasio, para ser incorporado a las funciones discriminantes. La variable canónica que se obtiene está correlacionada positivamente con el  $K^+$  y la media de las muestras asociadas a *B. plicatilis* aparece en el lado positivo del eje canónico, quedando la media correspondiente a los restantes *Brachionus* en el lado negativo. Pero el potasio está fuertemente correlacionado con otros iones, siendo los más importantes los siguientes:  $Cl^-$ , con  $r=0.92$ ;  $Na^+$ ,  $r=0.92$ ;  $Mg^{2+}$ ,  $r=0.90$ ;  $SO_4^{2-}$ ,  $r=0.86$ ; y  $Ca^{2+}$ ,  $r=0.72$ . Así pues, la discriminación realizada por el ADI 3.3 está ligada a los parámetros asociados al potasio y, como puede deducirse a partir de las correlaciones, a aguas con mayor influencia marina. Las altas correlaciones que se acaban de citar indican que el análisis discriminante no incorporó otros iones debido a que su efecto en la discriminación ya está recogido por el potasio (recuérdese que se ha utilizado un método iterativo paso a paso, el cual deshecha las variables redundantes; véase el apartado de Material y Métodos).

Cuando el nivel mínimo necesario para adscribir las muestras a los grupos se sitúa en una proporción del 10%, el análisis discriminante correspondiente (ADI 3.4; tabla 3.3) rinde unos resultados algo diferentes. El único parámetro seleccionado es el ión calcio y la variable canónica que construye el análisis, con un peso positivo del  $Ca^{2+}$ , sitúa al grupo de muestras con *B. plicatilis* en el semieje positivo, quedando el grupo de los restantes *Brachionus* en el semieje negativo. Para las muestras consideradas en este análisis, el  $Ca^{2+}$  posee correlaciones



bastante altas con algunos iones, aunque no tanto como las que presentaba el  $K^+$  en el análisis anterior (ADI 3.3). Las correlaciones más importantes son:  $Mg^{2+}$ ,  $r=0.70$ ;  $SO_4^{2-}$ ,  $r=0.70$ ;  $Cl^-$ ,  $r=0.63$ ;  $Na^+$ ,  $r=0.63$ ; y  $K^+$ ,  $r=0.60$ . En este caso la variable canónica, aun estando relacionada con el nivel de mineralización de las aguas, atiende sobre todo a una mineralización con mayor influencia de las aguas continentales o de carácter atalasoalino debido a la precipitación parcial de sales.

### 3.4. DISCUSIÓN

El conjunto de aguas estudiadas representa únicamente una fracción del rango de distribución geográfica del género *Brachionus* y los parámetros limnológicos no han sido examinados de una forma exhaustiva. Factores bióticos, no considerados aquí, pueden influir en la distribución conjunta de las especies de *Brachionus* y también en la distribución diferencial de las mismas. Sin embargo, factores abióticos como los aquí examinados pueden explicar algunas características de la distribución del género *Brachionus*. *Brachionus* es un género de distribución cosmopolita pero con una marcada preferencia por las latitudes tropicales (Pejler, 1977a). La existencia de una zonación latitudinal en la distribución de los géneros de rotíferos está bien establecida y, para el conjunto de *Brachionus*, esta zonación es un factor común de mayor importancia que su asociación por continentes distintos (Green, 1972; Pejler, 1977a; para una crítica de la ausencia de biogeografía en rotíferos, véase Dumont, 1983). Pero la zonación latitudinal es principalmente una zonación de la temperatura, por lo que se ha postulado una influencia importante, directa o indirecta, de este factor en la distribución de los rotíferos. Según su distribución global, al género *Brachionus* le corresponde una preferencia por temperaturas cálidas, lo cual está de acuerdo con los resultados encontrados aquí, ya que el género tiende a evitar las aguas de invierno.

La preferencia por aguas cálidas, aun con anomalías (p.e., *B. leydigi*; Ruttner-kolisko, 1974), se hace patente en la distribución espacial, global y local (p.e., el género abunda en las aguas próximas a centrales nucleares, Lair, 1980), y, de acuerdo con los resultados presentados en éste capítulo, también repercute en la distribución estacional.

Sin duda otros factores distintos de la temperatura influyen en la distribución del género *Brachionus*, en la cual puede desempeñar una función importante razones históricas. Dumont (1983) considera que el género tiene un origen evolutivo centrado en Gondwana (en Australia se encuentran varias especies endémicas; Shiell, 1983), con una dispersión secundaria desde Africa y La India, en la que el número de especies de *Brachionus* es alto

(Sharma, 1983), hacia Eurasia y América. Así pues, *Brachionus* debe ser considerado como un género antiguo. En un área geográfica limitada, como es la península Ibérica, las especies de *Brachionus* no se encuentran presentes en los ambientes más recientes, como embalses y aguas de montaña, y por el contrario, son frecuentes en lagunas endorreicas (Miracle, 1982); debiéndose añadir, según los resultados presentados su gran abundancia relativa en las lagunas costeras. En estos dos últimos tipos de ambiente han existido zonas húmedas desde antiguo.

Este género ha sido asociado a aguas alcalinas (véase Hutchinson, 1967), pero en el presente trabajo no se ha encontrado una relación entre la alcalinidad y la importancia de *Brachionus* en el zooplancton (tabla 3.1). Esto puede deberse a que, en las aguas estudiadas, el rango de variación de la alcalinidad no es muy amplio y en ningún caso se encuentran alcalinidades altas debidas al sodio.

Los porcentajes de presencia y abundancia relativa altos se han encontrado en los tipos de agua II, III y IV (tabla 3.1). Se trata de lagunas bastante permanentes, con aguas de mineralización baja y media, y cuyas proporciones relativas de sulfatos, calcio y magnesio son altas; es decir, poseen más un carácter continental o atalasoalino que salobre. En el género *Brachionus* se observa una tendencia a evitar las aguas de carácter marino (VI y VII), mientras que en las aguas de tipo I y V la presencia de *Brachionus* es frecuente, pero representa una fracción poco importante del zooplancton (tabla 3.1). Estos dos últimos tipos de aguas se caracterizan por tener unas relaciones  $\text{Cl}^-/\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$  altas cuando se compara con aquellos tipos de laguna que poseen una conductividad similar. Por esta razón, el tipo de mineralización de las aguas, junto al grado de la misma, parece afectar a la distribución de *Brachionus*.

*B. plicatilis* es, en algún sentido, un representante típico de su género. Las características alcalinófilas y de tolerancia a las cianobacterias propias de *Brachionus* están particularmente acusadas en esta especie (véase Hutchinson, 1967). Aunque, contrariamente, *B. plicatilis* posee una inusual tolerancia para las salinidades altas (Walker, 1981).

Esta última propiedad se pone de manifiesto en los resultados encontrados aquí. Las muestras donde *B. plicatilis* es el único *Brachionus* presente poseen una conductividad media superior a aquellas muestras donde aparecen otros *Brachionus*, con o sin *B. plicatilis* (tabla 3.2). Además, cuando la distribución de estos rotíferos se estudia considerando muestras con abundancia relativa superior al 1% (análisis discriminante 3.3), el nivel de mineralización del agua es un factor de discriminación entre *B. plicatilis* y los restantes *Brachionus*. *B. plicatilis* muestra su preferencia por aguas más mineralizadas y, a estos niveles de abundancia relativa, las características cualitativas de la mineralización no parecen importar.

Cuando sólo se consideran abundancias relativas altas (>10%; análisis discriminante 3.4), el tipo de mineralización parece cobrar mayor importancia. *B. plicatilis* se sigue situando en aguas más mineralizadas pero con un mayor peso de iones como el  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ , asociados a una influencia continental y al resultado de una precipitación parcial de las sales por la evaporación del agua.

De esta forma, *B. plicatilis* se caracteriza por ser un *Brachionus* que tolera elevadas salinidades, sea cual sea su composición, pero que está particularmente adaptado a aguas con una salinidad debida, en parte, a aportes continentales y a cuyos valores contribuye la evaporación. Esta observación está de acuerdo con la abundancia de este rotífero en lagunas endorreicas (Margalef, 1947). Asimismo se puede explicar las altas abundancias registradas por Green (1981) en lagos salados ( $\approx 30000 \mu\text{Si}/\text{cm}$ ) situados en cráteres volcánicos, en los cuales la relación de los bicarbonatos y carbonatos a los cloruros es relativamente alta (Bayly, 1969, citado en Green, 1981).

De acuerdo con lo expuesto, la razón por la cual *B. plicatilis* no alcanza densidades relativas altas en las masas de agua hiperhalinas del mediterráneo español estribaría en la composición de estas aguas. En ellas, la salinidad estaría demasiado descompensada a favor de los iones de origen marino para que se diera una colonización eficaz por *B. plicatilis*. Epp y Winston (1977) formulan la hipótesis de un origen marino de *B. plicatilis*, basándose para ello en el comportamiento fisiológico osmoconformador de este rotífero, con respecto a la salinidad ambiental. Sin embargo, la preferencia de *B. plicatilis* por aguas con una composición diferente a la marina es difícil de explicar a partir de la citada hipótesis.

La temperatura, de acuerdo con los resultados del análisis discriminante 3.1, también ayuda a explicar la presencia o ausencia de *B. plicatilis*. Este rotífero presenta una tendencia a la termofilia, ya que las muestras en donde no está presente, y si lo están otros *Brachionus*, poseen una temperatura media inferior, aunque esta diferencia pueden explicarse por la presencia de *B. leydigi* entre los *Brachionus* considerados, pues esta última especie es relativamente criófila y habita las aguas en invierno. Cuando no se consideran presencias o ausencias sino valores de abundancia relativa mayores que 1%, la temperatura pierde importancia, lo cual es debido a que la proporción de las especies de *Brachionus* en aguas frías siempre es baja, inclusive en el caso de *B. leydigi*.

Otras características están presentes en la distribución de *B. plicatilis*. Esta especie parece estar adaptada a condiciones pobres en oxígeno, tal y como corresponde a un organismo que vive en aguas saladas y, por lo tanto, con una baja solubilidad de este gas. La tolerancia a valores bajos de oxígeno detectada aquí se ve confirmada por experiencias de laboratorio, en las cuales se ha conseguido el cultivo prolongado de *B. plicatilis* en concentraciones de oxígeno inferiores a 0.5 ml/l (M.A. Esparcia, *comunicación personal*).

Por último, los datos analizados en el apartado de resultados muestran que esta especie habita en rangos muy amplios de los parámetros físico-químicos. Esta propiedad se observa tanto en las desviaciones típicas de dichos parámetros (véase la tabla 3.5) como en los análisis discriminantes llevados a cabo. Estos tienden a clasificar peor a *B. plicatilis* que a los otros grupos con los que se compara (análisis discriminante 3.1, 3.2 y 3.3), debido a la mayor dispersión de los valores asociados a la citada especie. Estos resultados son especialmente relevantes dado que se está comparando una especie con un conjunto de especies.

Se pone así de manifiesto un hecho común en la naturaleza, consistente en que especies proclives a vivir en ambientes de alguna forma extremos o poco frecuentes tengan rangos de tolerancia amplios, de forma que puedan enfrentarse con éxito a la relativa escasez de estos ambientes y a sus fluctuaciones. Además, sacrifican el tener un óptimo en los valores más competitivos de los parámetros ambientales por una tolerancia más amplia a las condiciones en las que disminuye la competencia (un ejemplo paradigmático de esta estrategia se encuentra en *Artemia*; véanse, p.e., Amat, 1980a y 1980b). En la medida en que *B. plicatilis* tiende a vivir en niveles de salinidad altos y en condiciones bajas de oxígeno, también posee altos rangos de tolerancia a estos parámetros, lo que se traduce en una mayor dispersión de los mismos en las muestras en donde aparece el citado rotífero.

Esta pauta implica una plasticidad de la especie que puede darse, de forma no excluyente, a dos niveles: genotípico y fenotípico. Esto es, mediante una fragmentación genética de la especie en razas o ecotipos, o mediante una respuesta diferente de un mismo genotipo a los factores ambientales cambiantes. Esta cuestión queda abierta a partir de los datos analizados en éste capítulo y será, en parte, el tema de estudio en los capítulos siguientes.

## 4. ANÁLISIS BIOMÉTRICO.

### 4.1. INTRODUCCIÓN

Para la mayoría de los animales, el tamaño del cuerpo es la característica universal que más fácilmente puede medirse (Peters, 1983). Por esta razón abundan las estimas de tamaño en la descripción de los organismos y se han construido teorías para explicar los datos biométricos. Pero en cuanto se inicia una reflexión sobre los datos, empieza a surgir la complejidad que subyace en el estudio de la morfología.

La primera cuestión importante es determinar qué parámetro o parámetros constituyen una descripción adecuada del tamaño. Sobre todo si éste se describe mediante varias magnitudes (longitud, anchura, etc.), ya que entonces es relevante la relación entre las diversas magnitudes, *i.e.*, la forma. Existe una tradición de descripción cuantitativa de organismos mediante índices calculados como razones entre medidas. Pero estos índices significan algo si son constantes durante el crecimiento de un organismo, esto es, si la forma se mantiene constante (véanse Margalef, 1974; Riera, 1981). Por el contrario, frecuentemente se ha observado que la relación entre magnitudes no permanece constante en relación a las medidas absolutas, ya que muchos animales cambian de forma con el crecimiento (Gould, 1966; Margalef, 1974). Esta observación ha llevado a buscar relaciones más complejas entre magnitudes, en donde apareciesen constantes que, verosímilmente, lo fuesen en la naturaleza.

El modelo sin duda más utilizado es el que establece que dos medidas del cuerpo,  $X$  e  $Y$ , se relacionan mediante una expresión de tipo potencial o alométrico  $Y = aX^b$  donde  $a$  y  $b$  son constantes. Este modelo ha sido contrastado empíricamente en muchos casos (véase Gould, 1966). Por otro lado, está fundamentado teóricamente.

En los postulados del modelo se establece que cada parámetro cambia con respecto a una variable independiente,  $t$ , en la forma

$$dY/dt = K_y Y$$

En otros términos, el crecimiento de un carácter es proporcional a la magnitud de dicho carácter. Esto también se cumplirá para la variable  $X$  ( $dX/dt = K_x X$ ). A partir de estas ecuaciones diferenciales se puede derivar el modelo potencial e interpretar sus constantes. La constante alométrica  $b$  es igual a la relación entre las constantes de crecimiento ( $b = K_y/K_x$ ). El valor de  $a$  es  $Y_0/X_0^b$ , donde  $Y_0$  y  $X_0$  son los valores de ambas variables cuando  $t = 0$ ; (para una deducción más detallada, véase Riera, 1981).

Un parámetro importante del modelo potencial es la constante  $b$ , la cual refleja la variación de la forma. Cuando  $b$  vale 1, no se da dicha variación y la relación entre medidas es

isométrica; en cualquier otro caso hay cambio de forma o alometría. Existe una considerable confianza en la constancia de  $b$  para una especie, por lo que se le ha dado valor taxonómico (véase Gould, 1966). Sin embargo, también se han basado en este parámetro estudios sobre diferencias biométricas entre poblaciones coespecíficas (p.e., Ito, 1953).

Cuando se comparan dos morfologías, correspondientes a poblaciones distintas,  $b$  no es la única medida relevante. El modelo potencial posee otro parámetro,  $a$ , que es importante. Este parámetro representa un factor de escala (Gould, 1966) y puede verse afectado directamente por factores ambientales más fácilmente que  $b$ . Además, el modelo potencial establece una relación entre dos variables pero no dice nada sobre qué valores pueden tomar estas variables. Así pues, se necesitará alguna referencia (normalmente posición, o media, y dispersión) a los valores de al menos una variable, p.e.  $X$ .

A partir de estas consideraciones, y siempre en el marco del modelo potencial, se puede precisar qué se entiende por comparar dos o más morfologías. De hecho, se trata de comparar, diferenciándolos o no, cada uno de estos términos: (1) las magnitudes absolutas medias; (2) la dispersión de dichas magnitudes; (3) las relaciones de escala entre las magnitudes; (4) la variación de la forma.

La segunda cuestión importante en los estudios morfológicos es encontrar los factores que determinan la forma. La forma de un organismo estará determinada por un entramado complejo de factores genéticos y ambientales como causas últimas. Pero en estudios ecológicos interesa explicar pequeños cambios en la morfología de las poblaciones y la causa próxima de estos cambios puede individualizarse en factores genéticos o ambientales.

En este contexto, genético quiere decir rígido, invariante con el ambiente, y ambiental quiere decir plástico, moldeable por el ambiente. Por ello, cuando se habla de que un cambio de forma se debe a un factor ambiental se dice alguna de estas dos cosas: (1) el factor ambiental induce cambios de forma mediante su acción sobre mecanismos de control genético; (2) el factor ambiental causa cambios de forma mediante su acción directa sobre mecanismos no genéticos (p.e., aumentando la velocidad de las reacciones metabólicas). Este último es el sentido de causación ambiental directa que subrayó tempranamente D'Arcy Thompson (1981; edición inglesa, 1917). En la práctica, estos dos tipos de acción ambiental son difícilmente distinguibles, pues para ello se requiere conocimientos moleculares profundos, los cuales sólo se poseen para un número muy limitado de seres vivos.

En organismos de crecimiento cerrado, como los que componen el zooplacton, la plasticidad morfológica es más una propiedad de las líneas genéticas -es decir, de las distintas generaciones- que de los propios individuos, ya que la morfogénesis tiene un marcado carácter irreversible. Por esta razón, la elección entre rigidez y plasticidad como estrategias de adaptación al ambiente depende de la duración de la vida del animal, junto con el grado de

fluctuación del ambiente donde habita. Organismos de vida larga, en ambientes fluctuantes, deben tener morfogénesis rígidas, no influidas por el momento particular de su desarrollo, pero versátiles, eficaces en distintas condiciones. Entre organismos de vida corta y de ambientes fluctuantes se pueden seleccionar mecanismos morfogenéticos plásticos, que rinden formas especializadas. Pero también pueden ser eficaces morfogénesis rígidas y especializadas, si unos genotipos se sustituyen por otros de acuerdo con las fluctuaciones ambientales.

La rigidez morfogenética es un requisito importante para construir criterios taxonómicos de carácter biométrico, y así se ha utilizado en organismos zooplanctónicos que, como los copépodos, tienen una vida relativamente larga. (Para una revisión del tema, véase Riera, 1981). En otros táxones del zooplancton, cladóceros y rotíferos, puesto que son de vida más corta, se espera una mayor plasticidad morfogenética (Kerfoot, 1980). En estos grupos las biometrías se han utilizado para correlacionar cambios en los organismos con factores ambientales y, en particular, con el ciclo anual; esto es, para evaluar la ciclomorfosis. (El término ciclomorfosis se utiliza aquí en su sentido amplio. Para su precisión, véase Kerfoot, 1980, o el apartado de Discusión de este capítulo).

En los rotíferos, el estudio de la ciclomorfosis se inició con una taxonomía confusa y se orientó a conocer si los cambios de forma que se observaban podían deberse a una sustitución de especies. Como resultados de estos trabajos, que fueron posteriormente revisados por Hutchinson (1967), se caracterizaron patrones ciclomorfológicos en diversas especies, en especial de los géneros *Asplanchna*, *Keratella* y *Brachionus*.

Posteriormente los estudios se han centrado en la determinación genética o ambiental de la variación morfológica. En algunas especies, como *Asplanchna sieboldi*, la cual posee tres morfologías muy diferenciadas, se conoce que la ciclomorfosis depende del ambiente y se ha individualizado el factor causante del cambio: el  $\alpha$ -tocoferol (véase Gilbert, 1980a). El alargamiento de las espinas posteriores del *Brachionus calyciflorus* también viene determinado por un factor ambiental: la presencia en el medio de *Asplanchna*, que es un depredador de *B. calyciflorus*; habiéndose comprobado en estudios de campo (p.e., Green y Lan, 1974) y experimentales (véase, Gilbert 1980b). Otros factores, como la temperatura y la alimentación, están también implicados y condicionan la magnitud de la respuesta que determina la longitud de las espinas (Halbach, 1970).

El alargamiento de espinas se ha relacionado con la presencia de *Asplanchna* también en otras especies: *Keratella starki* (Gilbert y Stemberger, 1984) y *Brachionus bidentata* (Pourriot, 1974). Pero en algunas de estas variaciones de forma, hay factores genéticos implicados. Halbach y Jacobs (1971) sugieren que *Asplanchna* no sólo induce una respuesta en *B. calyciflorus*, sino que también actúa como un factor de selección a favor de individuos

con una respuesta morfológica -capacidad para alargar las espinas- mayor. En *Keratella cochlearis*, otra especie estudiada experimentalmente, la ciclomorfofosis está influida directamente por la temperatura, aunque se necesita postular variación genética para explicar los datos de campo (Lindström y Pejler, 1975).

La variación geográfica o espacial en la morfología de los rotíferos ha merecido menos atención que la variación temporal, y cuando se ha estudiado, ha sido principalmente para comparar ciclos morfológicos en distintos lagos (véase Hutchinson, 1967). En algunos de los estudios que contemplan variación espacial, la variación morfológica no se ha logrado correlacionar con factores ambientales (Green, 1981). En otros casos la variación espacial se discute en relación a procesos de especiación (aislamiento microgeográfico en Pejler, 1980), por lo que se sugiere la existencia de una correspondencia entre dicha variación y los procesos de diferenciación genética.

La tercera cuestión importante en un estudio biométrico, y la más difícil de resolver, se refiere al sentido ecológico de variaciones, en ocasiones pequeñas, en la forma de los organismos. Una diferencia morfológica, con independencia de que esté determinada por el ambiente o por el genotipo, puede ser adaptativamente neutra. Ello no quiere decir que estas diferencias sean irrelevantes desde el punto de vista ecológico, pues pueden estar ligadas genéticamente a verdaderos caracteres adaptativos pero difícilmente observables. También es posible que diferencias morfológicas neutras sean indicadores de los factores ambientales que las causan, de la historia de las poblaciones, de procesos de deriva genética remota, etc.

Cuando, por el contrario, las diferencias morfológicas se atribuyen a fenómenos adaptativos, se suele asumir que las formas están específicamente adaptadas al medio en donde se observan. Pero esta adaptación específica no es el único modo de explicar las diferencias. Junto con la adaptación para un medio dado es preciso considerar la adaptación permitida por un medio, algo que se puede denominar adaptación inespecífica u optimización. Supóngase, p.e., que el tamaño grande de un organismo sea una adaptación al medio donde habita y que el tamaño sea una función directa del nivel de alimento. En estas circunstancias, el organismo que viva en un medio rico en alimento será diferente al habitante de un medio escaso en alimento; esta diferencia será adaptativa pero no orientada a la causa que la ha originado.

En los rotíferos existen algunos casos donde se conoce el sentido ecológico de la variación morfológica. El crecimiento de las espinas en *B. calyciflorus* se asocia necesariamente a su defensa frente a la depredación. La variación en *Asplanchna* obedece a causas más complejas, ya que los morfotipos se relacionan con distintas funciones reproductivas (de tipo sexual o asexual), con el tiempo de generación, y con el tamaño de sus presas (Gilbert, 1980a). Para otras especies, el fenómeno es peor conocido y las discusiones



acerca de su función poseen un marcado carácter especulativo. Las propiedades físicas del agua, en relación al comportamiento hidrodinámico y de flotación de las distintas formas se han usado para explicar la variación en *Keratella*, aunque sin evidencia experimental (véase Hutchinson, 1967). También se ha utilizado la hipótesis de la relación tamaño-eficiencia, para explicar los individuos mayores en invierno, el cual suele llevar asociado una pobreza en alimento (véase Pejler, 1980), pero la evidencia experimental (evaluación de las tasas intrínsecas de crecimiento para distintos niveles de alimento) parece contradecir esta hipótesis en las especies de rotíferos que se han estudiado a este respecto (Stemberger y Gilbert, 1985). Por último, algunos autores que han estudiado braquiúridos en masas pequeñas de agua se han referido a procesos de deriva genética y variación errática como explicación de las diferencias morfológicas observadas (Buchner y Mulzer, 1961; véase en Pejler, 1980).

Por todo lo expuesto más arriba, parece claro que la variación morfológica de los rotíferos no obedece a unas causas uniformes para todos ellos, sino que, tanto su función como su determinación, se debe a distintos factores según la especie. La ausencia de un patrón general es, hasta cierto punto, esperable para un grupo de organismos diversificado, con un elevado cosmopolitismo, habitante de medios fluctuantes y que coloniza aguas con distintas características.

En el rotífero *Brachionus plicatilis*, a pesar de ser una especie de amplia distribución, los estudios biométricos no han profundizado tanto como en las especies citadas más arriba. En este rotífero la morfometría se ha centrado más en magnitudes simples, fuertemente relacionadas con el tamaño, que en estudios cuantitativos de forma (p.e., Yúfera, 1982; Fukuso y Okauchi, 1982; Snell y Carrillo, 1984). Además, estos trabajos son principalmente experimentales y no han prestado atención a la variabilidad en la naturaleza. Esta orientación de los estudios biométricos en *B. plicatilis* puede deberse a dos razones: la falta de una ornamentación conspicua en la lóriga que estimule el estudio de la forma, y el interés práctico. Se trata de una especie utilizada en acuicultura como alimento de peces, e interesa la respuesta del tamaño en condiciones artificiales de cultivo.

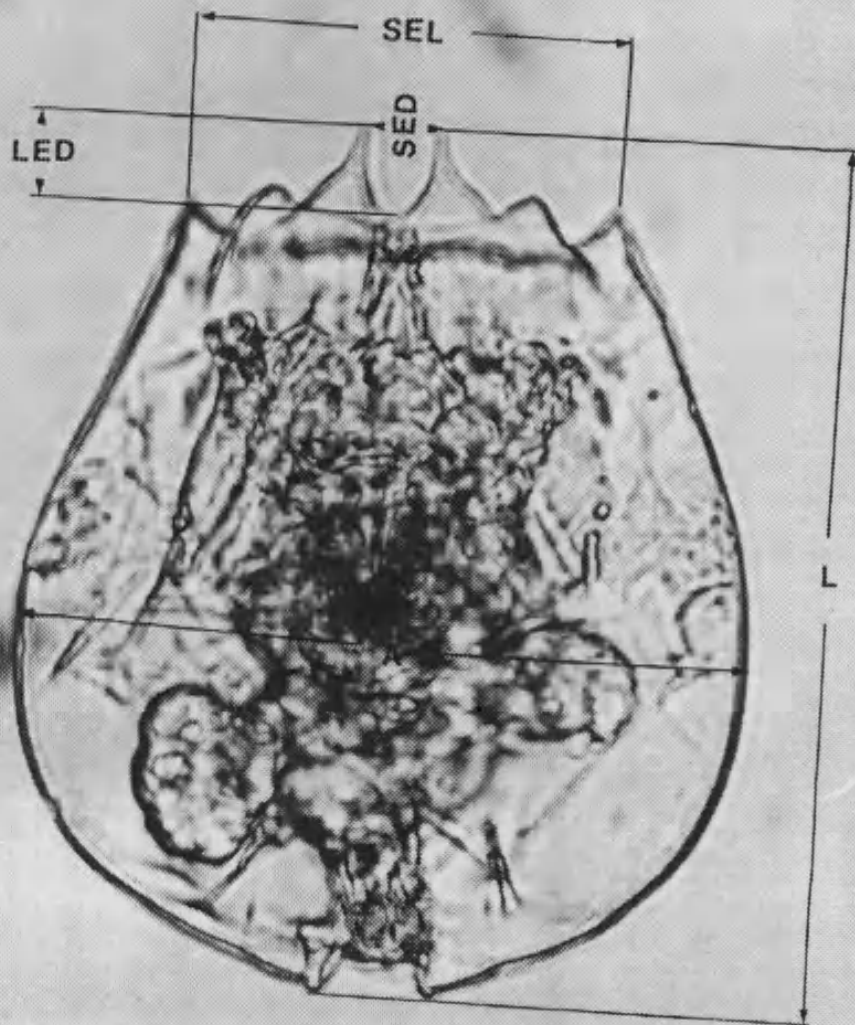


Figura 4.1. Microfotografía de una hembra de *Brachionus plicatilis*, sobre la cual se indican los cinco parámetros medidos. L, longitud; A, anchura; LED ó 3, longitud de las espinas dorsales (posición central); SED ó 4, separación entre las espinas dorsales (posición central); SEL ó 5, separación entre las espinas laterales. La barra horizontal equivale a 50  $\mu\text{m}$ .

Sin embargo, *B. plicatilis* es una especie de amplia distribución e importante dentro de las comunidades zooplanctónicas de las lagunas del Mediterráneo español, las cuales recogen una gran gama de condiciones (véase el Capítulo 3). Además, la disposición de estas lagunas a lo largo de una costa con una marcada dirección N-S origina una serie de áreas distribuidas ordenadamente según un gradiente latitudinal, el cual es adecuado para estudiar la variación clinal en *B. plicatilis*. Utilizando técnicas de estadística multivariante se ha intentado interpretar las pautas de dicha variación. Con objeto de facilitar la comprensión de los resultados de campo, además de por su interés intrínseco, se han combinado estos estudios con estudios de laboratorio sobre poblaciones clónicas, orientados principalmente a evaluar la influencia en la morfogénesis del genotipo, así como de dos de los factores ambientales más importantes en estos ambientes -la salinidad y la temperatura-, cuya hipotética influencia puede superponerse a una probable fragmentación genética establecida a lo largo de clinas de variación.

## 4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio biométrico se ha efectuado sobre dos conjuntos de datos, siguiendo para ello dos diseños experimentales que -junto con sus respectivos resultados- se denominan aquí Biometría I y Biometría II. En ambos casos se midieron cinco parámetros de la lóriga de hembras de *Brachionus plicatilis* (figura 4.1), las cuales habían sido previamente fijadas con formol al 4%. Para la determinación de las medidas se utilizó un invertoscopio Wild M40 con micrómetro ocular, usándose un objetivo 40x para las medidas de longitud y anchura; y un objetivo de inmersión 100x para medir la separación y la longitud de las espinas dorsales (posición central), así como la separación de las espinas laterales.

En la Biometría I se consideraron veinte muestras diferentes de *B. plicatilis*, cada una de ellas constituida por cincuenta individuos escogidos al azar entre sus poblaciones de origen (véase más adelante la tabla 4.1; para una caracterización del origen de las muestras, véanse las tablas 2.3 y 2.4 y la figura 2.5). Siete de estas poblaciones eran cepas o clones de laboratorio cultivadas con exceso de comida, a una temperatura de 25°C y a una salinidad de 12 g/l (en el apartado 2.3 se indican más detalles sobre éstas y las restantes condiciones de cultivo). La recolección de los individuos de estas cepas se llevó a cabo durante la fase avanzada de crecimiento exponencial. Se elige un periodo avanzado de la fase exponencial de crecimiento con el objeto de que la población se acerque a la distribución de equilibrio en las clases de edad que corresponde a esta fase (Lotka, 1922) y que depende únicamente de la tasa intrínseca de aumento, si la fecundidad y natalidad específica de edad permanecen constante.

Además, al tener el cultivo una mayor densidad se facilita la recolección de individuos. La determinación de esta fase se establece atendiendo a que las hembras portadoras de huevos sean bastante abundantes (aproximadamente la mitad de la densidad máxima) y que el cultivo tenga color verde, indicando la abundancia de alimento. Las trece poblaciones restantes eran de origen natural, de las que se recolectaron muestras en el campo mediante una red de Nylal para plancton con malla de 50  $\mu\text{m}$ .

Para cada una de las muestras y cada parámetro biométrico se calculó la media aritmética, la desviación típica muestral y el coeficiente de variación. La significación de las diferencias entre las medias se comprobó mediante un análisis de la varianza de una vía, para cada parámetro (según Cooley y Lohnes, 1971; Sokal y Rohlf, 1979).

Para cada muestra, se estableció una relación entre cada par de parámetros calculando el coeficiente de alometría. Este coeficiente es la constante  $b$  de la ecuación  $Y=aX^b$  donde  $X$  e  $Y$  son las medidas que se desean relacionar y  $a$  es una constante (véase la Introducción a este capítulo). La estima de los parámetros  $a$  y  $b$  se llevó a cabo por el método de los mínimos cuadrados sobre la ecuación linealizada  $\ln(Y)=\ln(a) + b\cdot\ln(X)$ . La transformación logarítmica de las variables simplifica el cálculo numérico y hace que los datos tiendan a cumplir las condiciones paramétricas del modelo de regresión (Snedecor y Cochran, 1971).

Entre las veinte muestras estudiadas se seleccionaron distintos conjuntos de muestras con objeto de poner de manifiesto las relaciones entre las correspondientes poblaciones. Para estudiar estas relaciones se utilizó la técnica del análisis discriminante, (ADI); en su modalidad paso a paso (Afifi y Azen, 1979), cuyas principales características se describen en el apartado de Material y Métodos del Capítulo 3. Las medidas biométricas, previamente a su uso en este análisis, fueron transformadas logarítmicamente con objeto de que se ajustasen a las condiciones paramétricas del modelo discriminante.

La variación de los coeficientes de alometría se estudió mediante análisis de componentes principales (ACP; Seal, 1964; Cooley y Lohnes 1971), en el cual cada muestra de 50 individuos fue considerada un único caso caracterizado por los coeficientes de alometría entre medidas, obtenidos en la muestra correspondiente. El ACP acumula la máxima varianza posible en unas variables abstractas (*i.e.*, componentes principales) que son combinaciones lineales de las variables primitivas (*i.e.* coeficientes de alometría). Las componentes principales se ordenan de mayor a menor según la fracción de la varianza de los datos que pueden explicar. El análisis de componentes se calculó a partir de la matriz de correlación entre los coeficientes de alometría. También se llevaron a cabo análisis de componentes principales sobre otros conjuntos de datos y sobre las medias de los veinte grupos. En estos últimos análisis se usaron las correspondientes matrices de correlación y previamente a cualquier otra operación, los datos fueron transformados logarítmicamente.

Tanto los análisis discriminantes (seis ADI) como los análisis de componentes principales (cinco ACP) de la Biometría I se definen en el apartado de Resultados y fueron computados utilizando rutinas de programación BMDP (Afifi y Azen, 1979) y SPSS (Nie *et al.*, 1970), implementada en el ordenador UNIVAC del Centro de Cálculo de la Universidad Politécnica de Valencia.

En la Biometría II tres cepas de *B. plicatilis* (SPO, FCA y CU) fueron cultivadas a tres temperaturas diferentes (20, 25 y 30°C) combinadas con tres salinidades (9, 12 y 24 g/l), generándose 27 situaciones diferentes (3 cepas x 3 temperaturas x 3 salinidades). Para cada una de estas 27 situaciones se hicieron dos réplicas, no simultáneas, en frascos de cultivo separados, y de cada frasco se recogieron, para ser medidos 25 individuos al azar.

Los cultivos fueron alimentados con exceso de comida y se mantuvieron como mínimo 10 días en las condiciones experimentales antes de que los individuos fuesen recolectados. Esta última operación se realizó durante la fase exponencial avanzada de crecimiento de la población. En el caso de que algún cultivo no mostrara crecimiento aparente, se reiniciaba con un inóculo suficientemente denso, de forma que tras dos semanas de cultivo en las condiciones adecuadas se pudiera cosechar un número suficiente de individuos. Tanto la distribución de los replicados a lo largo de la experiencia, como la distribución de los frascos en la cámara de cultivo se hizo al azar.

El diseño experimental resultante es un diseño mixto con tres efectos fijos cruzados entre sí, (C, clones o cepas; T, temperatura; S, salinidad), un efecto aleatorio jerarquizado a los tres anteriores (B, bloque o réplica) y un efecto aleatorio jerarquizado a todos los demás (E, efecto individual o error). Los datos obtenidos mediante este diseño una vez transformados logarítmicamente, fueron analizados mediante un análisis multivariante de la varianza (MANOVA), estableciéndose la significación de los efectos por comparación con la distribución Lambda de Wilks (Cooley y Lohnes, 1971; Kres, 1983). Este análisis hace una evaluación global sobre el conjunto de medidas de la lóriga y es sensible a diferentes interrelaciones entre ellas, por lo que no debe verse como una simple adición de varios ANOVA. Para evaluar la importancia de cada uno de los parámetros en relación a los factores estudiados también se realizaron los correspondientes análisis univariantes de la varianza (ANOVA; Snedecor y Cochran, 1971; Sokal y Rohlf, 1979). Estas últimas pruebas estadísticas son dependientes entre sí y los niveles de significación pueden verse falseados por ello. Sin embargo, de acuerdo con Cooley y Lohnes (1971), permiten establecer la importancia de cada parámetro individual en las diferencias establecidas mediante el MANOVA. Las pruebas de significación pertinentes para cada efecto (razones entre dispersiones) fueron diseñadas con ayuda del algoritmo de Bennett y Franklin (Ruiz-Maya, 1983).

Con objeto de establecer qué relaciones entre parámetros eran modificadas por las condiciones de cultivo o por la pertenencia a una u otra cepa, se llevó a cabo un análisis discriminante (ADI 4.7) para un modelo simplificado consistente con el diseño experimental. En este análisis se consideraron 27 grupos correspondientes a cada combinación cepa-temperatura-salinidad, y cada grupo estuvo formado por dos repeticiones. Estas consistían en los 5 parámetros biométricos promediados para los 25 individuos de cada réplica. La matriz de datos quedó compuesta por 54 casos (27 grupos x 2 réplicas) y 5 variables (medidas del cuerpo).

Los cálculos de ANOVA, MANOVA y del análisis discriminante se llevaron a cabo en un ordenador IBM-PC, mediante programas escritos en APL elaborados por este autor, utilizando parcialmente, para el análisis discriminante, rutinas escritas por R. Romero, de la Universidad Politécnica de Valencia. Para la programación del análisis discriminante se siguieron los criterios de tipificación de los datos propuestos por Legendre y Legendre (1983).

### 4.3. RESULTADOS

#### Biometría I: Resultados generales

La tabla 4.1 muestra las medias, desviaciones típicas y coeficientes de variación de los parámetros morfológicos medidos en distintas poblaciones de *B. plicatilis*. El registro detallado de todas las medias efectuadas en cada población puede encontrarse en el Apéndice A. Las diferencias entre las medias de cada población, comprobadas mediante un análisis de la varianza, son altamente significativas para todos los parámetros, como se puede observar en la tabla 4.2, resultando considerables las diferencias de tamaño entre individuos pertenecientes a distintas poblaciones. Concretamente, para todos los parámetros la mayor media poblacional observada es aproximadamente dos veces superior que la menor (las relaciones son: L, 2.1; A, 2.0; LED, 2.2; SED, 1.9; SEL, 1.9).

Las amplias diferencias entre la totalidad de las muestras se conservan parcialmente cuando se consideran únicamente las poblaciones clónicas de laboratorio (figura 4.2), cultivadas todas ellas en idénticas condiciones. En este caso la relación entre la mayor y la menor de las medias poblacionales oscila en torno a 1.6. La relación de 2.0 se conserva para la mayoría de las medidas morfológicas cuando se consideran separadamente las muestras de campo, procedentes de poblaciones naturales que se encontraban en condiciones diversas.

El grado de conservación de la variabilidad entre las poblaciones cultivadas en el laboratorio también pueden observarse en la tabla 4.3. En esta tabla dicha variabilidad se evalúa como una dispersión entre medias, para reducir el efecto que introduce el número de muestras en la cuantificación de la variación. Según la citada tabla, las medidas principales de la lóriga (longitud y anchura) son algo menos dispersas entre las poblaciones de laboratorio, pero los restantes caracteres biométricos no se comportan de esta forma.

Las desviaciones típicas y los coeficientes de variación expuestos en la tabla 4.1 permiten conocer la variabilidad morfométrica intramuestral. Las diferencias en las desviaciones típicas entre muestras para cada uno de los parámetros se relacionan, en parte, con las diferencias entre las medias -a mayor media, mayor dispersión-, pues, como es habitual en estudios morfométricos, la variación absoluta es una función de la media. Por ello, se ha reseñado el coeficiente de variación que es una medida de variación relativa. Cuando se comparan los coeficientes de variación de las poblaciones de laboratorio con los de las poblaciones de campo, se observa que ninguno de ambos conjuntos tiende a tener mayor variabilidad relativa intrapoblacional para los caracteres que se han estudiado. Así, para la longitud de la lóriga, las muestras de laboratorio poseen un coeficiente de variación medio de 0.14, igual al de las muestras de campo. En el caso de la anchura de la lóriga, el coeficiente de variación medio es de 0.15 para las muestras de laboratorio y de 0.12 para las muestras de campo; pero, por el contrario, los correspondientes valores para la separación entre espinas laterales son de 0.11 y 0.14 respectivamente.

La tabla 4.4 presenta los coeficientes de alometría de distintas medidas morfológicas en relación a los principales parámetros de la lóriga aquí considerados: la longitud y la anchura. Los coeficientes de correlación que acompañan a los de alometría, indican que todas las regresiones son significativas al nivel del 5%, si se exceptúa a la muestra M18V, dos de cuyas correlaciones no resultaron significativas. La citada muestra posee las más bajas correlaciones para todas las relaciones mostradas en la tabla 4.4, siendo también una muestra con muy bajos coeficientes de variación para todas las medidas realizadas (tabla 4.1).

Tabla 4.1. Biometría I. Medias (*m*), desviaciones típicas (*DT*) y coeficientes de variación (*CV*) para las variables morfométricas que se indican, en muestras de laboratorio (clones) y de campo (poblaciones naturales) de *Brachionus plicatilis* (medias y desviaciones típicas en  $\mu\text{m}$ ;  $n= 50$ ).

Población	Longitud de la lóriga			Anchura de la lóriga			Longitud de las espinas dorsales			Separación entre espinas dorsales			Separación entre espinas laterales		
	m	DT	CV	m	DT	CV	m	DT	CV	m	DT	CV	m	DT	CV
<b>Laboratorio</b>															
FCB	235	41	.174	174	26	.149	22.6	3.3	.146	20.1	3.9	.194	108.1	15.4	.142
FCS	147	19	.129	116	16	.138	20.2	1.8	.089	12.7	2.1	.165	64.1	5.6	.087
AD	154	19	.123	122	16	.131	13.7	1.7	.124	16.3	1.7	.104	72.6	6.5	.090
SPO	180	24	.133	135	19	.141	18.7	2.2	.118	18.6	2.3	.124	83.2	6.9	.083
CU	217	30	.138	161	21	.130	23.0	3.2	.139	17.3	5.5	.318	92.1	13.2	.143
FCA	168	24	.143	136	22	.162	17.4	1.7	.098	12.3	2.5	.203	76.4	7.7	.101
CA	171	29	.170	139	26	.187	16.6	1.9	.114	13.1	2.5	.191	81.5	10.2	.125
<b>Campo</b>															
M1P	147	20	.136	108	14	.130	15.4	2.0	.130	14.1	2.2	.156	68.2	8.9	.130
M1V	144	19	.132	111	13	.117	16.0	2.5	.156	12.0	2.3	.192	67.6	9.5	.141
M1O	166	20	.120	125	15	.120	15.4	2.2	.143	16.3	3.0	.184	79.8	10.0	.125
M2P	159	23	.145	121	15	.124	18.0	3.2	.178	14.3	2.4	.168	71.2	10.2	.143
M10P	154	16	.104	112	10	.089	18.5	2.9	.157	13.2	2.9	.220	67.3	7.9	.117
M10O	184	21	.114	134	12	.090	17.5	2.6	.149	17.6	3.5	.199	83.7	10.7	.128
M10I	241	41	.170	174	25	.144	24.4	3.9	.160	12.5	4.9	.392	94.7	17.5	.185
M12V	115	32	.278	89	19	.213	11.0	4.8	.436	12.9	2.0	.155	55.8	11.6	.208
M13V	142	29	.204	108	13	.120	14.4	4.3	.299	14.1	2.0	.142	67.7	10.4	.154
M13O	171	26	.152	120	16	.133	16.7	2.0	.120	18.6	4.4	.237	83.9	13.5	.161
M18V	230	12	.052	165	9	.055	18.8	2.0	.106	22.8	2.5	.110	99.1	6.0	.061
M19V	161	18	.112	120	12	.100	17.7	2.4	.136	13.5	2.5	.185	75.1	8.0	.107
M30V	132	16	.121	99	14	.141	15.7	2.0	.127	13.8	1.6	.116	67.1	7.6	.113



Tabla 4.2. Biometría I. Análisis de la varianza para los distintos parámetros biométricos de la lóriga de *B. plicatilis*. (\*: efecto significativo al nivel de 0.01).

Parámetro Fuente	g.l.	S.C.	C.M.	Razón F
Longitud				
entre grupos	19	37.3	1.96	98.00*
dentro de grupos	980	21.2	0.02	
total	999	58.5	0.06	
Anchura				
entre grupos	19	32.3	1.70	85.00*
dentro de grupos	980	17.2	0.02	
total	999	49.5	0.05	
LED				
entre grupos	19	36.2	1.91	63.67*
dentro de grupos	980	30.3	0.03	
total	999	66.5	0.07	
SED				
entre grupos	19	34.2	1.80	30.00*
dentro de grupos	980	55.8	0.06	
total	999	90.0	0.09	
SEL				
entre grupos	19	25.7	1.35	67.50*
dentro de grupos	980	18.8	0.02	
total	999	70.6	0.07	

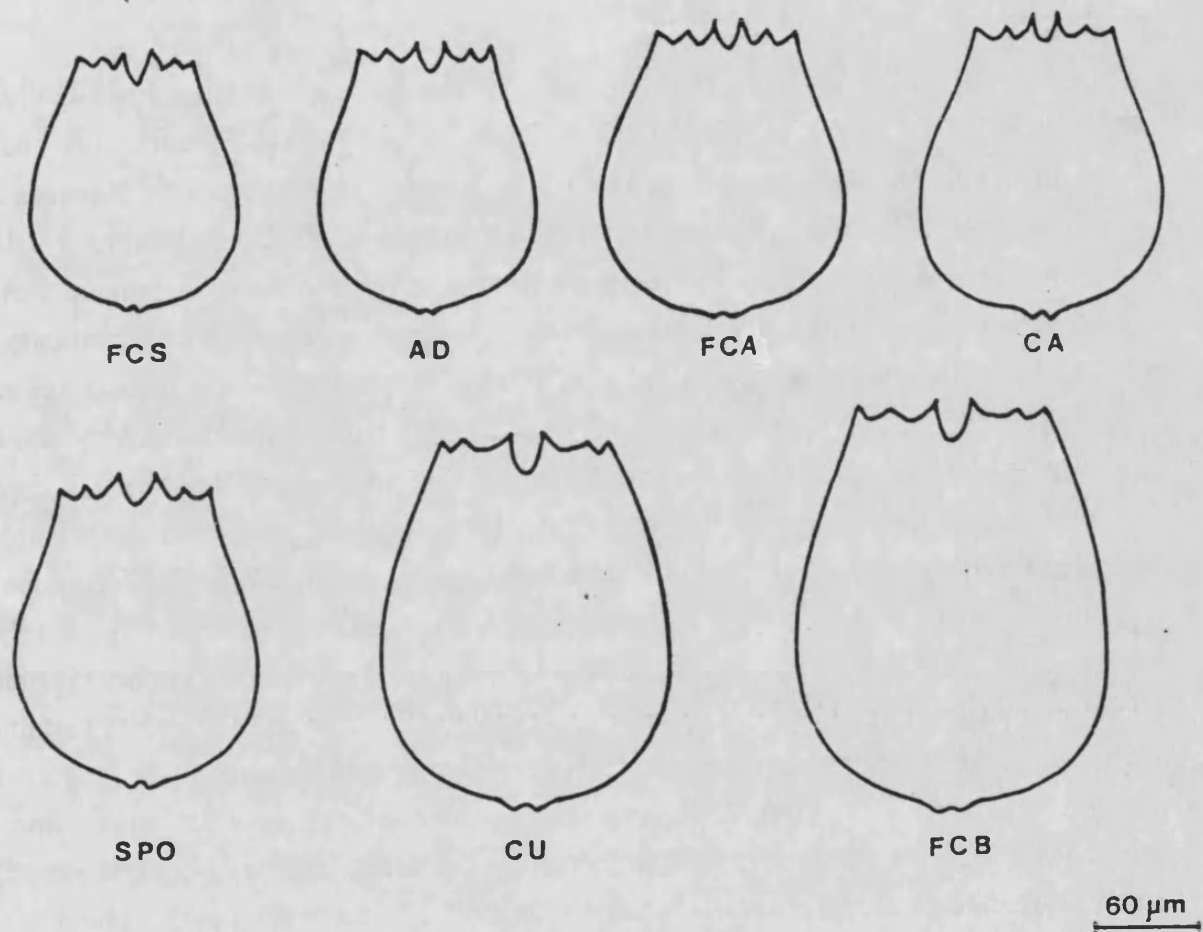
Tabla 4.3. Dispersión en  $\mu\text{m}$  entre los parámetros correspondientes a los dos conjuntos de muestras que se indican (Biometría I; la dispersión se ha calculado como la desviación típica entre medias muestrales).

Parámetro	Muestras de laboratorio	Muestras de campo	Total de las muestras
Longitud	32.6	35.9	34.9
Anchura	20.6	24.1	24.1
LED	3.3	3.1	3.2
SED	3.1	3.1	3.0
SEL	14.3	12.3	13.1
Número de medias utilizadas	7	13	20

Tabla 4.4. Relaciones de alometría (*b*) entre los parámetros biométricos que se indican de diversas poblaciones de *Brachionus plicatilis*, correspondientes a la Biometría I. Entre paréntesis, coeficiente de correlación (*r*) para los logaritmos de las correspondientes medidas. (*n*= 50; valor crítico de  $|r|= 0.273$ ,  $\alpha= 0.05$ ).

Cepa		Longitud de la lóriga <sup>a</sup>				Anchura de la lóriga <sup>a</sup>			
		A	LED	SED	SEL	LED	SED	SEL	
Labora- torio	FCB	b	0.85	0.54	0.85	0.76	0.68	0.74	0.87
		(r)	(0.96)	(0.63)	(0.74)	(0.90)	(0.69)	(0.73)	(0.90)
	FCS	b	1.04	0.37	0.36	0.54	0.37	0.37	0.50
		(r)	(0.96)	(0.50)	(0.26)	(0.77)	(0.55)	(0.29)	(0.77)
	AD	b	1.03	0.57	0.25	0.56	0.56	0.26	0.55
		(r)	(0.96)	(0.54)	(0.30)	(0.78)	(0.57)	(0.33)	(0.81)
	SPO	b	0.93	0.48	0.40	0.53	0.55	0.43	0.54
		(r)	(0.94)	(0.57)	(0.44)	(0.86)	(0.64)	(0.46)	(0.88)
	CU	b	0.88	0.62	1.84	0.94	0.75	1.77	0.97
		(r)	(0.92)	(0.57)	(0.71)	(0.88)	(0.66)	(0.66)	(0.88)
	FCA	b	1.00	0.35	0.56	0.59	0.28	0.50	0.51
		(r)	(0.89)	(0.50)	(0.32)	(0.84)	(0.45)	(0.32)	(0.84)
CA	b	1.06	0.38	0.39	0.62	0.35	0.30	0.59	
	(r)	(0.97)	(0.56)	(0.35)	(0.87)	(0.58)	(0.29)	(0.90)	
Campo	M1P	b	0.89	0.59	0.56	0.81	0.68	0.63	0.90
		(r)	(0.94)	(0.64)	(0.42)	(0.87)	(0.69)	(0.44)	(0.91)
	M1V	b	0.86	0.69	1.02	0.93	0.80	1.06	1.07
		(r)	(0.93)	(0.57)	(0.61)	(0.86)	(0.61)	(0.59)	(0.91)
	M1O	b	0.90	0.61	1.13	0.93	0.61	1.23	1.00
		(r)	(0.94)	(0.53)	(0.64)	(0.91)	(0.51)	(0.66)	(0.93)
	M2P	b	0.84	0.78	0.66	0.83	0.93	0.73	0.95
		(r)	(0.92)	(0.61)	(0.59)	(0.82)	(0.67)	(0.60)	(0.86)
	M10P	b	0.82	1.15	1.80	0.89	1.27	1.89	1.01
		(r)	(0.91)	(0.73)	(0.79)	(0.77)	(0.73)	(0.75)	(0.79)
	M10O	b	0.62	0.75	1.28	0.88	1.15	1.50	1.23
		(r)	(0.85)	(0.60)	(0.73)	(0.82)	(0.67)	(0.62)	(0.83)
	M10I	b	0.77	0.68	2.01	1.05	0.86	2.60	1.25
		(r)	(0.94)	(0.72)	(0.66)	(0.95)	(0.75)	(0.71)	(0.94)
	M12V	b	0.82	1.38	0.37	0.78	1.55	0.44	0.91
		(r)	(0.96)	(0.91)	(0.48)	(0.93)	(0.87)	(0.49)	(0.93)
	M13V	b	0.53	1.36	0.41	0.69	1.75	0.79	1.10
		(r)	(0.87)	(0.87)	(0.57)	(0.91)	(0.68)	(0.67)	(0.88)
	M13O	b	0.81	0.63	1.34	0.98	0.70	1.49	1.16
		(r)	(0.95)	(0.78)	(0.82)	(0.93)	(0.74)	(0.78)	(0.94)
	M18V	b	0.74	0.67	0.38	0.51	0.86	0.34	0.72
		(r)	(0.75)	(0.34)	(0.19)	(0.46)	(0.42)	(0.17)	(0.63)
	M19V	b	0.78	0.77	1.14	0.81	0.99	1.29	0.90
		(r)	(0.87)	(0.65)	(0.67)	(0.87)	(0.75)	(0.68)	(0.87)
M30V	b	1.03	0.71	0.67	0.77	0.58	0.63	0.73	
	(r)	(0.92)	(0.69)	(0.67)	(0.83)	(0.63)	(0.70)	(0.87)	

a. Variable independiente en la ecuación alométrica. Bajo ella, las variables dependientes.



**Figura 4.2.** Siluetas mostrando las dimensiones medias de las lórigas de individuos para cada una de las cepas de laboratorio de *B. plicatilis* estudiadas (Biometría I).

## **Biometría I: Diferencias morfométricas entre clones. Variabilidad genética**

Con objeto de estudiar la variación existente entre los clones de laboratorio -cultivados todos ellos en las mismas condiciones ambientales-, se llevaron a cabo dos análisis discriminantes. El análisis discriminante 4.1 (con 5 variables y 6 grupos de 50 casos cada uno) incluyó todas las cepas, excepto FCA, por ser muy similar a CA (tablas 4.1 y 4.4), ya que ambos clones provienen de una misma localidad. En este análisis, la primera variable canónica, que explica el 63% del poder discriminante, separa las cepas de mayor tamaño, CU y FCB, del resto (tabla 4.5). Dicha variable discrimina contraponiendo formas alargadas (lóriga y espinas largas) a formas anchas (lóriga ancha y espinas dorsales separadas), tal y como se observa en los coeficientes de la función discriminante (tabla 4.5). La segunda variable canónica (25% del poder discriminante), ordena las cepas de acuerdo con la latitud de su origen geográfico, si se exceptúa a FCS, de localización atlántica. Esta variable opone una morfología de tamaño grande con apéndices cortos, a la morfología inversa (figura 4.3). La tercera variable canónica (11% de la capacidad discriminante total) también se puede relacionar con la latitud, aun cuando de una forma más compleja. El valor de esta tercera variable se incrementa con la latitud hasta la cepa SPO, decreciendo a continuación (figura 4.3). Esta variable establece la discriminación oponiendo individuos anchos y de espinas dorsales separadas a aquellos que poseen las características contrarias. De esta forma, la segunda y tercera variables canónicas recogen las diferencias morfológicas de las medidas principales (L y A) de la lóriga en relación a la zona antero-dorsal de la misma.

El segundo análisis discriminante (4.2) se llevó a cabo con las cinco cepas de menor tamaño (5 variables y 5 grupos con 50 casos cada uno). Se excluyeron pues a las cepas CU y FCB, que son similares en sus medidas absolutas y en su composición isoenzimática (véase el Capítulo 5). En este análisis, la primera variable canónica acumula el 63% de la capacidad discriminante total y separa la cepa procedente de la vertiente atlántica (FCS) del resto, originarias todas de la vertiente mediterránea. La cepa FCS es discriminada por tener largas espinas dorsales y estrecho el borde anterior de la lóriga (SEL) frente a las restantes cepas, de características opuestas (tabla 4.5).

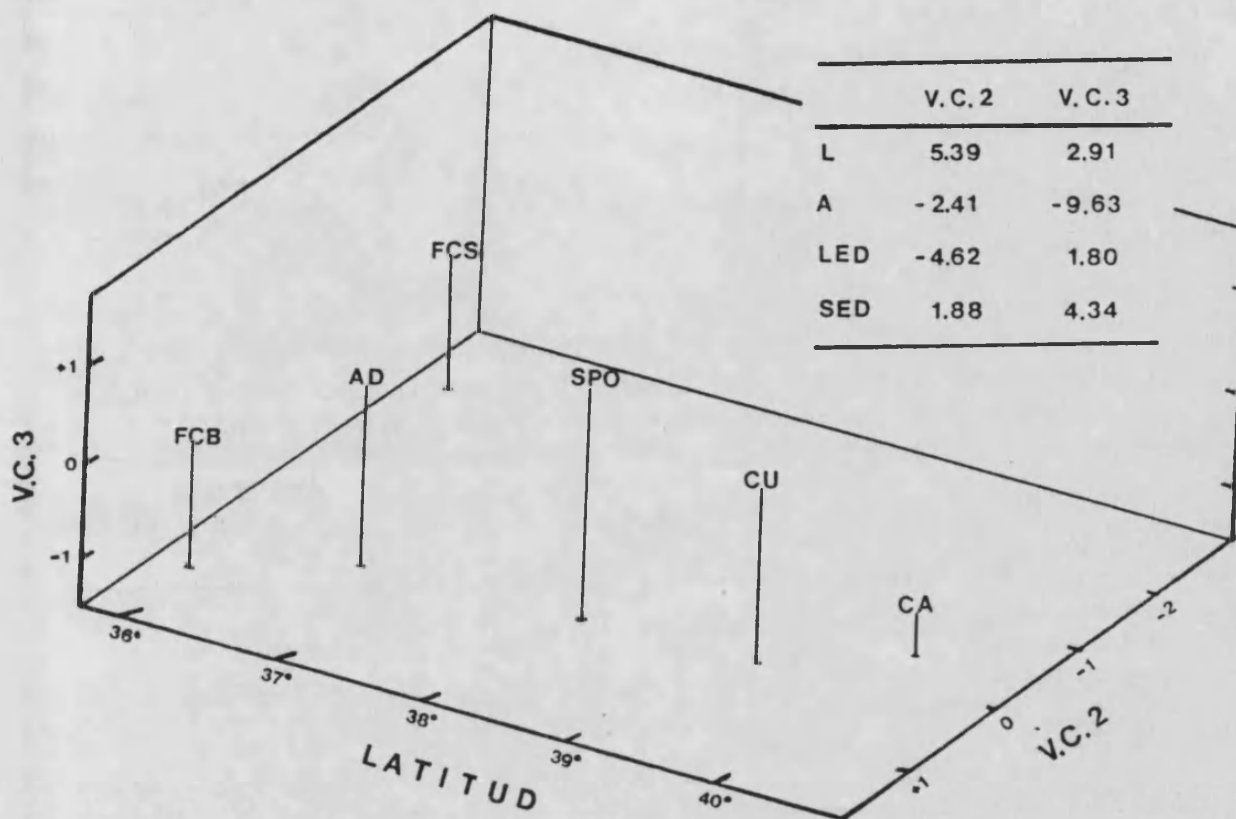


Figura 4.3. Análisis discriminante 4.1 (Biometría I). Relación entre la latitud de la localidad de origen de las cepas de laboratorio y la segunda y tercera variable canónica. En la tabla incluida se presentan los coeficientes de las variables canónicas.

La variación de los coeficientes de alometría entre cepas de laboratorio fue estudiada mediante un análisis de componentes principales (4.1) con 7 casos y 20 variables, correspondientes a cada una de las relaciones de alometría posibles entre los cinco parámetros morfológicos. Las tres primeras componentes acumulan conjuntamente el 95% de la varianza total. La primera de ellas (49% de la variación; figura 4.4) asocia a los dos clones mayores que, de esta forma, quedan agrupados no sólo por sus medidas absolutas, sino también por las pautas de variación de su forma. Esta primera componente está correlacionada sobre todo con aquellas alometrías que relacionan el extremo anterior de la lóriga (por orden de importancia en el eje: SEL, LED, SED) y las medidas principales del cuerpo (longitud y anchura). La segunda componente (22% de la varianza de los datos) separa a las cepas SPO y FCB del resto. Estas dos cepas poseen un coeficiente de alometría para la relación SED-anchura mayor que el resto de las cepas (e igual ocurre con la significación de las

Tabla 4.5. Análisis discriminantes 4.1 y 4.2 (Biometría I). Coeficientes primeras variables canónicas y evaluación de los valores medios de las mismas para cada clon.

Parámetro	Análisis discriminante 4.1	Análisis discriminante 4.2
Longitud, L	10.10	-1.59
Anchura, A	-10.89	-1.18
LED	8.11	-9.55
SED	-0.76	-0.30
SEL	-	13.80
Clones de laboratorio		
FCB	1.435	-
FCS	0.670	-3.395
AD	-2.812	1.820
SPO	0.181	0.306
CU	1.819	-
FCA	-	0.019
CA	-1.293	1.230

correspondientes regresiones; tabla 4.4), siendo dicha alometría la que mayor peso absoluto tiene en esta segunda componente. La tercera componente principal (17% de la varianza) ordena las cepas según la posición de sus orígenes geográficos en un eje norte-sur, excepción hecha de las cepas atlánticas, que aparecen intercaladas entre las demás. El tercer eje de este análisis posee altas correlaciones positivas con las alometrías de los diversos caracteres respecto a la longitud de las espinas dorsales.

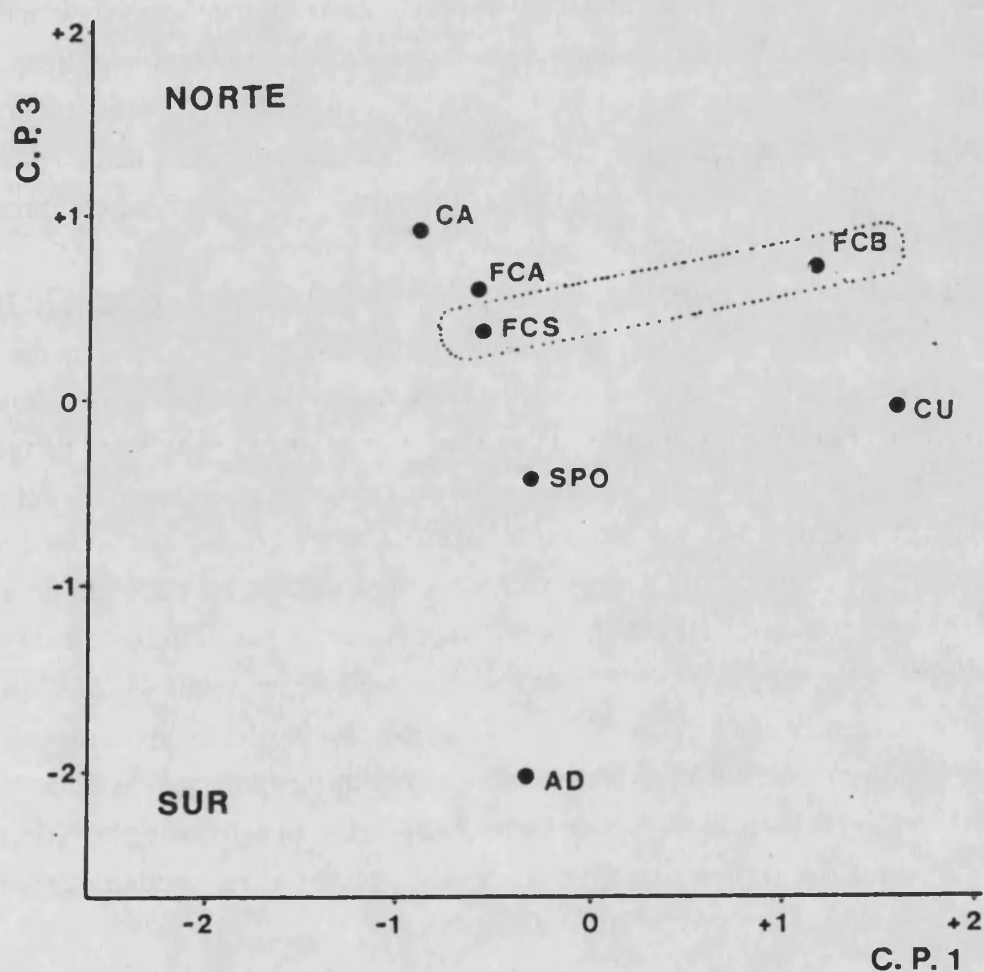


Figura 4.4. Análisis de componentes principales (ACP 4.1) de los coeficientes de alometría para los clones de laboratorio (Biometría I). Posición relativa de cada cepa en el espacio generado por la primera y tercera componente principal. Las cepas provenientes de la vertiente atlántica están agrupadas por una línea discontinua.

## **Biometría I: evaluación de la variación estacional**

La existencia de una marcada variación estacional que afecta a las dimensiones de los individuos de *B. plicatilis* queda patente en la figura 4.5, en la cual se puede observar que, para una misma zona húmeda (muestras de primavera, otoño e invierno de la Charca Sur, y muestras de verano de la Charca Norte de Elche), los individuos de invierno son en promedio más de dos veces mayores que los individuos de verano. Además, las relaciones alométricas no se mantienen siempre a lo largo del año. Esto se puede poner de manifiesto simulando una morfología con la longitud propia de individuos invernales, pero obtenida aplicando las relaciones alométricas observadas en individuos de verano. Así se obtiene como sería la lóriga de un hipotético individuo de verano que creciese hasta alcanzar la longitud de individuos de invierno. Cuando se comparan ambas lórigas, la observada y la hipotética, se comprueba la pobre coincidencia que hay entre ambas (figura 4.5).

Con el fin de estudiar si cambios como los observados en las poblaciones de El Hondo de Elche podían generalizarse a otras localidades y expresarse independientemente de la variación geográfica, se llevaron a cabo dos análisis discriminantes. El análisis discriminante 4.3 (5 variables y 6 grupos con 50 casos cada uno) se realizó sobre poblaciones de otoño y primavera procedentes de cuatro localidades. La primera variable canónica (61% del poder discriminante; figura 4.6) separa las formas de primavera, más elipsoides y con espinas dorsales cortas, de las de otoño, de lórigas más piriformes (anchas en el centro de un eje sagital y con el extremo anterior estrecho) con espinas dorsales largas. Dentro de cada grupo estacional, esta variable canónica también ordena las poblaciones según la localidad. La segunda variable discrimina entre formas alargadas (campo positivo del eje) y formas cortas y anchas (campo negativo), ordenando las poblaciones principalmente por localidades de origen; en el lado positivo quedan las procedentes de Elche y El Altet, y en el lado negativo tienden a situarse las originarias de Adra. En este eje las poblaciones de otoño quedan ligeramente desplazadas hacia valores más altos que las de primavera.



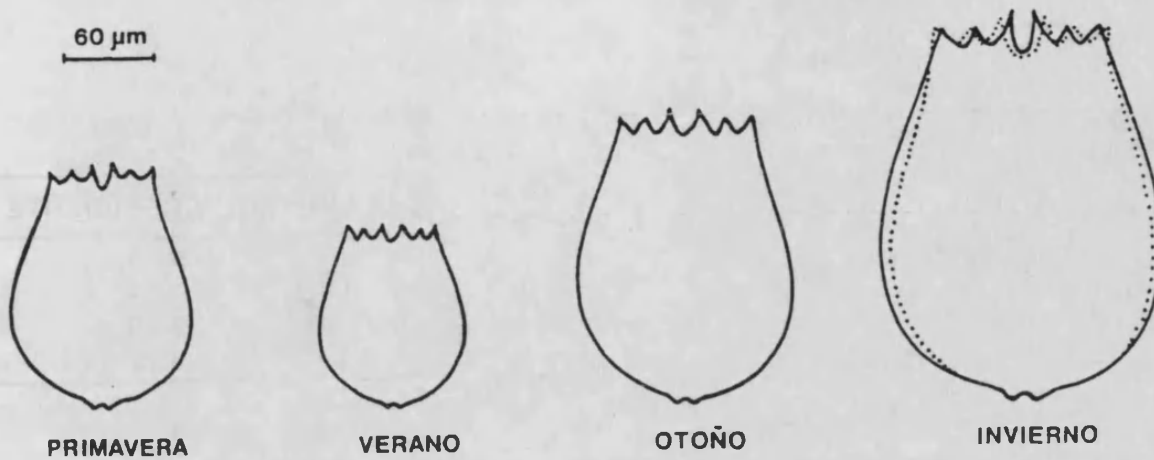


Figura 4.5. Siluetas mostrando las dimensiones medias de las lórigas de individuos correspondientes a diferentes estaciones del año en El Hondo de Elche; lagunas 10 y 12 (Biometría I). Sobre la lóriga del individuo de invierno se representa (trazo discontinuo) una lóriga hipotética de la misma longitud, cuyas otras características se han obtenido utilizando las funciones de alometría propias de individuos de verano.

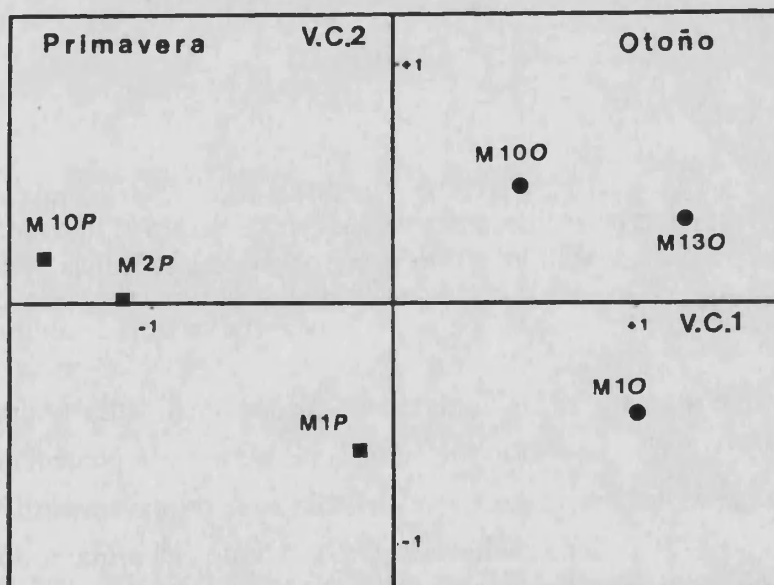


Figura 4.6. Análisis discriminante 4.3 (Biometría I). Posición relativa de poblaciones naturales, obtenidas en otoño y primavera, en el espacio generado por las dos primeras variables canónicas.

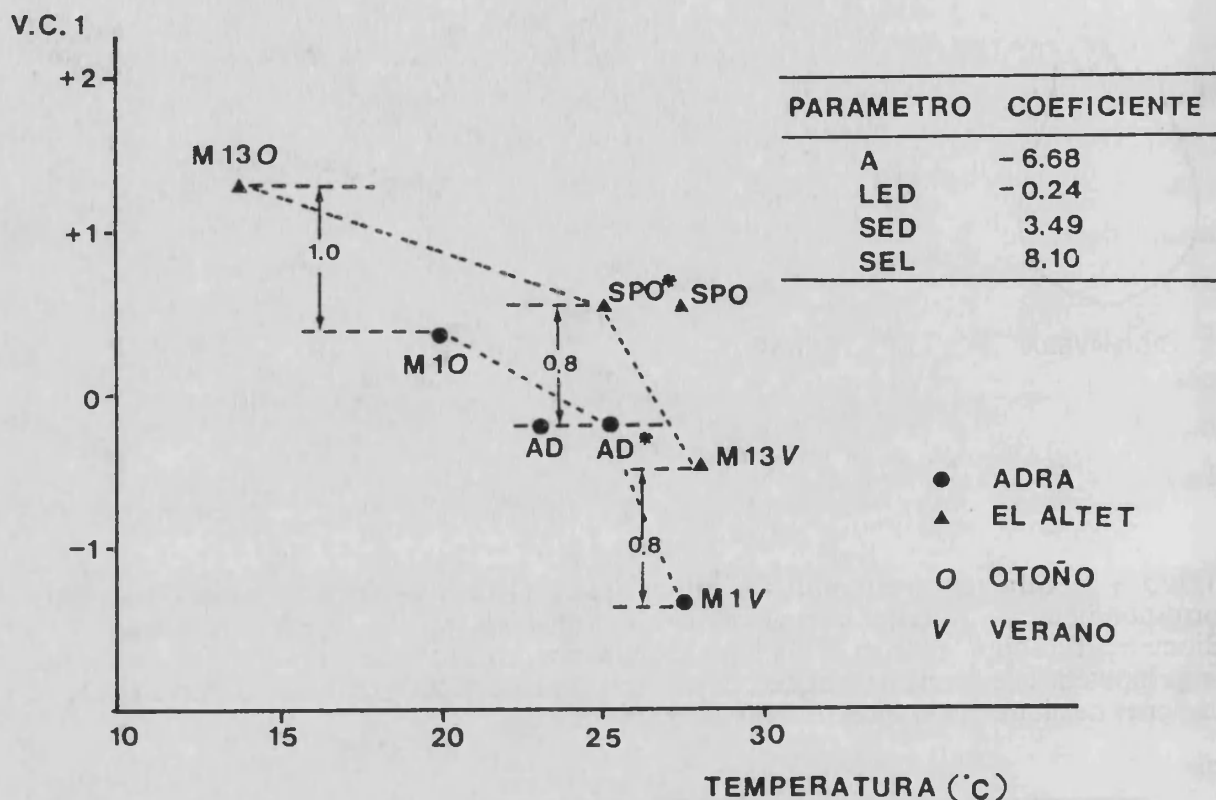


Figura 4.7. Análisis discriminante 4.4 (Biometría I). Relación entre la primera variable canónica y la temperatura a la que fueron recolectadas las poblaciones que se indican. (Para AD\* y SPO\*, la temperatura es la de su cultivo). Los números sobre las flechas verticales indican la distancia acotada por éstas. La tabla del extremo superior-izquierdo da los coeficientes que relacionan los parámetros morfológicos con la primera variable canónica.

El análisis discriminante 4.4 estudia las poblaciones de dos localidades (Adra y El Altet), muestreadas en verano y otoño, junto con poblaciones de laboratorio procedentes de dichas localidades. Las poblaciones de laboratorio fueron aisladas en la primavera tardía (AD, en Adra) y en verano (SPO, en El Altet). Este análisis (figura 4.7) rinde una primera variable canónica (48.4% de la capacidad discriminante) que separa claramente las muestras de campo por la época del año en la cual fueron recolectadas. Las cepas de laboratorio aparecen en una posición intermedia, entre las poblaciones naturales de su misma localidad de origen. Esta posición se puede relacionar en gran parte con la temperatura de cultivo de estas cepas, y no

tanto con la época de su origen remoto. En esta primera variable canónica también se recoge una componente geográfica, situándose las poblaciones de Adra regularmente por debajo de las de la época o condiciones correspondientes de El Altet.

### **Biometría I: Variación geográfica**

La variación morfológica asignable a diferencias entre los orígenes geográficos de las muestras, se ha puesto de manifiesto en los análisis multivariantes ya comentados. Se puede subrayar aquí la relación entre forma y localidad que aparece en el análisis discriminante 4.4. Se recordará que en los resultados de este análisis, representados en la figura 4.7, se han emparejado las muestras de localidades distintas (Adra y El Altet) según la época de recolección o el haber sido cultivadas; resultando ser muy constante la distancia, en el primer eje, entre las muestras de cada par.

Para estudiar la variación geográfica de la forma de *B. plicatilis* en un conjunto más amplio de áreas húmedas, se llevó a cabo un análisis discriminante (4.5; 5 variables y 6 grupos) sobre muestras de seis poblaciones, diferentes por su origen geográfico pero recolectadas todas ellas en verano; de forma que en el conjunto seleccionado se disminuye la variación debida al cambio estacional. En este análisis (figura 4.8), la primera variable canónica (72% del poder discriminante) separa la población de aguas endorreicas (La Celadilla) con respecto a las poblaciones de lagunas litorales, situadas en el campo negativo del eje. En esta variable canónica tienen altos pesos positivos la longitud y la anchura de la lóriga. La segunda variable canónica (19% de la discriminación; véase el Apéndice B) separa principalmente las muestras de El Hondo de Elche de las originarias de Adra y Almenara, atendiendo a que los individuos de estas últimas son menos alargados y poseen menos separación entre espinas dorsales en relación a su longitud. La tercera variable canónica (9% del poder discriminante) discrimina entre formas ovaladas con espinas largas y separadas entre sí y formas piriformes con espinas cortas y cercanas entre sí. Este eje ordena las muestras de norte a sur, con una ligera permutación que afecta a la muestra procedente de un ambiente endorreico. La muestra más claramente discriminada es la originaria de La Massona, situada muy al norte en relación a las demás lagunas.

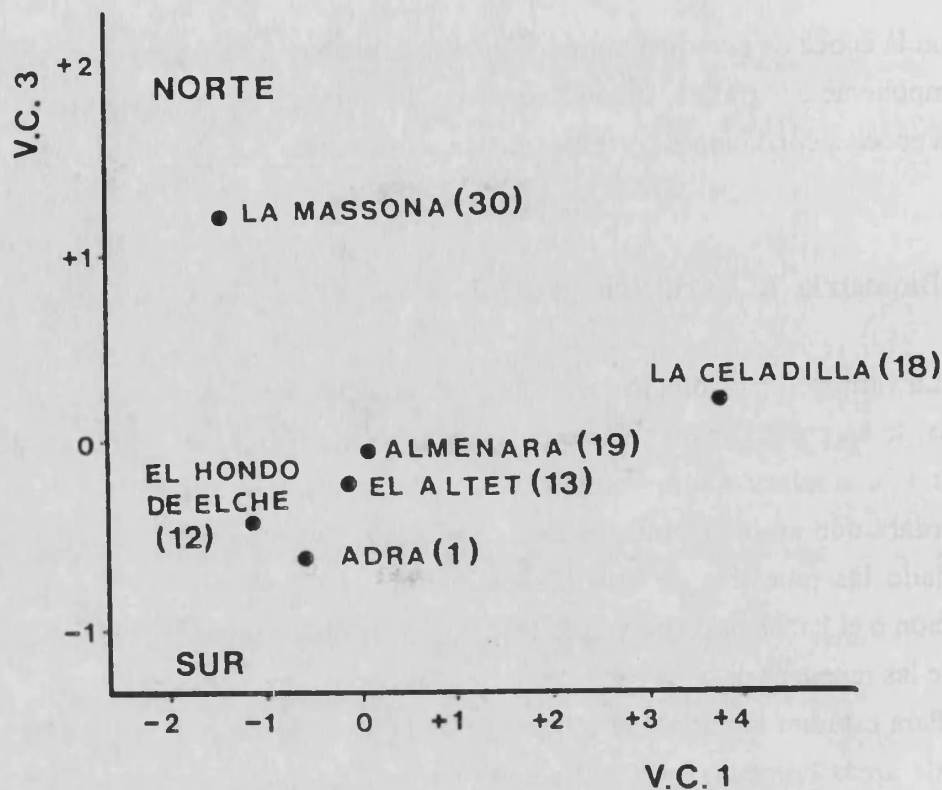


Figura 4.8. Análisis discriminante 4.5 (Biometría I). Posición de las muestras de campo recolectadas en verano, dentro del espacio dimensionado por la primera y tercera variables canónicas.

### Biometría I: Análisis conjunto de las muestras

Los análisis multivariantes aplicados sobre las medidas biométricas del conjunto de todas las muestras ordenan a éstas atendiendo principalmente al tamaño, más que a relaciones entre medidas. Esto ocurre en el análisis de las componentes principales (ACP 4.2) del total de observaciones (5 variables y 1000 casos), el cual rinde una primera componente con un 62% de la variación. Un resultado parecido se obtuvo cuando las medias muestrales para cada población fueron sometidas al análisis de componentes principales (ACP 4.3; Apéndice B).

El análisis discriminante realizado sobre el total de muestras (4.6; 5 variables y 20 grupos con 50 casos cada uno) da dos variables canónicas (con el 80.5% del poder discriminante) que también ordenan las muestras atendiendo, en mayor medida, al tamaño medio de los individuos. La anchura de la lóriga posee un alto peso positivo en la primera variable canónica. Sin embargo, la longitud de las espinas dorsales tiene el mayor peso negativo sobre la segunda variable canónica, por lo que es un carácter importante junto al tamaño global. Con respecto a las poblaciones, las dos primeras variables canónicas no generan una ordenación de las mismas que permita una interpretación clara, destacando tan sólo las poblaciones con valores biométricos extremos.

Las pautas de variación de la forma se exploraron mediante dos análisis de componentes principales sobre los coeficientes de alometría de todas las poblaciones de campo y de laboratorio. El primero de ellos usó como variables la totalidad de los coeficientes de alometría (ACP 4.4; 20 variables y 20 casos), mientras que en el segundo se usó una de cada dos alometrías que relacionan las mismas medidas morfológicas (ACP 4.5; 10 variables y 20 casos). Los resultados de ambos análisis fueron similares, poniéndose de manifiesto que la naturaleza del análisis de componentes principales protege frente a la posible redundancia de las variables. Por ello, únicamente se presentan los resultados del ACP 4.4.

La figura 4.9 ilustra la ordenación de las muestras generada por las tres primeras componentes del ACP 4.4. En ellas se puede observar que las poblaciones de laboratorio de pequeño tamaño (todas excepto CU y FCB) se sitúan bastante cerca unas de otras. También puede verse como las poblaciones de primavera no están muy alejadas entre sí e igual ocurre con las de otoño. Esto contrasta con la mayor dispersión existente entre las poblaciones de verano. Para mostrar más claramente estas relaciones se presenta la tabla 4.6, en la que se observa que la mayor o menor separación entre muestras se mantiene, aun si dicha separación se evalúa mediante una distancia promedio. Obsérvese también que la distancia promedio entre muestras de la misma localidad es menor que la distancia promedio entre todas las muestras, excepto para las poblaciones de El Altet. En este análisis (ACP 4.4) la mayoría de las relaciones alométricas poseen altas correlaciones con las tres primeras componentes principales, encontrando una elevada simetría entre coeficientes alométricos inversos (figura 4.10). La primera componente (36% de la variación) posee máximas correlaciones absolutas con las alometrías que relacionan la longitud con la anchura máxima y la longitud de las espinas dorsales con los principales parámetros de la lóriga (longitud y anchura). La segunda componente (29% de la varianza) se correlaciona en mayor grado con las alometrías existentes entre la separación de las espinas dorsales y las demás medidas. Por último, la tercera componente (19% de la variación; Apéndice B) esta correlacionada con las alometrías que relacionan la anchura y la longitud de la lóriga, pero también con las alometrías relativas a la longitud de las espinas dorsales.

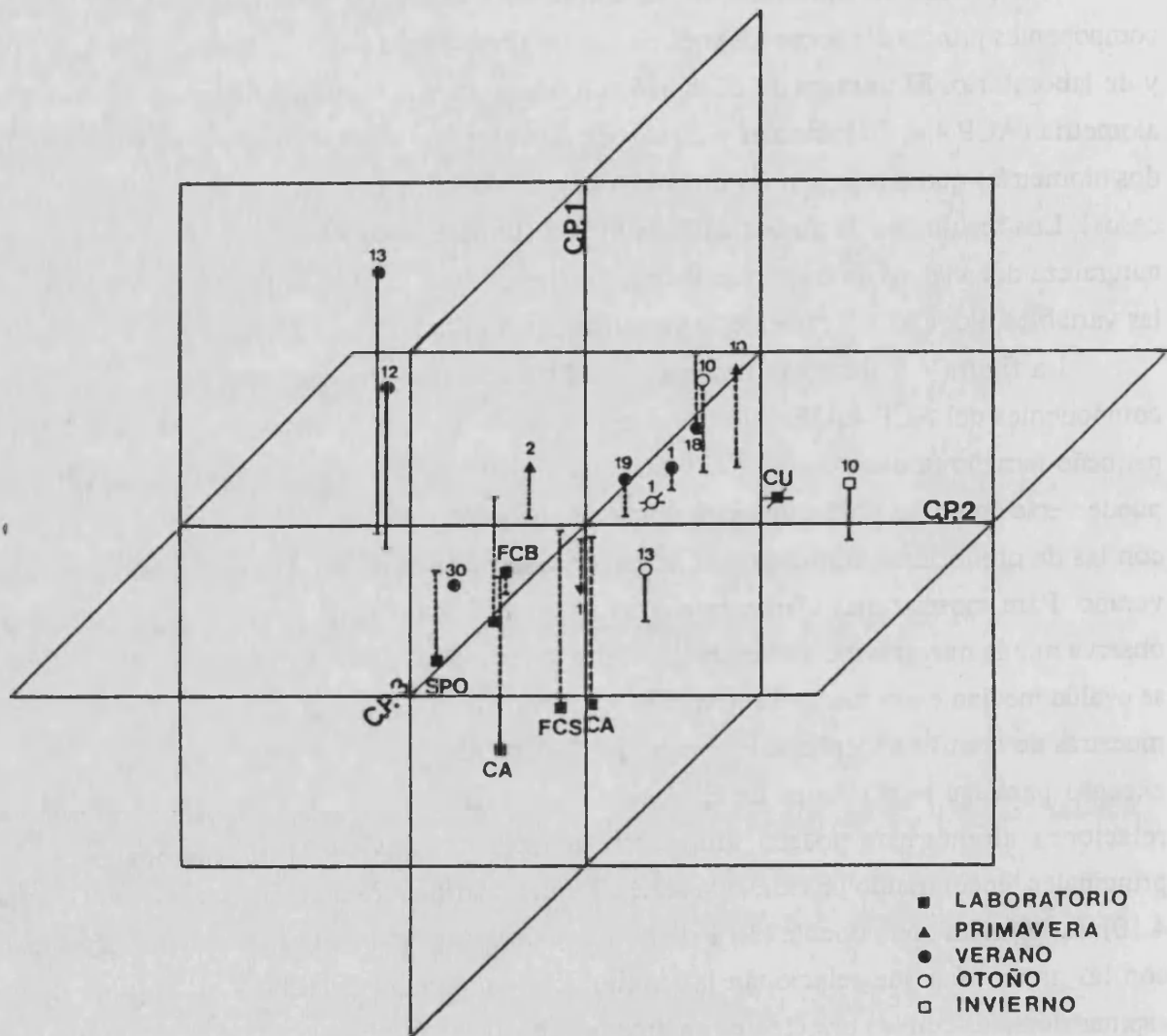


Figura 4.9. Análisis de componentes principales (4.4) de los coeficientes de alometría (Biometría I). Posición en el espacio definido por las tres primeras componentes de las muestras de laboratorio y de campo.

*Tabla 4.6.* Análisis de componentes principales 4.4 (Biometría I) sobre los coeficientes de alometría. Distancia euclidiana media entre pares de muestras para los conjuntos de muestras que se indican. (n: número de distancias promediadas).

Grupos	n	Componente principal		
		1	2	3
Total	190	1.14	1.14	1.08
Cepas de laboratorio	21	0.87	0.90	0.81
Cepas pequeñas de laboratorio	10	0.40	0.59	0.79
Poblaciones de Primavera	3	0.82	0.91	0.91
Poblaciones de Verano	14	1.35	1.14	1.62
Poblaciones de Otoño	3	0.50	0.63	1.73
Albufera Nueva de Adra (1)	3	0.37	0.19	0.63
El Hondo Sur, Elche (10)	3	0.20	1.23	0.95
El Altet, Alicante (13)	1	1.81	3.00	1.54

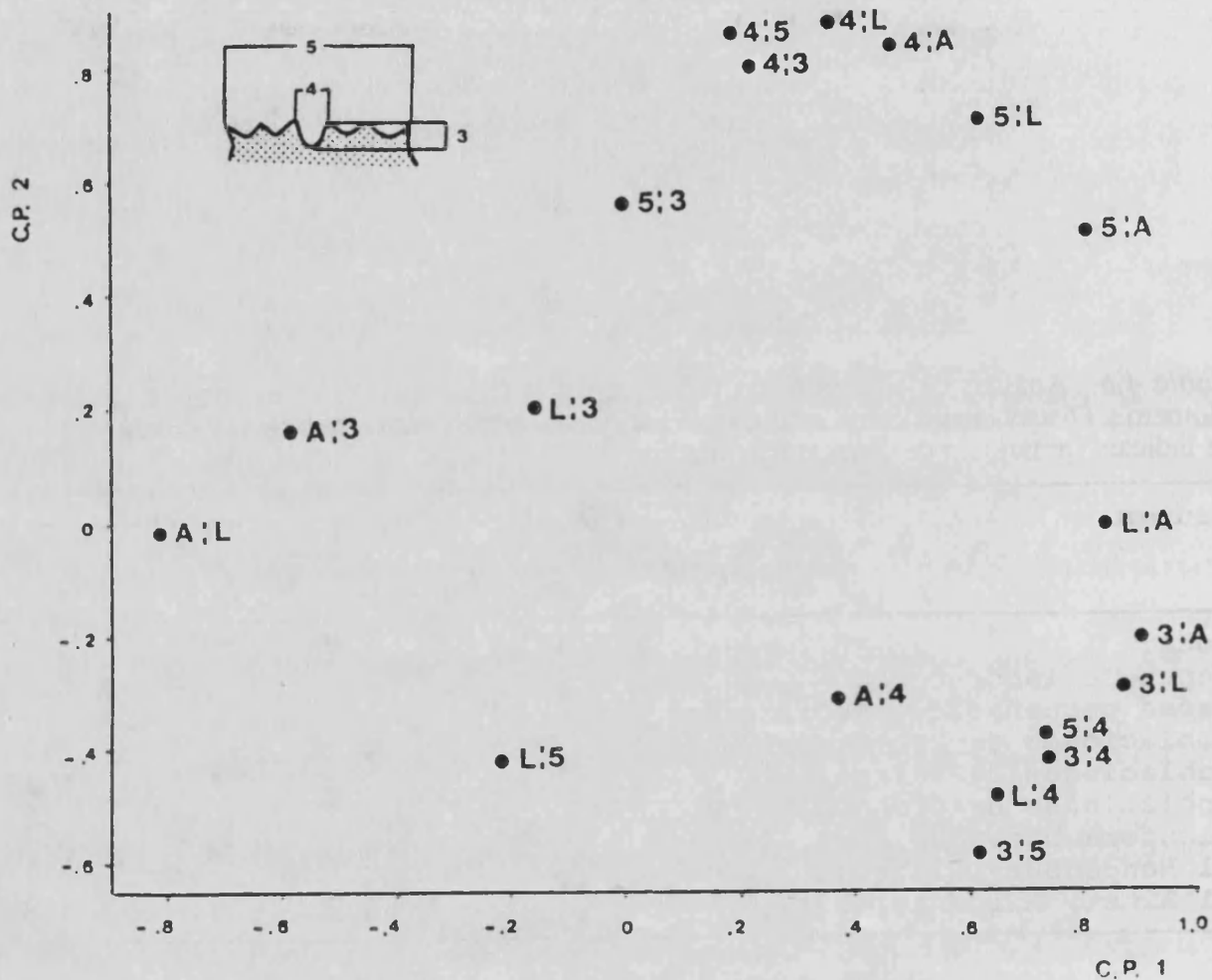


Figura 4.10. Análisis de componentes principales (4.4) sobre los coeficientes de alometría (Biometría I). Correlación entre las alometrías y las dos primeras componentes principales. La silueta del extremo superior izquierdo representa la parte anterior de la lóriga de *B. plicatilis* (A, anchura; L, longitud; el primer parámetro de cada par es la variable dependiente).

### Biometría II: Variación genética

A lo largo de las experiencias de cultivo, a partir de las cuales se recolectaron las muestras para la Biometría II, se observaron algunas diferencias no biométricas entre las cepas o clones. En primer lugar, las cepas mostraron distintas tolerancias a las condiciones de cultivo, las cuales se precisarán en Capítulo 6. También se pudo comprobar el distinto

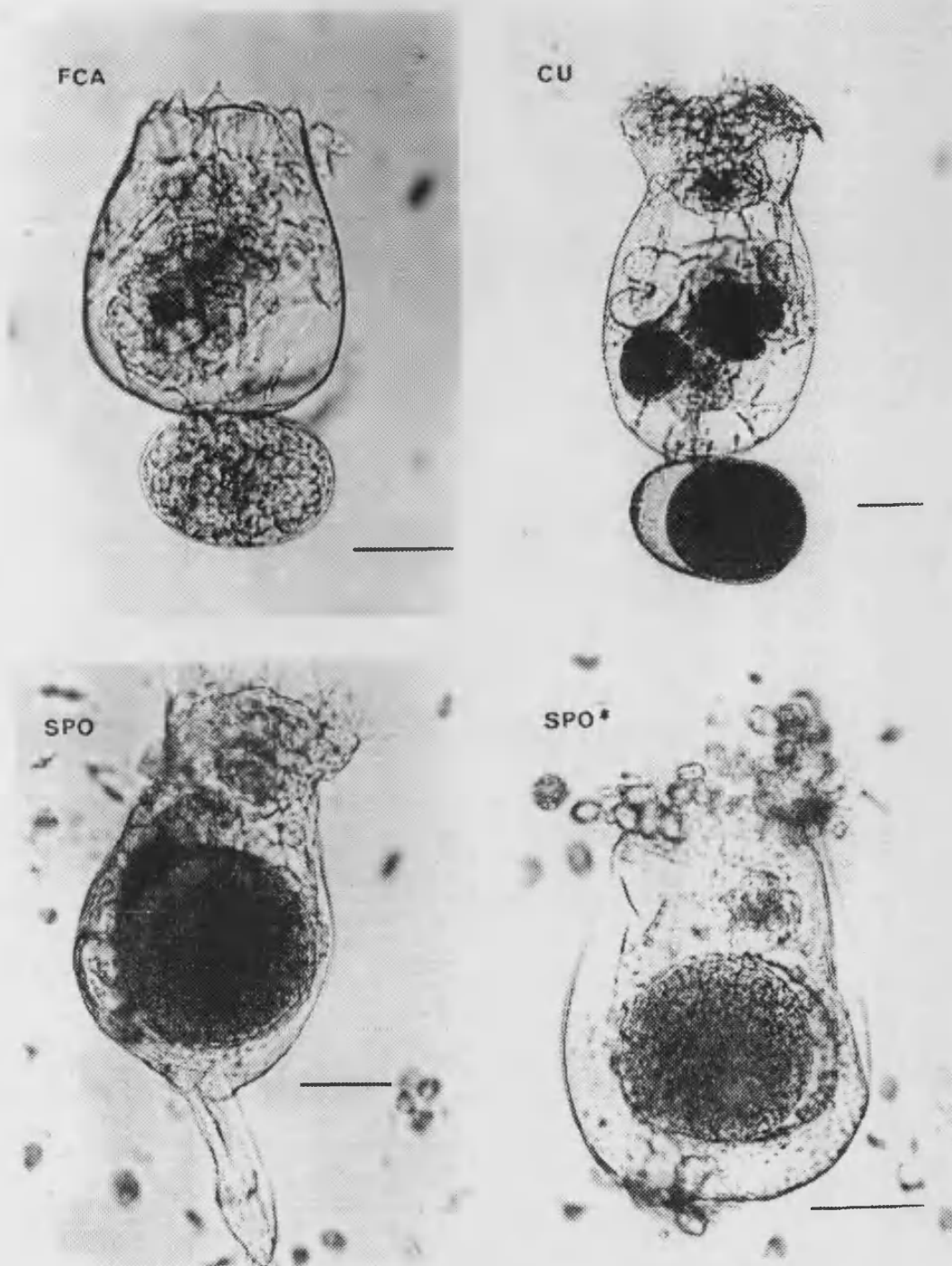


comportamiento de las cepas en relación a aspectos de su ciclo reproductivo sexual. En la cepa FCA no se observó la presencia de huevos de macho o de resistencia, mientras que en la cepa SPO dichos huevos sí que aparecieron, pero los de resistencia siempre eran transportados en el interior del cuerpo de la hembra, permaneciendo dentro de ésta, con el aspecto típico de estar bien formado, hasta la muerte de la madre. Los huevos de resistencia de la cepa CU son transportados externamente por la hembra hasta que se desprenden de ella (figura 4.11). Los huevos de resistencia de ambas cepas tenían un aspecto totalmente normal y eran capaces de eclosionar. Estas diferencias entre los tres clones se mantuvieron en las distintas condiciones de cultivo.

La tabla 4.7 muestra los valores medios de las medidas efectuadas en la Biometría II, las cuales se presentan en detalle en el Apéndice C. La tabla 4.8 reseña la significación estadística de dichos resultados, basada en los análisis de la varianza descritos en el apartado de Material y Métodos. En ambas tablas se comprueba que las diferencias más acusadas se encuentran entre las distintas cepas. Así, atendiendo a la longitud de la lóriga, se puede observar (tabla 4.7) que la mayor media en un cultivo de la cepa CU es 1.36 veces la media menor. Esta relación es de 1.25 para la cepa FCA y 1.19 para SPO. La tabla 4.9 contiene las medias para todos los grupos de aquellos efectos que resultaron significativos según el análisis de la varianza. Dicha tabla permite comparar las longitudes medias de todos los individuos de una cepa con las de otra, encontrándose las relaciones siguientes:  $CU/SPO=1.41$ ,  $CU/FCA=1.44$  y  $SPO/FCA=1.02$ .

Las diferencias en longitud entre las cepas FCA y SPO (SPO mayor que FCA), aun siendo pequeñas, tienden a conservarse en la mayoría de las condiciones de cultivo. Además, la cepa FCA es más ancha que SPO en cualquiera de las condiciones de cultivo ensayadas, por lo que FCA y SPO mantienen unas formas diferentes entre sí con relativa independencia de las condiciones ambientales.

La tabla 4.9 permite establecer que, en general y en relación a las diferencias entre cepas, existen dos patrones para los caracteres biométricos. Un primer patrón reúne a la longitud, la longitud de las espinas dorsales y la separación entre las espinas dorsales, para todas las cuales se cumple la ordenación  $CU>SPO>FCA$ . Un segundo patrón estaría constituido por la anchura y la separación de las espinas laterales, para las cuales la ordenación es  $CU>FCA>SPO$ .



*Figura 4.11.* Microfotografías de individuos de las tres cepas estudiadas (FCA, CU y SPO) y de los restos de un individuo de la cepa SPO (SPO\*). Obsérvese las diferente posición del huevo de resistencia en SPO y en CU. Las barras horizontales equivalen a 50  $\mu\text{m}$ .

Tabla 4.7. Medias para los parámetros de la lóriga de tres cepas de *B. plicatilis* en dos cultivos (replicas *a* y *b*) a las salinidades y temperaturas que se indican (Biometría II). También se presentan las medias conjuntas de cada par de réplicas (*m*). (Parámetros: L, A, LED, SED y SEL; *n* = 25).

Temperatura	Cepa															
	Salinidad	CU					FCA					SPO				
		L	A	LED	SED	SEL	L	A	LED	SED	SEL	L	A	LED	SED	SEL
20°C																
9 g/l	a	259	184	24.6	22.5	115.6	176	134	17.5	18.1	81.5	170	119	17.2	17.2	76.7
	b	257	185	25.4	22.3	117.8	177	131	17.4	16.0	82.3	176	123	17.7	16.7	77.5
	m	258	185	25.0	22.4	116.7	176	132	17.5	17.1	81.9	173	121	17.4	17.0	77.1
12 g/l	a	261	187	24.6	21.0	107.7	184	142	17.9	20.3	83.6	175	133	15.8	13.9	72.5
	b	280	204	26.5	22.0	116.4	175	134	17.0	20.4	83.5	187	134	19.7	17.6	82.3
	m	270	196	25.6	21.5	112.1	180	138	17.4	20.3	83.6	181	134	17.7	15.8	77.4
24 g/l	a	241	174	24.6	22.7	103.5	174	137	19.0	21.2	83.4	188	139	17.6	17.1	84.0
	b	277	207	26.2	25.5	112.9	180	145	18.1	18.2	80.2	185	136	17.9	17.5	75.6
	m	259	191	25.4	22.1	108.2	176	141	18.5	19.7	81.8	186	138	17.7	17.3	79.8
25°C																
9 g/l	a	234	158	24.8	23.4	105.4	160	120	16.8	15.6	78.4	165	126	18.8	16.2	75.5
	b	237	165	23.4	24.8	103.6	165	124	14.6	13.2	76.2	162	117	17.1	11.9	71.8
	m	236	161	24.1	24.2	104.5	162	122	15.7	14.4	77.3	163	119	18.2	14.6	73.6
12 g/l	a	229	157	22.5	21.7	97.3	156	123	16.0	15.0	74.4	152	112	16.8	15.9	71.2
	b	239	166	23.7	21.9	106.3	171	136	20.1	17.3	87.2	188	132	20.6	21.4	89.2
	m	234	161	23.1	21.8	101.8	164	130	18.1	16.2	80.8	170	122	18.7	18.6	80.2
24 g/l	a	206	141	20.0	22.9	92.6	159	125	17.4	15.4	74.8	152	109	16.8	16.0	73.9
	b	214	146	20.9	23.4	95.6	171	130	19.0	15.9	79.2	192	142	17.8	17.9	77.6
	m	210	144	20.4	23.2	94.1	165	127	18.2	15.6	77.0	172	126	17.3	17.0	75.7
30°C																
9 g/l	a	224	156	23.7	24.8	105.9	159	121	14.8	13.0	72.5	150	108	17.0	12.2	66.6
	b	212	151	20.3	22.1	89.1	147	112	14.6	14.0	73.2	171	122	18.8	14.9	78.7
	m	218	153	22.0	23.4	97.5	153	117	14.7	13.5	72.9	161	115	17.9	13.6	72.7
12 g/l	a	227	163	22.6	23.4	100.5	152	114	15.2	13.9	74.1	148	103	16.0	13.6	64.6
	b	240	173	22.8	26.8	105.2	172	130	17.5	15.1	83.9	166	121	16.9	17.8	82.2
	m	234	168	22.7	25.1	102.9	162	122	16.3	14.5	79.6	157	112	16.5	15.7	73.4
24 g/l	a	226	160	20.6	32.1	108.0	171	135	15.3	14.1	74.2	171	125	16.7	19.7	79.7
	b	261	185	26.2	27.2	108.7	155	119	16.6	14.9	75.3	166	119	16.9	17.6	76.8
	m	243	173	23.4	29.7	108.4	163	127	16.0	14.5	74.7	168	122	16.8	18.7	78.3

**Tabla 4.8 . Resultados del MANOVA y de los ANOVAS para la Biometría II. Evaluación del efectos de tres factores fijos (cepas, temperatura y salinidad) cruzados entre sí y de un efecto aleatorio (bloques) jerarquizado al resto, sobre cinco medidas del cuerpo. ( $n = 25$ ;  $n_1$  y  $n_2$  son respectivamente los grados de libertad del numerador y del denominador; \*, efecto significativo al nivel de 0.01; ningún efecto resultó significativo a un nivel  $\alpha$ , tal que  $0.01 > \alpha > 0.05$ ).**

Fuente de variación	Lambda de Wilks	g.l.		Razón F				
		n1	n2	Longitud	Anchura	LED	SED	SEL
Cepa (C)	0.0101*	2	27	165.7*	104.4*	93.5*	79.5*	108.1*
Temperatura (T)	0.3451*	2	27	15.1*	17.3*	6.1*	2.5	5.6*
Salinidad (S)	0.3525*	2	27	1.0	2.5	0.4	5.6*	0.5
CxT	0.0992*	4	27	0.6	1.7	1.8	6.4*	0.8
CxS	0.3268	4	27	0.5	0.6	1.6	1.5	0.6
TxS	0.4055	4	27	0.8	0.9	0.5	1.4	1.1
CxSxT	0.2272	8	27	0.5	0.5	0.9	1.1	0.5
Bloques	0.5364*	27	1296	7.8*	8.7*	7.7*	7.0*	10.4*

**Tabla 4.9.** Medias para los distintos niveles de aquellos factores fijos que resultarán significativos (según los ANOVA para la Biometría II) en al menos un parámetro del cuerpo. Los valores entre paréntesis indican que el factor no resultó significativo en relación al parámetro correspondiente.

Factor	Parámetro				
	Longitud	Anchura	LED	SED	DEL
<b>Cepa</b>					
CU	240	170	23.5	23.9	105.1
FCA	167	129	16.9	16.2	78.8
SPO	170	123	17.6	16.4	76.5
<b>Temperatura</b>					
20°C	207	153	20.3	(19.5)	91.0
25°C	186	135	19.3	(18.3)	85.0
30°C	184	134	18.5	(18.7)	84.4
<b>Salinidad</b>					
9 g/l	(189)	(136)	(19.2)	17.7	(86.0)
12 g/l	(195)	(142)	(19.6)	18.8	(87.9)
24 g/l	(194)	(143)	(19.3)	20.0	(86.4)
<b>Cepa-Temperatura</b>					
CU-20°C	(262)	(190)	(25.3)	22.7	(112.3)
CU-25°C	(226)	(155)	(22.6)	23.0	(100.2)
CU-30°C	(231)	(165)	(22.7)	26.1	(102.9)
FCA-20°C	(177)	(137)	(17.8)	19.0	(82.4)
FCA-25°C	(164)	(126)	(17.3)	15.4	(78.3)
FCA-30°C	(159)	(122)	(15.7)	14.2	(75.5)
SPO-20°C	(180)	(131)	(17.6)	16.7	(78.1)
SPO-25°C	(168)	(122)	(18.1)	16.6	(76.5)
SPO-30°C	(161)	(116)	(17.0)	16.0	(74.8)

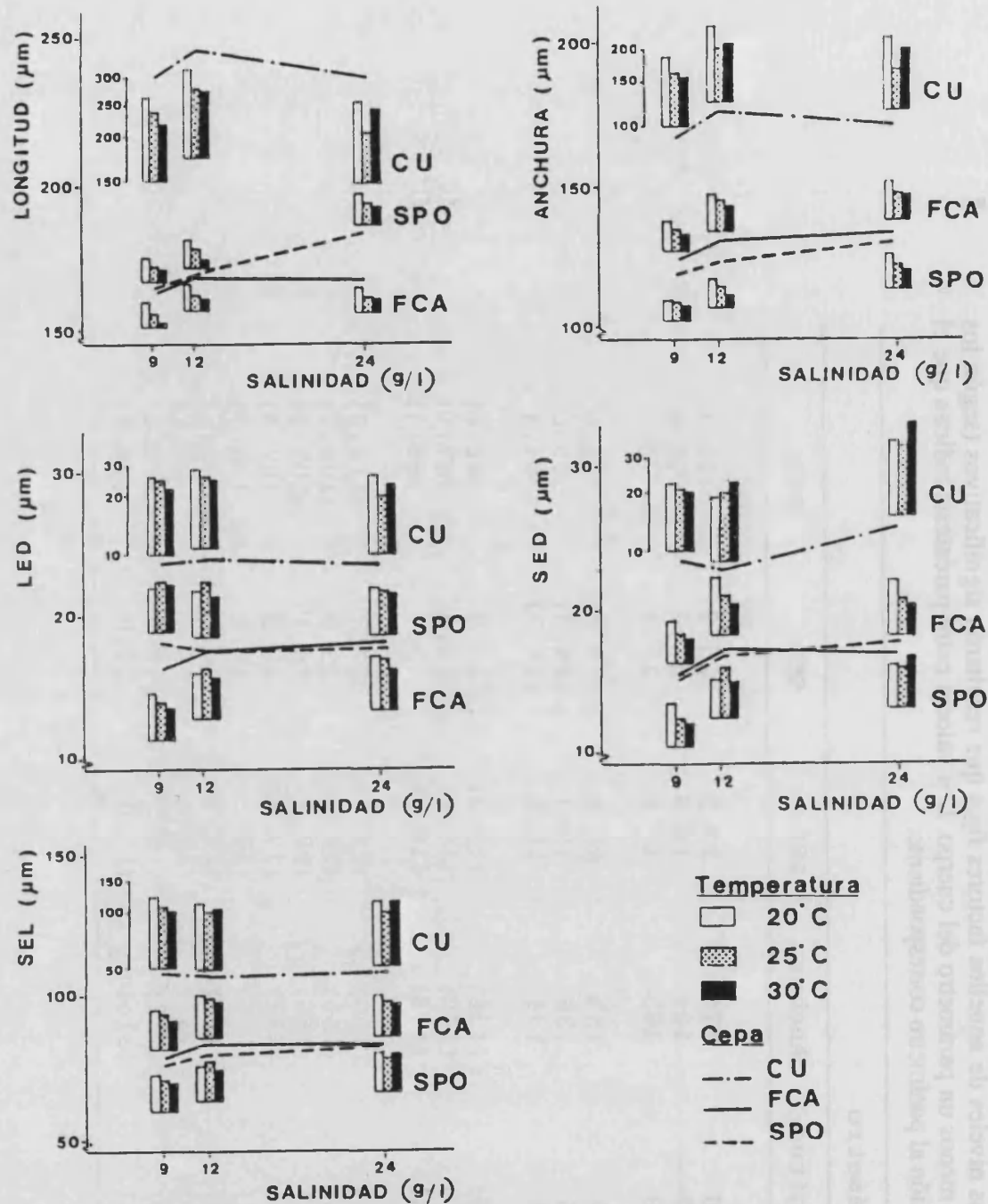


Figura 4.12. Variación de las cinco medidas de la lóriga, representadas en gráficos separados (Biometría II). La relación de cada carácter biométrico con la salinidad se indica, separadamente para cada cepa, mediante una línea que conecta los valores medios de individuos cultivados a diferentes temperaturas. La variación con respecto a la temperatura se muestra, para cada salinidad y cepa, mediante un conjunto de tres barras verticales, cuya escala logarítmica se representa junto al primer conjunto de barras.

## **Biometría II: Efectos de la temperatura y de la salinidad**

La relación del tamaño con la temperatura queda claramente establecida en la tabla 4.8. La respuesta de los organismos a incrementos de la temperatura es una disminución de la lóriga. Tan sólo SED, un carácter biométrico poco relacionado con el tamaño, no respondió significativamente a la variación de la temperatura. La tendencia a la disminución del tamaño del cuerpo con la temperatura se mantuvo, pero con diferente intensidad, en la mayoría de las condiciones de cultivo.

Con respecto a las principales medidas de la lóriga (longitud y anchura), la pauta se cumple en todas las cepas y a todas las salinidades, excepto en la cepa CU (figura 4.12) cuando se cultivó en las temperaturas y salinidades más altas. En estas condiciones la cepa CU mostró una respuesta más compleja. Cuando los individuos crecían a una salinidad de 24 g/l, se observó una reducción de su longitud media en el paso de 20 a 25°C, pero un incremento cuando el cambio fue de 25 a 30°C. La anchura siguió una evolución similar. La inversión de la tendencia general se observa a una salinidad de 24 g/l pero también aparece, aunque muy tenuemente, a la salinidad intermedia ensayada (12 g/l) (figura 4.12).

En todas las salinidades, la tendencia más frecuente de los caracteres LED y SEL en las cepas FCA y SPO, sigue siendo su disminución con el incremento de la temperatura, aunque en estos casos existe un mayor número de excepciones.

Cuando se da una disminución de las magnitudes morfológicas con la temperatura, ésta no sigue una ley lineal, sino que la acción de la temperatura es decreciente cuando la temperatura es mayor: en el rango ensayado, la respuesta tiende a atenuarse con el incremento de la temperatura (figura 4.12).

El comportamiento del carácter SED con la temperatura es significativamente diferente para cepas distintas (tabla 4.8). Así, la cepa CU aumenta la distancia entre sus espinas dorsales con la temperatura, la cepa FCA disminuye esta distancia, mientras que SPO se mantiene en unos valores muy parecidos independientemente de la temperatura a la que se cultivó.

La relación de la morfología con la salinidad no es tan patente como su relación con la temperatura y con el genotipo (*i.e.*, cepa o clon). Los análisis de la varianza (tabla 4.8) ponen de manifiesto un efecto de la salinidad sobre la separación de las espinas dorsales, carácter que muestra unas respuestas particulares a los factores ensayados. El aumento de la salinidad provoca, la mayoría de las veces, un incremento en SED (tabla 4.9), de manera regular en el clon FCA, pero poco claro en los otros clones .

Sin embargo, se pueden reconocer algunas tendencias del efecto de la salinidad sobre el resto de los caracteres. En la mayor de las temperaturas ensayadas (30°C), la longitud y la anchura suelen aumentar ligeramente con el incremento de la salinidad. En las dos temperaturas restantes, las medidas del cuerpo también aumentan con la salinidad, excepción hecha de la longitud y la anchura de la cepa CU, y de la longitud en la cepa FCA. En estos últimos casos, se observa un incremento de las medidas seguido por una reducción, cuando la salinidad crece.

## **Biometría II: Análisis estadístico conjunto**

Los resultados del análisis discriminante (ADI 4.7), llevado a cabo sobre los 27 grupos resultantes de combinar tres cepas con tres temperaturas y con tres salinidades, se muestran en la figura 4.13 y en la tabla 4.10. La primera variable canónica acumula una gran proporción (66%) de la capacidad discriminante total y separa principalmente cepas; *i.e.*, las componentes genéticas de la variación. La cepa de mayor tamaño, CU, aparece claramente separada del resto en este primer eje. Por el contrario, las cepas menores, FCA y SPO aparecen más juntas y están separadas por la primera y, en menor grado, por la segunda variable canónica.

Las tres temperaturas se discriminan entre sí, pero dentro de la agrupación que generan las cepas, y diferentemente según estas últimas. En la cepa CU, la segunda variable canónica recoge el efecto de la temperatura, mientras que en las restantes cepas el efecto de la temperatura aparece en las dos primeras variables canónicas aunque más claramente en la segunda de ellas.

El efecto de la salinidad está asociado a la tercera variable canónica, quedando patente una tendencia a que las bajas salinidades se sitúen en el campo positivo del eje, mientras que las altas salinidades quedan, con mayor frecuencia, en el semieje negativo.

Los coeficientes de las variables canónicas presentados en la tabla 4.10 indican que los grupos han sido separados principalmente mediante la contraposición de la longitud y la anchura. La longitud tiene un peso mayor en la primera variable canónica que separa principalmente cepas, especialmente CU. La anchura tiene más peso en la segunda variable canónica, relacionándose así con las condiciones de temperatura. Ambas variables canónicas, al contraponer longitud y anchura, colaboran a la discriminación de FCA y SPO. Las otras medidas de la lóriga sólo son importantes en la tercera variable canónica, la cual explica un pequeño porcentaje del poder discriminante y está asociada a la salinidad. Esta función opone la variación en la longitud y en SEL a la variación en la anchura y en SED. Tanto SED como



SEL sólo tienen un peso importante en relación con esta última variable canónica. La contraposición entre estas dos medidas podría ser indicativa de un efecto de abombamiento de la parte anterior de la lóriga; tengase en cuenta que las medidas se realizaron en una proyección plana perpendicular al eje dorso-ventral. Los resultados obtenidos en el ADI 4.7 son consistentes con el análisis de la varianza para los mismos datos (tabla 4.8), en el cual la longitud tiene una razón  $F$  alta para las diferencias entre cepas, la anchura en las diferencias debidas a la temperatura y SED en el efecto de la salinidad.

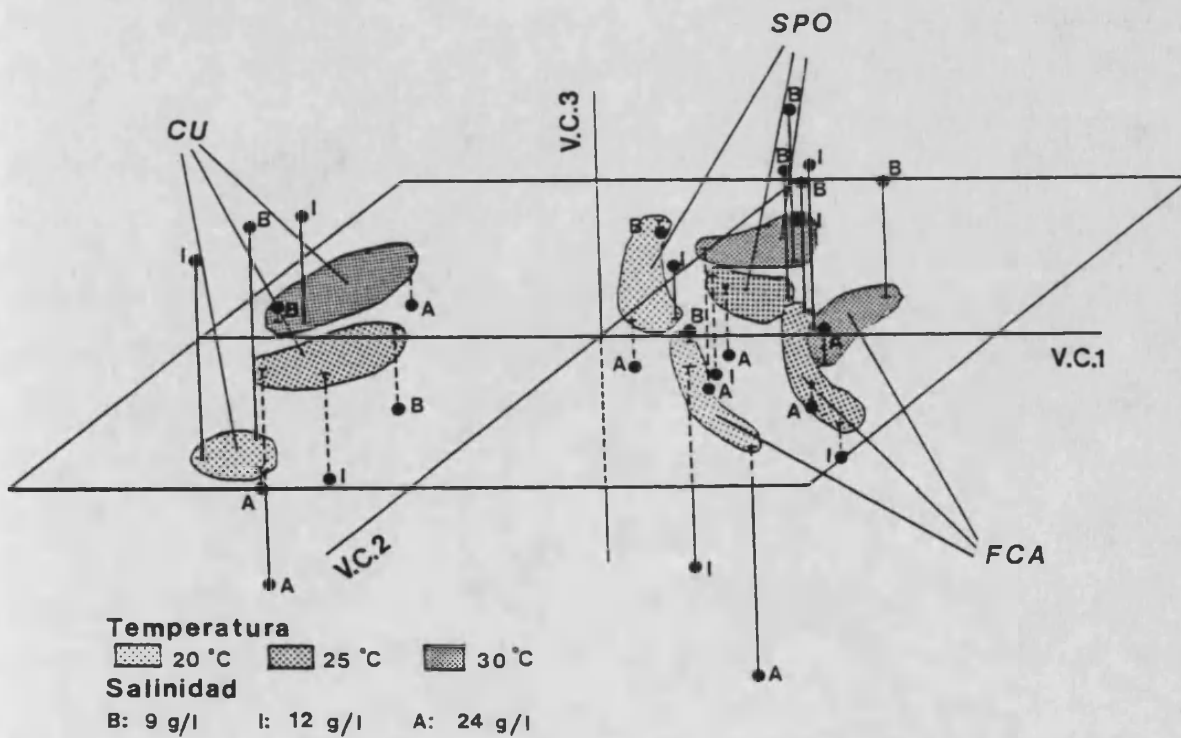


Figura 4.13. Análisis discriminante 4.7 (Biometría II). Posición de los centroides de cada grupo en el espacio definido por las tres primeras variables canónicas. Los grupos se formaron con los parámetros medios para las dos réplicas de la misma cepa, temperatura y salinidad.

Tabla 4.10. Análisis discriminante 4.7. Coeficientes de las tres primeras variables canónicas, coeficientes de correlación de las mismas con los parámetros biométricos (entre paréntesis), y proporción de poder discriminante explicado por cada una de ellas. (Biometría II).

	Variable canónica		
	1	2	3
Medida de la lóriga			
Longitud	-0.796 (-0.827)	-0.683 (-0.533)	0.463 (0.041)
Anchura	0.596 (-0.693)	0.713 (-0.691)	-0.453 (0.008)
LED	0.090 (-0.780)	0.138 (-0.529)	-0.066 (0.042)
SED	-0.037 (-0.780)	-0.034 (-0.345)	-0.475 (-0.433)
SEL	0.034 (-0.785)	0.072 (-0.553)	0.594 (-0.028)
Proporción de poder discriminante	0.66	0.16	0.11

## 4.4. DISCUSIÓN

### Aspectos metodológicos

La naturaleza del crecimiento de los organismos hace que las relaciones propias de los caracteres morfológicos se describan más fácilmente en escalas logarítmicas que en escalas lineales. En una primera aproximación, se suele aceptar que la tasa de crecimiento de una magnitud es proporcional a dicha magnitud (véase el apartado de Introducción de este capítulo). De ser ésta una aproximación realista, hay que esperar que la variación intrínseca de la magnitud (y por tanto la dispersión de sus valores) dependa directamente del valor de la media. Además, las relaciones entre variables vendrán descritas por funciones de tipo potencial. Al realizarse la transformación logarítmica de los datos, la variabilidad tiende a independizarse de la media y las relaciones potenciales se linealizan, de forma que modelos estadísticos aditivos (p.e., análisis de la varianza, análisis discriminante, etc.) pueden ser realizados, con una mayor confianza en la robustez de los mismos.

Los análisis multivariantes aplicados a estudios morfométricos suelen rendir unas primeras componentes de altas correlaciones con todos los caracteres biométricos, ordenando las muestras por el tamaño de sus individuos y no por cambios de forma (Jolicoeur y Mossiman, 1960; Moulton, 1973). Sin embargo, esta ordenación puede resultar de poco interés por ser obvia o por haber sido convenientemente descrita mediante análisis univariantes. Además, suele concebirse que los cambios que afectan únicamente al tamaño de los organismos son menos relevantes que aquellos que afectan a la forma, los cuales dependerían de aspectos genéticos más conservativos (Gould, 1966).

Según los resultados del presente trabajo, el efecto del tamaño sobre los primeros ejes de un análisis multivariante puede atenuarse mediante una selección de las muestras que se someten al análisis. Se pueden conseguir resultados de interpretación más sencilla eligiendo muestras entre las cuales se mantienen determinadas fuentes de variación (p.e. variación geográfica en el análisis discriminante 4.8), mientras que las restantes desaparecen; o también equilibrando las fuentes de variación (variación geográfica y estacional en el análisis discriminante 4.3). De esta manera, se opera de forma próxima a los análisis de datos de laboratorio. En el laboratorio, habitualmente los factores cuyos efectos se estudian aparecen equilibrados, ya que son fijados por el investigador. En cambio, en estudio de campo estos factores vienen dados y originan situaciones parcialmente desequilibradas (por ejemplo, más muestras de verano que de invierno, debido a la distribución estacional de los organismos). Una selección de muestras aproxima la facilidad de interpretación, propia de los trabajos de

laboratorio, al mayor ajuste a lo que realmente ocurre en la naturaleza, propio de los estudios de campo.

A partir de los resultados obtenidos se puede comentar un último aspecto metodológico. Las cepas FCA y CA aparecen próximas en la mayor parte de los análisis en los cuales se han considerado. Ambas cepas tienen probablemente un origen remoto común, puesto que CA fue aislada en el Marjal de Torreblanca por este autor, mientras que FCA fue cedida por el Centro de Castellón del Instituto de Investigaciones Pesqueras, situado en las proximidades del Marjal de Torreblanca, y fue allí de donde se aisló esta cepa (véase la tabla 2.4). Estas dos cepas, después de periodos desiguales de cultivo en condiciones artificiales, conservan su parecido morfológico. Estos resultados ponen de manifiesto una estabilidad genética muy conveniente para estudios de laboratorio que quieran referir sus resultados al origen natural de los organismos.

### **Importancia de la variación genética en la morfología de *B. plicatilis***

La variabilidad morfológica encontrada en los dos estudios biométricos realizados, y especialmente en la Biometría I, es considerable, atendiendo al ámbito geográfico del estudio. La bibliografía reseña individuos de *B. plicatilis* con grandes diferencias morfológicas (véase, p.e., Kutikova, 1970) y de tamaños mucho mayores que los encontrados aquí (440  $\mu\text{m}$  de longitud; Koste y Shiel, 1980). Sin embargo, los trabajos en donde aparecen valores extremos son estudios de exploración en lugares remotos y en ellos pueden tener gran peso fenómenos esporádicos, muy localizados, o debidos a individuos aberrantes. Snell y Carrillo (1984) midieron trece cepas originarias de diversos países y cultivadas en unas condiciones fijas, encontrando un rango para la longitud de individuos medios de 123 a 292  $\mu\text{m}$ . En el presente trabajo, circunscribiéndose a la variación necesariamente dependiente del genotipo (*i.e.*, cepas de laboratorio en la Biometría I), el rango de variación de la longitud es menor (147-235  $\mu\text{m}$ ; tabla 4.1), pero comparable al encontrado por Snell y Carrillo (1984). Esto indica que el tamaño de *B. plicatilis* varía considerablemente dentro de una pequeña región, al menos cuando esta región está fragmentada en ambientes de distintas características, pero susceptibles de ser habitados por esta especie. Los datos que ofrecen otros autores para las tallas de *B. plicatilis* observadas en campo y en laboratorio sugieren esta misma conclusión. (p.e., Ahlstrom, 1940; Fukusho y Okauchi, 1982).

Los resultados expuestos ponen de manifiesto la importancia de la diversificación genética en la especie *Brachionus plicatilis*. En todos los análisis y biometrías llevados a cabo

resulta que una gran parte de la variación se puede asignar a diferencias entre cepas; ésto es, a diferencias genéticas entre individuos. Esto ya lo sugerían los datos relativos a las cepas de laboratorio de la Biometría I, quedando plenamente confirmado por los resultados de la Biometría II. La importancia genética en la diferenciación morfológica fue encontrada por Pourriot (1973) en *Brachionus calyciflorus* y sugerida por Yúfera (1982) en *B. plicatilis*, aun cuando éste último autor no sometió a sus cepas a una variación ambiental. Snell y Carrillo (1984), simultáneamente al presente trabajo, realizaron un estudio biométrico con un diseño similar al de la Biometría II. Los citados autores concluyen, al igual que se hacen aquí, que el tamaño del animal está fuertemente determinado por su genotipo.

Los datos del presente estudio permiten además generalizar a la forma esta determinación genética. Existen formas características de las cepas, como muestran los datos biométricos, sobre todo los referente a la longitud y anchura de las cepas FCA y SPO. En este sentido y en relación a la forma, los resultados de la Biometría II (tabla 4.9) sugieren la existencia de patrones de variación que afectan a distintos caracteres biométricos: la parte anterodorsal de la lóriga varía con la longitud, mientras que, por otro lado, la anchura máxima y la separación entre espinas laterales varían conjuntamente. Estas observaciones no están completamente de acuerdo con los datos de la Biometría I (tabla 4.1). Sin embargo, las medias para cada cepa y parámetro de la tabla 4.9 están calculadas sobre 450 datos y poseen por tanto mayor confianza que las medias de la tabla 4.1, calculadas sobre 50 datos.

Las diferencias encontradas en el comportamiento reproductivo sexual (ausencia de machos en FCA, y forma de cargar con los huevos de resistencia en SPO) se mantienen, independientemente del medio, en los rangos ensayados, por lo que estas diferencias subrayan la distancia genética existente entre cepas. Las diferencias en el modo de cargar los huevos de resistencia han sido confirmadas por otros autores (Okauchi y Fukusho, 1985a y b), aunque éstos encontraron que las cepas podían cambiar su comportamiento en algunas condiciones de cultivo particulares.

### **Importancia de la variación ambiental en la morfología de *B. plicatilis***

La morfología del *B. plicatilis*, aun estando fuertemente determinada por el genotipo, muestra cierta plasticidad inducida directamente por factores ambientales. Así, el tamaño del organismo tiende a decrecer con el aumento de la temperatura tal y como ocurre en una gran variedad de organismos (Margalef 1974). Una respuesta parecida ha sido encontrada en otras especies del género *Brachionus* (Halbach, 1970; Pourriot, 1973). Pero, al contrario que en el

presente trabajo, no pudo ser confirmada por Snell y Carrillo (1984) en *B. plicatilis*, aun cuando el rango de temperaturas ensayado por estos últimos va desde 15°C a 30°C. Se puede esgrimir al menos dos razones para explicar la discordancia entre los resultados de Snell y Carrillo y los que se han obtenido aquí. En primer lugar, ambos estudios coinciden en valorar significativamente la interacción temperatura-cepa. En el caso de que la respuesta a la temperatura dependa de las cepas, es posible que no se ponga de manifiesto una tendencia general para un conjunto particular de cepas. En segundo lugar, se puede cuestionar la técnica de análisis estadístico utilizada por los citados autores. En su análisis el efecto cepa se define como aleatorio, cuando sus niveles no fueron elegidos al azar, sino seleccionados. Además, la selección se realizó sobre un conjunto de cepas con una variación probablemente mayor que la que se daría en un muestreo aleatorio. Esto modifica las razones *F* y altera las probabilidades de la significación. En cualquier caso, Snell y Carrillo (1984) reconocen en sus datos una tendencia no lineal en el cambio del tamaño con la temperatura, lo cual coincide con los resultados presentados aquí y se aparta de la tendencia lineal encontrada por Halbach (1970) y Pourriot (1973) en *Brachionus calyciflorus*.

La dependencia entre talla y temperatura viene apoyada tanto por hipótesis de carácter adaptativo (Margalef, 1974), como por hipótesis fisiológicas. Estas últimas pueden ser enunciadas con una buena fundamentación para el caso del género *Brachionus*. Por un lado, diversos autores (vease Herzig, 1983; también Pascual y Yúfera, 1983) han encontrado una estrecha dependencia no lineal entre la temperatura y el tiempo de desarrollo embrionario, y también entre la temperatura y la tasa intrínseca de reproducción. Por otro lado, se ha demostrado una relación inversa entre el tiempo de desarrollo del huevo y el tamaño del adulto. Relaciones de este tipo, también pueden derivarse de los datos de otros autores (King y Miracle, 1980). De esta forma se puede proponer que incrementos de la temperatura provocan una aceleración en los procesos de maduración embrionarios, mientras que el crecimiento del embrión no se acelera a igual ritmo. El resultado sería embriones maduros de menor talla que dan lugar a neonatos y adultos también menores. Además, dado que la acción de la temperatura sobre las tasas metabólicas no sigue una ley lineal, es de esperar que los tamaños de los individuos adultos tampoco la sigan.

En la literatura los ejemplos que relacionan salinidad y tamaño llevan a conclusiones contradictorias (véanse Remane y Schlieper, 1971; Margalef, 1974; Brand, 1981) y en ellos no se delimita qué parte del efecto de la salinidad puede ser explicado por selección o por modificación ambiental. La disparidad de respuestas que la variación de la salinidad provoca en los diferentes organismos sugiere que éstas dependen del genotipo, y no existe una pauta general como en el caso de la temperatura.

Según los resultados expuestos más arriba la salinidad influye sobre caracteres biométricos de *B. plicatilis* poco relacionados con la talla, asociándose más a ligeros cambios de forma (p.e., incremento de la separación de espinas dorsales). Estos resultados están de acuerdo con los de Snell y Carrillo (1984). Dichos autores no detectaron una tendencia significativa en la variación de la longitud y anchura de sus cepas con respecto a la variación de la salinidad, como ocurre con estas mismas medidas en los resultados que se han obtenido en el presente trabajo. Sin embargo, es posible reconocer una cierta tendencia al aumento de las dimensiones de la lóriga cuando el medio de cultivo es más salino, aunque esta tendencia frecuentemente deje de cumplirse. Algunos datos de campo, como por ejemplo los de Green (1981) apuntan en el sentido opuesto, pero esta discordancia se puede explicar, bien por la concomitancia entre parámetros, propia de los estudios de campo, bien porque la salinidad actúe sobre el tamaño mediante la sustitución de genotipos.

Los datos no permiten concluir acerca de los mecanismos por los cuales la morfología es influida por la salinidad. Pero la complejidad de los cambios sugiere una complejidad también en los mecanismos. *B. plicatilis* es un organismo osmoconformador y ligeramente hiperosmótico que consigue vivir en un amplio rango de salinidades porque mantiene la eficiencia del metabolismo con muy diferentes concentraciones de sales en su medio interno (Epp y Winston, 1977). En esta situación no existe un gasto metabólico de regulación que varíe monótonamente con la salinidad y el organismo reflejará más agudamente la salinidad del medio interno que es óptima a su metabolismo. Sin embargo, nada se puede decir sobre como estos óptimos de salinidad afectan a la morfología.

Los factores genéticos y la temperatura pueden individualizarse sobre determinadas combinaciones de caracteres biométricos. Sin embargo, como demuestra el análisis discriminante 4.7 (figura 4.13), la variación debida a la temperatura implica cambios de tamaño constreñidos en un rango de variación que se encuentra bajo control genético. Por el contrario, la salinidad afecta a caracteres menos relacionados con el tamaño, y la variación morfológica que origina es en parte independiente de la de las cepas y de la causada por la temperatura.

La plasticidad morfológica que se ha detectado en este estudio no tiene como únicos factores la salinidad y la temperatura. Otros factores intrínsecos (p.e., edad fisiológica del cultivo, edad media de sus individuos, etc.) o extrínsecos (pequeñas diferencias en otras condiciones de cultivo como luz o nivel de alimento) pueden influir, como viene demostrado porque el efecto bloque haya resultado significativo en las experiencias de la Biometría II (tabla 4.8). Este efecto explicaría también las diferencias en las medidas de los clones que se observan al comparar la tabla 4.1 con la tabla 4.2, correspondiente a cada una de las dos biometrías realizadas. Además, el efecto de bloques tiene consecuencias metodológicas, ya

que si no se incluyera en el diseño, dicho efecto se asignaría erróneamente a la interacción cepa-temperatura-salinidad.

Tradicionalmente se ha considerado que los coeficientes de alometría estaban mucho más protegidos frente a modificaciones no genéticas que las medidas absolutas o las razones entre medidas. Por ello, se han propuesto estos coeficientes como criterios en estudios biométricos (p.e., Ito, 1953) y taxonómicos (véase Gould, 1966). Sin embargo, los resultados expuestos más arriba indican que no se puede aceptar rígidamente la constancia de los coeficientes de alometría, ya que la plasticidad morfológica parece afectar en ocasiones a dichos coeficientes. En el análisis de componentes principales sobre alometrías (ACP 4.4), las muestras de laboratorio, cultivadas en unas mismas condiciones, aparecen agrupadas en relación al resto. Además, la cepa CU se sitúa relativamente alejada de la muestra de campo (M18V).

### Variación morfológica en la naturaleza

Los análisis morfológicos sobre muestras de campo ponen de relieve la existencia de una marcada variación estacional. Kerfoot (1980) distingue, entre las variaciones de este tipo, a las cuales se les puede denominar ciclomorfosis *sensu lato* (s.l.), tres tipos: (1) variación fenotípica no genética o ciclomorfosis *sensu stricto* (s.s.), (2) sustitución genética o reemplazamiento de clones, y (3) sustitución de especies o sucesión taxocénica. En el presente caso, estando bien definida morfológicamente la especie, el problema consiste en distinguir entre ciclomorfosis s.s. y reemplazamiento clónico.

En su trabajo Kerfoot (1980) expone la ventaja adaptativa de la modificación fenotípica como causa de la variación estacional. Argumenta para ello que la sustitución genética rendiría individuos adaptados a una estación anual cuando ésta ya toca a su fin. Pero en la argumentación de Kerfoot existe una referencia implícita a la velocidad de selección, por lo que es preciso tener en cuenta el tiempo de generación. En especies, como *B. plicatilis*, con tiempos de generación cortos se podrían seleccionar individuos adaptados en un tiempo mucho menor que aquel necesario para otras especies, p.e., de cladóceros.

Otro factor que retarda la adaptación es la aparición de la variabilidad sobre la que opera la selección. En el caso de los rotíferos monogonotes, una gran cantidad de variación puede ser aportada a la población por la eclosión de huevos de resistencia, más que por mutación. El número de estos huevos llega a ser considerable, habiéndose encontrado densidades de hasta 194 huevos por cm<sup>3</sup> de *B. plicatilis* en las capas superficiales del sedimento (Snell *et al.*, 1983). Además, si la adaptación estacional se logra por medios



genéticos, algunos de estos huevos darán individuos específicamente adaptados a la estación en la que eclosionan, pues podrían proceder de hembras del mismo periodo anual. Los estudios de King (1972, 1977a), trabajando con *Euchlanis* y *Asplanchna*, demostraron, mediante técnicas de dinámica poblacional y electroforesis, que los clones de rotíferos pueden sustituirse en un breve periodo de tiempo.

La variación morfológica estacional de *B. plicatilis* encontrada en este trabajo no puede explicarse totalmente por un efecto directo de la temperatura, actuando sobre la plasticidad fenotípica del organismo. La modificación inducida por la temperatura en el laboratorio es menor que la observada en el campo en relación al ciclo anual. Por ejemplo, las muestras de otoño e invierno, cuya morfología se ilustra en la figura 4.5, fueron recolectadas respectivamente a 12.0 y 14.9°C (tabla 2.3), por lo que los individuos mayores se encontraban, en el momento de la recolección, a una temperatura unos 3°C mayor que la temperatura del agua en la recolección de otoño.

La temperatura no es el único factor que puede actuar directamente sobre la talla de este rotífero. Sin embargo, factores importantes como la salinidad y el alimento tampoco podrían explicar por sí solos los cambios encontrados en el campo. La salinidad, según los resultados de la Biometría II, no afecta en gran medida al tamaño del animal, y, por otro lado, los estudios de diversos autores (Fukusho e Iwamoto, 1981; Yúfera, 1982; Snell y Carrillo, 1984) encuentran pequeñas diferencias debidas al tipo de alimentación.

La existencia de una componente genética en la ciclomorfosis *s.l.* de *B. plicatilis* es probable según los siguientes resultados: (1) la variación en tamaño es fuertemente dependiente del genotipo del animal (Biometría II); (2) los individuos recolectados en una misma localidad, en diferentes estaciones del año, no poseen las mismas relaciones alométricas; aunque, como se ha discutido más arriba, dichas relaciones también están influidas por el ambiente; (3) la variación morfológica estacional no es enteramente atribuible a los factores que hasta el momento han sido estudiados con métodos experimentales (dieta, salinidad, temperatura), y tan sólo una combinación sinérgica de estos y otros factores podría explicarla. Ninguna de las consideraciones anteriores es concluyente por sí misma, pero conjuntamente hacen plausible la hipótesis de que una parte importante de la variación morfológica estacional se debe a la sustitución de clones.

La partición de la variabilidad en variabilidad fenotípica no genética y genética puede inducir al equívoco de considerar que ambas son independientes. Las respuestas morfológicas de algunas cepas, como CU, a las condiciones de cultivo son más amplias y complejas que las de otras cepas. Con ello se pone de manifiesto que algunos fenotipos pueden ser más plásticos que otros, lo cual tendría un claro sentido adaptativo si los genotipos que los determinan ocupasen las aguas de características más fluctuantes.

Según los resultados encontrados, existen más diferencias entre las poblaciones de verano que entre las poblaciones de otra época del año. Una interpretación de estos resultados podría residir en su relación con los procesos de sucesión. Durante el verano, es cuando la sucesión cubre sus etapas más avanzadas y las condiciones del agua son menos fluctuantes. Las poblaciones adaptadas a medios fluctuantes serán más parecidas entre sí dado que todas ellas compartirán la característica de ajustarse a un amplio rango de condiciones ambientales. Por el contrario, se debe esperar que las poblaciones habitantes de medios estables sea más diferentes entre sí, porque cada una de ellas estará adaptada a las condiciones particulares y diferenciales del agua que habita.

Junto con la variación estacional comentada, aparece una clara componente geográfica que influye sobre la forma y el tamaño de *B. plicatilis*. Esta componente es, en ocasiones, muy constante e independiente de la época del año, como se muestra al comparar las poblaciones de Adra y de El Altet, muestreadas en distintas estaciones del año. La variación geográfica puede interpretarse como debida, en parte, a los diferentes tipos de aguas habitados por *B. plicatilis*. Así, las poblaciones de agua con baja salinidad como Adra y Almenara aparecen agrupadas (ADI 4.5; figura 4.8), mientras que otras poblaciones de aguas con mayor influencia marina están más dispersas. Las características del agua también puede ayudar a explicar la segregación de las poblaciones endorreicas con respecto a las del litoral.

Pero según los resultados presentados, las diferencias morfométricas entre poblaciones de distintas áreas se corresponden con la estructura de su dispersión geográfica. Es indicativo de ello la separación encontrada entre poblaciones atlánticas -por otro lado muy diferentes entre sí atendiendo a su tamaño- y cepas mediterráneas. La correspondencia con una estructura geográfica se manifiesta también en la ordenación norte-sur de las poblaciones, resultante en diversos análisis, tanto sobre muestras de campo como de laboratorio. A partir de ello, es evidente que junto con la plasticidad y cosmopolitismo de esta especie, existe una componente genética en la biometría de *B. plicatilis*, la cual está asociada a una clina a lo largo de una costa aproximadamente paralela a un meridiano terrestre.

## 5. ANÁLISIS DE ISOENZIMAS

### 5.1. INTRODUCCIÓN

Desde la introducción de las técnicas electroforéticas para la detección de la variabilidad genética (Hubby y Lewontin, 1966; Lewontin y Hubby, 1966), se han abordado con ellas problemas relativos a la estructura genética de las poblaciones en multitud de organismos. La electroforesis de isoenzimas posee varias ventajas a este respecto: (1) pone de manifiesto una variabilidad que de otra forma quedaría oculta, (2) los caracteres que muestra son bastante independientes de las condiciones ambientales, por lo que la técnica se puede aplicar directamente sobre poblaciones naturales (aunque este uso está sujeto a crítica; Merrell, 1981), (3) los isoenzimas se suelen relacionar de una forma simple con genes individuales, y (4) los caracteres que pone de manifiesto son discretos y simplifican el análisis genético en organismos de variabilidad morfológica continua.

El empleo de esta técnica en rotíferos puede resultar de interés ya que los caracteres discretos sujetos a variabilidad intraespecífica son escasos. Sin embargo, el uso de la electroforesis en estos organismos se limita a unos pocos trabajos, aunque algunos de ellos han supuesto aportaciones fundamentales al conocimiento de su biología. King y Snell (1977a) utilizaron la técnica en un análisis genético del que se concluyó la existencia de recombinación sexual y de segregación mendeliana de caracteres en *Asplanchna*. La discontinuidad genética de las poblaciones de *Asplanchna* que se suceden a lo largo del ciclo anual en una misma localidad se demostró mediante el seguimiento de la variabilidad aloenzimática (King, 1977a), a la vez que pudo comprobarse el elevado grado de homogeneidad genética de estas poblaciones en un mismo momento del ciclo anual. Snell (1979) utilizó isoenzimas como marcadores en experiencias de competencia entre clones, también de *Asplanchna*. Por último, la variabilidad geográfica de amplio rango en *Brachionus plicatilis* ha sido explorada mediante isoenzimas, en un trabajo orientado a evaluar la potencia de la técnica en taxonomía (Snell y Winkler, 1984).

Este uso limitado -los trabajos comentados en el párrafo anterior son prácticamente todos los publicados hasta la fecha- contrasta con el desarrollo que ha tenido la técnica electroforética en el estudio de los cladóceros. A partir de los trabajos de Hebert (revisados en Hebert, 1978), la electroforesis ha sido extensamente empleada para analizar las poblaciones de dáfnidos. Sin embargo, tanto cladóceros como rotíferos, ofrecen un material interesante -además de ofrecer ventajas prácticas- para estudiar la estructura genética de las poblaciones, debido a su particular estructura reproductiva; *i.e.*, la partenogénesis cíclica. Gracias a este

tipo de reproducción se pueden manipular colecciones grandes de individuos genéticamente iguales o muy similares, y los efectos de la selección con respecto a la ruptura de aquellos equilibrios que establece la recombinación se verán incrementados con la sucesión de generaciones partenogénicas (Young, 1979a y b). En este sentido, King (1977b) a esbozado un análisis teórico del efecto de la partenogénesis cíclica sobre la intensidad de selección y el tamaño efectivo de la población.

En el presente capítulo se usa el análisis de isoenzimas para estudiar las diferencias genéticas en un conjunto de cepas de *B. plicatilis*, algunas de las cuales han sido estudiadas desde el punto de vista biométrico. Con ello se desea comprobar si las diferencias entre poblaciones, demostradas en el análisis morfológico, ocurren a niveles enzimáticos y sobre caracteres discretos. También se intenta correlacionar la variabilidad genética con la localización geográfica de las poblaciones y con su origen temporal. Por último, es objeto del presente capítulo comparar la variabilidad genética intra e interpoblacional y explorar la variación alélica en las poblaciones.

## 5.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Las cepas de *Brachionus plicatilis* estudiadas se agrupan en dos bloques. El primero, denominado I en la tabla 2.4, se compone de siete cepas las cuales fueron analizadas biométricamente en el capítulo anterior. Estas cepas han sido mantenidas en el laboratorio durante varios años y se consideran aquí como cepas tipo. El segundo bloque de muestras (tabla 2.4, grupo II) se compone de 44 cepas provenientes de cuatro lagunas (Albufera Nueva de Adra, Albufera Honda de Adra, Charca Sur de El Hondo de Elche y Laguna de El Altet) y fueron recolectadas en primavera y otoño. Todos los cultivos de estas cepas orientados a la obtención de muestras para electroforesis se realizaron a una temperatura de 25°C y 12 g/l de salinidad, y se alimentaron con exceso de *Tetraselmis sp.* (para las restantes condiciones, véase el apartado 2.3).

Los extractos de *Brachionus plicatilis* se obtuvieron mediante dos métodos. Cuando se requería una gran cantidad de extracto se filtraba medio litro de un cultivo denso de rotíferos a través de una malla de Nylal con poro de 50 µm, lavándose el residuo del filtrado repetidas veces con agua de 12 g/l de salinidad. El filtro retiene a los rotíferos, los cuales eran resuspendidos en medio mililitro de la solución de extracción contenida en un vial de vidrio. Posteriormente la muestra era homogeneizada por sonicación mediante pulsos de 20 s, a 40 W en un aparato Labsonic 2000-Braun con una micropunta. El número de pulsos necesarios para

la ruptura de los organismos se establecía mediante observación de la muestra con un estereomicroscopio.

Alternativamente, cuando se disponía de pocos individuos y se requería poca cantidad de muestra, los rotíferos eran recolectados a partir de su medio de cultivo mediante una pipeta Pasteur, ayudándose de un estereomicroscopio. Los individuos capturados se pasaban directamente a la solución extractora y allí eran triturados con un microhomogeneizador de émbolo (0.1 ml Micro Tissue Grinder-Wheaton). Para cantidades menores que 0.1 ml, el microhomogeneizador era sustituido por un cable de acero que se hacía girar a 3000 rpm dentro de un tubo capilar en donde se había depositado la muestra. En todos los casos se usó como solución extractora un tampón Tris-borato 0.1M a pH 8.5 con Sacarosa al 34.23% (p/v) y 0.1% (p/v) de BSA. A esta mezcla se le añadía azul de bromofenol hasta que se tornaba de un color azul marino. La extracción se realizaba en un baño a 4°C.

Las electroforesis se llevaron a cabo en geles laminares de poliacrilamida de 1.5 mm de grosor, en placas de 16 cm de alto y 18 cm de ancho (sistema Vertical Electrophoresis Unit 2001-LKB). Los geles empleados se compusieron de dos capas. La capa de empaquetamiento o superior, con 2 cm de recorrido, tuvo la siguiente composición: Acrilamida, 5% (p/v); Bisacrilamida, 0.3% (p/v); persulfato de amonio, 0.1% (p/v); EDTA, 15mM; TEMED, 0.1% (v/v); disuelto todo ello en un tampón Tris-borato 50mM, pH 8.5. La capa de resolución, con 14 cm de recorrido, estuvo compuesta por: Acrilamida, 10% (p/v); Bisacrilamida, 0.26% (p/v); persulfato de amonio, 0.1% (p/v); EDTA 15mM; TEMED, 0.1% (v/v); disuelto en un tampón Tris-citrato 80mM, con pH en el rango de 7 a 8.5, según el análisis electroforético que se llevara a cabo. Para ambas capas la mezcla gelificante, antes de añadir el TEMED, debe desgasificarse.

En la modalidad electroforética empleada, el desplazamiento de proteínas, con el gel en posición vertical, se realiza hacia el polo negativo, en condiciones de corriente constante (40 mA) administradas por una fuente de alimentación Pharmacia EPPS 3000/150. El tampón de electroforesis usado fue Tris-borato 0.1M, pH 8.5, y la electroforesis se detuvo cuando el frente de azul de bromofenol alcanza el límite inferior del gel.

Los sistemas enzimáticos ensayados en una primera exploración fueron: lactato deshidrogenasa (LDH), fosfoglucomutasa (PGM), leucinaaminopeptidasa (LAP), enzima málico (ME), fosfoglucoisomerasa (PGI), fosfatasa ácida (ACP), fosfatasa alcalina (ALK),  $\alpha$ - y  $\beta$ -esterasa (EST) y málico deshidrogenasa (MDH). De ellos, sólo los tres últimos mostraron zimogramas con variación entre cepas. En los restantes sistemas no se detectó actividad de una forma consistente, o no se pudo observar variación entre clones. Se hicieron también ensayos previos de comprobación en los que no se detectaron actividades enzimáticas en muestras de los cultivos de *Tetraselmis sp.*, -utilizados en la alimentación de los rotíferos-,

las cuales fueron procesadas de igual manera que los rotíferos. Tampoco apareció actividad tetrazolio oxidasa (TO) en muestras de *Brachionus plicatilis*. Este enzima da respuesta positiva en tinciones de otros sistemas isoenzimáticos, por lo que es necesario ensayarlo como prueba en blanco.

Los sistemas ALK, EST y MDH se analizaron mediante los métodos de tinción que se exponen a continuación. Solución de tinción para ALK: 5% (v/v) de una solución 2-Naftil fosfato preparada previamente al 1% (p/v) en acetona y agua (v:v= 1:1); PVP, 0.4% (p/v); NaCl, 0.1M; MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.05mM; Fast Blue RR, 0.04% (p/v); todo ello disuelto a Tris-HCl 1mM, pH 8.5. Solución de tinción para EST: 1% (v/v) de una solución 2-Naftil acetato al 1% (p/v) en acetona; 1% (v/v) de una solución 1-Naftil acetato al 1% (p/v) en acetona; Fast Blue RR, 0.05% (p/v); todo ello disuelto en Tris-fosfato 0.1M, pH 6.5. Solución de tinción para MDH: L-malato sódico, 0.1M; NAD<sup>+</sup>, 0.05% (p/v); MTT, 0.03% (p/v); PMS, 0.0025% (p/v); todos estos componentes disueltos en Tris-HCl 75mM, pH 7.1. Estos sistemas de tinción han sido tomados, con modificaciones menores, de Shaw y Prasad (1970), Brewer (1970), y Schaal y Anderson (1974). Una vez teñidos los geles, se anotaron el número y posición de las bandas de actividad enzimática. Los sistemas ALK, EST y MDH se ensayaron en las siete cepas consideradas aquí como tipos (grupo I de la tabla 2.4), y el sistemas MDH se ensayó también en las 44 cepas restantes (grupo II de la tabla 2.4).

La proximidad entre las cepas tipo se evaluó mediante al índice de similaridad de Jaccard transformado a distancia ( $DJ_{i,j} = 1 - SJ_{i,j}$ , donde  $SJ$  es la similaridad de Jaccard; véase Legendre y Legendre, 1983). Los atributos que definen cada cepa son las presencias o ausencias de actividad enzimática en aquellas regiones del zimograma donde alguna cepa ha mostrado actividad (*i.e.*, ha mostrado una banda teñida).

Para aquellos casos en los que se disponía de más de una cepa por población, el parecido entre conjuntos de cepas con el mismo origen se determinó mediante el siguiente índice:

$$DP_{i,j} = 1/2 \sum_k |F_{i,k} - F_{j,k}|$$

donde  $F_{i,k}$  es la frecuencia de la banda  $k$  en la muestra  $i$ , y  $S$  es el número total de bandas. Al aplicar este índice no se consideraron las bandas de movilidad intermedia a dos bandas cercanas, por interpretarse como posibles heterodímeros. Mediante este uso, y si se interpretan las bandas consideradas como expresión de genes alélicos,  $DP_{i,j}$  es la contribución de un locus determinado a la distancia genética definida por Prevosti (1974). Una vez calculadas las distancias por uno u otro método, las cepas, o conjuntos de cepas con un mismo origen, se sometieron a un análisis de agrupamiento según la técnica UPGMA (Sneath y Sokal, 1973)

### 5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Variabilidad entre las cepas tipo

La figura 5.1 muestra los zimogramas para los sistemas EST, MDH y ALK en las cepas tipo. En ellas se comprueba que el conjunto de cepas analizadas posee un elevado grado de variación enzimática, tanto en la movilidad de las bandas de actividad como en el número de éstas que aparecen. De acuerdo con estos resultados se puede concluir que la especie *Brachionus plicatilis* es fuertemente politépica, incluso en un área geográficamente limitada como la que se ha estudiado aquí.

Los patrones de variación entre sistemas de enzimas presentan cierta correlación. Por ejemplo, las cepas FCA y CA, con un origen geográfico muy cercano, poseen los mismos zimogramas para los tres sistemas isoenzimáticos, con la única excepción de una banda de actividad esterásica (figura 5.1), la cual posee mayor movilidad electroforética en CA.

La covariación entre los patrones electroforéticos se ha explorado mediante análisis de distancias y agrupamiento, con los resultados que aparecen en la figura 5.2. En dicha figura se puede observar la estrecha relación, antes aludida, entre CA y FCA, las dos cepas del Marjal de Torreblanca. Un grupo homogéneo está constituido por la cepa atlántica FCB y la endorreica CU, las cuales también mostraron similitud morfológica (p.e., ambas son de gran tamaño). Sin embargo, las cepas CU y FCB aparecen unidas a FCS, una cepa también atlántica pero de unas características biométricas marcadamente diferentes (p.e., es la cepa de menor tamaño).

El tercer grupo, formado por AD y SPO es menos homogéneo que los anteriores. Las cepas que lo forman provienen de lugares alejados entre sí, pero ambos situados en el mediterráneo sur y en lagunas relativamente estables.

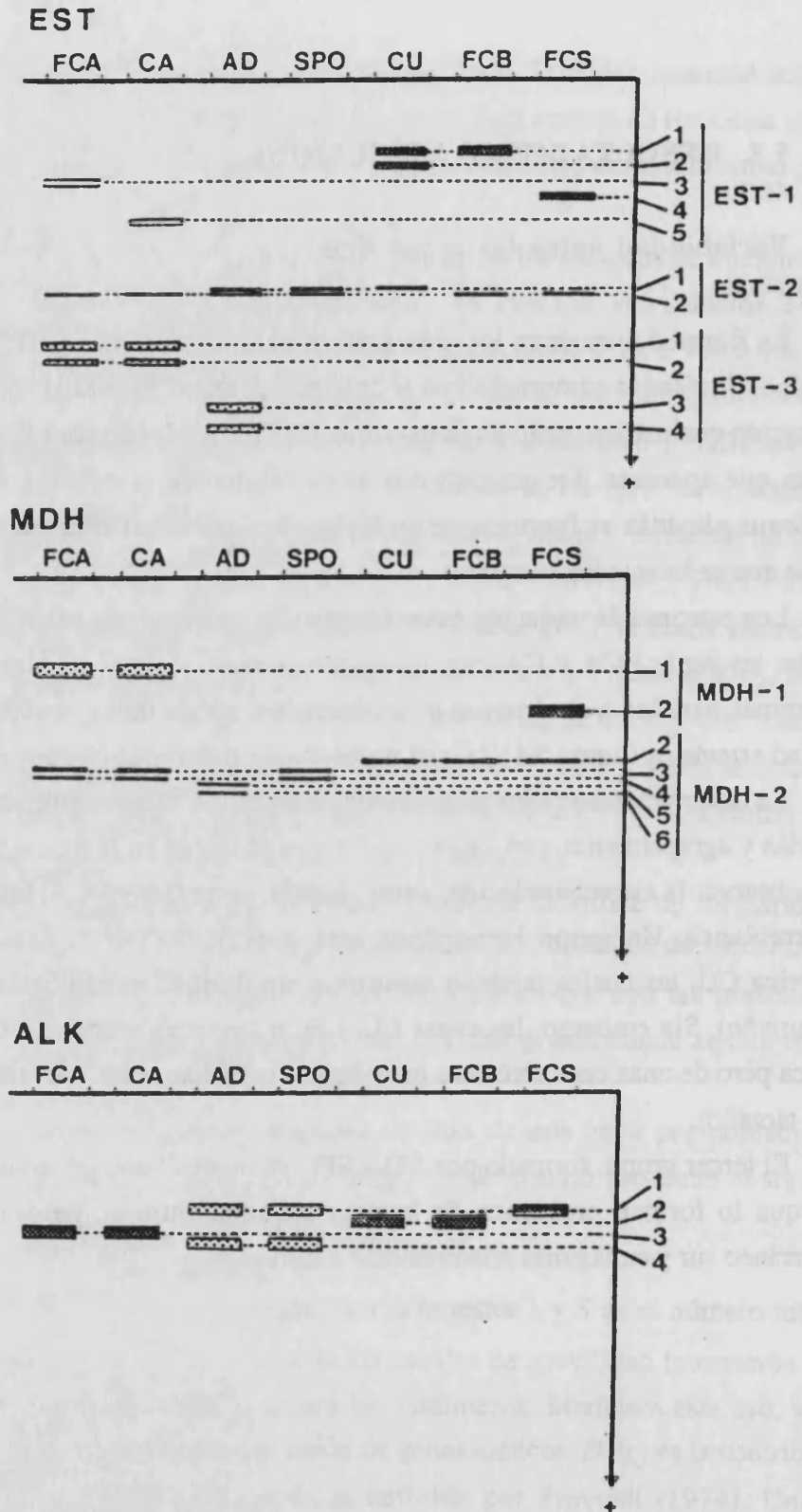


Figura 5.1. Zimogramas de EST, MDH y ALK para las cepas tipo que se indican. En los correspondientes márgenes (parte derecha) se presenta una interpretación genética de los mismos.



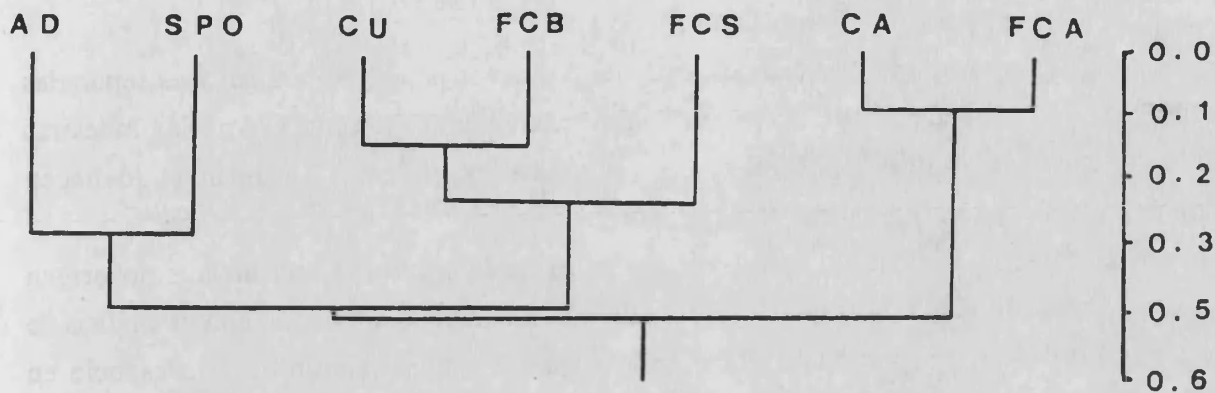


Figura 5.2. Dendrograma de las cepas tipo calculado a partir de las afinidades entre sus zimogramas. (Distancia:  $DJ$ ; agrupación UPGMA).

### Variabilidad estacional y geográfica

El sistema MDH fue analizado en 44 cepas provenientes de cuatro lagunas y dos estaciones (véase la tabla 2.4). Los zimogramas correspondientes a estas cepas se presentan en la figura 5.3, en la cual también se incluyen las cepas tipo AD y SPO, ya que comparten el origen geográfico con algunas de las restantes cepas. Ninguna de estas cepas presentó el sistema MDH-1.

El número de cepas que se han analizado por laguna es pequeño (figura 5.3) debido a la dificultad por mantener un número elevado de ellas en el laboratorio. A pesar de ello, la uniformidad encontrada para las cepas recolectadas en un mismo muestreo es grande y permite inferir que la variación intrapoblacional debe de ser baja. También se observa uniformidad entre cepas de lagunas que pertenecen a una misma zona húmeda (*i.e.*, las dos lagunas de Adra: la Nueva, 1, y la Honda, 2). Tan sólo en las dos muestras de una laguna (Albufera Honda de Adra: C2P y C2O) aparece cierta variación entre las cepas provenientes de un mismo muestreo.

La variabilidad temporal que se pone de manifiesto en el sistema MDH también es pequeña aunque existe en las poblaciones de La Albufera Honda de Adra. Cuando se

comparan las cepas tipo con las restantes cepas de la misma laguna, recolectadas como mínimo al menos un año después (véase la tabla 2.4), se comprueba la estabilidad temporal de las poblaciones en relación al sistema enzimático MDH.

Por el contrario a lo que ocurre dentro de poblaciones o entre poblaciones separadas temporalmente los patrones de actividad son marcadamente diferentes entre las muestras provenientes de distintas zonas húmedas y cuando las muestras se agrupan lo hacen principalmente por su origen geográfico (figura 5.4).

Así pues, el análisis de conjuntos de cepas de *B. plicatilis* con un mismo origen espacio-temporal señala la ya citada politipia de esta especie, coincidiendo con el análisis de las cepas tipo. También indican ambos análisis que la fragmentación de esta especie en poblaciones genéticamente diferenciadas obedece principalmente a factores geográficos o a factores ambientales correlacionados con estos últimos. La variación estacional, aun estando presente en los zimogramas analizados, es mucho menor que la variación espacial. Sin embargo, existe la posibilidad de una mayor variación temporal que no haya sido detectada.

Las consideraciones anteriores están parcialmente de acuerdo con los resultados de Snell y Winkler (1984), los cuales no encontraron diferencias isoenzimáticas entre tres cepas de *B. plicatilis* recolectadas en un mismo lugar (McKay Bay, Florida), en tres fechas diferentes (julio, agosto y septiembre). Estos autores analizaron cinco cepas de tres lugares de Florida, conjuntamente a otras cepas de lugares remotos (Rusia, Israel, Japón, etc.). Cuando agruparon sus cepas por la similitud de sus zimogramas, encontraron que las cepas procedentes de Florida se diferenciaban entre sí atendiendo a su origen. Pero, sorprendentemente, algunas de estas cepas aparecían asociadas a cepas de otros continentes, los zimogramas de las cuales no se correlacionaron con las distancias geográficas entre ellas.

Estos resultados, en relación a los que aquí se presentan, sugieren que el grado de politipia de *B. plicatilis* puede ser un fenómeno local, asociado a determinadas regiones geográficas. Regiones con múltiples masas de agua de diversas características o aisladas entre ellas, propiciarían una mayor fragmentación genética de la especie al actuar los principios de adaptación y selección o de fundación. La situación comentada, según la cual las diferencias isoenzimáticas están más claramente relacionadas con la distribución espacial cuando se consideran cepas de un mismo ámbito geográfico, también puede explicarse por otras razones. Dicha situación es esperable si las tasas de cambio de estas enzimas son elevadas, con lo cual reflejarían más exactamente la evolución reciente que la remota, desdibujada por el efecto de los propios cambios. Por otro lado, también es posible que la estructuración espacial de las poblaciones guarde cierto grado de paralelismo dentro de ámbitos geográficos alejados entre sí.

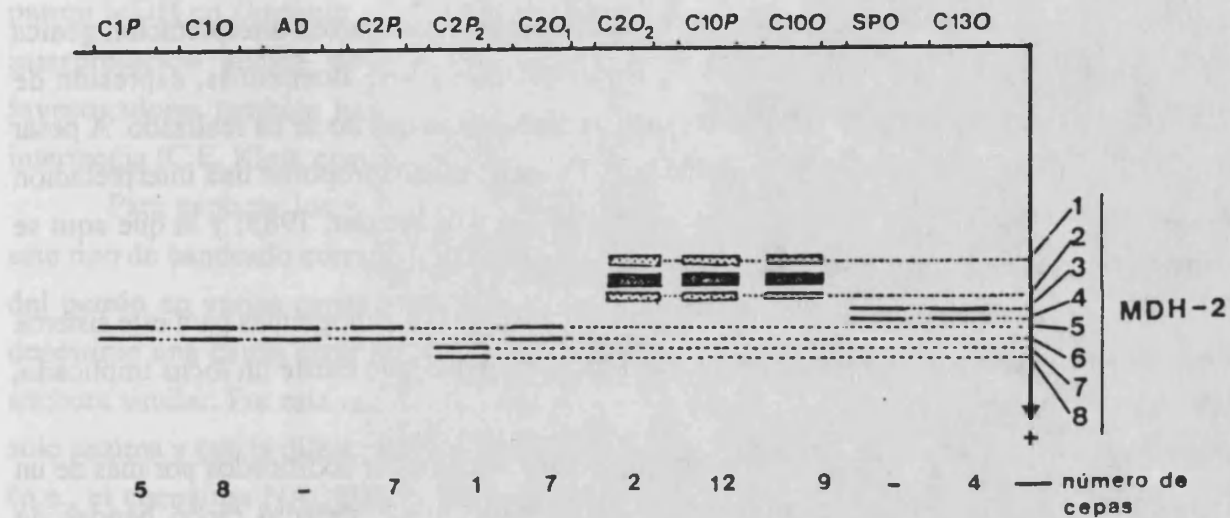


Figura 5.3. Zimogramas de malato deshidrogenasa para las cepas tipo y conjuntos de muestras que se indican (1: Albufera Nueva de Adra; 2: Albufera Honda de Adra; 10: El Hondo de Elche, Charca Sur; 13: Laguna de El Altet; *P*: primavera; *O*: otoño). El número que aparece bajo cada zimograma indica el número de cepas que lo presentó. En el margen derecho se presenta una interpretación genética del zimograma (véase el texto).

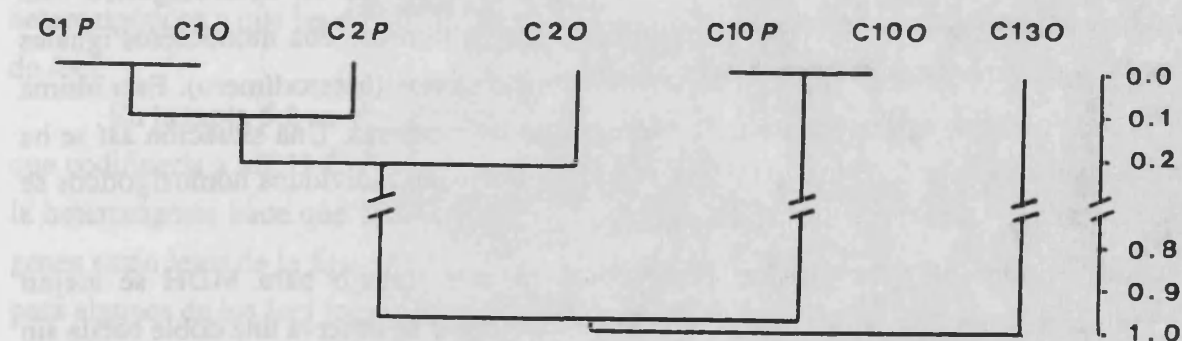


Figura 5.4. Dendrograma de conjuntos de cepas con un mismo origen espacial y temporal, calculado a partir de la afinidad entre sus zimogramas (distancia *DP*; agrupación: UPGMA).

## Interpretación génica de los resultados

Las diferencias encontradas en los zimogramas son diferencias genéticas ya que las cepas fueron cultivadas en medios idénticos. Sin embargo, una rigurosa interpretación génica de los resultados (*i.e.*, la interpretación de los isoenzimas como aloenzimas, expresión de alelos y *loci* determinados) requiere de un análisis mendeliano que no se ha realizado. A pesar de ello, es habitual, en muchos trabajos sin análisis mendeliano, proponer una interpretación génica de los zimogramas (véanse, p.e., Young, 1979a y b; Weider, 1985) y la que aquí se ofrece se indica en las figuras 5.1 y 5.3.

Probablemente el caso más claro es el sistema ALK. Los zimogramas para este sistema enzimático en las cepas tipo puede explicarse suponiendo que sólo existe un *locus* implicado, con cuatro alelos diferentes.

El caso de las esterasas es más complejo, pues suelen estar codificados por más de un *locus* (véanse, p.e., Berger y Sutherland, 1978; Wolf, 1982, detectó cinco bandas de actividad en *Daphnia pulex*). En el presente caso se proponen tres sistemas (EST-1, EST-2 y EST-3) correspondientes a *loci* con 5, 2 y 4 alelos respectivamente. Esta interpretación asume que las bandas EST-1:3 y EST-1:5 de FCA y CA respectivamente (figura 5.1; gráfica de esterasas) no son alélicas de la EST-2:2, debido a la distancia de migración y a la diferente intensidad en la tinción de las bandas. Bajo esta interpretación, las cepas analizadas difieren en el número de *loci* implicados en el sistema EST que se detectan. Esto puede ser debido a la carencia de *loci* en algunas cepas o a que su expresión está inhibida.

El patrón de variación observado para la malato deshidrogenasa puede tener diversas interpretaciones. En una gran cantidad de organismos se ha comprobado que el enzima malato deshidrogenasa es un dímero cuyos monómeros están codificados por un *locus*. Los monómeros pueden asociarse al azar y el zimograma típico de un heterocigótico está constituido por tres bandas. Los extremos corresponden a dímeros con monómeros iguales (homodímeros) y la central al dímero con monómeros distintos (heterodímero). Esta última será dos veces mayor -más ancha o más intensa- que las primeras. Una situación así se ha encontrado en las cepas C2O<sub>2</sub> (figura 5.3). Por el contrario, en individuos homocigóticos se espera la presencia de una sola banda de actividad.

Los zimogramas que se han encontrado en este trabajo para MDH se alejan considerablemente de esta expectativa clásica. Frecuentemente se observa una doble banda sin banda intermedia y en tres casos (FCA, CA y FCS) aparece una banda de baja movilidad que difícilmente puede ser aloenzimática de las bandas rápidas. Situaciones que se apartan del patrón clásico han sido descritas en algunos trabajos. Es bastante común que se propongan dos *loci* para MDH con objeto de explicar los zimogramas de este sistema (p.e., Abren-

Grobois y Beardmne, 1980, en *Artemia*; Young, 1979a y b, en *Daphnia magna*, entre otros). Otras anomalías han sido descritas por Wolf (1982) quien mostró cómo distintas condiciones técnicas de electroforesis pueden conducir a conclusiones dispares. Este autor encontró un patrón MDH en *Daphnia magna* similar al de las cepas FCA y CA, aunque no realizó una interpretación génica de sus resultados en el trabajo citado. En *B. plicatilis* otros investigadores también han observado dos bandas cercanas de actividad MDH sin banda intermedia (C.E. King, *comunicación personal*).

Para explicar los resultados obtenidos en el presente trabajo, se ha interpretado que este tipo de bandeo corresponde a los dos homodímeros de un mismo *locus*. La semejanza del patrón en varias cepas y la igualdad de los zimogramas en FCA y CA hacen que se desestime una causa errática. Además, las dos bandas del par presentan una intensidad y anchura similar. Por esta razón no parece probable que ambas bandas se correspondan con un solo enzima y que la diferente movilidad se deba a la ligadura del enzima con alguna molécula (p.e., el coenzima NADH) o a una alteración de la molécula enzimática. La ausencia del heterodímero puede explicarse de varias maneras; p.e., que la dimerización no ocurriera al azar, que el heterodímero no fuera funcional, o que éste se disociara durante la manipulación de la muestra. Obviamente, se debe subrayar que estas explicaciones tienen un obligado carácter especulativo, y se requeriría de una casuística más amplia para resolver concluyentemente esta cuestión.

Por las razones expuestas más arriba, la interpretación que se da a los zimogramas para MDH propone la existencia de dos *loci*, que codificarían los sistemas MDH-1 y MDH-2, con 2 y 8 alelos respectivamente, aun cuando uno de ambos *loci* sólo estaría presente en algunas cepas.

La información génica relativa a los zimogramas, tal y como se han interpretado, se presenta en las tablas 5.1 y 5.2. Destaca en las cepas tipo (tabla 5.1) el elevado número de *loci* heterocigóticos y que las diferencias entre las cepas tipo sean tanto alélicas como en el número de *loci*.

En la tabla 5.2 se observa que la totalidad de cepas son heterocigóticas para el *locus* que codificaría a MDH-2. Aunque el número de cepas analizado es pequeño, la constancia de la heterocigosis hace que ésta sea significativa. También se observa en dicha tabla que los genes están lejos de la fijación por efecto de la heterocigosis, pero los genotipos están fijados para algunos de los *loci* (cinco de las siete muestras estudiadas).

Según la interpretación realizada, el polimorfismo genético (*i.e.*, frecuencia menor del 99% para el alelo más común de un *locus* en una población; véase Merrell, 1981) que se ha detectado en *B. plicatilis* se mantiene a causa de la existencia de individuos heterocigóticos, el número de los cuales estaría en desacuerdo con la ley de Castle-Hardy-Weinberg. De acuerdo

**Tabla 5.1.** Heterogeneidad de los sistemas gen-enzima que se indican en siete cepas de *Brachionus plicatilis* originarias de diferentes zonas húmedas. (Véanse los zimogramas en la figura 5.1 y la interpretación realizada en el texto; *n.d.*: no detectado; *homoz.*: homocigótico; *heteroz.*: heterocigótico; los números entre paréntesis indican los las bandas encontradas para el correspondiente sistema).

	Sistema Gen-enzima					
	EST-1	EST-2	EST-3	MDH-1	MDH-2	ALK
AD (Adra)	n.d.	heteroz. (1/2)	heteroz. (3/4)	n.d.	heteroz. (5/6)	heteroz. (1/4)
SPO (El Altet)	n.d.	heteroz. (1/2)	n.d.	n.d.	heteroz. (3/4)	heteroz. (1/4)
CU (La Celadilla)	heteroz. (1/2)	homoz. (1/1)	n.d.	n.d.	homoz. (2/2)	homoz. (2/2)
CA (Torreblanca)	homoz. (5/5)	homoz. (2/2)	heteroz. (1/2)	homoz. (1/1)	heteroz. (3/4)	homoz. (3/3)
FCA (Torreblanca)	homoz. (3/3)	homoz. (2/2)	heteroz. (1/2)	homoz. (1/1)	heteroz. (3/4)	homoz. (3/3)
FCB (Cádiz)	homoz. (1/1)	homoz. (2/2)	n.d.	n.d.	homoz. (2/2)	homoz. (2/2)
FCS (Cádiz)	homoz. (4/4)	homoz. (2/2)	n.d.	homoz. (1/1)	homoz. (2/2)	homoz. (1/1)

**Tabla 5.2.** Variación del sistema enzimático MDH en cepas de *Brachionus plicatilis* obtenidas a partir de las poblaciones de cuatro lagos en primavera y otoño. (Las bandas asociadas al sistema MDH-2 están numeradas de acuerdo con la figura 5.3 y según la interpretación realizada en el texto; el sistema MDH-1 no fue detectado).

		n	Frecuencia de genotipos, %				Frecuencia de genes, %							
			1/2	3/4	5/6	7/8	1	2	3	4	5	6	7	8
Albufera Nueva de Adra	C1P	5	-	-	100.0	-	-	-	-	-	50.0	50.0	-	-
	C1O	8	-	-	100.0	-	-	-	-	-	50.0	50.0	-	-
Albufera Honda de Adra	C2P	8	-	-	87.5	12.5	-	-	-	-	43.8	43.8	6.2	6.2
	C2O	9	22.2	-	77.8	-	11.1	11.1	-	-	38.9	38.9	-	-
Charca Sur (El Hondo de Elche)	C10P	12	100.0	-	-	-	50.0	50.0	-	-	-	-	-	-
	C10O	9	100.0	-	-	-	50.0	50.0	-	-	-	-	-	-
El Altet	C13O	4	-	100.0	-	-	-	-	50.0	50.0	-	-	-	-

con esta ley, para cualesquiera proporciones génicas, el número de heterocigóticos no puede rebasar la mitad de la población (Merrell, 1981). Debe considerarse la posibilidad de que estos resultados sean un artefacto del diseño experimental, dado que ha sido necesario cultivar los organismos previamente a su análisis electroforético, y durante dicho cultivo podrían haberse propiciado fenómenos de selección que cambiasen las características de las poblaciones. Sin embargo, también se debe observar que el cultivo se realizó en ausencia de cualquier tipo de competencia, salvo la existente entre individuos de la misma cepa. Además, si bien algunas cepas se perdieron, la frecuencia relativa de pérdidas se mantuvo aproximadamente constante a lo largo del tiempo de cultivo.

En el caso de que los resultados obtenidos, así como su interpretación, se ajusten a lo que realmente ocurre en la naturaleza, el polimorfismo en las poblaciones de *B. plicatilis* estudiadas no se mantendría por selección disruptiva (heterogeneidad espacial o temporal, selección dependiente de frecuencias, etc.), siendo la explicación más sencilla el que se mantenga por sobredominancia (una forma de heterosis) o por pseudo-sobredominancia (efectos debidos a asociaciones entre genes estrechamente ligados). A favor de esta última posibilidad, debe tenerse en cuenta que en la reproducción partenogenética todo el genoma se comporta como un grupo de ligamiento (King, 1980).

El desarrollo de las poblaciones mediante múltiples generaciones partenogenéticas con una baja tasa de reproducción sexual efectiva (*i.e.*, hasta llegar a la eclosión del huevo de resistencia y el desarrollo del neonato) ayuda a explicar tanto la uniformidad genotípica intrapoblacional (King, 1977b), como el exceso de heterocigóticos, esto último debido a que un individuo heterocigótico no segregará homocigóticos si se reproduce por partenogénesis. Debe tenerse en cuenta que la reproducción sexual sincrónica de toda la población restablece el equilibrio de Castle-Hardy-Weinberg, al menos en ausencia de selección previa a la eclosión de los huevos. La varianza genotípica tiende a aumentar con la reproducción sexual siempre que los genes no estén fijados, y tiende a disminuir por competencia entre genotipos (*i.e.*, clones partenogenéticos). En los rotíferos monogonotes, la reproducción sexual es una forma ocasional de reproducción, llegando a estar ausente en alguna de las cepas estudiadas aquí (véanse los Capítulos 4 y 6). Por el contrario, la competencia interclónica, puede ser muy elevada (Snell, 1977a y 1979).

En esta situación, y si los distintos habitats de *B. plicatilis* poseen propiedades diferentes, es esperable, junto a la ya comentada variabilidad intrapoblacional baja, una alta variabilidad interpoblacional. Por un lado, la diversidad genotípica que vendría determinada por la dispersión de los huevos de resistencia (flujo espacial de genes) o por su eclosión después de un periodo de latencia (flujo temporal de genes) estaría muy atenuada por competencia, y tan sólo el cambio en las condiciones ambientales permitiría que una población



fuese sustituida por otra. Por otro lado, la introgresión genética entre poblaciones se verá dificultada por los bajos niveles de reproducción sexual, así como por mecanismos que propician el aislamiento reproductivo prezigótico entre poblaciones de *B. plicatilis*. En este sentido, se ha observado que los machos de algunos clones muestran preferencia por copular con hembras del mismo clon (Snell y Hawkinson, 1973).

Pero junto a los procesos seleccionistas descritos más arriba, pueden operar mecanismos de un carácter más neutralista, los cuales no son bien conocidos. Por ejemplo, están por evaluar las barreras a la dispersión de las poblaciones cuando los habitats de las mismas están aislados por áreas áridas o masas de agua marina, y no están unidos por los flujos que pueden transportar los huevos de resistencia, como los vientos o las migraciones de aves.



## 6. EFECTO DE LA SALINIDAD Y LA TEMPERATURA SOBRE LA DINÁMICA POBLACIONAL DE TRES CEPAS DE *BRACHIONUS PLICATILIS*. ALGUNAS APORTACIONES METODOLÓGICAS

### 6.1. INTRODUCCIÓN

Las características demográficas de los organismos tienen significado en la medida en que evalúan la capacidad para la supervivencia en un ambiente determinado (Cole, 1954). Dos aspectos de la estructura de la supervivencia y la fecundidad resumen su importancia ecológica y evolutiva. En primer lugar, los rasgos que manifiesta la dinámica poblacional son el resultado del carácter adaptativo que poseen otros rasgos fenotípicos; p.e., la eficiencia general del metabolismo de los individuos o la capacidad para proveerse de recursos alimenticios. En segundo lugar, el patrón demográfico que exhibe un organismo reparte unos recursos limitados entre la supervivencia y la fecundidad específicas de cada edad y debe ser visto como un carácter sujeto a selección. Los distintos patrones se seleccionarán en función de que la estrategia reproductiva que determinan permita la supervivencia de la población en algún nicho particular. Pero las características que componen dicho patrón están sujetas a fuertes constricciones y ligaduras, de forma que la ganancia en eficiencia biológica que se puede lograr modificando una de estas características, puede llevar a cambiar otra característica que decrezca la eficiencia biológica (véanse Stearns, 1977; Lande, 1982). Esta observación lleva a la consideración de las características demográficas como conjuntos de rasgos coadaptados (Charnov y Schaller, 1973), cuyo producto global es un crecimiento dado.

La tasa instantánea de aumento,  $(1/N) \cdot dN/dt$ , mide la capacidad de una población para crecer o mantenerse en unas condiciones dadas y, así, resume el éxito de la población. Esta variable está determinada por el patrón de fecundidad y supervivencia específicas de cada edad; expresión, como ha quedado dicho, de la cantidad de recursos disponibles para estos dos aspectos y de la táctica de la población para optimizar su distribución. El análisis de la tasa instantánea de aumento es considerablemente más simple cuando se asume un crecimiento exponencial de la población. Esta situación se da cuando las tasas de mortalidad y fecundidad específicas de la edad permanecen constantes a lo largo del tiempo y la población ha llegado a la composición estable en clases de edad, a la que necesariamente converge en estas condiciones (Lotka, 1922). En esta situación la tasa instantánea de aumento es constante y se conoce como la tasa intrínseca de aumento,  $r$ .

El valor de  $r$  establece pues el éxito de una población durante la fase de crecimiento exponencial y por esto es usada frecuentemente como medida de eficiencia biológica tanto por ecólogos como por genéticos. Es evidente que, en general, un mayor valor de  $r$  no implica necesariamente un mayor éxito de la población, pero la relevancia de  $r$  tiende a ser mayor cuando la población debe satisfacer una dinámica acelerada de colonización. Las poblaciones de rotíferos desarrollan crecimientos muy rápidos y alcanzan poblaciones numerosas pero frecuentemente transitorias (Allan, 1976). Aun cuando el mantenimiento de una población a un nivel medio constante puede ser importante, la función de  $r$  se considera fundamental en el éxito de la mayoría de los rotíferos planctónicos.

Los capítulos precedentes han puesto de manifiesto una variabilidad importante en las poblaciones de *Brachionus plicatilis* procedentes de ecosistemas incluidos en una extensión geográfica de unos mil kilómetros de dimensión mayor. Junto a esta diversificación genética, también se ha encontrado cierto grado de plasticidad en la respuesta fenotípica a la variación de factores ambientales. Sin embargo, el sentido que puede tener esta variabilidad no se ha podido establecer más que con argumentaciones indirectas y tiene un carácter hipotético.

El número de factores ambientales que condicionan la adaptación puede ser muy elevado. De entre ellos, dos factores abióticos importantes son la temperatura y la salinidad pues, como se mostró en el Capítulo 3, afectan de una manera crítica a la distribución de los rotíferos y de *B. plicatilis* en particular. Existen estudios sobre *B. plicatilis* que han prestado atención a estos factores abióticos. Pero son pocos los trabajos que incorporan la variación genética de la especie y tan sólo King y Miracle (1980), en una investigación centrada sobre el estudio del envejecimiento, han construido tablas de vida dinámicas, o específicas de edad, utilizando cultivos de varias cepas a diferentes temperaturas. Así pues, el comportamiento de genotipos diferentes en combinaciones particulares de salinidad y temperatura ha permanecido sin estudiar. Sin embargo, este tipo de estudios puede esclarecer si la adaptación de las poblaciones está orientada a combinaciones de factores ambientales, más que a valores de estos mismos tomados individualmente. A su vez, permite evaluar más fácilmente el carácter eurioico o estenoico de las poblaciones, el cual puede quedar enmascarado de estudiarse únicamente un factor. La interpretación de respuestas diferentes, determinadas genéticamente, se facilita cuando se dispone de información acerca del origen natural de las cepas, y mucho más si éstas no son elegidas al azar sino como representantes de grupos de cepas con características comunes.

Los capítulos precedentes proporcionan información sobre ambos aspectos, ya que se ha estudiado el tipo de aguas que habita *B. plicatilis* en la región mediterránea española y también se dispone de información que permite agrupar a las cepas por sus características biométricas e isoenzimáticas.

El objeto del presente capítulo es estudiar cómo responde la dinámica poblacional de individuos de *B. plicatilis* con distintos genotipos, seleccionados como representativos de una variación más extensa, a la salinidad y la temperatura; prestando especial atención al distinto grado de adaptabilidad de las cepas y a la respuesta que presentan bajo combinaciones particularmente esperadas de los parámetros abióticos que se estudian. La construcción de tablas de vida dinámicas es laboriosa pero de principios muy sencillos para organismos partenogenéticos y existe suficiente experiencia de su potencia en el análisis de la dinámica poblacional de rotíferos (véanse p.e., King, 1967, 1972 y 1982; Snell y King, 1977; King y Miracle, 1980). Estas técnicas permiten hallar  $r$  y, en ocasiones, conocer qué rasgos demográficos de los organismos actúan sobre la variación de la tasa intrínseca de población.

Como se ha dicho, se utiliza la tasa intrínseca de aumento como criterio de eficiencia biológica. La estimación de  $r$  tiene problemas asociados al carácter discreto de las observaciones, en oposición al carácter continuo de los modelos que permiten hallar este parámetro. Por ello, es también un objetivo del presente trabajo desarrollar modelos de análisis que resuelvan de forma satisfactoria estos problemas.

Por último, este estudio se propone conocer cómo varían otros parámetros de la dinámica poblacional distintos de  $r$ , tanto globales como específicos de la edad, así como la forma en que dicha variación influye sobre la tasa intrínseca de aumento. En particular, se presta atención al estudio de modelos que describan el patrón de supervivencia y a la discusión de las hipótesis que puedan explicar la duración de la vida en estos rotíferos.

## 6.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado la dinámica poblacional de tres cepas (C) de *Brachionus plicatilis* (FCA, SPO y CU) cultivadas en tres condiciones de temperatura (T), 20, 25, y 30°C, y tres salinidades (S), 9, 12 y 24 g/l, generándose 27 situaciones experimentales (3 cepas x 3 temperaturas x 3 salinidades). Las cepas fueron seleccionadas por sus diferencias morfológicas, isoenzimáticas y de comportamiento reproductivo (véanse los Capítulos 4 y 5).

La dinámica poblacional se estudió mediante la obtención de unos datos primarios que recogen la historia vital, desde su nacimiento hasta su muerte, de 50 hembras iniciales en cada una de las situaciones experimentales. Los datos correspondientes a algunas hembras se tuvieron que desestimar por accidentes durante la manipulación de éstas. Con el fin de obtener los datos primarios se establecieron cultivos individuales que fueron examinados periódicamente, utilizando la técnica que a continuación se describe.

Los cultivos destinados a ser seguidos exhaustivamente (*i.e.*, todos los experimentales y algunos pre-experimentales) se realizan en pocillos de vidrio, con una cavidad en forma de casquete esférico, de 22 mm de diámetro mayor, y 0.8 ml de capacidad. Estos cultivos se observan y manipulan bajo un estereomicroscopio de luz transmitida Zeiss (equipado con objetivos desde 0.8x a 5x) y las capturas de rotíferos necesarias se realizan con ayuda de una pipeta Pasteur capilar. Para prevenir la evaporación del medio contenido en los pocillos, éstos se colocan en una placa Petri de 15 cm de diámetro con un poco de agua en el fondo, de manera que se forme una cámara húmeda. El medio de los cultivos experimentales tiene la salinidad adecuada a cada caso y una densidad de algas *Tetraselmis sp.* de  $0.5 \times 10^6$  células/ml, todo ello medido y ajustado como se indica en el apartado 2.3. Los pocillos se mantienen en una cámara a la temperatura experimental (para las restantes condiciones, véase el Capítulo 2).

Los cultivos experimentales comienzan con el aislamiento de neonatos. Para ello se parte de cultivos masivos pre-experimentales de las mismas condiciones de salinidad y temperatura que los de experimentación. Cuando estos cultivos están en fase exponencial avanzada de crecimiento (véase el apartado de Material y Métodos del Capítulo 4), se aíslan unas 200 hembras portadoras de huevos, en pocillos con 0.5 ml del medio de experimentación, de forma que se tengan unas cinco hembras por pocillo. Después de un periodo inferior a 4 horas en la cámara de cultivo a la temperatura adecuada, se aíslan 50 neonatos, descendientes de las hembras previamente separadas. Estos neonatos, cuya vida se va a seguir, se trasladan a pocillos con 0.5 ml de medio y se devuelven a la cámara, iniciándose los cultivos individuales.

Los cultivos individuales son examinados periódicamente, anotándose el número de huevos y descendientes de cada individuo, el sexo de la descendencia, si ha puesto huevos de resistencia y si ha muerto. En el caso de que el individuo seguido permanezca vivo, se traslada a otro pocillo con 0.5 ml de medio fresco. De esta forma, se le separa de su descendencia y se le proporciona una constancia en las características del medio. Esta rutina se mantiene hasta que todos los individuos han muerto.

La periodicidad con que se examinaron los cultivos individuales fue de 24 horas para los cultivos a 20 y 25°C de temperatura y de 12 horas para los cultivos a 30°C. No obstante, si en algunos cultivos y edades de los individuos la reproducción era más rápida de lo habitual, los cultivos se examinaban con mayor frecuencia, retirándose de él los neonatos para no confundirlos con su madre en el caso de que llegasen a adultos antes de que a ésta le fuera renovado el medio. En todos los casos, los neonatos se reconocen por su menor tamaño y porque raramente transportan huevos.

A partir de los datos así obtenidos, se han calculado los valores de los principales parámetros de la dinámica poblacional, los cuales, entre otros, se reseñan en las tablas 6.1 y

6.2 (para una exposición general de las formas de cálculo y el significado de estos parámetros, véanse, p.e., Tanner, 1978; Pianka, 1982; Krebs, 1985). Para aquellos parámetros que poseen el tiempo entre sus dimensiones, la unidad utilizada es el día, con independencia del tiempo transcurrido entre observaciones.

La totalidad o parte de dichos parámetros se ha calculado para tres grupos de hembras: (1) la totalidad de hembras (*i.e.*, hembras amícticas, míticas, e indeterminadas, por no haber producido descendencia), en cuyo caso los parámetros de reproducción se refieren a la descendencia partenogenética de sexo femenino; (2) las hembras amícticas, cuya única descendencia posible es femenina; y (3) las hembras míticas (productoras de machos o huevos de resistencia), para las cuales los parámetros de reproducción se refieren a la descendencia masculina. A este respecto debe tenerse presente que algunos parámetros no tienen el mismo sentido, dependiendo del tipo de hembras sobre el que se hayan calculado. Por ejemplo,  $r$  no tiene el mismo sentido para hembras totales que para hembras amícticas, y carece totalmente de significado para el grupo de las hembras míticas; por esta razón no se ha calculado para este último grupo de hembras. En general, todos los parámetros que suponen una extrapolación a lo que ocurre durante el crecimiento exponencial de la población ( $r$  y  $G$ ) pierden su sentido cuando se considera una ascendencia femenina en relación a su descendencia masculina. En este caso  $Gc$  ya no se puede considerar como un tiempo de generación, dado que la generación filial es de machos y no equivale a la parental, sino que representaría solamente la edad media a la cual nacen los machos. Por la misma razón  $Ro$  se convierte en una medida de producción de machos, de la cual no se puede deducir el *status* -en expansión, equilibrio o retracción- de una subpoblación de hembras míticas, cuyo mantenimiento no depende de ella misma.

Con el objeto de calcular los parámetros demográficos, se desarrollaron modelos de análisis de la dinámica poblacional, los cuales se han comparado con los modelos habituales en la literatura especializada (para detalles sobre estos modelos, véase el apartado siguiente). Los modelos empleados requieren el cálculo de  $r$  a partir de diferentes ecuaciones implícitas. Para resolver éstas se ha empleado el método iterativo de Newton, sobre la transformación logarítmica de la ecuación, siguiéndose el algoritmo expuesto en Tanner (1978). Cuando se aplicó a los modelos desarrollados aquí, se realizaron las adaptaciones necesarias de dicho algoritmo. El cálculo de la derivada de la ecuación con respecto a  $r$  fue realizado por métodos numéricos en todos los casos.

El efecto sobre  $r$  de la interacción entre la salinidad y la temperatura se ha evaluado para cada cepa mediante un modelo aditivo, según el cual la interacción es la diferencia entre el valor observado y el esperado si existiera una relación aditiva entre la salinidad y la temperatura. Esta es una pauta común en los modelos factoriales de análisis de la varianza, y

*Tabla 6.1.* Notación empleada para los parámetros de la dinámica poblacional cuyos valores no dependen del modelo de análisis utilizado. Los parámetros de reproducción están referidos a la descendencia femenina, salvo cuando se acompañan de la letra "m" (adosada), en cuyo caso se refieren a la descendencia masculina (en este caso el sentido del parámetro puede ser distinto al habitual en la literatura).

---

*Parámetros específicos de cada edad*

$x, i$	edad de la cohorte en el momento de realizarse una observación (variable discreta). Cuando en alguna definición se necesitan dos índices de edad, estos se denotan como $x$ e $i$ .
$h$	valor de tiempo o edad arbitrario (variable continua).
$\text{suc}(x)$	edad de la cohorte en la observación siguiente a la realizada en la edad $x$ .
$a[x]$	lapso de tiempo que va desde la edad $x$ a $\text{suc}(x)$ .
$l[x], l[h], l[x+h]$	proporción del número inicial de individuos que sobreviven a la edad exacta que se indica entre paréntesis.
$d[x]$	fracción relativa de los individuos iniciales que mueren entre las edades $x$ y $\text{suc}(x)$ .
$n[x]$	número de individuos que nacen entre las edades $x$ y $\text{suc}(x)$ , por término medio, de cada individuo inicial de la cohorte.

*Parámetros inespecíficos de la edad*

$R_0$	tasa neta de reproducción: número de descendientes que dejan, por término medio, cada individuo inicial de la cohorte.
$T_{1/2}$	periodo de tiempo en el cual $l[0]$ se reduce a la mitad.

---



*Tabla 6.2.* Notación empleada para los parámetros de la dinámica poblacional cuyos valores pueden depender del modelo de análisis empleado. Los parámetros de reproducción están referidos a la descendencia femenina, salvo cuando se acompañan de la letra "m" (adosada), en cuyo caso se refieren a la descendencia masculina (en este caso el sentido del parámetro puede ser distinto al habitual en la literatura).

---

*Parámetros específicos de cada edad*

$s[x]$	proporción media de supervivientes en el intervalo que va de la edad $x$ a la edad $suc(x)$ .
$q[x], q[h], q'[x], q'[h]$	tasa de mortalidad que actúa sobre la cohorte en el intervalo de edad que va desde $x$ hasta $suc(x)$ , si $q[x]$ ; o a la edad $h$ , si $q[h]$ ; el apóstrofe adosado a la $q$ indica que se trata de una tasa instantánea.
$m[x], m[h]$	tasa de fecundidad que presenta la cohorte en el intervalo de edad $x$ a $suc(x)$ , si $m[x]$ , o en la edad $h$ , si $m[h]$ .
$e[x], e[h]$	esperanza de vida a la edad que se indica.
$v[x], v[h]$	valor reproductivo de la edad que se indica (Fisher, 1930).
$vr[x], vr[h]$	valor reproductivo residual de la edad que se indica (Williams, 1966).

*Parámetros inespecíficos de la edad*

$G_c$	tiempo de generación de la cohorte.
$r_c$	tasa instantánea de aumento de la cohorte.
$G$	tiempo de generación.
$r$	tasa intrínseca de aumento.
$erd$	esfuerzo reproductivo diario, descendencia media por unidad de tiempo vivido.

---

consiste en descomponer el valor de un parámetro en términos aditivos asignables a fuentes de variación. En el presente caso, cada valor de  $r$  de una cepa en unas condiciones dadas de salinidad y temperatura se descompone en cuatro términos: (1) la media general de todas las  $r$  observadas para la cepa de que se trate; (2) la desviación debida a la temperatura de que se trate, calculada como la diferencia entre la media de todas las  $r$  de la cepa en la temperatura correspondiente y la media general (*i.e.*, el primer término); (3) la desviación debida a la salinidad de que se trate, calculada de forma análoga al segundo término; y (4) el término de interacción entre la salinidad y la temperatura para una cepa y condiciones de cultivo dadas, calculado como la diferencia entre el valor observado de  $r$  y la suma de los tres primeros términos.

Para el análisis de la curva de supervivencia se han empleado dos técnicas. La primera intenta esclarecer la curvatura resultante de la transformación logarítmica de la supervivencia, en relación a la edad. Para ello se ajustan, a los datos transformados logarítmicamente, modelos polinómicos de grado creciente (*i.e.*, equivalentes a una recta, a una cuadrática y a una cúbica), estudiándose, mediante análisis de la varianza, la significación de cada modelo con respecto al polinomio de grado inmediatamente inferior (véase Cooley y Lohnes, 1971). Esta técnica permite discriminar entre las curvas de supervivencia de Tipo I, II y III (véase Krebs, 1985). La curva de Tipo II (*i.e.*, mortalidad específica de la edad constante a lo largo de toda la vida) es una recta cuando la escala de supervivencia se transforma logarítmicamente. Así, los Tipos I y III (*i.e.*, mortalidad específica de la edad creciente o decreciente con la edad) se pueden detectar estadísticamente en el caso de que un modelo más complejo que el lineal se ajuste significativamente mejor a los datos (los cuales son los pares formados por las supervivencias transformadas logarítmicamente y las edades correspondientes). La distinción entre los Tipos I y III es generalmente obvia, pero queda patente en el signo del coeficiente del término cuadrático de la regresión. Si el término lineal es negativo y el cuadrático también lo es, la curva aumenta el valor absoluto de su pendiente con la edad (Tipo I).

La segunda técnica empleada estudia el ajuste de los datos a varios modelos teóricos, según se propone en Geham y Siddiqui (1973) y Lee (1980). Para ello se ha utilizado el programa "Regress", escrito por A.D. Kenedy (véase Lee, 1980) en FORTRAN, e implementado para un ordenador IBM-PC con sistema operativo MS-DOS por J.J. Tarín.

Los modelos de supervivencia específica de la edad estudiados son: (1) modelo exponencial, según el cual la función de riesgo ( $H$ ; equivalente a la mortalidad instantánea específica de edad) no cambia con la edad,  $H(t) = b$ ; (2) modelo lineal exponencial, con una función de riesgo igual a una recta; (3) modelo de Gompertz, donde la función de riesgo cambia exponencialmente a partir de un valor inicial; y (4) modelo de Weibull, cuya función de riesgo es

$$H(t) = b - c(bt)^{c-1}$$

(para una discusión del uso de esta función en dinámica de poblaciones, véase Pinder *et al.*, 1978).

Los tres últimos modelos poseen dos parámetros, denominados genéricamente  $b$  y  $c$ , y son extensiones del primer modelo, que posee un único parámetro. Por ello los modelos de dos parámetros se pueden contrastar estadísticamente contra el modelo exponencial.

En todos los modelos con dos parámetros,  $c$  mide la rapidez con que cambia la mortalidad con la edad, y la familia de curvas que dan estos modelos se pueden poner en relación con las curvas de supervivencia de los Tipos I, II y III. El modelo exponencial implica una curva de Tipo II. En los modelos lineal-exponencial y de Gompertz, si  $c > 0$ , la función de riesgo crece con la edad (*i.e.*, Tipo I); con  $c = 0$ , se reducen al modelo exponencial y, por lo tanto, a una curva de Tipo II; con  $c < 0$ , la función de riesgo decrece con la edad (Tipo III). En el modelo de Weibull, los Tipos I, II y III se obtienen respectivamente con  $c > 1$ ,  $c = 1$  (reducción al modelo exponencial) y  $c < 1$ .

La bondad de ajuste y el contraste de hipótesis se evaluó mediante pruebas ji-cuadrado, realizadas sobre comparaciones de los logaritmos naturales de las funciones de verosimilitud, de acuerdo con Lee (1980).

La comprobación de hipótesis acerca de la relación entre el tiempo de generación y la duración de la vida se ha llevado a cabo mediante una prueba  $t$  de Student (Sokal y Rohlf, 1979), sobre la distribución del cociente entre parametrizaciones de las dos características citadas, realizadas respectivamente como  $G$  y  $T_{1/2}$ , y también como  $Gc$  y  $e[0]$ . Además, se ha realizado un análisis de correlación lineal para ambos pares de parámetros, y se ha calculado la línea de regresión de Teissier (véase Jensen, 1986). Este último tipo de análisis de regresión se ha usado igualmente para evaluar las relaciones entre otros parámetros de la dinámica de poblaciones.

Todos los cálculos que comportan los análisis descritos más arriba -excepto los realizados por el programa "Regress" ya citado- se llevaron a cabo en programas escritos en lenguaje APL, realizados por este autor, y ejecutados en ordenadores IBM-AT e IBM-PC.

### 6.3. DESARROLLO DE MODELOS: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

#### Consideraciones previas

En una tabla dinámica de vida aparecen parámetros específicos de edad y globales entre los cuales, y desde una perspectiva metodológica, se pueden distinguir dos tipos: (1) parámetros que son directamente observables, como el número de supervivientes o de descendientes; (2) parámetros que se calculan mediante la expresión matemática que los define, como en el caso de las tasas de mortalidad y fecundidad; (3) parámetros que se calculan utilizando un modelo de comportamiento de la población y que pueden contrastarse mediante aproximaciones diferentes a la construcción de las tablas dinámicas de vida. Ejemplos de este último tipo de parámetros son la esperanza de vida y la tasa intrínseca de aumento, entre otros.

El primer tipo de parámetros tiene un sentido obvio y está bastante libre de criticismo teórico. A estos parámetros tan sólo les son relevantes aspectos metodológicos como, p.e., la frecuencia con que son observados. Su idoneidad para describir la dinámica poblacional depende más de las características del diseño experimental que de definiciones o modelos.

El segundo tipo de parámetros plantea algunos problemas de interés. Tradicionalmente las tasas de fecundidad y mortalidad se definen respectivamente como las proporciones de nacimientos y muertes en un intervalo de edad, con respecto al número inicial de supervivientes en dicho intervalo (véase p.e., Tanner, 1978; Hutchinson, 1981; Krebs, 1985). Esto es, se definen (1) como tasas finitas y (2) en relación a los valores iniciales de supervivencia. Tal forma de definición tiene como consecuencia que los valores de las tasas dependan de la amplitud del intervalo. Por ejemplo, si una tasa de mortalidad para un intervalo dado es de 0.4 individuos por día, la tasa de mortalidad no tiene por qué ser de 0.2 individuos por medio día. En el caso de la fecundidad, la definición puede sugerir que todos los nacidos en un intervalo lo hacen a partir del número inicial. Sin embargo, algunos descendientes podrían aparecer cuando ya hayan muerto parte de los supervivientes iniciales. Estas cuestiones no representan una dificultad grave en el manejo de las tasas. Se pueden desarrollar fórmulas que conviertan tasas de una unidad de tiempo a otra, y los restantes problemas son únicamente de comprensión de lo que una tasa dice acerca de la población.

Para el tercer grupo de parámetros, la definición supone necesariamente un modelo de comportamiento poblacional. Este es el caso de la esperanza de vida cuyo cálculo necesita de un supuesto sobre cómo ocurren las muertes entre dos observaciones, siendo habitual suponer que el número de supervivientes evoluciona linealmente dentro de dicho intervalo (p.e.,

Krebs, 1985). El cálculo de la tasa intrínseca de aumento mediante ecuaciones implícitas (p.e., la ecuación característica de Euler) también requiere de supuestos, aunque en este caso, éstos sean más complejos.

En general, a medida que los supuestos tienen más significado teórico, aparece una contraposición entre dos características del estudio de la dinámica de las poblaciones: (1) los modelos que se aplican a las tablas dinámicas de vida son continuos (Pielou, 1982) y (2) las observaciones que realiza el investigador son discretas. Esta contraposición está presente en muchos campos de la ciencia. De hecho, es sólo una parte de una contraposición con tres términos: se concibe que la naturaleza íntima de los fenómenos es discreta, los modelos o sistemas de razonamiento más cómodos suponen continuidad, pero la operación de medida vuelve a tener un carácter discreto aun cuando, en general, de un grano más grueso al que se da en los fenómenos naturales.

Las soluciones que se proponen al cálculo de los parámetros del tercer tipo, citado más arriba, implican alguna forma de interpolación. En la literatura especializada existen diferentes modos de solventar el problema, pero adolecen frecuentemente de dos defectos: (1) irrealismo, (p.e., en la forma habitual de cálculo de  $r$  mediante la ecuación de Euler, se supone que los nacimientos ocurren en el momento inicial del intervalo) y (2) indefinición, proponiéndose soluciones que asumen supuestos no explícitos, lo cual puede llevar a inconsistencias, esto es, a una contradicción entre supuestos; por ejemplo, se puede suponer una evolución lineal de la supervivencia entre observaciones consecutivas y, simultáneamente, que todos los nacimientos ocurridos en un intervalo nacen del número de supervivientes que existen al inicio del mismo (obsérvese que, de esta forma, en el cálculo de  $r$  pueden aparecer dos parámetros, tasa de fecundidad y supervivencia a una edad dada, calculados cada uno de ellos por un criterio distinto). Las consecuencias de estos defectos disminuyen a medida que la frecuencia de las observaciones es mayor, acercándose a la continuidad.

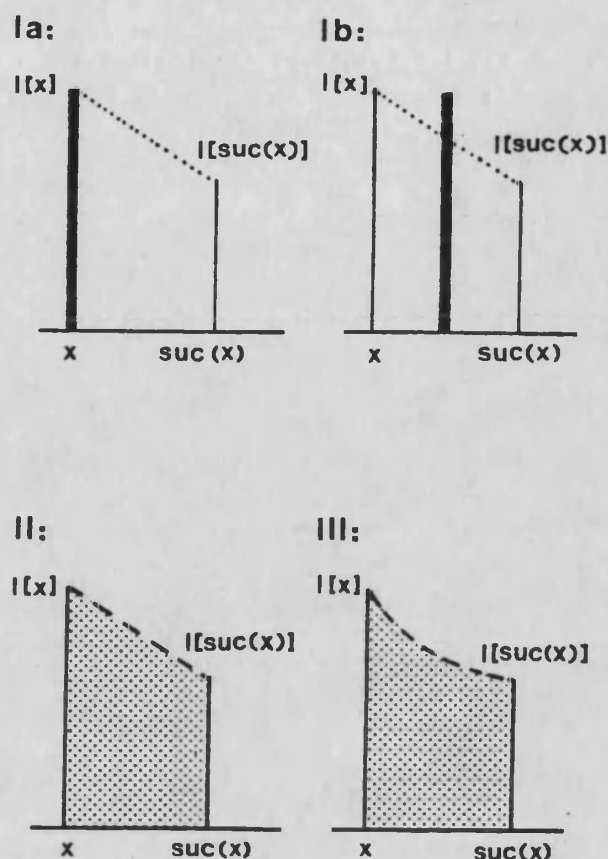
En lo que este autor conoce, la literatura reciente que trata la metodología de las tablas de vida se ha ocupado principalmente de los aspectos estadísticos de la estima de parámetros (p.e., Lenski y Service, 1982; Bart y Robson, 1982; Pyke y Thompson, 1986). Sin embargo, también se puede encontrar trabajo que se ocupen de problemas como los expuestos más arriba, como el estudio realizado por Michod y Anderson (1980), que trata de esclarecer las estimas de  $r$  y  $l[x]$  mediante datos de frecuencias de edad. Este artículo ha sido contestado por Pielou (1982), quien pone de manifiesto la confusión existente en dicho artículo entre conceptos demográficos propios de las tablas de edad estáticas y conceptos propios de las tablas de supervivencia dinámicas, lo que, según Pielou, invalida algunas de las conclusiones obtenidas por Michod y Anderson.

Una crítica más de fondo respecto a las técnicas demográficas se puede encontrar en Margalef (1974). Este autor, aunque a propósito del problema de la ergodicidad -propio de las tablas estáticas-, plantea que los métodos muy sofisticados para evaluar los parámetros demográficos pueden suponer una abstracción que desestime las irregularidades de dichos parámetros, las cuales pueden ser ecológicamente relevantes, ya que es posible que determinen la diferencia entre la supervivencia y la extinción de las poblaciones. Sin embargo, cuando se trata de datos experimentales y de tablas específicas de edad (en las cuales las dificultades técnicas son menores), esta perspectiva crítica, aun cuando debe tenerse como referencia, parece relativizarse. En dichos estudios se asume desde un inicio que se está tratando con una situación idealizada (el cultivo experimental), y los análisis demográficos son frecuentemente comparativos, por lo que la exactitud en la estimación de los parámetros es más pertinente. En cualquier caso, parece deseable que las expresiones utilizadas para los cálculos demográficos posean unos supuestos explícitos, de manera que no se confunda la no declaración de las hipótesis de un modelo con la inexistencia de éstas.

Por todo ello, se han desarrollado dos modelos que tratan de abordar el problema del cálculo de parámetros estableciendo unas leyes de interpolación explícitas. Los resultados obtenidos con estos modelos se han comprobado con los obtenidos aplicando modelos más tradicionales sobre los mismos datos experimentales.

### **Caracterización de los modelos**

En el modelo denominado aquí Modelo I, los parámetros han sido tratados en la forma habitual (p.e., Lotka, 1922; Birch, 1948; Pielou, 1974; Tanner, 1978; Charlesworth, 1980; Krebs, 1985) de forma que  $r$  se calcula como la raíz real de la ecuación característica de Euler (Pianka, 1982). Dado que, según los autores, algunas cuestiones se resuelven de forma diferente, el cálculo de  $r$  y de  $G$  se ha realizado mediante las modalidades Ia y Ib (véase la figura 6.1).



**Figura 6.1.** Representación de los supuestos de los Modelos I (a y b), II y III. La evolución del número de supervivientes se indica mediante las líneas que unen los valores de  $l$ , de puntos si el supuesto es implícito o de trazos si es explícito. El tiempo en que se considera que tiene lugar la reproducción se indica mediante la posición de una barra gruesa, si se supone concentrada en un punto del intervalo, o mediante una trama de puntos, si se supone repartida en todo el intervalo. La altura de la barra o la superficie de la trama indican respectivamente el número de individuos o el de individuos por tiempo sobre los cuales se calcula la tasa de fecundidad.

Los modelos desarrollados, que se han denominado Modelo II y Modelo III, siguen una lógica muy simple. En cada uno de los dos modelos se ha supuesto una ley de interpolación, que expresa cómo evoluciona el número de supervivientes entre dos observaciones. En cada ley de interpolación aparecen tres términos: el valor inicial de supervivientes, la edad exacta a la cual se desea interpolar y una constante para cada intervalo, que equivale a una tasa de mortalidad finita o instantánea, según el modelo de que se trate. Esta tasa se puede evaluar a partir de los valores extremos del intervalo, los cuales son conocidos. Una vez establecida la función de interpolación, las restantes tasas y parámetros se definen como se haría en un modelo continuo (tabla 6.3). Para el Modelo II, la ley de

**Tabla 6.3.** Comparación, para algunos parámetros y ecuaciones de dinámica poblacional, entre un modelo continuo y un modelo continuo por interpolación entre observaciones discretas. (Para el modelo continuo, véanse, p.e., Lotka, 1922; Charlesworth, 1980; y Pianka, 1982).

	Modelo continuo	Modelo continuo por interpolación entre observaciones discretas
edad	$h \in [0, \infty[$  $x$ : valor inicial de un intervalo de edad, desde $x$ a $x+a[x]$	$x+h$  $x \in$ lista ordenada de valores de edad para los cuales existe observación $h \in [0, a[x][$
supervivencia	$l[h]$	$l[x+h] = F(l[x]; h; q[x] \text{ o } q'[x])$ (F: función de interpolación)
supervivencia media	$s[h] = \frac{1}{a[x]} \int_x^{x+a[x]} l[h] \cdot dh$	$s[x] = \frac{1}{a[x]} \int_0^{a[x]} l[x+h] \cdot dh$
nacimientos, fecundidad	$n[x] = \int_x^{x+a[x]} l[h] \cdot m[h] \cdot dh$	$n[x] = \int_0^{a[x]} l[x+h] \cdot m[x] \cdot dh$
ecuación para el cálculo de $r$	$1 = \int_0^{\infty} \exp(-rh) \cdot l[h] \cdot m[h] \cdot dh$	$1 = \sum_{[x]} \int_0^{a[x]} \exp(-r \cdot (x+h)) \cdot l[x+h] \cdot m[x] \cdot dh$



interpolación es lineal, mientras que en Modelo III, esta ley es exponencial. Las diferencias entre los modelos se muestran esquemáticamente en la figura 6.1.

En los parámetros de mortalidad y supervivencia específica de la edad ( $s[x]$ ,  $q[x]$  o  $q'[x]$ ,  $e[x]$ ; tabla 6.4 y el Apéndice D), los Modelos I y II son coincidentes, pero difieren de los propios del Modelo III. El Modelo II -e implícitamente el Modelo I- presupone que el número de muertes es constante para cualquier subintervalo entre dos observaciones cualesquiera, mientras que el Modelo III establece la constancia de la tasa de mortalidad para los valores de edad entre dos observaciones consecutivas. En este último modelo, al contrario que en los restantes, la mortalidad se describe mediante una tasa instantánea de muerte. Este tipo de tasas facilita el tratamiento de intervalos de desigual amplitud puesto que permite calcular tasas inmediatamente comparables. Un problema asociado al Modelo III es el cálculo de la tasa cuando la cohorte se extingue. Esta dificultad se ha solventado aquí mediante un artificio de cálculo, suponiendo que el número de supervivientes posee un valor distinto de cero, pero tan pequeño que es despreciable (se ha tomado el inverso de un número diez veces mayor que el de individuos iniciales que componen la cohorte).

Dentro del tratamiento continuo de los Modelos II y III, se ha creído conveniente definir la tasa de fecundidad sobre el valor medio de individuos que sobreviven en el intervalo y no sobre el valor inicial en dicho intervalo (tabla 6.4; Apéndice D, ec. d.11). De esta forma, el número de nacimientos que ocurren en un intervalo aparece como la integral con respecto a la edad del número de supervivientes en un instante dado, multiplicado por la tasa de fecundidad propia del intervalo (tabla 6.3; Apéndice D, ec. d.10). La fecundidad así definida facilita el cálculo de otros parámetros ( $G_c$  y  $r$ ).

Las tablas 6.5 y 6.6 completan la presentación de las fórmulas de cálculo para los parámetros de la dinámica poblacional, cuya deducción figura en el Apéndice D. En ellas se puede observar que el grado de complejidad de las expresiones es considerablemente mayor en los Modelos II y III que en el Modelo I (a y b). Sin embargo, el uso de ordenadores convierte en irrelevante esta mayor complejidad en cuanto a la resolución de las ecuaciones se refiere, aun si el valor que se busca está implícito (cálculo de  $r$ ) y la solución requiere el empleo de rutinas iterativas.

Los Modelos II y III cuentan a su favor con una mayor claridad y realismo en las hipótesis en que se basan (p.e., ley de interpolación explícita y reparto de los nacimientos durante todo el intervalo, proporcionalmente a la supervivencia). A su vez, el Modelo III facilita el tratamiento de intervalos de tiempo desiguales (dentro de una tabla de vida o entre tablas)

Para evaluar estos modelos tan concretamente como fuera posible, se han aplicado sobre unos mismos datos experimentales, comparándose los resultados. Además, la

**Tabla 6.4.** Modelos I, II, III: leyes de interpolación y expresiones para el cálculo de los parámetros específicos de la edad que no necesitan del valor de  $r$ . La ley de interpolación del Modelo I está implícita en la definición de  $s[x]$ . (Para las fórmulas del Modelo I, véanse, p.e., Tanner, 1978; Pianka, 1982; Krebs, 1984; y para las de los Modelos II y III, el Apéndice D).

	Modelo I	Modelo II	Modelo III
interpolación	$l[x+a[x]/2] = \frac{l[x]+l[suc(x)]}{2}$	$l[x+h] = l[x] - h \cdot q[x] \cdot l[x]$	$l[x+h] = l[x] \cdot \exp(-q[x] \cdot h)$
tasa de mortalidad <sup>a</sup>	$\frac{l[x]-l[suc(x)]}{l[x] \cdot a[x]}$	como en el Modelo I	$\frac{\ln(l[x]) - \ln(l[suc(x)])}{a[x]}$
$s[x]$ :	$l[x+a[x]/2] = \frac{l[x]+l[suc(x)]}{2}$	como en el Modelo I	$\frac{l[x] \cdot (1 - \exp(-a[x] \cdot q[x]))}{q[x] \cdot a[x]}$
$m[x]$ :	$\frac{n[x]}{l[x] \cdot a[x]}$	$\frac{n[x]}{s[x] \cdot a[x]}$	$\frac{n[x]}{s[x] \cdot a[x]} \quad b$
$e[x]$ :	$\frac{(\sum_{[i \geq x]} a[i] \cdot s[i])}{l[x]}$	como en el Modelo I	$\frac{(\sum_{[i \geq x]} a[i] \cdot s[i])}{l[x]} \quad b$

a.  $q[x]$  para los Modelos I y II, y  $q'[x]$  para el Modelo III.

b. Obsérvese que en este modelo  $s[x]$  (o  $s[i]$ ) no se calcula de igual forma que en los Modelos I y II, por lo que esta expresión no es equivalente a las correspondientes para estos últimos modelos.

**Tabla 6.5.** Modelos I, II y III: expresiones para el cálculo de los parámetros globales que no necesitan del valor de  $r$ . Obsérvese que algunos parámetros se calculan mediante términos iguales en los tres modelos, pero esto no supone su identidad, dado que estos términos dependen del modelo. (Para las fórmulas del Modelo I, véase Tanner, 1978 para los demás modelos, véase el Apéndice D).

---

Modelo I	$G_c = \frac{1}{\sum_{[x]} n[x]} \sum_{[x]} n[x] \cdot x$	
Modelo II	$G_c = \frac{1}{\sum_{[x]} n[x]} \sum_{[x]} n[x] \left[ \frac{6x + 3a[x] \cdot (1 - q[x]) - 2a[x]^2 \cdot q[x]}{3(2 - q[x] \cdot a[x])} \right]$	
Modelo III	$G_c = \frac{1}{\sum_{[x]} n[x]} \sum_{[x]} n[x] \left[ x + \frac{1 - (1 + q'[x] \cdot a[x]) \cdot \exp(-q'[x] \cdot a[x])}{q'[x] \cdot (1 - \exp(-q'[x] \cdot a[x]))} \right]$	
Modelos I, II y III	$rc = \frac{\ln(R_0)}{G_c};$	$erd = \frac{R_0}{e[0]}$

---

**Tabla 6.6.** Modelos I(a y b), II y III: ecuaciones para hallar la tasa intrínseca de reproducción y los parámetros en cuyos cálculos interviene  $r$ . El valor de  $r$  que aparece en estas últimas es el propio de cada modelo. (Para las fórmulas del modelo Ia, véanse, p.e., Pielou, 1974; Pianka, 1982; Krebs, 1985. Para el modelo Ib, véanse, p.e., Birch, 1948; y Tanner, 1978; para la fórmula de  $vr$ , véase Snell y King, 1977).

Concepto	Modelos	Ecuación ( $K[x]$ depende del modelo)
Ecuación para el cálculo de $r$	Ia, II y III	$1 = \sum_{[x]} \exp(-r \cdot x) \cdot l[x] \cdot m[x] \cdot K[x]$
	Ib	$1 = \sum_{[x]} \exp(-r \cdot (x+1/2)) \cdot l[x+1/2] \cdot m[x]$
Tiempo de generación	Ia, Ib, II y III	$G = \ln(R_0) / r$
Valor reproductivo	Ia, II y III	$v[x] = (\exp(r \cdot x) / \ln[x]) \sum_{[i \geq x]} \exp(-r \cdot i) l[i] \cdot m[i] \cdot K[i]$
Valor reproductivo residual	Ia, II y III	$vr[x] = (l[x] / l[\text{suc}(x)]) \cdot \exp(-r \cdot a[x]) \cdot v[\text{suc}(x)]$
<hr/> <p>Modelo Ia  <math>K[x] = 1</math></p> <p>Modelo II</p> $K[x] = \left[ \frac{1 - \exp(-r \cdot a[x])}{r} + \frac{q[x] \cdot a[x] \cdot r \cdot \exp(-r \cdot a[x]) + q[x] \cdot \exp(-r \cdot a[x]) - q[x]}{r^2} \right]$ <p>Modelo III</p> $K[x] = \frac{1 - \exp(-a[x] \cdot (r + q'[x]))}{r + q'[x]}$ <hr/>		

comparación de los resultados obtenidos mediante los distintos modelos puede ayudar a valorar si el intervalo entre observaciones es adecuado, pues los modelos tenderán a rendir resultados más similares cuanto menor sea el intervalo entre observaciones.

### Comparación numérica entre modelos

Las tablas 6.7, 6.8 y 6.9 han sido calculadas respectivamente mediante los Modelos I, II y III, sobre unos mismos datos. Se observa en ellas la identidad antes comentada de los Modelos I y II en lo que a los parámetros de supervivencia se refiere. El Modelo III da valores ligeramente menores -y ocasionalmente iguales- de  $s[x]$  y  $e[x]$ , como cabe esperar de los supuestos del modelo. Esto se debe a que, en el Modelo III, el número de muertes es más elevado al principio que al final del intervalo, ya que, si la tasa de mortalidad es constante, deberán producirse más muertes cuando hay más individuos vivos (véase la figura 6.1), por lo que el tiempo total vivido en un intervalo resulta menor según este modelo. Por otra parte, las tasas de mortalidad del Modelo III no son comparables a las de los restantes modelos.

Las tasas de fecundidad se ordenan, según el modelo, de la siguiente forma:  $III \geq II \geq I$ . Las diferencias entre el Modelo I y los restantes son apreciables, y se deben a que en el primero la tasa se refiere, por definición, a los valores de supervivencia en el inicio del intervalo. Por el contrario, las diferencias entre II y III son muy pequeñas, y se deben al distinto modelo de mortalidad que se asume en cada caso. En el Modelo II, un mismo número de nacimientos hay que repartirlo entre mayor tiempo vivido (véase la figura 6.1).

Aún existiendo las diferencias comentadas, los valores proporcionados por los distintos modelos -exceptuando los valores de las tasas de mortalidad, con un significado muy distinto según el modelo- son muy parecidos entre sí, poniéndose de manifiesto que el intervalo entre observaciones es lo suficientemente pequeño como para que la técnica de interpolación no afecte demasiado a los resultados.

El tiempo de generación y la tasa intrínseca de aumento calculados muestran diferencias bastante acusadas entre el Modelo Ia y los restantes. El Modelo Ia asume que toda la reproducción ocurre en el momento inicial del intervalo y, en consecuencia, sobreestima  $r$  y  $G$  en relación a los demás modelos. Las diferencias entre las  $r$  del Modelo Ib y de los Modelos II y III son pequeñas, mientras que entre estos dos últimos son prácticamente inexistentes, y difieren sólo a partir de la quinta cifra decimal.

Se han hallado también los valores de  $r$  mediante los cuatro métodos para las 27 cohortes estudiadas experimentalmente. Las relaciones que se observan para esta tasa son siempre las siguientes:  $Ia > III > II > Ib$ . Tomando como criterio el Modelo III, el Modelo II se

**Tabla 6.7.** Tabla de vida para la cepa FCA cultivada a 25°C de temperatura y 12 g/l de salinidad y analizada según el Modelo I (número inicial de individuos: 45; la unidad de tiempo empleada es el día; los valores de  $v[x]$  y  $vr[x]$  se han calculado según la modalidad Ia).

x	a [x]	l [x]	d [x]	n [x]	s [x]	q [x]	m [x]	e [x]	v [x]	vr [x]
0	1	1.000	0.178	0.000	0.911	0.178	0.000	4.344	1.000	1.000
1	1	0.822	0.089	1.978	0.778	0.108	2.405	4.176	4.226	1.820
2	1	0.733	0.111	4.267	0.627	0.152	5.818	3.621	7.090	1.272
3	1	0.622	0.067	2.822	0.589	0.107	4.536	3.179	5.210	0.674
4	1	0.556	0.156	1.311	0.478	0.280	2.360	2.500	2.623	0.263
5	1	0.400	0.067	0.444	0.367	0.167	1.111	2.278	1.269	0.158
6	1	0.333	0.178	0.200	0.244	0.533	0.600	1.633	0.658	0.058
7	1	0.156	0.044	0.067	0.133	0.286	0.429	1.929	0.429	0.000
8	1	0.111	0.044	0.000	0.089	0.400	0.000	1.500	0.000	0.000
9	1	0.067	0.044	0.000	0.044	0.667	0.000	1.167	0.000	0.000
10	1	0.022	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	1.500	0.000	0.000
11	1	0.022	0.022	0.000	0.011	1.000	0.000	0.500	0.000	0.000

R0:	11.090	Ia	Ib
Gc:	2.535		
rc:	0.949	r: 1.24541125	r: 0.94776368
erd:	2.55	G: 1.93	G: 2.538

**Tabla 6.8.** Tabla de vida para la cepa FCA cultivada a 25°C de temperatura y 12 g/l de salinidad y analizada según el Modelo II (número inicial de individuos: 45; la unidad de tiempo empleada es el día).

x	a [x]	l [x]	d [x]	n [x]	s [x]	q [x]	m [x]	e [x]	v [x]	vr [x]
0	1	1.000	0.178	0.000	0.911	0.178	0.000	4.344	1.000	1.000
1	1	0.822	0.089	1.978	0.778	0.108	2.543	4.176	3.211	1.658
2	1	0.733	0.111	4.267	0.678	0.152	6.295	3.621	4.907	1.135
3	1	0.622	0.067	2.822	0.589	0.107	4.792	3.179	3.532	0.604
4	1	0.556	0.156	1.311	0.478	0.280	2.744	2.500	1.785	0.236
5	1	0.400	0.067	0.444	0.367	0.167	1.212	2.278	0.865	0.144
6	1	0.333	0.178	0.200	0.244	0.533	0.818	1.633	0.456	0.050
7	1	0.156	0.044	0.067	0.133	0.286	0.500	1.929	0.282	0.000
8	1	0.111	0.044	0.000	0.089	0.400	0.000	1.500	0.000	0.000
9	1	0.067	0.044	0.000	0.044	0.667	0.000	1.167	0.000	0.000
10	1	0.022	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	1.500	0.000	0.000
11	1	0.022	0.022	0.000	0.011	1.000	0.000	0.500	0.000	0.000

R0:	11.09		
Gc:	3.192		
rc:	0.753	r:0.9708139	
erd:	2.55	G:2.478	

**Tabla 6.9.** Tabla de vida para la cepa FCA cultivada a 25°C de temperatura y 12 g/l de salinidad y analizada según el Modelo III (número inicial de individuos: 45; la unidad de tiempo empleada es el día).

x	a [x]	l [x]	d [x]	n [x]	s [x]	q' [x]	m [x]	e [x]	v [x]	vr [x]
0	1	1.000	0.178	0.000	0.908	0.196	0.000	4.313	1.000	1.000
1	1	0.822	0.089	1.978	0.777	0.114	2.546	4.140	3.211	1.658
2	1	0.733	0.111	4.267	0.676	0.164	6.309	3.583	4.907	1.135
3	1	0.622	0.067	2.822	0.588	0.113	4.798	3.136	3.533	0.604
4	1	0.556	0.156	1.311	0.474	0.329	2.769	2.453	1.786	0.236
5	1	0.400	0.067	0.444	0.366	0.182	1.215	2.223	0.866	0.144
6	1	0.333	0.178	0.200	0.233	0.762	0.857	1.571	0.457	0.050
7	1	0.156	0.044	0.067	0.132	0.336	0.505	1.867	0.282	0.000
8	1	0.111	0.044	0.000	0.087	0.511	0.000	1.425	0.000	0.000
9	1	0.067	0.044	0.000	0.040	1.099	0.000	1.070	0.000	0.000
10	1	0.022	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	1.391	0.000	0.000
11	1	0.022	0.022	0.000	0.009	2.303	0.000	0.391	0.000	0.000

R0: 11.09

Gc: 3.021

rc: 0.797

erd: 2.55

r: 0.9708351

G: 2.478



desvía menos del 0.01% en el cálculo de  $r$ . La desviación del Modelo Ib oscila entre 0.1 y el 4%, mientras que la desviación del Modelo Ia es del 1 al 30%.

La ecuación Ia para el cálculo de  $r$  da unos valores considerablemente mayores que las restantes. Esta observación, junto con el irrealismo de su hipótesis para organismos de reproducción continua, hace que dicha ecuación no se considere adecuada para las estimas de la tasa intrínseca de aumento. Los métodos del tipo utilizado por el Modelo Ib (propuestos, p.e., en Birch, 1948, y Tanner, 1978) dan valores de  $r$  próximos a los estimados por los modelos desarrollados en el presente trabajo; aunque debe tenerse en cuenta que las diferencias pueden aumentar si se incrementa el tiempo entre observaciones.

Los Modelos II y III parecen preferibles al Modelo Ib por las razones expuestas más arriba, relativas al carácter explícito de sus hipótesis. Por otro lado, las estimas de  $r$  dadas por los Modelos II y III poseen diferencias mínimas, por lo que parece irrelevante optar por uno u otro. Atendiendo a que el Modelo III calcula una tasa instantánea de muerte, lo cual permite un tratamiento más homogéneo de tablas de vida con distintas frecuencias de observación, se ha elegido este modelo para realizar el análisis de datos.

Antes de concluir con este apartado es importante señalar que todos los modelos estudiados comparten la característica común de ser muy apriorísticos. Las diferencias entre ellos se establecen por lo que suponen que ocurre entre dos observaciones consecutivas, y el supuesto se mantiene constante para cualquier par de observaciones. Por ello, deben usarse hipótesis muy generales fundadas en algún tipo de constancia (p.e., constancia en el número de muertes o en la tasa de mortalidad para cualquier subintervalo). Esta forma de abordar el problema ignora la información que da la estructura de supervivencia para las edades exactas observadas, la cual puede ser utilizada para evaluar la supervivencia en las edades en la que no existe observación. Una alternativa que atiende este aspecto consistiría en el ajuste de una función a los valores de supervivencia observados, y después utilizar dicha función para resolver la interpolación del valor de supervivencia a cualquier edad. Además, si la función de supervivencia utilizada se derivase de una función de probabilidad de muerte dependiente de la edad, el método tendría la virtud de asumir únicamente la continuidad en la evolución de la probabilidad de muerte, y de no hacerlo con respecto a la muerte de los organismos, que por ser un suceso es evidentemente un fenómeno discreto. Lamentablemente, los modelos de este tipo más utilizados (modelo de Gompertz, modelo de Weibull, etc.; véase el apartado de Material y Métodos) no dan una descripción muy ajustada de la supervivencia de algunos organismos (p.e., véase el apartado de Resultados), y su uso podría introducir errores mayores que los que se intentan evitar.

## 6.4. RESULTADOS

### Análisis de supervivencia

Durante su cultivo, la cepa FCA mostró un comportamiento de movilidad diferente a SPO y CU, ya que los individuos de estas dos últimas se fijaban sólo ocasionalmente mediante el pie a las paredes del pocillo, mientras que las hembras de FCA lo hacían con frecuencia. En todos los casos, se observó que las hembras viejas son menos activas en la natación. El tegumento de estas hembras puede tornarse ligeramente pardo, pero aumenta la transparencia global de su cuerpo, al verse drásticamente disminuida su masa visceral, especialmente el germovitelario.

Las figuras 6.2, 6.3 y 6.4 muestran las curvas de supervivencia y la esperanza de vida en el nacimiento, para todas las hembras de las cohortes estudiadas. En todas ellas aparece el efecto de la temperatura sobre la duración de la vida. Al igual que ocurre con los parámetros de reproducción que llevan implícito el tiempo (véase más adelante), la duración de la vida se ve fuertemente influida por la temperatura, reduciéndose con el incremento de ésta. Por el contrario los restantes factores estudiados influyen poco; esto es, ninguna cepa o salinidad destaca por un aumento o disminución considerable de la mortalidad, con independencia de los demás factores. Como corresponde a la contracción del tiempo biológico que ocasiona el incremento de la temperatura, las dispersiones entre las curvas de supervivencia tienden a disminuir con el aumento de este factor.

Las curvas de supervivencia son curvas del Tipo I (véase, p.e., Krebs, 1985), como se puede apreciar en las figuras 6.2, 6.3 y 6.4. Es decir, para cualquier cepa y condición de cultivo, la mortalidad específica de la edad cambia con la edad, dando lugar a una curva característica de organismos con senescencia. Esta apreciación queda patente en la tabla 6.10. Según esta tabla los logaritmos de los valores de supervivencia a cada edad se ajustan significativamente mejor a un segmento de parábola, con un coeficiente negativo para el término cuadrático, que a una recta, cumpliéndose esta característica para cualquier cepa y condición ensayada.

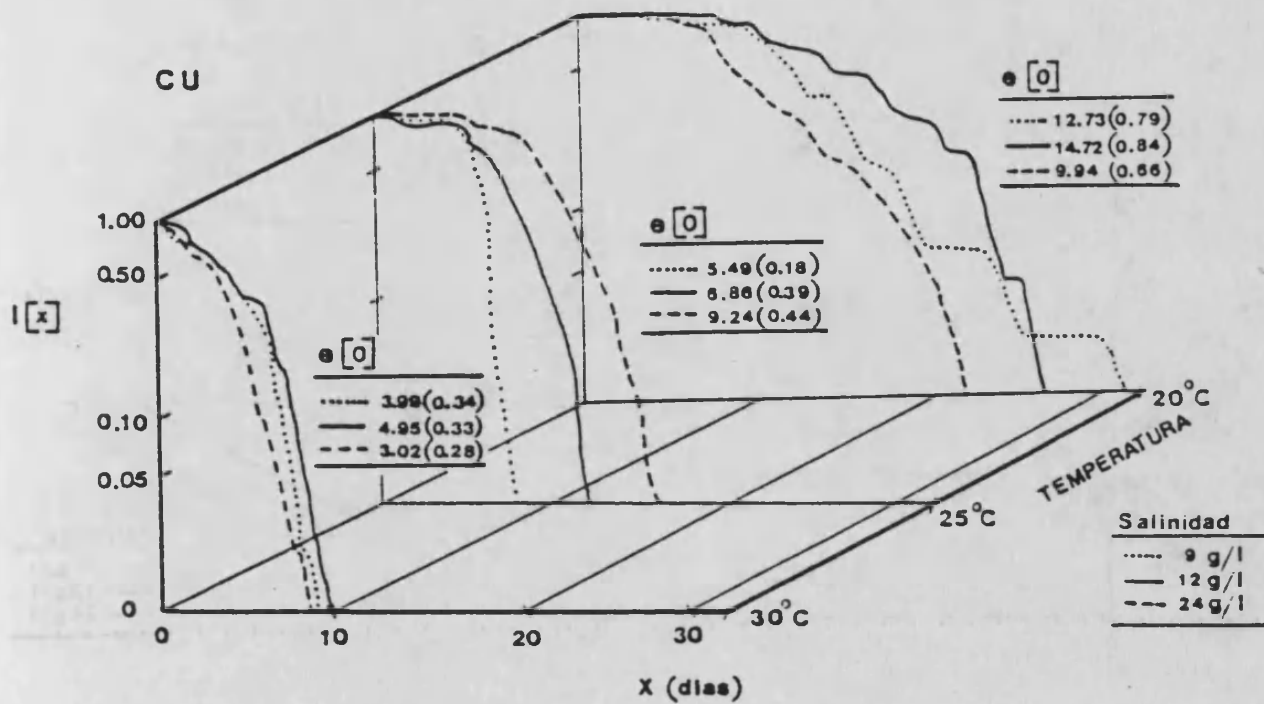


Figura 6.2. Curvas de supervivencia para las hembras de la cepa CU, en las condiciones de temperatura y salinidad que se indican. A la derecha de cada grupo de curvas para una temperatura, se reseñan las correspondientes esperanzas de vida en el nacimiento y, entre paréntesis, sus errores típicos. (Curvas y parámetros calculados para la totalidad de hembras).

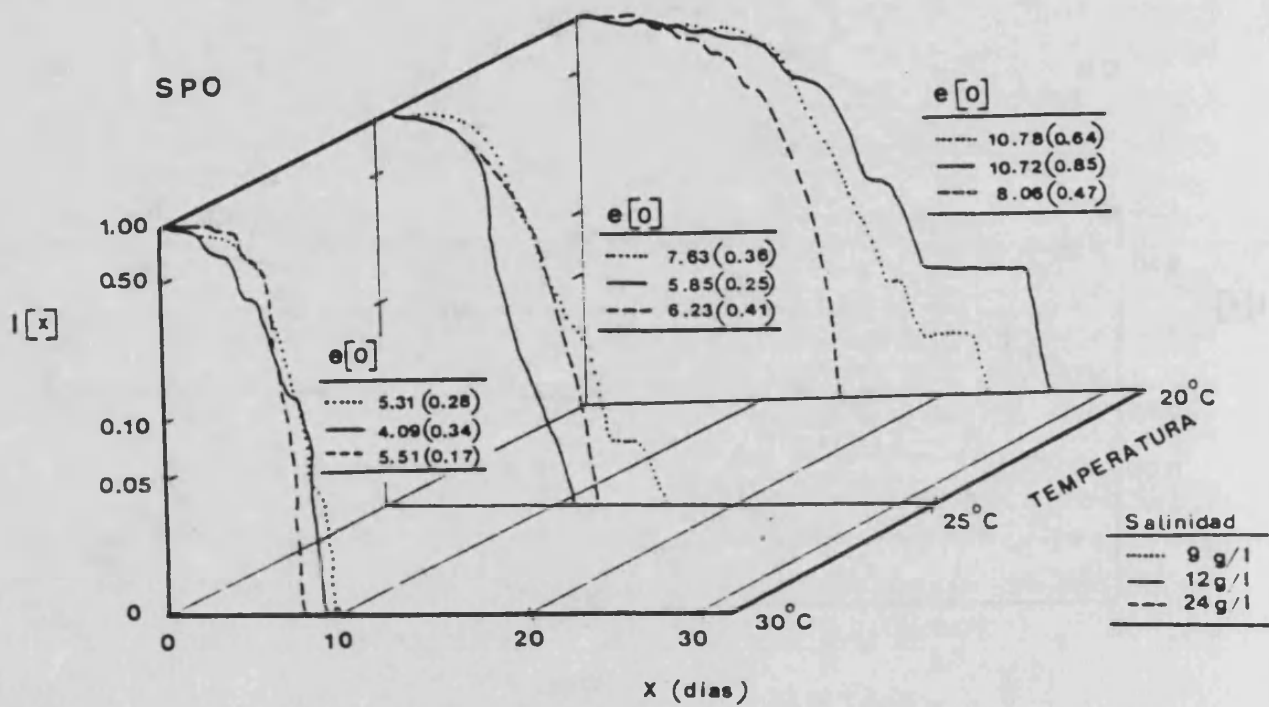


Figura 6.3. Curvas de supervivencia para las hembras de la cepa SPO, en las condiciones de temperatura y salinidad que se indican. A la derecha de cada grupo de curvas para una temperatura, se reseñan las correspondientes esperanzas de vida en el nacimiento y, entre paréntesis, sus errores típicos. (Curvas y parámetros calculados para la totalidad de hembras).

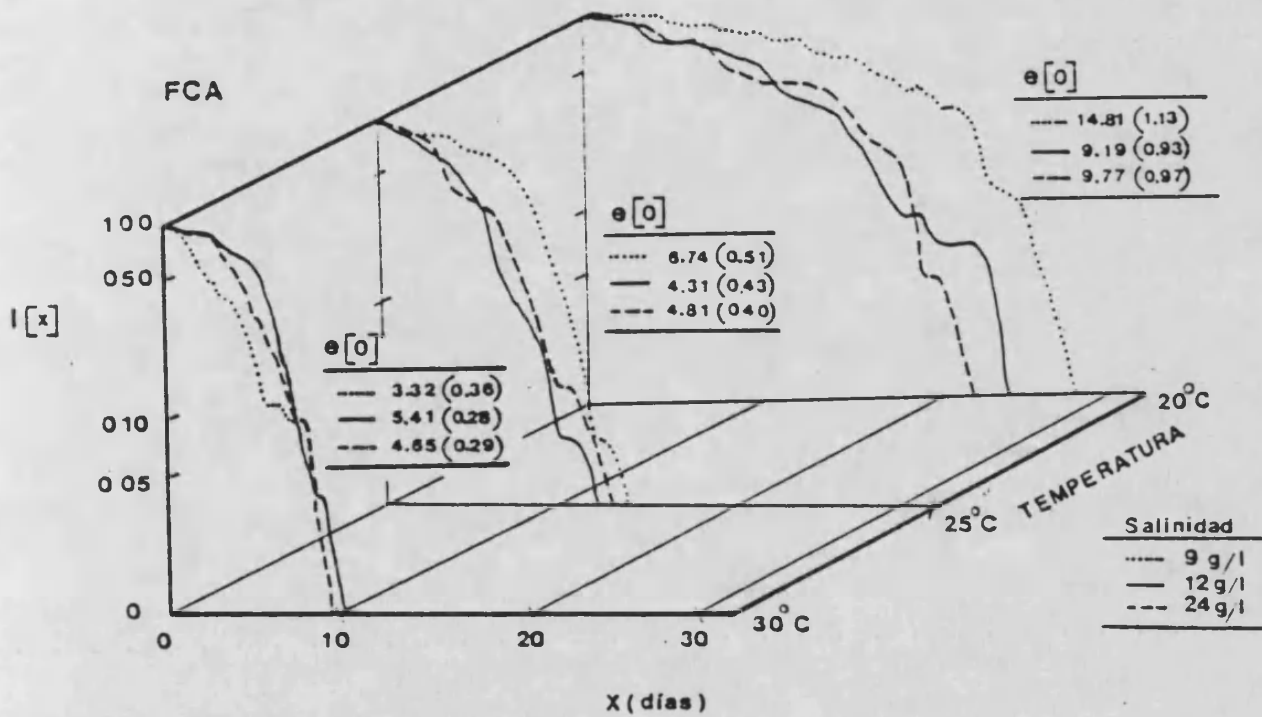


Figura 6.4. Curvas de supervivencia para las hembras de la cepa FCA, en las condiciones de temperatura y salinidad que se indican. A la derecha de cada grupo de curvas para una temperatura, se reseñan las correspondientes esperanzas de vida en el nacimiento y, entre paréntesis, sus errores típicos. (Curvas y parámetros calculados para la totalidad de hembras).

Tabla 6.10. Análisis de la varianza para la curvatura de la supervivencia específica de la edad (\*: razón  $F$  significativa al nivel del 5%; \*\*: razón  $F$  significativa al nivel del 1%; En todos los casos se cumple que  $b_2 < 0$ ;  $n_1$  y  $n_2$  son los grados de libertad de la razón  $F$ ).

Cepa	H <sub>0</sub> : $\ln(l[x]) = b_0$		H <sub>0</sub> : $\ln(l[x]) = b_0 + b_1x$	
	H <sub>1</sub> : $\ln(l[x]) = b_0 + b_1x$		H <sub>1</sub> : $\ln(l[x]) = b_0 + b_1x + b_2x^2$	
Temperatura Salinidad	Razón F ( $n_1$ ; $n_2$ )		Razón F ( $n_1$ $n_2$ )	
CU				
20°C				
9 g/l	424.13	(1; 29)**	20.43	(1; 28)***a
12 g/l	102.98	(1; 24)**	108.73	(1; 23)***a
24 g/l	246.67	(1; 20)**	139.33	(1; 19)**
25°C				
9 g/l	6.55	(1; 6)*	11.71	(1; 5)**a
12 g/l	39.51	(1; 10)**	156.27	(1; 9)***a
24 g/l	46.61	(1; 14)**	137.15	(1; 13)***a
30°C				
9 g/l	75.43	(1; 16)**	85.96	(1; 15)***a
12 g/l	70.18	(1; 17)**	78.55	(1; 16)***a
24 g/l	239.24	(1; 15)**	89.25	(1; 14)**
SPO				
20°C				
9 g/l	139.31	(1; 21)**	45.50	(1; 20)***a
12 g/l	239.74	(1; 24)**	11.31	(1; 23)***a
24 g/l	51.83	(1; 12)**	71.72	(1; 11)***a
25°C				
9 g/l	106.69	(1; 14)**	37.27	(1; 13)**
12 g/l	38.62	(1; 9)**	40.77	(1; 8)**
24 g/l	46.18	(1; 10)**	75.32	(1; 9)***a
30°C				
9 g/l	71.54	(1; 17)**	188.80	(1; 16)**
12 g/l	97.48	(1; 16)**	37.88	(1; 15)**
24 g/l	25.22	(1; 14)**	63.08	(1; 13)**
FCA				
20°C				
9 g/l	81.44	(1; 26)**	83.04	(1; 25)***a
12 g/l	418.00	(1; 22)**	40.77	(1; 21)**
24 g/l	89.29	(1; 20)**	44.22	(1; 19)***a
25°C				
9 g/l	46.82	(1; 12)**	57.00	(1; 11)**
12 g/l	115.00	(1; 10)**	36.00	(1; 9)**
24 g/l	178.66	(1; 11)**	28.67	(1; 10)**
30°C				
9 g/l	624.86	(1; 18)**	9.44	(1; 17)**
12 g/l	75.26	(1; 18)**	188.06	(1; 17)**
24 g/l	117.92	(1; 17)**	128.00	(1; 16)**

a. Se ajustan significativamente ( $\alpha = 0.01$ ) a un polinomio de orden superior al que expresa  $H_1$ .

Tabla 6.11. Ajuste de los modelos de Gompertz y Weibull a los datos experimentales (*n*: número de hembras iniciales; *b* y *c* parámetro de las correspondientes funciones de riesgo; *ET*; error típico del parámetro que antecede;  $\alpha$ = nivel de significación para el rechazo del modelo; \* indica que el ajuste no se diferencia significativamente del ajuste a la distribución exponencial, con  $\alpha=5\%$ ; *Temp.*, temperatura; *Sal.*, salinidad).

Cepa Temp. Sal.	n	Gompertz			Weibull		
		b x10 <sup>2</sup>	(ET) c (ET) x10 <sup>2</sup>	$\alpha$ , %	b x10 <sup>4</sup>	(ET) c (ET) x10	$\alpha$ , %
<b>CU</b>							
20°C							
9 g/l	48	-353 (36)	13 ( 3)	0.1-1	21 (22)	23 ( 3)	5-10
12 g/l	50	-496 (61)	18 ( 4)	5-10	8 ( 6)	26 ( 2)	5-10
24 g/l	50	-306 (35)	12 ( 3)	2-5	84 (54)	20 ( 2)	30-50
25°C							
9 g/l	49	-567 (60)	95 (10)	2-5	25 (17)	36 ( 3)	<0.1
12 g/l	49	-418 (51)	37 ( 7)	5-10	131 (69)	20 ( 2)	<0.1
24 g/l	48	-477 (64)	34 ( 8)	50-70	32 (21)	26 ( 3)	10-20
30°C							
9 g/l	49	-287 (42)	38 ( 8)	2-5	70 (25)	17 ( 2)	0.1-1
12 g/l	45	-336 (56)	42 (12)	30-50	27 (16)	21 ( 3)	30-50
24 g/l	50	-191 (31)	27 ( 9)	80-90	140 (40)	16 ( 2)	50-70
<b>SPO</b>							
20°C							
9 g/l	49	-425 (44)	20 ( 4)	2-5	53 (23)	21 ( 3)	0.1-1
12 g/l	49	-318 (31)	12 ( 3)	0.1-1	102 (78)	18 ( 3)	0.1-1
24 g/l	50	-429 (62)	32 ( 8)	5-10	70 (51)	22 ( 3)	2-5
25°C							
9 g/l	48	-353 (45)	31 ( 6)	0.1-1	52 (34)	26 ( 3)	2-5
12 g/l	48	-490 (90)	66 (17)	0.1-1	22 (15)	34 ( 3)	0.1-1
24 g/l	50	-362 ( 8)	33 ( 8)	30-50	154 (95)	21 ( 3)	10-20
30°C							
9 g/l	49	-385 (54)	50 (11)	30-50	24 (12)	21 ( 3)	5-10
12 g/l	50	-266 (43)	30 (10)	1-2	57 (25)	18 ( 2)	0.1-1
24 g/l	50	-482 (67)	73 (13)	10-20	44 (26)	33 ( 3)	0.1-1
<b>FCA</b>							
20°C							
9 g/l	48	-406 (33)	11 ( 2)	30-50	93 (47)	17 ( 2)	1-2
12 g/l	49	-288 (32)	5 ( 3)	2-5 *	38 (22)	13 ( 2)	1-2
24 g/l	44	-331 (10)	10 ( 3)	0.1-1	29 (13)	14 ( 2)	0.1-1
25°C							
9 g/l	45	-333 (38)	26 ( 6)	70-80	25 (11)	19 ( 2)	5-10
12 g/l	45	-225 (34)	19 ( 7)	30-50	87 (31)	16 ( 2)	10-20
24 g/l	50	-264 (35)	23 ( 7)	2-5	47 (21)	17 ( 2)	5-10
30°C							
9 g/l	45	-211 (40)	20 ( 8)	1-2*	20 ( 7)	14 ( 2)	2-5
12 g/l	49	-408 (61)	52 (12)	5-10	16 (10)	23 ( 3)	1-2
24 g/l	49	-352 (56)	48 (12)	2-5	22 (15)	21 ( 3)	5-10



El ajuste a los datos de supervivencia de los modelos teóricos más usuales (véase el apartado de Material y Métodos) indica que estos, en general, son poco adecuados a la descripción de la supervivencia de los rotíferos. De los modelos ensayados, el modelo de crecimiento lineal de la función de riesgo (*i.e.*, distribución lineal-exponencial) es el que peores resultados da. Los modelos de Gompertz y Weibull (tabla 6.11) explican mejor la supervivencia que el modelo exponencial (*i.e.*, riesgo constante; curva de supervivencia del Tipo II), salvo en unos pocos casos. Pero estos modelos también muestran bajas adherencias a los datos. Eligiendo un nivel de significación del 5%, se rechaza el modelo teórico en, aproximadamente la mitad de los casos (14 para el modelo de Gompertz y 15 para el de Weibull). Pero, dado que la aceptación de los modelos tiene el estatuto de una hipótesis nula, sólo valores altos de significación permiten evaluar positivamente el ajuste. En la mayoría de las situaciones ensayadas, el modelo de Gompertz se ajusta algo mejor a los valores experimentales que el modelo de Weibull. La pobreza de los ajustes se mantiene cuando el análisis se lleva a cabo solamente con hembras amícticas -un grupo de individuos, por tanto, más homogéneo-, pero en este caso el número inicial de individuos es bastante inferior, lo cual puede invalidar el tipo de análisis practicado (Gehan y Siddiqui, 1973). Por esta razón, no se reseñan aquí.

A pesar de la escasa adherencia, los ajustes proporcionan estimas de los parámetros  $c$  que son indicativas de una tendencia creciente de la mortalidad con la edad, siendo en esto coincidentes los modelos de Gompertz y Weibull. También en ambos modelos, se observa que la cepa FCA es proclive a tener valores más bajos de  $c$  que las restantes cepas, ocurriendo las excepciones en la temperatura más alta. Esta característica se mantiene si se atiende únicamente a los ajustes con  $\alpha > 30\%$ .

### Comportamiento reproductivo

Las observaciones realizadas durante los cultivos experimentales confirman los resultados expuestos en el Capítulo 4, acerca del distinto comportamiento reproductivo de las cepas (*i.e.*, ausencia de machos en FCA, y distinta forma de transportar los huevos de resistencia en CU y en SPO). En este sentido, se ha comprobado que las hembras de las cepas SPO pueden vivir hasta 15 días con el huevo de resistencia alojado en su interior. En el caso de CU, se ha podido observar que los huevos de resistencia alcanzan su tamaño definitivo en el interior de la madre, salen al exterior sin dificultades, deformándose a su paso por la cloaca y el ano, y sus cubiertas se endurecen en el exterior del cuerpo de la madre.

Las cepas CU y SPO presentaron en ocasiones altas frecuencias de mixis, produciendo huevos de macho o de resistencia; sin embargo, las hembras que produjeron machos nunca



generaron huevos de resistencia. Las hembras productoras de este último tipo de huevos fueron muy escasas: 2 hembras entre las 123 hembras míticas de la cepa CU, y 17 hembras entre las 111 hembras míticas de la cepa SPO. En el caso de SPO, estas hembras produjeron un único huevo de resistencia, mientras que las dos hembras de CU tuvieron respectivamente dos y tres huevos de resistencia.

La frecuencia de hembras míticas para cada cepa y condiciones de cultivo se muestra en la tabla 6.12. En esta tabla queda reflejada la incidencia de las condiciones ambientales estudiadas en la frecuencia de mixis, pues aunque el carácter mítico de una hembra está determinado en su nacimiento, las condiciones experimentales de salinidad y de temperatura son las mismas que las experimentales. En la referida tabla se puede comprobar que la proporción de mixis varía mucho de unas condiciones a otras, habiéndose observado unos valores que pueden llegar a ser muy altos (hasta un 84%). Los porcentajes más altos (>65%) ocurren a salinidades bajas, y se dan también valores altos en las condiciones 12 g/l de salinidad y 25°C de temperatura.

Parte de las hembras no llegan a reproducirse por ninguna modalidad. Algunas de estas hembras infértiles mueren tempranamente, por lo que la ausencia de descendencia puede atribuirse a que no superan el periodo prerreproductivo. Pero en determinadas condiciones de cultivo, cuando el número de estas hembras es elevado, la mayor parte de ellas vive hasta rebasar el periodo prerreproductivo habitual, por lo que deben catalogarse como estériles.

Las figuras 6.5, 6.6 y 6.7 muestran la evolución de la fecundidad específica de la edad para las cepas y condiciones estudiadas, registrándose detalladamente en el Apéndice E los datos del seguimiento de los cultivos individuales, en los cuales se basan las tablas de vida y la estimación de los parámetros reproductivos. En dichas figuras se aprecia el efecto de la temperatura sobre la reproducción a cada edad, observándose una contracción, pero también una intensificación, del periodo reproductivo con el incremento de la temperatura, lo cual se cumple para todas las cepas y salinidades ensayadas.

**Tabla 6.12.** Porcentaje de hembras míticas sobre el total de hembras con reproducción, número total de hembras (*nhh*), y hembras de tipo indeterminado por no haberse reproducido (*hh indet.*), para las cepas y condiciones de cultivo que indicadas.

Tempe- ratura	Sali- nidad	Cepa							
		CU			SPO			FCA <sup>a</sup>	
		% mixis	nhh	(hh indet.)	% mixis	nhh	(hh indet.)	nhh	(hh indet.)
20°C	9 g/l	67	48	(2)	84	49	(4)	41	(8)
	12 g/l	34	50	(3)	44	48	(10)	49	(19)
	24 g/l	2	50	(3)	0	50	(22)	43	(11)
25°C	9 g/l	6	49	(1)	2	48	(1)	45	(9)
	12 g/l	64	49	(4)	61	48	(2)	45	(14)
	24 g/l	9	48	(1)	19	50	(8)	50	(5)
30°C	9 g/l	77	49	(10)	4	49	(4)	45	(3)
	12 g/l	9	45	(1)	18	50	(5)	49	(0)
	24 g/l	15	50	(16)	18	50	(0)	50	(1)

a. No se observaron hembras amíticas.

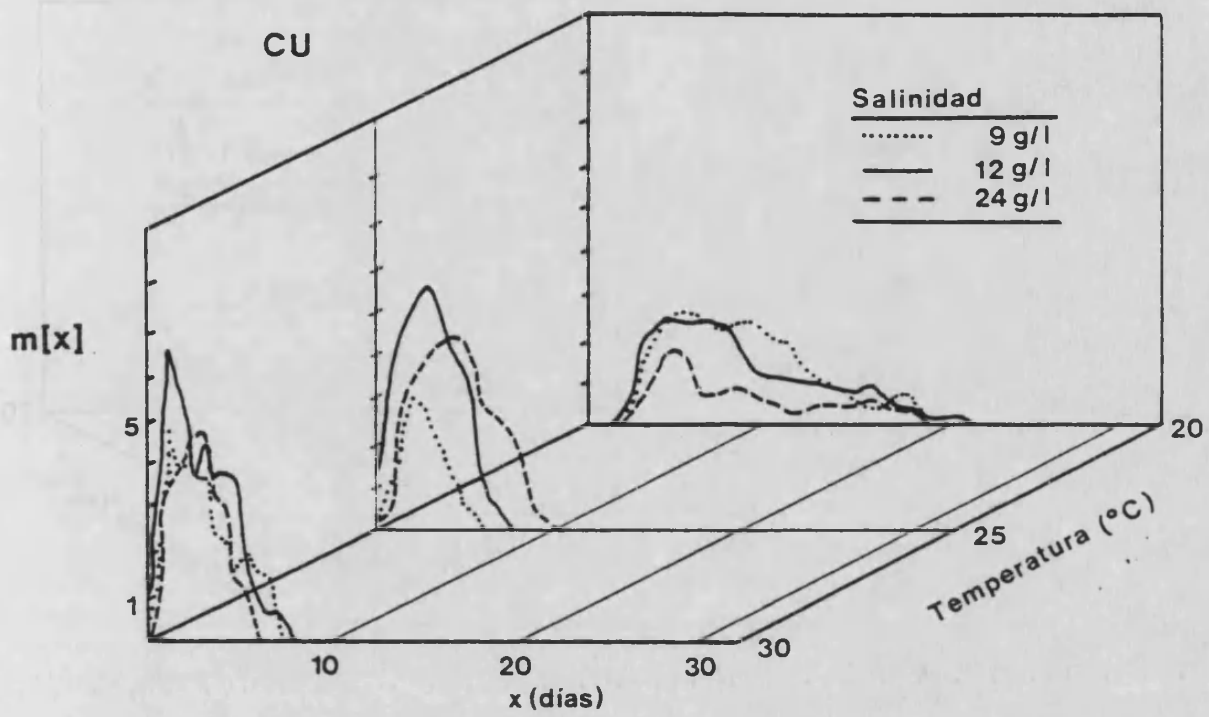
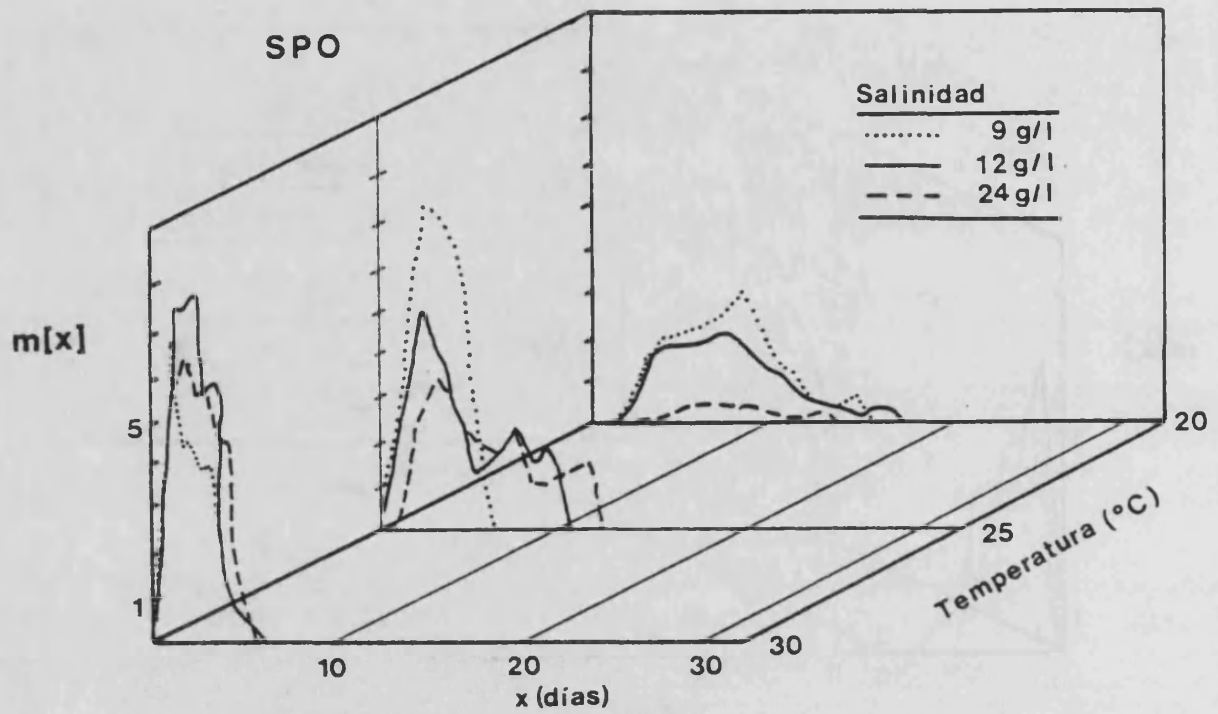
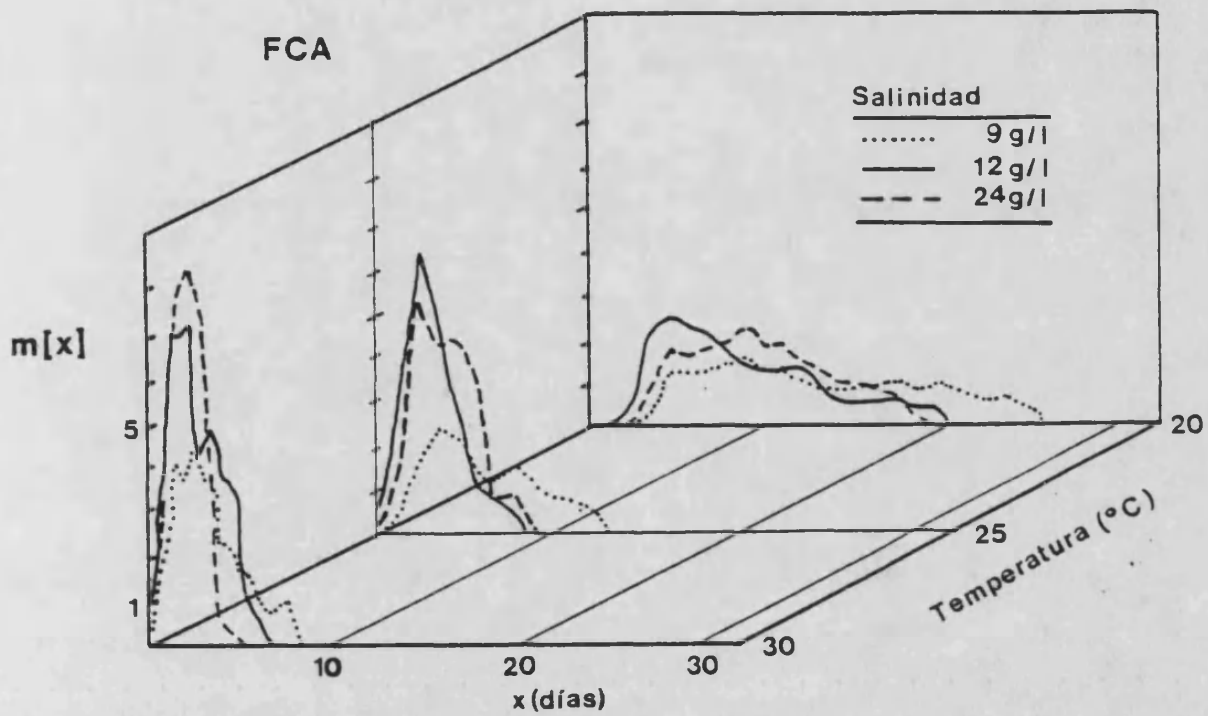


Figura 6.5. Evolución de la fecundidad específica de la edad a lo largo de la vida de las hembras míticas de la cepa CU, para las condiciones de salinidad y de temperatura que se indican.



*Figura 6.6.* Evolución de la fecundidad específica de la edad a lo largo de la vida de las hembras míticas de la cepa SPO, para las condiciones de salinidad y de temperatura que se indican.



*Figura 6.7.* Evolución de la fecundidad específica de la edad a lo largo de la vida de las hembras míticas de la cepa FCA, para las condiciones de salinidad y de temperatura que se indican.

Tabla 6.13. Parámetros globales de reproducción para los grupos de hembras que se indican de la cepa CU, cultivadas en distintas condiciones de temperatura y salinidad. (ET, error típico del parámetro que antecede; n, número de hembras; Temp., temperatura; Sal., salinidad. Para los demás parámetros, véanse las tablas 6.1 y 6.2. La unidad de tiempo empleada es el día).

Temp. Sal.	Totalidad de hembras					Hembras amícticas <sup>a</sup>							Hembras micticas <sup>a,b</sup>				
	r	Ro	ET	G	n	r	Ro	ET	G	Gc	erd	n	Rom	ET	Gcm	erdm	n
20°C																	
9 g/l	0.267	6.3	1.5	6.9	48	0.477	20.3	1.6	6.3	8.0	1.3	15	17.5	1.4	5.8	1.5	31
													18.1*				30*
12 g/l	0.417	11.5	1.4	5.9	50	0.522	18.6	0.8	5.6	7.6	1.1	31	18.7	0.7	5.5	1.4	16
24 g/l	0.287	5.2	0.5	5.7	50	0.312	5.9	0.5	5.7	6.5	0.5	44	12.0	-	4.8	1.9	1
25°C																	
9 g/l	0.735	6.7	0.5	2.6	49	0.773	7.3	0.4	2.6	2.9	1.3	45	14.7	1.8	3.1	2.4	3
12 g/l	0.688	7.2	1.5	2.9	49	1.219	22.2	0.7	2.5	3.5	3.1	16	15.8	1.1	2.7	2.1	29
													16.4*				28*
24 g/l	0.777	19.0	1.4	3.8	48	0.814	21.2	1.1	3.8	4.8	2.2	43	11.5	2.3	3.2	1.4	4
30°C																	
9 g/l	0.343	2.4	0.8	2.5	49	1.336	12.8	2.2	1.9	2.9	2.3	9	13.1	0.8	1.9	2.8	30
12 g/l	1.682	15.9	1.4	1.6	45	1.785	17.9	1.3	1.6	2.6	3.5	40	16.0	1.4	1.9	3.9	4
24 g/l	0.839	6.5	1.0	2.2	50	1.140	10.8	1.2	2.1	2.6	2.6	29	11.0	2.0	2.3	2.7	5

a. Hembras que, por su tipo de descendencia, se sabe que pertenecen a esta categoría.

b. Los valores calculados para hembras que únicamente producen machos se acompañan de un asterisco.

Tabla 6.14. Parámetros globales de reproducción para los grupos de hembras que se indican de la cepa SPO, cultivada en distintas condiciones de temperatura y salinidad. (ET, error típico del parámetro que antecede; *n*, número de hembras; *Temp.*, temperatura; *Sal.*, salinidad. Para los demás parámetros, véanse las tablas 6.1 y 6.2. La unidad de tiempo es el día).

Temp. Sal.	Totalidad de hembras					Hembras amícticas <sup>a</sup>							Hembras mícticas <sup>a,b</sup>				
	r	Ro	ET	G	n	r	Ro	ET	G	Gc	erd	n	Rom	ET	Gcm	erdm	n
20°C																	
9 g/l	0.109	2.1	0.8	6.7	49	0.466	14.6	3.1	5.8	7.1	1.3	7	13.1	1.5	6.5	1.1	38
													18.4*				27*
12 g/l	0.289	5.8	1.1	6.1	49	0.449	12.9	1.4	5.7	7.0	1.0	22	15.5	1.7	6.1	1.3	17
													17.6*				15*
24 g/l	-0.006	1.0	0.1	6.8	50	0.081	1.7	0.1	6.7	6.8	0.2	28	-	-	-	-	-
25°C																	
9 g/l	1.245	23.7	1.0	2.5	48	1.267	24.7	0.7	2.5	3.3	3.2	46	9.0	-	2.6	0.6	1
12 g/l	0.632	5.7	1.2	2.8	48	1.092	15.3	1.4	2.5	3.4	2.5	18	14.8	1.6	2.7	2.5	28
													17.3*				24*
24 g/l	0.562	8.6	1.1	3.8	50	0.683	12.6	1.1	3.7	4.6	1.7	34	9.1	2.1	3.9	1.5	8
30°C																	
9 g/l	1.781	13.5	0.9	1.5	49	1.907	15.4	0.7	1.4	2.2	2.8	43	17.5	0.5	2.3	3.4	2
12 g/l	1.506	12.7	1.3	1.7	50	1.735	17.2	1.0	1.6	2.2	3.6	37	11.8	2.4	1.5	3.9	8
24 g/l	1.397	16.4	1.2	2.0	50	1.532	20.0	0.7	1.9	2.7	3.6	41	16.1	0.9	2.2	3.0	9

a. Hembras que, por su tipo de descendencia, se sabe que pertenecen a esta categoría.

b. Los valores calculados para hembras que únicamente producen machos se acompañan de un asterisco.

Tabla 6.15. Parámetros globales de reproducción para los grupos de hembras que se indican de la cepa FCA, cultivadas en distintas condiciones de temperatura y salinidad. (ET, error típico; n, número de hembras; Temp., temperatura; Sal., salinidad. Para los demás parámetros, véanse las tablas 6.1 y 6.2. La unidad de tiempo empleada es el día).

Temp.	Totalidad de hembras					Hembras amícticas <sup>a</sup>							
	Sal.	r	Ro	ET	G	n	r	Ro	ET	G	Gc	erd	n
20°C													
	9 g/l	0.296	10.5	1.1	8.0	48	0.329	13.0	1.0	7.8	10.2	0.7	39
	12 g/l	0.396	8.9	1.2	5.5	49	0.505	14.6	1.1	5.3	6.8	1.1	30
	24 g/l	0.327	9.3	1.3	6.8	44	0.377	12.4	1.4	6.7	8.2	1.0	33
25°C													
	9 g/l	0.571	8.1	0.8	3.7	45	0.647	10.1	0.7	3.6	4.6	1.3	36
	12 g/l	0.971	11.1	1.3	2.5	45	1.152	16.1	1.0	2.4	3.0	2.7	31
	24 g/l	0.938	11.8	1.2	2.6	50	0.987	13.1	1.3	2.6	3.3	2.5	45
30°C													
	9 g/l	1.202	7.5	1.0	1.7	45	1.255	8.0	1.0	1.7	2.3	2.3	42
	12 g/l	1.842	20.3	0.9	1.6	49	1.842	20.3	0.9	1.6	2.5	3.7	49
	24 g/l	1.831	17.9	0.9	1.6	49	1.847	18.2	0.9	1.6	2.0	3.9	48

a. Hembras de las cuales, por su tipo de descendencia, se sabe que pertenecen a esta categoría.



Las tablas 6.13, 6.14 y 6.15 presentan los principales parámetros de reproducción para las cepas CU, SPO y FCA, respectivamente. En ellas se puede observar que, para las condiciones estudiadas, las tres cepas tienen tasas de reproducción indicativas de poblaciones en expansión, siendo la única excepción la cepa SPO, que a 20°C de temperatura y 24 g/l de salinidad posee tasas propias de una población en disminución. El valor de  $r$  es negativo, aunque muy cercano a cero. Obsérvese que esto se debe al gran número de hembras que no llegaron a la reproducción (23 hembras), pero también a la baja fecundidad de las que sí se reprodujeron (1.7 descendientes por hembra de este tipo).

Por lo demás, los valores de unas y otras cepas son comparables, y ninguna de ellas posee tasas o tiempos de generación mucho mayores que las restantes. Es principalmente en relación con las distintas condiciones de cultivo, donde las dinámicas poblacionales de las cepas se diferencian.

En todas las cepas, las productividades encontradas pueden llegar a ser muy altas, tanto si se atiende a la tasa neta de reproducción (se llega hasta  $\approx 24$  descendientes por hembra; SPO, T: 25°C, S: 9 g/l), como si se considera la producción media por día de vida ( $erd$ ), la cual puede llegar a valer 3.9 (FCA, T: 30°C, S: 24 g/l). Téngase en cuenta que dicho valor promedia todos los días de vida, incluyendo los periodos pre y post-reproductivos y se ha calculado promediando 48 hembras. Para la fecundidad, el valor máximo encontrado es de 13 descendientes en un día, en la cepa SPO (T: 30°C; S: 12 g/l).

Al igual que ocurre con las cepas, la influencia de la salinidad en los parámetros de reproducción también depende de los restantes factores estudiados. Por el contrario, y tal como es de esperar, el efecto de la temperatura sobre los tiempos de generación,  $G_c$  y  $G$ , y la tasa instantánea de aumento,  $r$ , es muy claro e independiente de otros factores. Las temperaturas altas acortan el tiempo de generación y originan un incremento de  $r$ . Sin embargo, no se ha observado un efecto general tan claro de la temperatura sobre la tasa neta de reproducción,  $R_0$ . A pesar de ello, a 20°C los valores de este último parámetro tienden a ser algo inferiores, y a 30°C menos dispersos, obteniéndose los valores máximos a 25°C. Los valores mínimos de  $R_0$  en cada una de las temperaturas ensayadas crecen conforme la temperatura es mayor (véase también, más adelante, la figura 6.10).

### **Diferencias entre la dinámica poblacional de las hembras míticas y amíticas**

Las hembras míticas suelen tener una vida más corta que las amíticas de la misma cepa y condiciones ambientales (tabla 6.16). Sólo en cuatro casos esto no se cumple, y únicamente en dos (CU, T: 25°C, S: 12 g/l; SPO, T: 25°C, S: 9 g/l, con una sola hembra

míctica) las hembras míticas tienen un valor de  $e[0]$  más de medio día superior al propio de las hembras amíticas.

Según los datos obtenidos ( $G_c$  y  $G_{cm}$ , tablas 6.13 y 6.14), las hembras míticas producen su descendencia masculina más tempranamente que las hembras amíticas su correspondiente descendencia femenina, con únicamente dos excepciones (CU, T: 25°C, S: 9 g/l; y SPO, T: 30°C, S: 9 g/l), en las cuales la relación se invierte, pero con valores muy próximos entre sí. Aun cuando los datos que se poseen para  $G_{cm}$  han sido calculados en algunas ocasiones sobre un número pequeño de hembras, la tendencia expuesta es muy general, considerándose de interés calcular una recta de regresión de Teissier (véase el apartado de Material y Métodos) entre los tiempos que tardan en aparecer las descendencias de hembras amíticas y de hembras míticas (descendencia masculina). El resultado es el siguiente:

$$(G_c \text{ amíticas}) = 1.26(G_{cm} \text{ míticas}) - 0.07 ,$$

con un coeficiente de correlación lineal de 0.97 (número de pares de datos: 17). La regresión es significativa al nivel del 1%. Dado que el término de intercepción es bajo, se puede aceptar que el tiempo de generación para las hembras amíticas es aproximadamente 1.26 veces  $G_{cm}$ .

El promedio de descendientes producidos por hembra y los esfuerzos reproductivos diarios no son muy diferentes entre hembras míticas y amíticas, cuando se valoran globalmente. En concreto, para aquellas condiciones y cepas en las que se tienen datos de ambos tipos de hembras, la media de  $R_o$  es de 15.9 ( $n=17$ ) y la media de  $R_{om}$  es 14.6 ( $n=17$ ). Sin embargo, la producción de machos parece mantenerse más regularmente, con mayor independencia de las condiciones ambientales. Así, las dispersiones entre cepas y condiciones diferentes de  $R_o$  (hembras amíticas) y de  $R_{om}$  (hembras míticas) son respectivamente de 5.16 y 3.32.

### Análisis de la tasa intrínseca de aumento

Las relaciones de  $r$  con los factores estudiados se muestran gráficamente en la figura 6.8. La  $r$  referida a la subcohorte de hembras amíticas representa el valor de la tasa intrínseca de aumento que poseería una población donde todas las hembras fuesen amíticas y fértiles. Por ello, es un valor de potencial fisiológico reproductivo de una cepa en unas condiciones dadas. Atendiendo a esta  $r$ , se puede ver claramente la relación entre la reproducción y la temperatura. En todos los casos, la tasa intrínseca de aumento crece con el incremento de la temperatura. Para cada salinidad y cepa los valores de  $r$  correspondientes a la temperatura

**Tabla 6.16.** Esperanza de vida en el nacimiento para las categorías de hembras que se indican, pertenecientes a las distintas cepas y condiciones de cultivo ensayadas. (ET, error típico de la medida que antecede; *n*, número inicial de hembras; *Temp.*, temperatura; *Sal.*, salinidad; *hh*, hembras. La unidad de tiempo empleada es el día).

Temp.	Cepa									
	CU	SPO	FCA							
Sal.	hh amícticas		hh mícticas		hh amícticas		hh mícticas			
	e[0]	(ET; n)	e[0]	(ET; n)	e[0]	(ET; n)	e[0]	(ET; n)		
20°C										
9 g/l	16.13	(1.38; 15)	11.70	(0.81; 31)	11.49	(1.54; 7)	11.68	(0.56; 38)	16.99	(0.97; 39)
12 g/l	16.66	(0.94; 31)	13.03	(1.18; 16)	13.38	(1.09; 22)	12.23	(0.87; 17)	13.17	(0.90; 30)
24 g/l	10.80	(0.64; 44)	6.39	(- ; 1)	10.13	(0.39; 28)	-	(- ; 0)	12.26	(0.94; 33)
25°C										
9 g/l	5.56	(0.16; 45)	6.03	(0.33; 3)	7.61	(0.29; 46)	15.39	(- ; 1)	7.99	(0.41; 36)
12 g/l	7.31	(0.31; 16)	7.45	(0.46; 29)	6.10	(0.46; 18)	5.82	(0.29; 28)	5.78	(0.39; 31)
24 g/l	9.52	(0.43; 43)	8.44	(1.47; 4)	7.28	(0.40; 34)	5.94	(0.76; 8)	5.24	(0.40; 45)
30°C										
9 g/l	5.51	(0.84; 9)	4.59	(0.31; 30)	5.56	(0.27; 43)	5.21	(0.50; 2)	3.48	(0.37; 42)
12 g/l	5.14	(0.34; 40)	4.10	(1.25; 4)	4.76	(0.36; 37)	2.98	(0.66; 8)	5.49	(0.28; 49)
24 g/l	4.10	(0.31; 29)	4.03	(0.46; 5)	5.52	(0.19; 41)	5.45	(0.39; 9)	4.71	(0.29; 48)

intermedia (25°C) se encuentran cerca del valor medio de los valores de  $r$  correspondientes a 20 y 30°C, sugiriendo una relación lineal entre  $r$  y la temperatura para el rango estudiado. Aun existiendo variación, debida a la salinidad, en los valores de  $r$  dentro de una misma temperatura, en ningún caso existe solapamiento entre las  $r$  de diferentes temperaturas, poniéndose de manifiesto el efecto crítico de este factor ambiental en la determinación de la tasa de aumento.

Cada cepa presenta un comportamiento distinto en relación a la salinidad y, en parte, a la temperatura. Así, mientras CU tiene los valores más altos observados en las salinidades intermedias, SPO encuentra ventaja a salinidades bajas. FCA muestra un comportamiento similar a CU, pero se observa una tendencia a favor de la salinidad alta, en especial cuando las temperaturas son también altas.

Estas observaciones se refuerzan cuando se presta atención a qué cepa le corresponde el valor máximo de  $r$  (hembras amícticas), en unas condiciones de cultivo dadas (triángulos en negro de la figura 6.8). A SPO le corresponden temperaturas altas (25°C y 30°C) y salinidades bajas (9 g/l). CU tiene los valores máximos de las tres cepas en salinidades bajas y medias cuando la temperatura es de 20°C, pero también en la salinidad y la temperatura media. A FCA le corresponden valores máximos a salinidades altas y también en la salinidad media cuando la temperatura es alta.

Cuando se consideran las tasas intrínsecas de aumento para todas las hembras de la cohorte (triángulos en blanco; figura 6.8), los resultados comentados en el párrafo anterior quedan inalterados en lo referente a SPO. Por el contrario, CU reduce el número de condiciones en las cuales, atendiendo a  $r$ , dominaría sobre las restantes cepas. En este caso, CU tiene un único valor máximo a 12 g/l de salinidad y 20°C de temperatura. Este desplazamiento de CU ocurre a favor de FCA, una cepa para la que no se ha observado mixis. Cuando se consideran todas las hembras, FCA extiende su dominancia a todas las condiciones de correlación positiva entre la salinidad y la temperatura (temperatura baja con salinidad baja, temperatura intermedia con salinidad intermedia).

La reducción del valor de  $r$  debida a hembras que no dejan descendencia femenina puede ser muy alta, pero quizás menos severa de lo que podrían sugerir los porcentajes de mixis (tabla 6.12). En este sentido, SPO muestra las mayores pérdidas de  $r$  (debidas a la mixis; véase la tabla 6.12) en las condiciones de salinidad y temperatura cercanas a aquellas en que esta cepa posee el mayor valor de  $r$  de entre todas las cepas (triángulos de la figura 6.8).

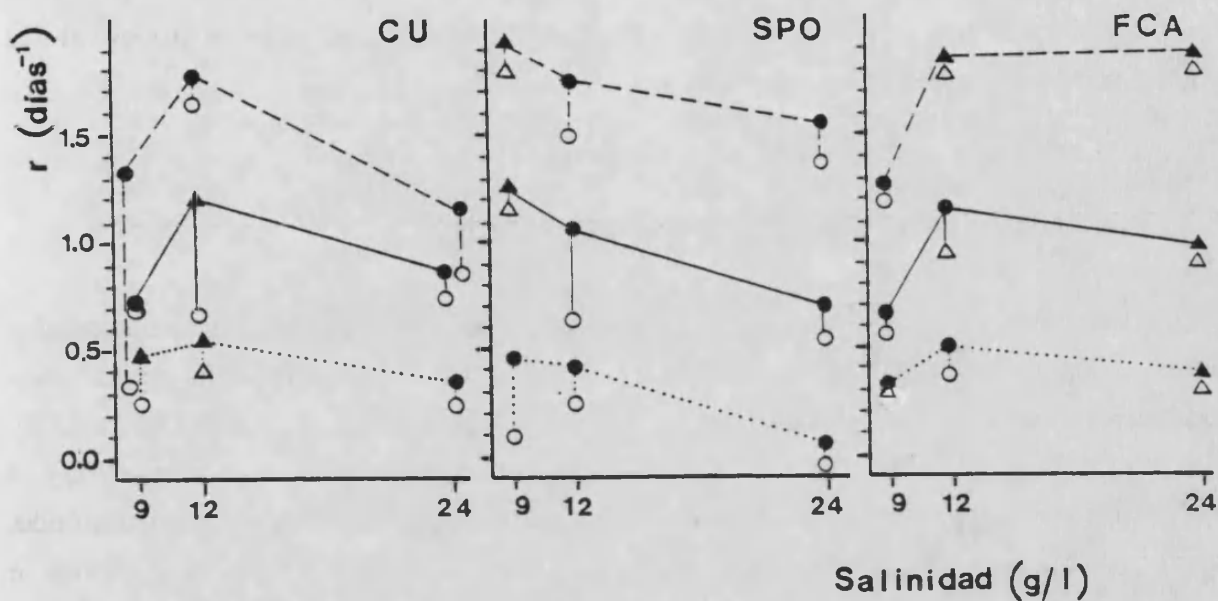


Figura 6.8. Valor de  $r$  para las tres cepas estudiadas, en las condiciones de salinidad y temperatura que se indican. Los valores unidos por líneas de puntos corresponden a  $20^{\circ}\text{C}$  de temperatura, los unidos por líneas continuas a  $25^{\circ}\text{C}$ , y los unidos por líneas discontinuas a  $30^{\circ}\text{C}$ . Los círculos y triángulos en negro corresponden al valor de  $r$  calculado sólo con las hembras amícticas, mientras que los correspondientes signos en blanco se han calculado con la totalidad de las hembras. Las líneas verticales indican la reducción de  $r$  por la presencia de hembras mícticas o infértiles en la cohorte. Los círculos son substituidos por triángulos en la cepa que tiene un valor máximo de  $r$  para las condiciones ambientales a que hace referencia el punto.

La estructura del efecto sobre  $r$  de la interacción entre la temperatura y la salinidad, sugerida en la figura 6.8 (especialmente por la gráfica de FCA), se expone con mayor detalle en la figura 6.9, en la cual la interacción se evalúa siguiendo un modelo aditivo (véase Material y Métodos). En ella se puede ver, en primer lugar, que las interacciones no son muy fuertes para la cepa SPO ("relieve" poco abrupto en la gráfica correspondiente). Por el contrario, en los valores de  $r$  de FCA se aprecian fuertes interacciones ("relieve" acusado) y éstas tienen una marcada correlación con la temperatura y la salinidad. Esto es, las interacciones positivas ocurren en las combinaciones de salinidad alta y temperatura alta, salinidad intermedia y temperatura intermedia, y salinidad baja y temperatura baja. Opuestamente, los valores de interacción negativa se dan a temperaturas altas y salinidades bajas, y también a temperaturas bajas y salinidades altas. CU, una cepa que también muestra interacciones salinidad-temperatura, presenta pautas más complejas. Tan sólo es posible reconocer una tendencia

como la manifestada por FCA si la observación se limita a las salinidades más bajas, en las cuales tiene su ámbito preferente esta cepa (figura 6.8). Con esta limitación, también existe una interacción positiva en las combinaciones de salinidad y temperatura con ambos valores bajos y con ambos valores altos.

### Relaciones entre los parámetros demográficos

Los parámetros de reproducción y de duración de la vida pueden estar relacionados entre sí. Con el objeto de explorar dicha relación, en lo que respecta a  $R_0$ , se ha representado este valor, para hembras amícticas, respecto a sus dos componentes:  $erd$  y  $e[0]$  (figura 6.10). En esta figura se puede observar la relación inversa entre la duración de la vida,  $e[0]$ , y el esfuerzo reproductivo por día,  $erd$ . Dicha relación no tiene un carácter lineal, sino asintótico, dado que dichos parámetros están sujetos a unos límites obvios. Sólo en raras ocasiones se encuentran vidas medias inferiores a cuatro días y esfuerzos reproductivos inferiores a 0.5 individuos por día. Pero, siguiendo una ley de compensación estos valores mínimos están situados hacia los extremos del arco que describe la relación entre  $e[0]$  y  $erd$ , y cuando uno de estos parámetros es bajo el otro tiene valores altos. Tal como se ha comentado más arriba,  $R_0$  no sufre fuertes variaciones debidas a la temperatura. En cambio, dentro de cada temperatura la salinidad y la cepa actúan conjuntamente sobre los valores de  $R_0$ , y esta variación está determinada en mayor medida por el esfuerzo reproductivo diario que por la duración de la vida.

La tasa instantánea de aumento poblacional tiene un análisis más complejo que  $R_0$ , ya que está fuertemente influida por la rapidez con la cual aparecen los descendientes. La tasa intrínseca de aumento presenta una relación de tipo asintótico con el tiempo de generación de la cohorte (figura 6.11). La pendiente de la curva es elevada para tiempos de generación cortos (altas temperaturas) y tiende a anularse para tiempos de generación largos (bajas temperaturas). Esta situación da como resultado que la covariación entre  $G_c$  y  $r$  sea más alta a 25°C de temperatura, algo menor a 30°C, y prácticamente inexistente a 20°C.

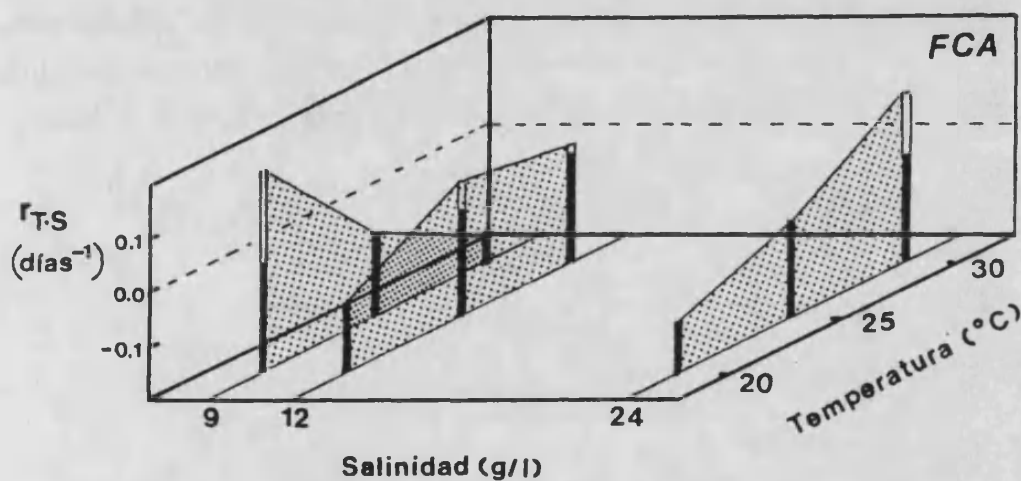
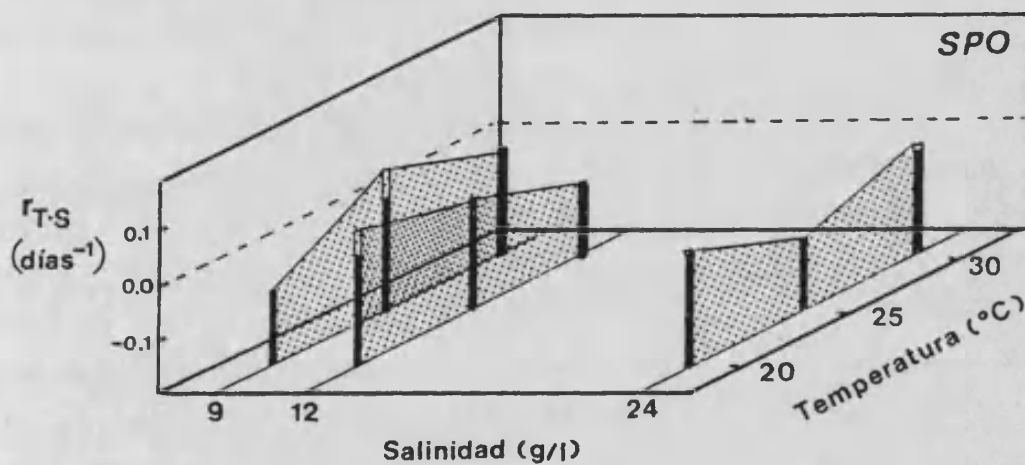
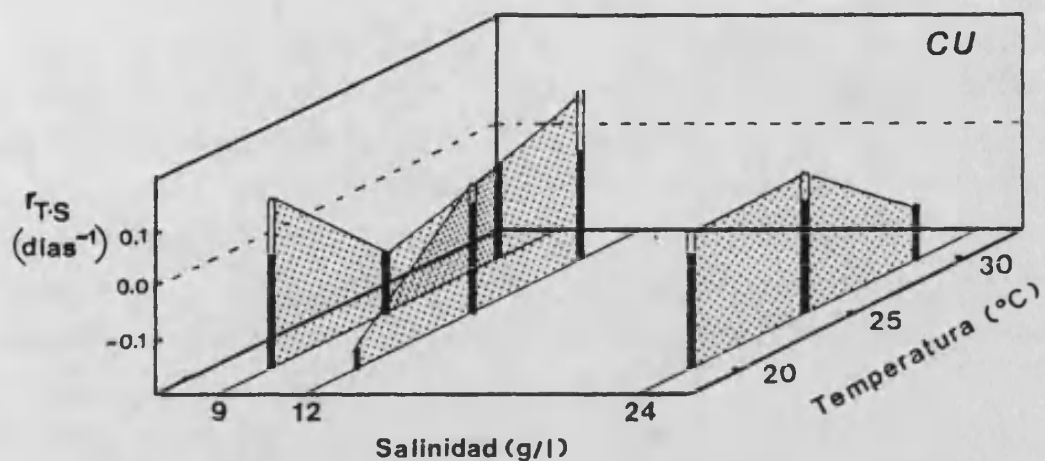


Figura 6.9. Componente de  $r$  (hembras amícticas) debida a la interacción de la salinidad con la temperatura, calculada como desviación con respecto a la relación aditiva de ambos factores. La barra se representa en negro hasta el valor de interacción igual a cero.

La relación de  $r$  con  $e[0]$  (figura 6.12) guarda cierto parecido con la que  $r$  mantiene con  $Gc$ . Se trata, en general, de una relación asintótica inversa, donde la pendiente es aproximadamente nula para las temperaturas bajas. El parecido existente entre las curvas de las figuras 6.11 y 6.12 pone de manifiesto la concomitancia entre  $Gc$  y  $e[0]$ . Pero al contrario de lo que ocurre con respecto al tiempo de generación, la dispersión de los valores -en torno a la línea que marca la tendencia entre  $r$  y  $e[0]$ - aumenta cuando  $e[0]$  disminuye. Especialmente a 30°C, sumándose a la tendencia general (línea de puntos en la figura 6.12) parece existir otra diferente dirección (obsérvese el apuntamiento de la nube de puntos correspondiente a 30°C; figura 6.12), según la cual  $r$  crecería en parte con el alargamiento de la vida, aún cuando el nivel de significación para esta correlación es aproximadamente del 10%. (El resultado de una regresión de Teissier con los datos obtenidos a 30°C es  $r = 0.40e[0] - 0.34$ ; coeficiente de correlación, 0.58; pares de datos, 9).

La figura 6.13 muestra la relación de  $r$  con el esfuerzo reproductivo diario. En general, la relación entre ambos parámetros es linealmente creciente. Si se analiza esta relación considerando cada temperatura por separado, se observa que la tendencia no es muy diferente entre los 20°C y los 25°C, aun cuando con valores más altos a 25°C que a los 20°C. A 30°C la línea de regresión se encuentra bastante desplazada, siendo los valores de  $r$  más altos que los esperables, si la relación fuese la misma que a las temperaturas inferiores. Además, en este caso la adherencia de los valores observados a la recta de regresión es peor que en las temperaturas inferiores.

La relación entre  $Gc$  y  $e[0]$  resulta bastante obvia, ya que ambos parámetros son medidas de edad, y es esperable que aumenten o disminuyan conjuntamente con la aceleración o deceleración del *tempo* vital. Pero la cuantificación de la referida relación puede resultar de interés para contrastar hipótesis sobre el significado biológico de la duración de la vida.



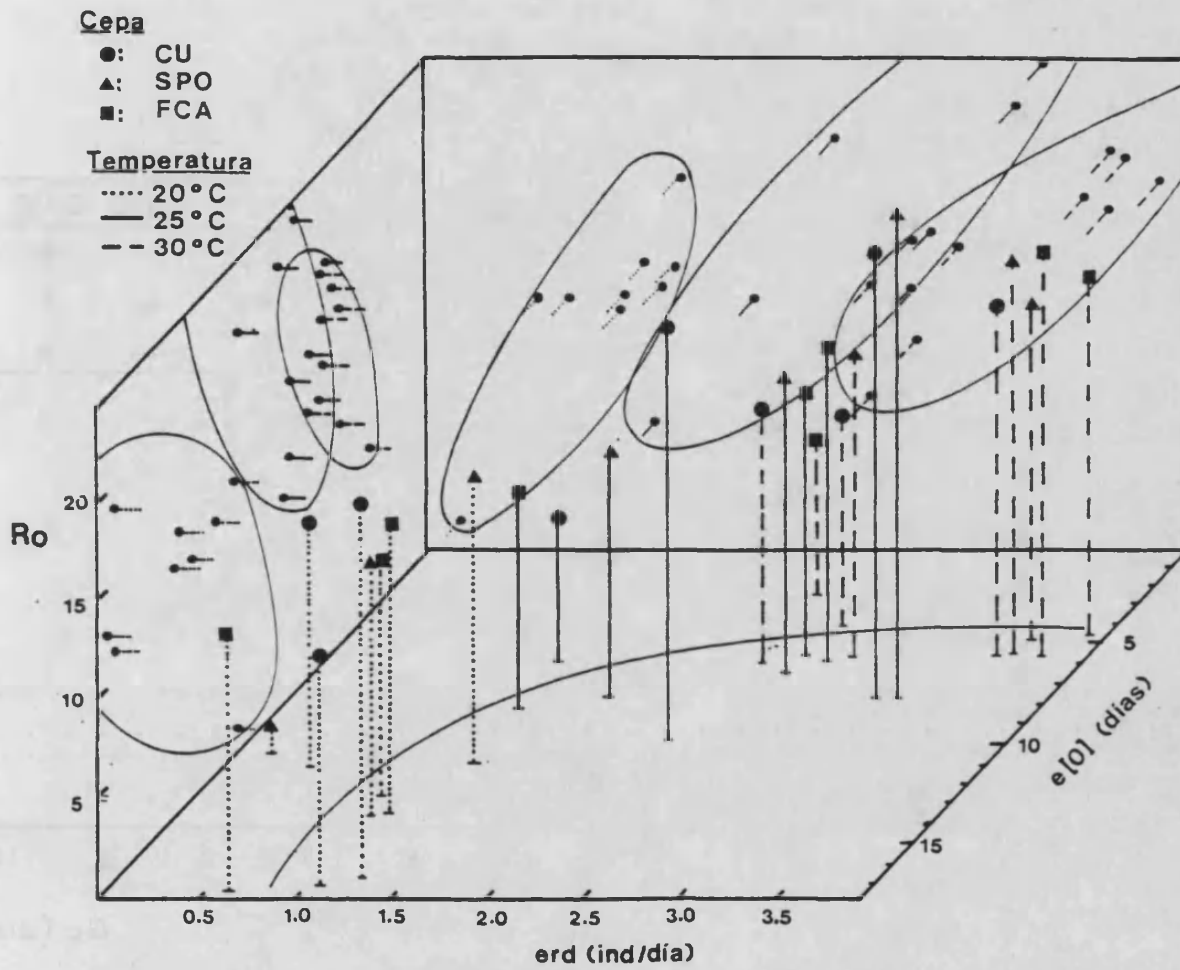


Figura 6.10. Relación entre  $R_o$ ,  $erd$  y  $e[0]$ , para hembras amícticas. Las proyecciones de los puntos sobre los planos  $R_o$  versus  $erd$  y  $R_o$  versus  $e[0]$  se engloban por temperaturas diferentes. La línea sobre el plano  $erd$  versus  $e[0]$  indica la tendencia entre ambos parámetros.

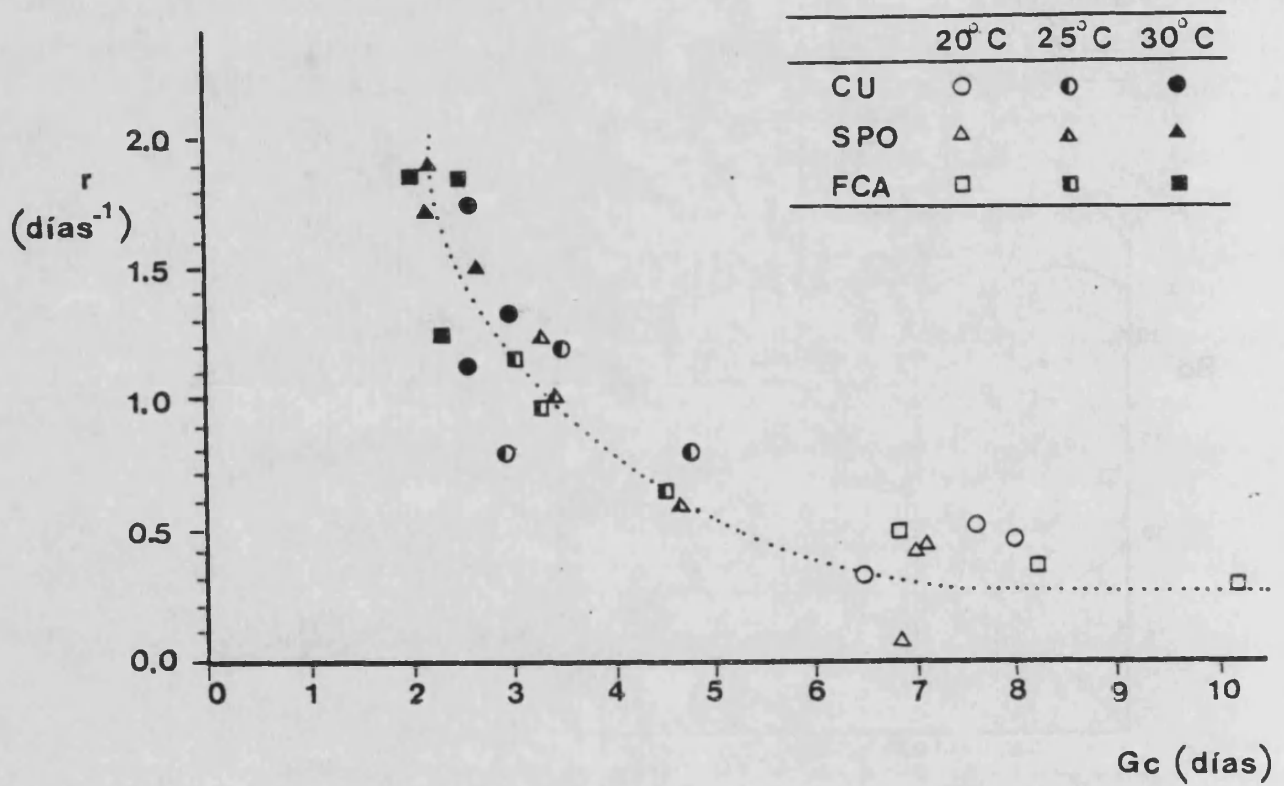


Figura 6.11. Relación entre la tasa intrínseca de aumento,  $r$ , y el tiempo de generación de la cohorte,  $G_c$ , para hembras amícticas. La línea de puntos indica la tendencia general de los valores.

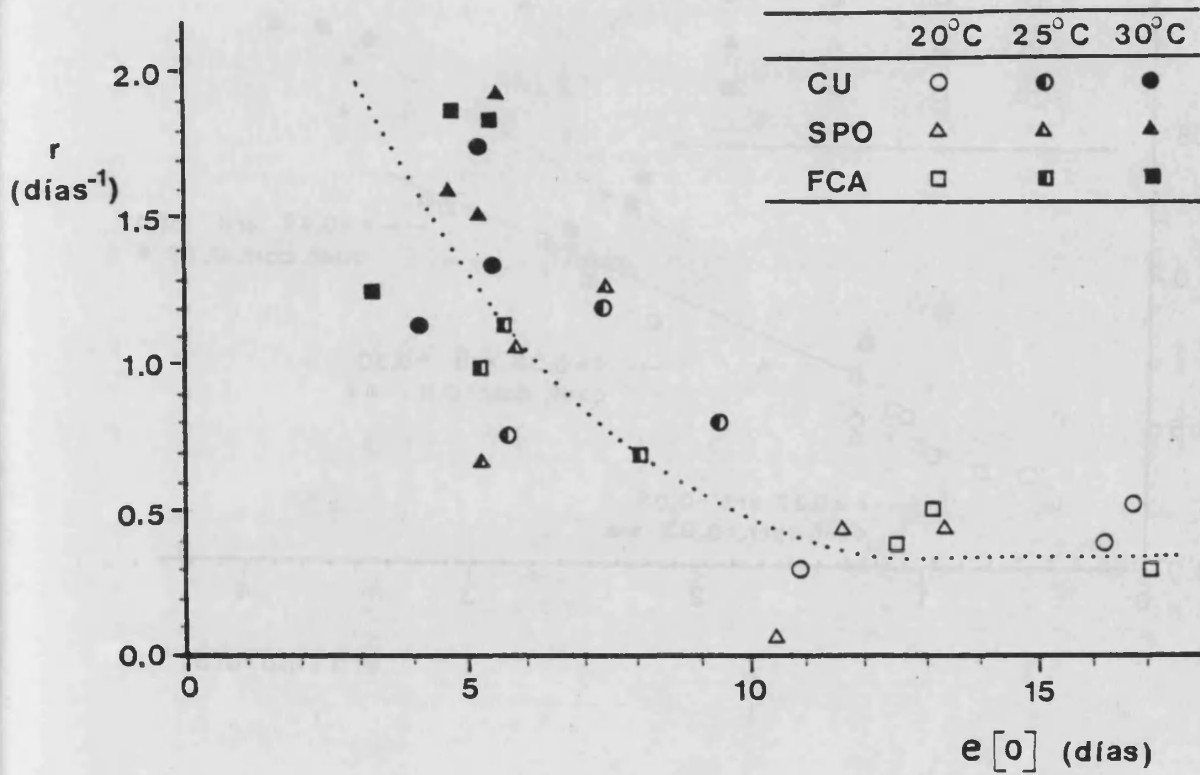


Figura 6.12. Relación entre la tasa intrínseca de aumento,  $r$ , y la duración de la vida, medida como  $e[0]$ , para hembras amícticas. La línea de puntos indica la tendencia general de los valores.

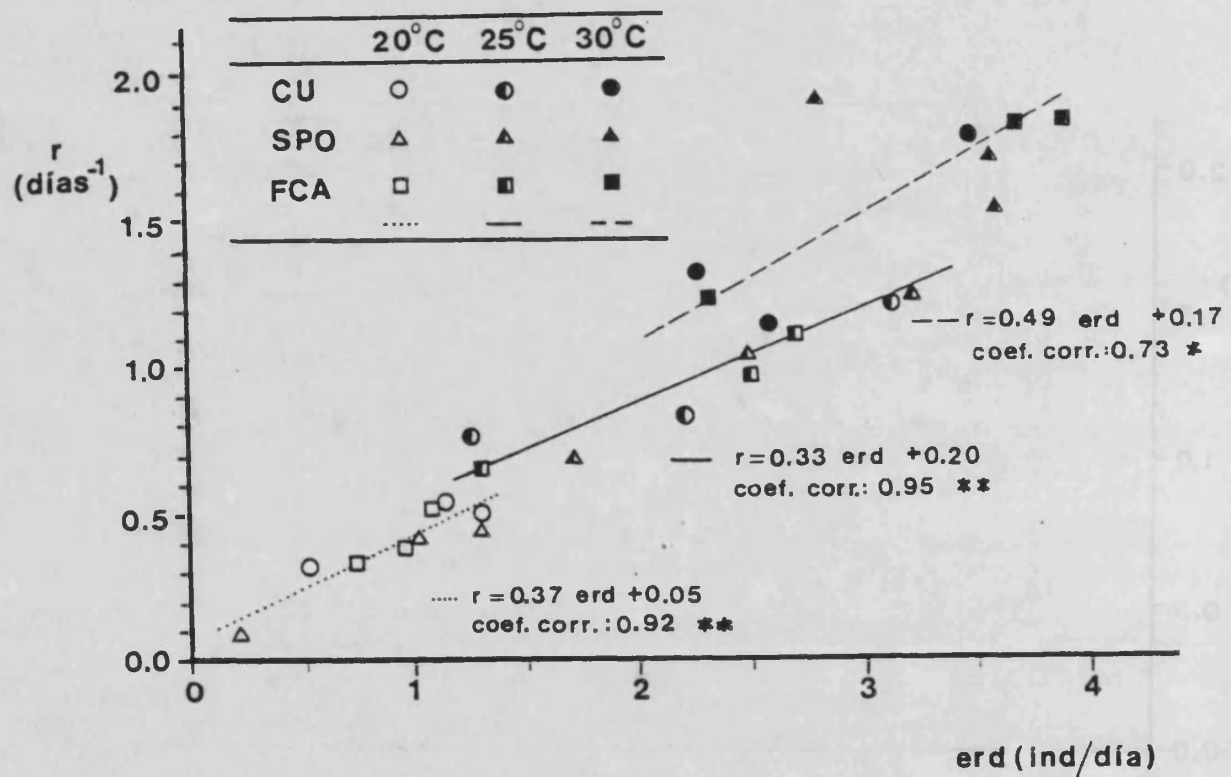


Figura 6.13. Relación entre la tasa intrínseca de aumento,  $r$ , y el esfuerzo reproductivo diario,  $erd$ , para hembras amícticas. Junto a los puntos correspondientes a cada temperatura, se representa la correspondiente línea de regresión de Teissier (coef. corr.: coeficiente de correlación; \*: estadístico significativo para  $\alpha = 5\%$ ; \*\*: estadístico significativo para  $\alpha = 1\%$ ).

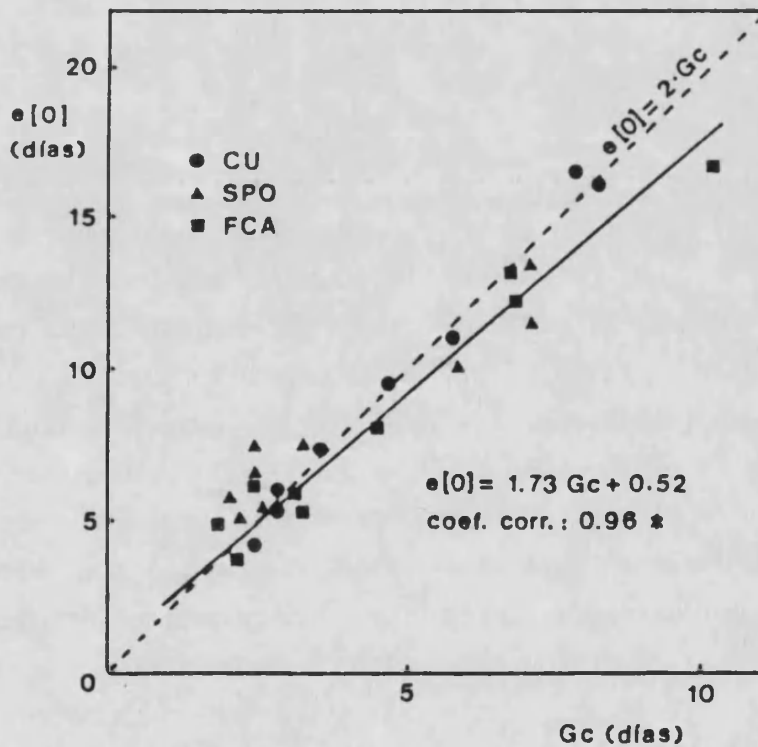
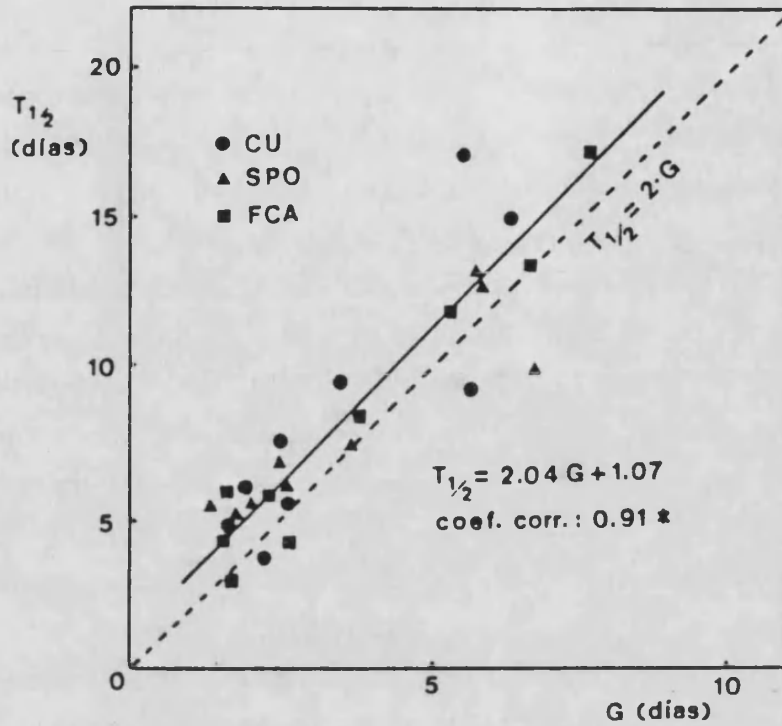


Figura 6.14. Relación entre la duración de la vida (medida como  $T_{1/2}$  y  $e[0]$ ) y el tiempo de generación ( $G$  y  $Gc$  respectivamente) para hembras amícticas. Junto a los valores se representan las líneas de regresión de Teissier (coef. corr.: coeficiente de correlación; \*: estadístico significativo para  $\alpha = 1\%$ ).

La expectativa planteada por King (1982), según la cual en algunos organismos la duración de la vida (medida como  $T_{1/2}$ ; véase la tabla 6.1) debe ser el doble que el tiempo de generación, se ha contrastado mediante una prueba t de Student con una hipótesis nula que iguala a 2 el valor medio de la razón  $T_{1/2}/G$ . El valor medio observado para esta razón es 2.51 lo que da un estadístico  $t$  de 4.195, con 26 grados de libertad, rechazándose la hipótesis nula a un nivel de significación del 1%. Para estudiar el tipo de desviación con respecto a lo esperado, se ha realizado un análisis de regresión de Teissier para  $T_{1/2}$  y  $G$  (figura 6.14).

El estudio se ha repetido sobre  $e[0]$  y  $Gc$ . En este caso la razón entre ambos parámetros es de 1.9, con un valor  $t$ , para 26 grados de libertad de 1.902, no rechazándose que  $e[0]/Gc=2$  a un nivel de significación del 5%. La recta de regresión de Teissier correspondiente se muestra también en la figura 6.14. Esta recta pone de manifiesto que, aunque  $Gc$  y  $e[0]$  no mantienen estrictamente una proporción 1:2, están muy cerca de ello. En la gráfica correspondiente a dicha relación (fig. 6.12) también se observa que los valores correspondientes a CU se apartan muy ligeramente de la relación teórica esperada.

## 6.5 DISCUSIÓN

Los valores de los parámetros de reproducción encontrados para las tres cepas estudiadas son indicativos de un parecido fundamental entre ellas. Todas las cepas poseen valores de  $R_0$ ,  $erd$  y  $r$  dentro de un mismo rango, poniendo de manifiesto que las características básicas de sus biología son muy similares, como corresponde a individuos de la misma especie. Existen, obviamente, algunas diferencias globales; como p.e., que los valores máximos de  $R_0$  y  $r$  corresponden a SPO o que los valores reproductivos diarios máximos son ligeramente más altos en FCA y SPO que en CU. A esta última cepa, que es la de mayor tamaño, también le corresponde el mayor  $Gc$ . Este resultado pone en relación los ritmos de reproducción con el tamaño del organismo. Organismos mayores requieren un mayor tiempo de formación, pues la cantidad de energía y de materiales que debe ser dedicada a cada descendiente también se incrementa, mientras que la energía que incorpora la madre a partir de su ambiente, en relación al tamaño, aumenta en menor grado. (Para una discusión de los mecanismos hipotéticamente implicados en la relación entre tamaño y tiempos de reproducción, véase el Capítulo 4).

En conjunto, los valores de reproducción que se han encontrado son bastante altos cuando se comparan con los reseñados para *Brachionus plicatilis* en la bibliografía. Entre los estudios que emplean técnicas comparables a las utilizadas aquí, los valores más altos

registrados para  $r$  y  $R_0$  son respectivamente 1.14 y 19.9 (King, 1982; otros ejemplos de valores máximos son  $r=0.7$ , King y Miracle, 1980, y  $r=0.91$ , Hirayama y Kusano, 1972). Con una técnica que no utiliza el seguimiento individual de los individuos, Pascual y Yúfera (1983) encontraron un valor máximo de  $r=1.35$ , a 35°C de temperatura. La comparación de estos valores máximos de  $r$  con los observados en el presente trabajo sitúa el marco experimental aquí empleado en un nivel elevado de optimización.

### **Efecto de la temperatura sobre los parámetros de reproducción y de aumento poblacional**

El efecto de la temperatura sobre la tasa intrínseca de aumento de los rotíferos es bien conocido, habiéndose determinado que incrementos de la temperatura a lo largo de un cierto rango causan un drástico incremento de  $r$  (véanse, p.e., Hirayama y Kusano, 1972; Pascual y Yúfera, 1983). En *Brachionus plicatilis* se ha podido demostrar que dicho incremento es aproximadamente lineal hasta un valor máximo, a partir del cual decrece. Este valor máximo se sitúa en 27°C, según Hirayama y Kusano (1972), y a 35°C, según Pascual y Yúfera (1983). Esta disparidad de resultados se puede explicar por el uso, en ambos trabajos, de cepas distintas. Tanto en el trabajo de King y Miracle (1980), como aquí mismo, se introducen cepas diferentes de *B. plicatilis* en el estudio de  $r$ . Los resultados obtenidos en los dos casos muestran que, aunque el crecimiento de  $r$  con la temperatura es general a todas ellas, la intensidad de dicha respuesta depende del genotipo. También coinciden en señalar que la relación entre  $r$  y la temperatura es lineal durante el segmento de la curva de respuesta en el rango de temperaturas estudiado. En este sentido, el presente trabajo permite una generalización de esta relación, dado que se ha observado en todas las combinaciones de cepas y salinidades estudiadas, muy separadas entre sí.

El fuerte efecto de la temperatura sobre  $r$ ,  $G_c$  y  $erd$ , es posible porque actúan dos fenómenos. En primer lugar, se sabe que incrementos en la temperatura aumentan considerablemente la tasa de filtración de *B. plicatilis* (hasta triplicar su valor, desde 12°C hasta 27°C, según Hirayama y Ogawa, 1972), lo cual aumenta la tasa de ingestión, si se mantiene la concentración algal en el medio. De esta forma, y si con ello aumentara la asimilación, podría existir una mayor incorporación de energía por unidad de tiempo a mayor temperatura. En segundo lugar, el individuo llega a adulto más rápidamente, presentando menor tamaño a mayor temperatura (véase el Capítulo 4). La adición de ambos fenómenos haría que el acúmulo de materia y energía necesario para producir un descendiente se realizase más rápidamente. En el caso de que dicho acopio no sea el factor limitante de la reproducción

sino que, por el contrario, lo fuera la velocidad de los procesos de transformación que comporta el desarrollo, también es esperable un efecto acelerador de la temperatura por su acción sobre la velocidad de las reacciones bioquímicas.

El valor de la tasa intrínseca de aumento es considerado como una medida de eficiencia biológica, pero también como un objeto de adaptación. La regulación fisiológica o genética de este parámetro es importante, puesto que valores muy elevados del mismo podrían resultar inadaptativos si provocasen un cambio en el medio perjudicial para la especie, p.e., mediante el agotamiento de los recursos.

Las poblaciones de rotíferos muestran importantes fluctuaciones en cultivos experimentales y en las aguas naturales. Halbach (1973), trabajando con *Brachionus calyciflorus*, estudió el incremento de las oscilaciones en el tamaño poblacional originado por la variación de la temperatura, y utilizó modelos de crecimiento logístico con demora de tiempo. Según dichos modelos, la amplitud de las oscilaciones es mayor cuando mayor es  $r$ , a igual tiempo de demora (Hutchinson, 1981). Así, en la medida en que el modelo es realista, valores de  $r$  muy elevados pueden generar una inestabilización en la población, ya que durante los mínimos de la oscilación, una variación al azar puede llevar a la extinción de la población. Por otro lado, valores de  $r$  elevados son convenientes a organismos de colonización oportunista como, dentro del zooplancton, son los rotíferos (Allan, 1976). Bajo los supuestos anteriores, el óptimo entre estas dos tendencias opuestas representará un valor de adaptación.

Según el modelo antes citado (Halbach, 1973), la amplitud de la oscilación crece en igual proporción con la capacidad de carga del sistema ( $K$ ), pero al aumentar la capacidad de carga, los mínimos de la oscilación se alejan en valor absoluto de la extinción. Por ello, a partir de estos supuestos, evidentemente simplificados, se espera una relación directa entre  $r$  y el número medio de individuos que puede vivir en un ambiente ( $K$ ). Valores de  $r$  elevados serán particularmente adecuados cuando los niveles medios de la población a que llevan sean también elevados. Esta relación entre  $r$  y  $K$  puede verse en algunos de los datos obtenidos por Snell (1979) en *Asplanchna girodi*.

En ambientes muy fluctuantes la permanencia de una población con valores medios constantes es poco probable. A la colonización de estos medios sigue más o menos rápidamente una caída del nivel poblacional, la cual, para la persistencia de la población de rotíferos, conviene que ocurra por inducción del ciclo místico. Pero la mixis requiere densidades poblacionales altas para ser efectiva. Por esta razón, valores de  $r$  elevados que no produjeran poblaciones densas, tampoco representarían una situación ventajosa dentro de una dinámica rápida de colonización, mixis y latencia.

Para los organismos estudiados aquí, el incremento de temperatura, representa unas condiciones energéticas favorables a la reproducción, como se expone más arriba. Pero, por



lo que se acaba de argüir, el efecto de la temperatura también puede ser visto en términos de información sobre otras condiciones del medio concomitantes con ella, dado que la temperatura podría indicar la existencia en las aguas de un conjunto de condiciones asociadas muy adecuado para el desarrollo de las cepas de *B. plicatilis* estudiadas.

Según los resultados del presente estudio, incluso valores bastante elevados de  $r$  pueden llegar a triplicarse cuando se pasa de 20 a 30°C. Este comportamiento no es común a otras cepas de *Brachionus plicatilis* (véase King y Miracle, 1980), algunas de las cuales muestran incrementos mucho menores. Es difícil concluir a partir de diferentes estudios realizados en condiciones no tipificadas. Pero la existencia de distintas pendientes de respuesta de  $r$  con respecto a la temperatura sugiere la existencia de una regulación sobre las respuestas a este factor. De acuerdo con esto, las distintas cepas no se diferenciarían tanto en sus metabolismos para ocupar los diferentes ambientes, como en los mecanismos reguladores del metabolismo, dando valores de  $r$  adecuados a sus respectivos ambientes.

Los valores de  $R_0$  no cambian tan severamente con la temperatura como los restantes parámetros de reproducción. La variación observada en  $R_0$  entre temperaturas es muy pequeña si se compara con la variación dentro de temperaturas. Estos resultados están parcialmente de acuerdo con Hirayama y Kusano (1972), que muestran la ausencia de relación entre 16 y 27°C, y contrastan con las relaciones bastante estrechas detectadas en otros rotíferos; p.e., King (1972), en *Euchlanis dilatata*.

La tasa neta de reproducción,  $R_0$ , es un parámetro que no se refiere a una unidad de tiempo físico, sino al tiempo biológico que comprende una vida media. En el caso de *B. plicatilis*, la disminución de la vida que implica el aumento de la temperatura se ve compensada por una mayor rapidez en la producción de huevos (p.e., un mayor esfuerzo reproductivo diario), de forma que el rendimiento neto de una vida es, aproximadamente, el mismo. Sin embargo, en la figura 6.10 ( $R_0$  vs.  $erd$ ) puede observarse que los valores mínimos de  $R_0$  tienden a crecer con la temperatura, aunque dicha tendencia no es seguida por los valores máximos de  $R_0$ , ya que el valor máximo a 30°C es algo inferior al de 25°C.

Estos resultados se pueden explicar asumiendo que  $R_0$  tiende a aumentar ligeramente con la temperatura, mediante un incremento del esfuerzo reproductivo diario algo mayor que el necesario para compensar la disminución de la vida. La falta de correspondencia para el máximo  $R_0$  a 30°C puede deberse a la existencia de un umbral máximo para el esfuerzo reproductivo diario, en torno a 4, no tanto por la imposibilidad de formar más descendientes por día -la producción diaria puede triplicar puntualmente este valor- sino por el desgaste que supone para las madres. De ser cierta esta explicación, la relación entre  $erd$  y  $e[0]$  que se presenta en la figura 6.10 no es extrapolable para valores de  $erd$  mucho mayores de los que allí se indican.

Una hipótesis alternativa consiste en atribuir la diferencia en  $R_0$  con la temperatura a la relación interactiva entre éste y otros factores (cepa o salinidad). Esta explicación es improbable, pues habría que esperar valores altos de  $R_0$  a temperaturas altas, ya que dos de las cepas (SPO y FCA) están particularmente adaptadas a estas condiciones.

### **Efecto de la salinidad sobre los parámetros de reproducción y de aumento poblacional**

Hasta el presente, el efecto de la salinidad sobre el crecimiento poblacional de *B. plicatilis*, aun estando constatado (Pascual y Yúfera, 1983), no se había medido relacionándolo con otros factores. Los resultados que se presentan aquí muestran que la salinidad influye en el crecimiento poblacional de *B. plicatilis* de distintas formas, según otros factores genéticos y ambientales. El efecto de la salinidad en la dinámica de poblaciones no es monótono como el de la temperatura, sino que puede presentar óptimos (figura 6.8). Igualmente en contraposición a la temperatura,  $R_0$  está bastante afectado por este factor, generalmente en el sentido de presentar valores muy bajos en las condiciones de salinidad más alejadas del óptimo.

La respuesta a la salinidad es diferente según la cepa. FCA prefiere salinidades medias y altas, CU es una cepa con mejor crecimiento a salinidades medias, mientras que SPO tiene un máximo en salinidades más bajas. Atendiendo a qué cepa corresponde el valor máximo de  $r$  para cada conjunto de condiciones, los resultados obtenidos predicen que a SPO le correspondería ocupar aguas cálidas y relativamente poco saladas, a CU salinidades intermedias y bajas con temperaturas bajas y a FCA, altas salinidades y temperaturas altas.

Para los rangos estudiados, la cepa más adaptable a las condiciones ensayadas es FCA, por lo que es esperable que sea una cepa colonizadora de ambientes fluctuantes. La capacidad de esta cepa para adaptarse particularmente a las aguas donde salinidad y temperatura están correlacionadas (figura 6.9) muestra hasta qué punto puede incorporarse al genotipo la información necesaria para ser más eficaz en los ambientes más frecuentes. Una situación parecida ocurre, aunque en menor medida, en CU. Esta cepa presenta una menor influencia de la variación de la temperatura y la salinidad sobre sus parámetros demográficos, por lo que parece tener una mayor capacidad de regulación respecto al ambiente externo, presentando así una característica típica de los organismos eurioicos. En cambio, FCA parece basar su carácter eurioico en la capacidad para mantener elevadas eficiencias en aquellas combinaciones de factores que son más probables en sus ambientes naturales. Según los resultados obtenidos,

SPO es la cepa menos eurioica, presentado dificultades su cultivo en alguna de las condiciones ensayadas.

### **Características diferenciales de las cepas estudiadas**

Las características que se acaban de comentar se ajustan bastante bien a lo esperado según el origen de las muestras. FCA es una cepa cuyo origen remoto es una zona de marismas, con lagunas, charcas someras y canales, cuya salinidad oscila severamente y puede llegar a ser muy alta (la conductividad puede variar desde 7 a más de 50 mS/cm, véase la tabla 2.4), alcanzándose los valores más altos en verano, al concentrarse las sales por evaporación. Además, el cultivo marino de *B. plicatilis* en el Centro de Castellón del I.I.P., ha podido ejercer un efecto de selección a favor de una cepa como FCA, adaptable a salinidades altas y sin ciclo sexual en las condiciones ensayadas.

Por el contrario, SPO proviene de una laguna de carácter más estable y que no alcanza salinidades tan elevadas. Siendo SPO una cepa de verano y de un lugar cálido, muestra su preferencia por temperaturas altas. Esta cepa, cuando se cultiva en las proximidades de los óptimos que se han observado, reacciona induciendo el ciclo mictico. Ya se ha señalado que la eficiencia de la mixis depende de la densidad de población. Cuando las condiciones son óptimas, la mixis puede suponer una desventaja en la ocupación del medio. Pero si las condiciones son muy adversas y la población es rala, la mixis es altamente ineficaz, pues la probabilidad de encuentro entre un macho y una hembra es baja. Esta argumentación se ha utilizado en la literatura para explicar la función de una mixis dependiente de la densidad (Gilbert, 1977). Extendiéndola a procesos de inducción de la mixis por factores físico-químicos, llevaría a concluir que las condiciones más adecuadas para la mixis son las que circundan a valores óptimos.

La inducción de la mixis en rotíferos se ha relacionado clásicamente con la densidad (p.e., Gilbert, 1977; King y Snell, 1980), y existe evidencia del efecto de este factor en cultivos de laboratorio de *Brachionus plicatilis* (incremento de la producción de machos en función de la densidad de hembras; Pozuelo, 1977), así como en estudios de campo realizados por Miracle y Guisset (1977). Estos últimos autores provocaron altas densidades en las poblaciones naturales manteniéndolas dentro de limnocorales, lo cual desencadenó elevadas tasas de mixis, mientras que en exterior de los limnocorales las densidades permanecían más bajas por la acción del flujo de agua, y la mixis se mantuvo también en valores bajos. Pero cada vez más, se ha ido comprobando que en *B. plicatilis* algunos factores ambientales pueden

actuar directamente sobre el control del ciclo reproductivo. Debido probablemente a las características de las cepas con que trabajan, los distintos grupos de investigadores que estudian este tema hacen hincapié en unos u otros factores. Por ejemplo, Lubzens *et al.* (1985) comprobaron que en sus cultivos, habitualmente realizados en agua de mar, la mixis se puede inducir mediante una disminución drástica de la salinidad. Hino y Hirano (1984) observaron que las tasas de mixis se incrementan a bajas temperaturas, pero también que las pautas de mixis para una cepa pueden verse condicionadas por la temperatura a la que se formó el huevo de resistencia del que procede dicha cepa. Por ello, y tal como también se observa en los resultados del presente estudio, las condiciones de inducción de la mixis pueden ser diferentes para cepas distintas. En el caso particular de la cepa SPO, como se ha expuesto más arriba (véase también la figura 6.8), dichas condiciones están probablemente más relacionadas con la desviación respecto a las condiciones óptimas que en relación a valores absolutos de uno u otro factor.

Es posible que FCA posea mixis en condiciones no exploradas en este trabajo, pero parece necesario que, de existir mixis en FCA, será más limitada que en SPO. En consecuencia, SPO y FCA representan dos estrategias diferentes dentro de una misma especie. SPO parece más especializada y reacciona a las variaciones del ambiente pasando a formas latentes. FCA es más versátil y se adapta a un espectro mayor de condiciones de salinidad y temperatura.

La cepa CU procede de una laguna de salinidad intermedia a las lagunas de las restantes cepas y fue recolectada en verano, pero en unas aguas más continentales y frías (véase la tabla 2.4). La dinámica poblacional refleja este origen, mostrando sus preferencias por aguas más frías y de salinidad intermedia, en correspondencia con SPO y FCA. En estos rangos de las condiciones de cultivo, CU responde con un cierto sinergismo a medios con la salinidad y temperatura correlacionadas. Esta respuesta, junto con la importancia de la mixis en CU, sitúan la estrategia de esta cepa en una posición intermedia con respecto a las otras dos.

En el Capítulo 4 se estableció que las bajas temperaturas inducen tamaños mayores en *B. plicatilis*. En este sentido, el estudio de la dinámica poblacional realizado aquí muestra que la cepa CU, de tamaño mayor, está más adaptada a las temperaturas bajas que las restantes cepas, más pequeñas. Los datos que presentan King y Miracle (1980), en un estudio sobre senescencia, son consistentes con esta aseveración, pues estos autores clasifican como termófilas a las cepas que resultaron ser de menor tamaño.

Fundamentándose en estas observaciones, es muy probable que el aumento de tamaño incremente la eficiencia biológica de estos organismos en agua fría, por adaptación directa a las mismas o por adaptación a otros factores asociados a la temperatura, como la salinidad, el

porcentaje de saturación de oxígeno, cambios tróficos, etc. De ser así, se debe concluir que la adaptación a las distintas temperaturas, dentro de la especie, se realiza a dos niveles: el fisiológico y el genético. El primero tendría como función adaptarse a pequeños cambios ya que representa una respuesta rápida. El segundo obliga a la recolonización del medio por otras cepas de diferente genética, y estaría más ligado a variaciones ambientales de índole geográfica o estacional que a fluctuaciones breves en el tiempo.

La adaptación a la salinidad de las tres cepas se corresponde ordinalmente con el nivel de mineralización de las aguas de origen. Pero la salinidad de las lagunas es más alta que la salinidad por la que muestran preferencia en los cultivos experimentales. Esto puede deberse a la diferente composición del medio de cultivo y de las aguas de procedencia de las cepas, que a su vez difieren entre sí. La salinidad del medio de cultivo utilizado se consigue regulando la concentración de iones, principalmente el  $\text{Cl}^-$  y el  $\text{Na}^+$ , del agua marina. Por el contrario, en el agua de las lagunas la mineralización se debe en gran parte a otros iones (véase López, 1983), sobre todo en una laguna endorreica interior como La Celadilla (origen de la cepa CU). Como se ha visto en el Capítulo 3, la diferente composición en sales del medio puede ser muy relevante en la distribución de *B. plicatilis* y, en consecuencia, en su biología.

Existen otras explicaciones alternativas del desplazamiento de los óptimos de salinidad con respecto a las condiciones de origen. Es evidente que la biología de los organismos está sujeta a constricciones insalvables por evolución. El óptimo fisiológico de cada cepa tenderá a acercarse a las condiciones de su habitat, pero no tiene por qué coincidir con dichas condiciones, pues basta con que el organismo sea más eficiente que sus competidores potenciales. Sea una u otra la explicación del fenómeno observado, éste se entiende mejor si se postula el origen no marino de *B. plicatilis*, tal y como se discutió en el Capítulo 4.

### **Relación de $R_0$ y $r$ con los restantes parámetros demográficos**

No parece probable que  $R_0$  pueda ser mucho mayor que los valores máximos observados. Tanto  $e[0]$  como  $erd$  tienen límites genéticos o cinéticos. Pero, además, el incremento de uno de estos dos parámetros se consigue frecuentemente mediante la disminución del otro, como puede observarse en la figura 6.10. Tal y como observaron Snell y King (1977) en *Asplanchna*, el esfuerzo reproductivo diario parece ser causa de mortalidad, debido a la desviación de recursos desde la supervivencia a la reproducción.

Si existe un valor máximo de  $R_0$ , poseer un número mucho mayor de óvulos que este valor umbral supone un dispendio que los individuos de *Brachionus plicatilis* no parecen

hacer. En el apartado de Resultados se ha comentado la observación de individuos postreproductivos muy transparentes, siendo la principal razón de opacidad la masa del germovitelario. Además, los individuos senescentes pierden gran cantidad de bandas proteínicas, cuando estas se detectan mediante electroforesis de muestras individuales teñidas con plata (M.J. Carmona, *comunicación personal*).

Por otro lado, las hembras míticas no poseen valores de  $Rom$  muy diferentes de los valores de  $Ro$  para hembras amíticas.  $Rom$  muestra menor variación con respecto a las distintas cepas (CU y SPO) y condiciones de cultivo que  $Ro$ . Se pone de manifiesto que la producción de un descendiente macho, al suponer menor energía dado su menor tamaño, es más independiente de las condiciones ambientales que la producción de hembras. También por esta razón, la descendencia masculina aparece más tempranamente que la descendencia femenina ( $Gcm$  es menor que  $Gc$ , para hembras míticas y amíticas respectivamente). Pero los valores máximos de  $Ro$  (hembras amíticas) y  $Rom$  son comparables, señalando una limitación en el número de óvulos disponibles en el germovitelario de estos organismos eutélicos.

Las relaciones de la tasa intrínseca de aumento con respecto al tiempo de generación de la cohorte, al esfuerzo reproductivo diario y al tiempo de generación denotan que las tres cepas presentan en este aspecto un comportamiento común, al igual que ocurre con respecto al rango observado en los parámetros demográficos (véase el comienzo de este apartado). Las cepas, como se ha venido comentando, están claramente diferenciadas por sus distintas respuestas a las condiciones ambientales. Los valores de los parámetros vitales son diferentes, pero conservan el mismo tipo de relación entre ellos. La variación de la salinidad tampoco introduce cambios importantes en las relaciones entre los parámetros. Sin embargo, la temperatura resultó ser un factor que modifica dichas relaciones.

A temperaturas bajas, ni  $Gc$  ni  $e[0]$  pueden explicar la variación de  $r$ , la cual parece corresponderse con cambios en el esfuerzo reproductivo diario ( $erd$ ). Este último parámetro no está muy correlacionado con la duración de la vida en el rango correspondiente a 20°C, y su incremento determina una mayor tasa neta de reproducción, con repercusión sobre  $r$ .

Snell (1978), en un estudio de simulación, determinó que, a valores bajos de  $Ro$  (inferiores a 15) y en ausencia de correlación entre este parámetro y el tiempo de desarrollo, la variación de  $Ro$  debería tener un efecto importante sobre cambios en el valor de  $r$ , mientras que el tiempo de desarrollo tendría una baja influencia. Los resultados obtenidos aquí están de acuerdo con la expectativa de Snell. A 20°C sólo en dos casos se supera el valor de  $Ro=15$  y los rotíferos no cambian el valor de  $r$  mediante una disminución de  $Gc$  (un parámetro estrechamente ligado al tiempo de desarrollo) sino produciendo un mayor número de descendientes.

Para otras temperaturas, la relación entre  $r$  y los restantes parámetros es más compleja, pues existe un mayor número de covariaciones. Para estas temperaturas, parece haberse superado un nivel crítico en el desarrollo del potencial reproductivo; los valores de  $R_0$  tienden a ser mayores y los tiempos de generación más cortos, siendo varios los parámetros demográficos que se relacionan con la tasa intrínseca de aumento. La duración de la vida se relaciona de forma inversa con  $r$  cuando los datos se consideran globalmente. Por esto debe suponerse que la relación dominante viene dada por una disminución de la vida al aumentar la reproducción. Cuando el análisis de la relación entre  $r$  y la duración de la vida se circunscribe a los datos correspondientes a 30°C de temperatura, la relación parece compuesta, pues el efecto general queda enmascarado por una correlación positiva entre la duración de la vida y  $r$ , aunque a un nivel de significación de aproximadamente el 10%. El cultivo a 30°C da poblaciones caracterizadas por esfuerzos reproductivos muy altos y valores de  $G_c$  muy bajos, probablemente cercanos a su umbral inferior. Como los individuos tienen vida muy corta existe una baja dispersión de la fecundidad en torno al tiempo de generación. En estas circunstancias, un alargamiento de la vida puede implicar un aporte de descendientes tardíos que tengan peso en la descendencia futura y, por lo tanto, en  $r$ .

Para una temperatura de 25°C, tanto  $G_c$  como  $erd$  parecen influir sobre  $r$ , aunque las relaciones causales deben establecerse con cautela, debido a que  $G_c$  y  $erd$  pueden covariar entre sí. Además, otros factores como la fecundidad temprana pueden influir fuertemente sobre  $r$ . Sin embargo, la influencia de  $erd$  es sugerida porque la relación entre este parámetro y  $r$  es aproximadamente la misma que para los datos obtenidos a 20°C (figura 6.13). Cohortes con tiempos de generación muy parecidos (compárense, para  $T = 25^\circ\text{C}$ , los datos correspondientes a CU, S: 24 g/l; SPO, S: 24 g/l; y FCA, S: 9 g/l) presentan diferencias en  $r$  que son atribuibles a sus distintos valores de  $erd$ . También existen ejemplos de lo contrario, esto es, cohortes con distintos valores de  $r$  y de tiempo de generación, pero con igual  $erd$  (compárense los datos para 25°C, S: 9 g/l, de las tablas 6.13 y 6.15), lo cual muestra que  $G_c$  se puede relacionar con  $r$  independientemente de  $erd$ .

## Supervivencia

Sólo la temperatura, probablemente el factor más importante en la dinámica poblacional, afecta de una manera uniforme a la supervivencia, provocando una drástica disminución de la esperanza de vida en el nacimiento. Por el contrario, las distintas cepas o salinidades no parecen dar valores de supervivencia sistemáticamente distintos. Sin embargo, el efecto de la temperatura sobre la duración de la vida puede ser menos general de lo que

sugieren estos resultados, pues King y Miracle (1980) estudiaron cepas algunas de las cuales no mostraron disminución de la vida media con la temperatura. Además, observaron grandes diferencias entre cepas cultivadas en las mismas condiciones.

En cualquier caso, factores o combinaciones de factores que afectan a  $r$ , no influyen tan claramente sobre la duración de la vida. La duración de la vida es un parámetro complejo en relación a las condiciones ambientales, dado que sobre él operan simultáneamente dos causas concomitantes pero frecuentemente contrapuestas. Un mayor ajuste fisiológico a las condiciones del medio tenderá a alargar la vida pero también a producir más descendencia, y de esto último puede resultar una disminución de la vida. Un problema central en el análisis causal de la supervivencia reside en separar estos factores.

La estructura de la supervivencia es muy constante, dando curvas del Tipo I para todos los casos estudiados. Usualmente este tipo de curvas, muy común en rotíferos cultivados en laboratorio (véase p.e., Robertson y Salt, 1981; King, 1982; Ricci, 1983), es esperado para cohortes genéticamente homogéneas y donde los riesgos de muerte por causas extrínsecas al organismo (p.e., predación) están minimizados. Pero los procesos intrínsecos que determinan la probabilidad de muerte pueden ser alterados por las condiciones adversas en el medio, provocando un alejamiento de la curva del Tipo I, p.e., a través de una mayor mortalidad en la fase inicial de la vida. Las curvas del Tipo I son denominadas con frecuencia "fisiológicas", aunque habrá que aceptar que procesos de desarrollo o "maduración" de los organismos como los implicados en las curvas del Tipo III también son fisiológicos. Así pues, existen posibilidades de que las condiciones adversas cambien la estructura de la supervivencia específica de la edad. Pero, a pesar de que algunas de las condiciones de cultivo que han sido ensayadas pueden considerarse adversas (p.e., SPO, T: 20°C, S: 24 g/l), no se ha observado que la estructura de la mortalidad se vea alterada hasta el punto de que la curva de supervivencia no sea del Tipo I. Los resultados a este respecto refuerzan la idea de que el proceso de envejecimiento está bajo un elevado grado de control y sugieren, de acuerdo con King (1982), que la duración de la vida está sometida a algún tipo de optimización por selección.

En este trabajo se ha atendido la sugerencia (Pinder *et al.*, 1978) de utilizar la distribución de Weibull para modelar, o al menos sumarizar, los datos de supervivencia, habiéndose ensayado también otros modelos usuales. Casi todos estos modelos tienen el atractivo de describir la supervivencia mediante dos parámetros, uno de escala que se relaciona con el tiempo medio de supervivencia y un segundo parámetro relativo a la forma de la curva de supervivencia. De esta forma el análisis de supervivencia puede contemplar estos dos aspectos.



El ajuste de los modelos a los datos no es muy satisfactorio, pero aun así se pueden realizar algunas consideraciones a partir de los resultados. Por ejemplo, el análisis practicado confirma que la probabilidad de muerte crece con la edad. De entre los modelos ensayados, el modelo lineal-exponencial rinde los peores ajustes, lo cual permite concluir que la mortalidad no sólo crece con la edad, sino que lo hace a un ritmo superior al lineal. Pinder *et al.* (1978) ya encontraron que los datos de supervivencia de rotíferos obtenidos por Edmonson (1945; datos de supervivencia de *Floscularia conifera*) no siguen significativamente la distribución de Weibull, aunque atribuyen la pobreza de los ajustes a la escasa cantidad de datos disponibles. Sin embargo, parece plausible que se deben proponer otras distribuciones diferentes a la de Weibull para modelar la supervivencia de los rotíferos. El modelo de Gompertz rinde unos resultados algo mejores, por lo que es probable que la mortalidad crezca con la edad siguiendo una evolución próxima a una curva exponencial. El parámetro de forma de estos modelos no sigue una pauta clara con respecto a la temperatura y a la salinidad, y tan sólo se observa una tendencia en la cepa FCA a presentar valores más bajos que las otras cepas. De nuevo, una componente genética parece estar presente en la forma de las curvas de supervivencia.

En consecuencia, los datos del presente trabajo apoyan el postulado según el cual, en estos rotíferos, la muerte obedece a un proceso programado. Este proceso, aun cuando condicionado por el genotipo, no tiene por qué ser exclusivamente de índole genética, ya que puede tener su origen en modificaciones del citoplasma, del tipo postulado por Lansing (1942, 1947, 1948 y 1954; para una revisión del efecto Lansing, véase King, 1983). Por el contrario, la aceleración o deceleración de este proceso debería ser dependiente de factores ambientales, influyendo sobre la probabilidad de supervivencia directamente o indirectamente, a través de variaciones en la tasa de fecundidad específica de la edad.

Según los datos del presente capítulo, las hembras míticas de *B. plicatilis*, que resultaron ser productoras de machos en su gran mayoría, tienen una vida más breve que las hembras amíticas. La diferencia entre la duración de la vida de ambos tipos de hembras no es muy grande, pero es un rasgo constante que se mantuvo en casi todas las condiciones de cultivo. Este resultado contrasta con la observación de Snell (1977b) para *Asplanchna brightwelli* de una vida más larga para hembras míticas. Ruttner-Kolisko (1972), en cambio, señala que no existen diferencias en la duración de la vida entre estos dos tipos de hembras en *Brachionus urceolaris*.

Es difícil explicar esta disparidad de resultados, máxime cuando los autores citados no dan detalles cuantitativos (Ruttner-Kolisko, 1978) o éstos se limitan a la supervivencia, sin ofrecer datos de fecundidad (Snell, 1977b). En el caso de *B. plicatilis*, la menor duración de la vida en las hembras míticas va acompañada de una disminución del tiempo medio en el que aparece la descendencia ( $G_{cm}$  es menor que  $G_c$ ). Dado que las hembras mueren

frecuentemente con el germovitelario agotado y poseen periodo postreproductivo, esta relación no es espuria. Esto es,  $Gcm$  no es menor por el simple hecho de que las hembras míticas vivan menos. Las hembras míticas realizan antes sus funciones reproductivas y también mueren antes, bien porque existe una relación adaptativa que colapsa la vida dependiendo de la reproducción, bien porque la mayor velocidad en la producción de machos, aun cuando éstos son menores que las hembras, eleva el desgaste metabólico de las madres.

La idea de que la duración de la vida se establece por alguna forma de selección equilibradora, relacionada con la reproducción, es difícil de comprobar empíricamente debido a la dificultad, ya comentada, que entraña la relación entre reproducción y supervivencia. Sin embargo, la estructura de la supervivencia (*i.e.*, curva del Tipo I, dependencia de la forma de la curva con respecto al genotipo, aumento de las probabilidades de muerte asociado al agotamiento del potencial reproductivo, etc.) y el comportamiento de las hembras míticas apoyan la existencia de la relación aludida.

### **Duración de la vida en relación con el tiempo de generación**

King (1982) elaboró la hipótesis por la cual en determinados organismos, entre los cuales incluye a los rotíferos, la duración de la vida propende a ser el doble que el tiempo de generación. Dicha hipótesis se fundamenta en la contraposición entre (1) competencia del individuo con la descendencia portadora de los mismos genes, y (2) protección de la descendencia ejercida por los parentales. Es evidente que en la mayoría de las especies con cuidado de la cría, éste se limita a la primera generación filial. Según King, hasta que la primera generación filial se ha reproducido, domina el aspecto de protección sobre el de competencia, pero esto se invierte a partir de este momento, por lo que la desaparición del parental aumenta las probabilidades de supervivencia de los descendientes. Mediante el artificio de considerar que todos los descendientes de un individuo se reproducen en el mismo instante (*i.e.*, el tiempo de generación), dos veces el tiempo de generación debería ser un valor de equilibrio entre el cuidado de la descendencia y la competencia con la misma. Los datos analizados por King (1982), obtenidos en *B. plicatilis*, no contradicen la relación antes aludida entre el tiempo de generación y la duración de la vida.

En su análisis King utiliza el tiempo de generación de la población para relacionarlo con la duración de la vida, la cual mide como  $T/2$ . Este tiempo de generación es el tiempo que tardan en aparecer  $R_0$  individuos por individuo inicial en una población que crece con una tasa  $r$ , lo cual lleva asociado que la población posee una composición estable en clases de

edad. Pero el tiempo de generación de la población no evalúa lo que tarda en aparecer la siguiente generación de un individuo dado, ya que es una propiedad de toda una población estable y no de un solo individuo. En primer lugar, la subpoblación fundada por un individuo neonato no crece con una tasa  $r$ , por lo que no produce  $R_0$  individuos en un tiempo  $G$ , pero aunque así fuera, los  $R_0$  individuos que apareciesen en un tiempo  $G$  no tendrían por qué ser hijos del neonato en cuestión, ya que podrían pertenecer a generaciones filiales de orden superior. Por estas razones, el tiempo de generación de la cohorte debería considerarse como una aproximación inicial más adecuada. En sentido estricto, se requeriría corregir este tiempo de generación de la cohorte, de forma que la descendencia estuviese ponderada según su peso en la descendencia futura. Debe tenerse en cuenta que es más importante cuidar y no competir con los primeros hijos que con los últimos, dado que los primeros tendrán más peso en la descendencia futura.

La hipótesis de King requiere del concepto de cuidados paternos, pero este concepto no tiene un significado obvio en los rotíferos. De hecho, este autor prefiere hablar de cuidados parentales indirectos, ejercidos por condicionamiento del medio. En estas circunstancias, se puede considerar que ya no es el individuo parental el que dedica cuidados a su descendencia, sino que es toda la población adulta -probablemente clónica- la que condiciona el medio de forma favorable para los individuos jóvenes. Esto puede ser una razón para no usar  $G_c$  como una medida del tiempo durante el cual la generación filial debe ser cuidada, pero de ello no se deduce obligadamente que se deba usar  $G$ . Si hay una contraposición entre cuidado y competencia que gobierna el momento de la muerte del organismo, este momento llegará cuando el efecto de la competencia supere al hipotético efecto beneficioso de la generación paterna. En el caso más simple, el efecto beneficioso neto será constante a lo largo del tiempo, pues aunque el número de individuos beneficiados crezca según  $r$ , también crece con la misma tasa el número de individuos que ejercen el efecto protector. Por el contrario, la competencia entre un individuo y el resto de la población crece con la tasa  $r$ . Por ello, es esperable una relación inversamente proporcional entre la duración de la vida y la tasa intrínseca de aumento.

A pesar de que tal relación es consistente con la mostrada en la figura 6.12, la argumentación desarrollada más arriba es discutible en sus supuestos básicos. Ciertamente, las poblaciones de rotíferos poseen la capacidad de condicionar su medio. Pero los fenómenos de condicionamiento que se conocen indican que su función es modificar el ciclo reproductivo (*i.e.*, producción de mixis), y no preparar el medio para un mejor desarrollo de la población dentro de una dinámica de crecimiento exponencial. Además, la relación mostrada por los datos aquí obtenidos puede explicarse sin recurrir a un fenómeno de protección de la descendencia; por ejemplo, bastaría con el crecimiento exponencial de la competencia para obtener una relación del tipo que se observa en la figura 6.12.

La relación por la cual la duración de la vida duplica al tiempo de generación puede deberse a otras razones que las esgrimidas por King. Por ejemplo, si la descendencia que genera un individuo tiene una distribución aproximadamente simétrica a lo largo de la vida, se debe esperar que  $e[0] = 2Gc$ . Con los datos aquí obtenidos esta relación se cumple mejor que la postulada por King ( $T_{1/2} = 2G$ ) y que este autor encontró significativa en su experiencia. Como se ve, la relación es distinta según los parámetros que se escojan. Las diferencias entre  $T_{1/2}$  y  $e[0]$  son pequeñas, pero las que pueden existir entre  $Gc$  y  $G$  dependen de  $r$  y por lo tanto de la adaptación de los individuos a las condiciones del ensayo. Por estas razones, la relación entre tiempo de generación y duración de la vida puede deberse a la estructura de la fecundidad específica de edad.

En consecuencia, el problema del ajuste adaptativo de la duración de la vida puede abordarse desde otra perspectiva, relacionándolo con la extensión del periodo reproductivo. *B. plicatilis* presenta un periodo de fecundidad prolongado cuyo sentido no es obvio, ya que el aporte que se hace a  $r$  a partir de las edades superiores al tiempo de generación es muy bajo (King, 1982). La dificultad reside en explicar el alargamiento de la vida más allá de lo que parece necesario para dar determinada tasa intrínseca de aumento; o en otros términos, el desajuste entre un valor reproductivo importante a edades avanzadas y el poco peso de dichas edades en la determinación de  $r$ . (A este respecto, se ha demostrado que una optimización de los valores reproductivos de cada edad no equivale necesariamente a una optimización de  $r$ ; Caswell, 1980). La investigación de una explicación satisfactoria, y más aún un modelo, capaz de resolver la cuestión expuesta, debería tener en cuenta al menos las siguientes consideraciones: (1) el efecto de la mixis sobre  $r$ , atendiendo especialmente a que la frecuencia de descendientes míticas puede depender de la edad de la madre (véase Rougier y Pourriot, 1977); (2) el efecto que tienen perturbaciones extrínsecas de la estructura en clases de edad sobre el crecimiento poblacional (p.e., variaciones en la mortalidad por predación preferente sobre alguna edad); (3) la influencia de la densidad de población sobre la tasa instantánea de aumento, y cómo se ajustan las tasas de mortalidad y de fecundidad al modificarse la referida tasa instantánea, cuando la población se acerca a la capacidad decarga del sistema, u oscila en torno a dicha capacidad.

En general, el alargamiento de la fecundidad puede desempeñar una función amortiguadora de las perturbaciones que sufre la población, facilitando la recuperación del crecimiento cuando éste se altera (Perron, 1983). Además permitiría la especialización de la edad en funciones reproductivas diferentes (producción de hembras míticas y amíticas), dándoles tiempos distintos. Estas consideraciones, evidentemente cualitativas y apriorísticas pueden orientar el diseño de experiencias que ayuden a elaborar hipótesis sobre el carácter adaptativo de la duración de la vida.

## 7. CONSIDERACIONES FINALES Y CONCLUSIONES

### 7.1 CONSIDERACIONES FINALES. PERSPECTIVAS

Según Hubendik (1966), la fauna hololífmnica (*i.e.*, con toda su vida activa desarrollada en el agua) está caracterizada por tener su mayor grado de diversificación en las categorías taxonómicas inferiores, y en consecuencia existe una elevada diversidad genética y ecofenotípica en los niveles intraespecíficos (Pejler, 1977a). Los resultados de los capítulos precedentes están de acuerdo con esta concepción al mostrar que *Brachionus plicatilis* posee un elevado grado de variabilidad intraespecífica. Establecen, además, que esta variabilidad es, primordialmente, genética. Ciertamente, la generalización anterior depende del concepto de especie que se emplee (véanse el apartado 2.1 y Ruttner-Kolisko, 1974) y en particular de cómo se aplique a *B. plicatilis* (Margalef, 1983, sugiere que bajo este nombre pueden existir varias entidades específicas). Pero en cualquier caso, los resultados subrayan que dentro de un tipo morfológico (lo cual equivale a referirse a un taxon de bajo nivel) existe una considerable diversidad genética. Por esto, en estudios de laboratorio para estudiar fenómenos como la tolerancia a factores físico-químicos, los mecanismos de inducción de mixis, etc. -e igualmente, en la comparación de especies- debe incorporarse cada vez más la variación intraespecífica, pues de otro modo, se puede incurrir en generalizaciones abusivas.

La especie *-sensu lato-* estudiada aquí manifiesta rangos amplios de tolerancia a los factores ambientales abióticos (Capítulo 3) y tiene una marcada politipia establecida claramente mediante metodologías diferentes (análisis biométricos e isoenzimáticos de los Capítulos 4 y 5 respectivamente). Estos dos fenómenos se relacionan íntimamente, como demuestra el estudio de los rasgos demográficos de las cepas, bajo distintas condiciones de cultivo (Capítulo 6). La fragmentación genética de la especie obedece en una parte importante a criterios de adaptación al medio, genera poblaciones especializadas y, plausiblemente, es una causa importante del carácter eurioico de la especie, así como de su amplia distribución.

Es probable que especies de rotíferos más estenoicas posean una diversificación genética inferior y se sabe que especies con una variabilidad muy conspicua deben ésta a factores no genéticos. Como se vio en la discusión relativa a la ciclomorfosis en rotíferos (Capítulo 4), es difícil postular un único patrón -genético o fenotípico- que explique la variabilidad intraespecífica para las diferentes especies. No obstante lo anterior, y debido a la poca importancia que se concede habitualmente a estos aspectos, bastaría con que otras especies de rotíferos poseyeran un grado de diversificación próximo al observado en *B. plicatilis*, para que una parte importante de la información contenida en la comunidad

zooplanctónica pasase desapercibida a los métodos habituales de observación. Lamentablemente, la detección de la variabilidad intraespecífica es costosa, al menos cuando no se refleja en caracteres morfológicos discretos, y requiere frecuentemente del cultivo de los organismos para hacer posible su interpretación. Por esto, sería de utilidad el desarrollo y la aplicación de técnicas rápidas de detección de variabilidad que puedan esclarecer la magnitud de la variación en las poblaciones de rotíferos. Es especialmente interesante que las técnicas puedan aplicarse a muestras de un único individuo y que proporcionen una información global que permita su caracterización, como, por ejemplo, la tinción de plata de electroforegramas, que, a pesar del pequeño tamaño de los rotíferos, se puede aplicar a una sola hembra (M.J. Carmona, *comunicación personal*).

Junto a la fragmentación genética aludida, los genotipos permiten o regulan cierta plasticidad morfológica (Capítulo 4, Biometría II) y fisiológica (Capítulo 6), la cual se manifiesta en distinto grado según dichos genotipos. Es particularmente interesante observar que la variación genética y la modificación fenotípica pueden sumarse en un mismo sentido. Aunque la función adaptativa del tamaño en relación a la temperatura -o factores concomitantes- permanece oscura, existe cierta evidencia de que tal función existe. Las cepas de aguas más frías son mayores pero, además, todas las cepas tienden a poseer mayor talla en los cultivos a bajas temperaturas.

Otra observación que debe subrayarse es que algunas cepas están adaptadas a un rango más amplio de condiciones ambientales, y también existen diferencias en el grado de plasticidad morfológica. Por ello, la contraposición entre especies en un eje cuyos extremos corresponden a las estrategias estenoicas y eurioicas parece reproducirse a un nivel jerárquico inferior al de la categoría taxonómica de especie, al menos en las especies que, como *B. plicatilis*, tienden a ser eurioicas. Al nivel de cepa, eliminada la varianza genética, una tendencia hacia el extremo más eurioico se consigue obligadamente mediante modificación fenotípica. La opción óptima entre especialización y versatilidad, aun cuando afecta a aspectos muy generales de la biología de los organismos, está sometida a constricciones análogas a las discutidas en relación al carácter de la ciclomorfosis (Capítulo 4); esto es, debe depender fuertemente de la relación entre la frecuencia de las fluctuaciones ambientales y la duración de la vida. La heterogeneidad ambiental temporal -particularmente el ritmo y la amplitud de las fluctuaciones- desempeña una función importante, y por esto es de esperar que en las aguas astáticas se encuentren las cepas más plásticas. En este sentido, pueden resultar significativas las diferentes características que poseen los efectos de la salinidad y la temperatura sobre *B. plicatilis*, ya que la salinidad es un factor más conservativo que la temperatura en lapsos de tiempo relativamente cortos. Según los resultados de este trabajo, los distintos genotipos parecen encontrarse preferentemente adaptados a las condiciones de

salinidad de las que proceden. De ello se podría colegir que la especie conseguiría colonizar aguas de salinidades diferentes fundamentalmente mediante la presencia de cepas especializadas en las condiciones de salinidad, aunque también sean capaces de soportar variaciones de este factor ambiental y muestren cierta plasticidad morfológica como respuesta a sus cambios. En relación a la temperatura, y de forma en parte opuesta a lo que ocurre con la salinidad, las cepas también muestran algún grado de especialización, pero parecen poseer una mayor capacidad para reaccionar a sus cambios, ajustándose así, mediante modificaciones fenotípicas, al mayor grado de fluctuación de este factor.

Desde el punto de vista evolutivo es interesante conocer la importancia del flujo de genes entre las diversas poblaciones de una especie (véase Slatking, 1985). Si entre las poblaciones de *B. plicatilis* no existiera flujo de genes y sólo establecieran entre ellas conexiones de tipo ecológico (p.e., competencia), la fragmentación genética dentro de la especie es equiparable a la que ocurre entre géneros y especies, salvo en que el número de genes que comparten es mayor. En los rotíferos, según King (1980) la mutación puede proveer de un grado suficiente de variabilidad genética, lo cual minimizaría la función de la recombinación a este respecto. Además, existe cierta evidencia experimental de que el flujo genético entre poblaciones está severamente limitado (p.e., Snell y Hawkinson, 1983; Ruttner-Kolisko, 1983 y 1985). Sería necesario contrastar la importancia de estas ideas mediante la evaluación en la naturaleza del flujo genético, pero tanto el elevado grado de homogeneidad intrapoblacional que se ha encontrado en algunas poblaciones de rotíferos (véase el apartado de Discusión del Capítulo 5), como los resultados del Capítulo 6 apoyan esta concepción. Estos últimos muestran poblaciones adaptadas simultáneamente a más de un factor ambiental, que corresponden, en general, a las pautas de correlación de los factores ambientales. En esta situación es probable que el genotipo contenga conjuntos de genes coadaptados, por lo que la carga genética que puede introducir la hibridación es muy elevada.

La aparente paradoja de que no se haya detectado mixis en una cepa originaria de las aguas más astáticas (cepa FCA, Capítulos 4 y 6), puede deberse a su cultivo en condiciones artificiales. Ruttner-Kolisko (1985) sugiere esta explicación para la esterilidad de una cepa de *B. plicatilis* mantenida durante varios años en un laboratorio, y la cepa FCA fue usada en cultivos marinos para acuicultura; sin embargo, la cepa CA, muy similar a FCA y con el mismo origen natural, tampoco presentó mixis. Pero FCA posee un patrón de adaptación complejo, orientado a la covariación de la salinidad y la temperatura (Capítulo 6). Por ello, los genotipos, en general menos adaptados, que podría generar su homogamia y la heterogamia con otras cepas deberían introducir una fuerte carga genética. De esta forma, la ausencia de mixis favorecería la conservación de un conjunto genético particularmente coadaptado.

En condiciones de flujo génico muy limitado, la clina norte-sur detectada en la morfología de *B. plicatilis* (Capítulo 4) únicamente puede deberse a la influencia, directa o indirecta, de los factores ambientales que presentan el mismo gradiente, o a las vías de colonización seguidas por esta especie. Entre los factores ambientales, la temperatura es el más obvio, ya que la clina es latitudinal, pero se explica mal que el tamaño no sea importante en el gradiente morfológico. La salinidad, si bien puede explicar lo observado en las cepas de laboratorio (véanse la tabla 2.4 y la figura 4.4), no puede explicar bien los resultados obtenidos con las muestras de campo. Evidentemente, existen otros factores que pueden determinar la clina, pero la hipótesis de la colonización está de acuerdo con que las principales anomalías observadas correspondan a las poblaciones no mediterráneas.

En los rotíferos se han postulado muchos procesos dependientes de la edad del individuo. Algunos, como el efecto Lansing (p.e., Lansing, 1954), la tasa de la descendencia métrica dependiente de la edad materna (Rougier y Pourriot, 1977) o la variación de la motilidad con la edad (Luciani *et al.*, 1983) se han estudiado únicamente en algunos géneros y, en ocasiones -i.e., efecto Lansing-, están sujetos a cierto criticismo (King, 1983). Otros procesos dependientes de la edad, como la mortalidad y la fecundidad, están bien establecidos pero conservan aspectos bajo controversia. Aquí mismo (Capítulo 6) se ha discutido la hipótesis de King (1982) sobre la duración de la vida y se han puesto de relieve algunos factores que podrían influir en la estructura de mortalidad de los rotíferos, pero que, sin embargo, no son bien conocidos. El análisis de este problema posee dificultades técnicas (complejidad de los protocolos) y epistemológicas (ambigüedad de la interpretación; Stearns, 1977). Pero además, sobre los fenómenos de edad estudiados en el laboratorio pesa la duda de si son relevantes en la naturaleza o incluso en condiciones experimentales menos ideales. El análisis de la composición en clases de edad de las poblaciones naturales puede ayudar a acotar extrapolaciones excesivas de los resultados de laboratorio, como, por ejemplo, podría evitar una posible sobreestimación de la función de las edades senescentes o postreproductivas debida a los datos de laboratorio. Los rotíferos no poseen caracteres conspicuos que indiquen su edad, pero apreciaciones indirectas como su motilidad, el aspecto transparente del cuerpo o, más precisamente, proteinogramas característicos pueden mostrar la incidencia de los estadios senescentes en las poblaciones naturales, y con ello fundamentar hipótesis más ajustadas sobre la estructura de la supervivencia y la duración de la vida.

Los resultados del presente trabajo también suscitan cuestiones fisiológicas interesantes desde una perspectiva ecológica. Epp y Winston (1977) sugieren el origen marino de *B. plicatilis* debido a su incapacidad para la regulación hiposmótica. Por el contrario la distribución de este rotífero en relación a la composición química del agua (Capítulo 3) y los óptimos reproductivos que presentan sus diferentes cepas cultivadas (Capítulo 6) parecen no



estar de acuerdo con esta sugerencia. A este respecto, el comportamiento fisiológico de esta especie debería ser investigado en aguas con diferentes composiciones relativas de los distintos iones, cuyas relaciones diferenciales afecten a su carácter marino o continental. Por último, otra cuestión fisiológica relevante es la tolerancia de *B. plicatilis* a bajas concentraciones de oxígeno (Capítulo 3); esperable como consecuencia de su adaptación a la salinidad (Walker, 1981). En algunos organismos la eficiencia de la respiración se incrementa con la salinidad (véase Remane y Schlieper, 1971), tendiendo a compensar la menor solubilidad del oxígeno en el agua. Pero en *B. plicatilis* existe cierta evidencia de que las condiciones microaerófilas provocan la movilización de vías metabólicas apropiadas para estas condiciones (M.A. Esparcia, *comunicación personal*). Este es un fenómeno que merece estudiarse en detalle, ya que puede ayudar a explicar la presencia de poblaciones de rotíferos en condiciones de extrema pobreza en oxígeno (Ruttner-Kolisko, 1980; Miracle y Vicente, 1983).

En resumen, este trabajo subraya el interés por dilucidar las siguientes cuestiones:

1. Los mecanismos fisiológicos de adaptación a las bajas concentraciones de oxígeno y a las altas salinidades.
2. Las alteraciones que sufre la estructura de supervivencia específica de la edad en las poblaciones naturales.
3. La evaluación del flujo génico que pueda existir entre poblaciones naturales cercanas geográficamente.
4. La magnitud de la diversificación genética que pueda existir en otras especies de rotíferos.
5. La consideración de la variabilidad genética intraespecífica en la caracterización de las propiedades de las especies de rotíferos, así como en estudios comparativos.

Obviamente, esta enumeración no es exhaustiva, pero el análisis de los problemas reseñados resulta abordable y permitiría una mejor comprensión de la ecología evolutiva de los rotíferos.

## 7.2 CONCLUSIONES

A partir de los resultados encontrados en el presente trabajo, así como de su discusión, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1. El factor más importante en la distribución diferencial de *Brachionus plicatilis* respecto a las restantes especies del género *Brachionus* que se encuentran en las zonas húmedas del litoral mediterráneo español es la conductividad del agua, tendiendo a ocupar *B. plicatilis* las aguas con valores mayores de dicho factor. Dentro de estas aguas, la distribución de *B. plicatilis* está determinada por el carácter continental o atalasoalino de las mismas, existiendo una preferencia por ellas cuando se considera su abundancia relativa. *B. plicatilis* tiene amplios rangos de tolerancia para la mayoría de las características físico-químicas del agua, y tolera valores extremadamente altos de salinidad y bajos de oxígeno.

2. *B. plicatilis* posee un elevado grado de variación morfológica, tanto en su tamaño como en su forma, la cual está fuertemente determinada por el genotipo, por lo que se puede concluir que esta especie es morfológicamente politípica en el conjunto de ecosistemas estudiados. Además, existe una relativa constancia de la forma de cada cepa aunque se someta a diferentes condiciones ambientales. Sin embargo, los coeficientes de alometría entre los parámetros de la lóriga de *B. plicatilis* son susceptibles de modificarse por cambios en la condiciones ambientales, por lo que su uso como indicación de diferencias genéticas (p.e., en taxonomía) debe ser prudente.

3. La temperatura produce un efecto directo sobre la forma y el tamaño de *B. plicatilis*. Las cepas no responden de igual forma a cambios de la temperatura, aunque existe una pauta general de reducción del tamaño cuando ésta aumenta. Dicha reducción no ocurre de forma lineal, sino de forma progresivamente atenuada, entre 20 y 30°C. Las cepas de tamaño mayor están más adaptadas a las aguas más frías, por lo que la temperatura está asociada también indirectamente -a través del genotipo- al tamaño, lo cual apoya la hipótesis de una relación adaptativa entre el tamaño mayor y la temperatura baja o algún factor concomitante en la naturaleza con ella.

4. La salinidad influye directamente sobre la morfología de *B. plicatilis*, aunque en un grado menor que la temperatura, y afecta fundamentalmente a características biométricas relacionadas con la parte anterior de la lóriga.

5. El análisis de la morfología de *B. plicatilis* separa las poblaciones no mediterráneas y mediterráneas, y ordena estas últimas en una clina norte-sur, tanto para los clones de laboratorio, como para las poblaciones naturales.

6. Las poblaciones de *B. plicatilis* presentan una ciclomorfofosis (en el sentido amplio de este término), la cual afecta manifiestamente al tamaño, pero también a las relaciones entre las medidas del cuerpo. Para las poblaciones estudiadas, la localidad de origen determina una parte de la variación morfométrica de *B. plicatilis*, a la que se suma la variabilidad estacional. Las diferencias morfológicas entre poblaciones de distintas localidades es mayor en verano que en otras estaciones del año, coincidiendo así la diversificación morfológica entre las poblaciones con la diversificación entre los ecosistemas, propia de los estados avanzados de la sucesión limnética.

7. La metodología empleada muestra que los análisis multivariantes sobre muestras seleccionadas (siguiendo algún criterio que equilibre las fuentes de variación) ponen de manifiesto más claramente las pautas de la variabilidad morfológica que los análisis de grandes conjuntos de muestras.

8. El análisis de isoenzimas confirma la politipia de la especie, ya puesta de manifiesto en el análisis biométrico. Este análisis agrupa las cepas por la proximidad geográfica de sus lugares de origen. Cepas de muy diferente tamaño pero que son parecidas en otros aspectos de sus morfologías también aparecen asociadas por su composición isoenzimática. El análisis de isoenzimas sugiere un considerable grado de homogeneidad genética dentro de las poblaciones, así como la primacía, con respecto a estos caracteres, de las diferencias debidas al origen geográfico sobre las debidas al origen temporal -estacional o anual.

9. El aumento de la temperatura determina un incremento de la tasa intrínseca de aumento de *B. plicatilis* de una forma aproximadamente lineal en el rango estudiado. Sin embargo, la tasa neta de reproducción se mantiene bastante más constante en relación a este factor.

10. La salinidad afecta a la tasa intrínseca de aumento de *B. plicatilis* de una forma marcadamente diferente según la cepa. Los valores máximos de la tasa intrínseca de aumento de cada cepa se dan en la salinidad más cercana a la de su localidad de origen.

11. El valor máximo de la tasa intrínseca de aumento en unas condiciones dadas de salinidad y de temperatura corresponde a la cepa cuyas aguas de origen están más próximas a dichas condiciones. Además, se manifiesta particularmente en una cepa, cuyo origen remoto es un ambiente muy fluctuante, una adaptación preferente para las condiciones de salinidad y

temperatura más frecuentes (alta salinidad y alta temperatura, baja salinidad y baja temperatura).

12. El número de machos producido por las hembras míticas es similar en promedio al número de hembras producidas por hembras amíticas. Sin embargo, la descendencia masculina aparece a una edad de sus madres más temprana, y la tasa neta de reproducción de machos está sujeta a menor influencia por parte de los factores ambientales que en las hembras amíticas.

13. La curva de supervivencia de los rotíferos estudiados es de Tipo I -propio de organismos con senescencia- para cualesquiera condiciones ensayadas. El genotipo influye sobre la forma de la curva de supervivencia, deducida de los parámetros de los modelos de Weibull y de Gompertz, y por ello, sobre la estructura de la mortalidad específica de cada edad.

14. La temperatura influye fuertemente en la duración de la vida. Por el contrario, los genotipos estudiados o la salinidad no tienen una influencia sistemática en esta característica demográfica.

15. El esfuerzo reproductivo diario y la duración media de la vida, factores determinantes de la tasa neta de reproducción, poseen entre sí una relación inversa, de forma que el incremento de uno de ambos factores va asociado a la disminución del otro. De entre estos dos factores, cuando se considera una misma temperatura, es fundamentalmente el incremento del esfuerzo reproductivo diario el que determina los cambios en la tasa neta de reproducción.

16. La tasa intrínseca de aumento posee una relación inversa, progresivamente atenuada, con el tiempo de generación, así como con la duración de la vida, aunque esta última relación es más compleja. Asimismo existe una relación lineal directa de la tasa intrínseca de reproducción con el esfuerzo reproductivo diario. Estas relaciones no se ven afectadas por la salinidad o por el genotipo, mientras que la temperatura influye tanto en la relación de  $r$  con el esfuerzo reproductivo diario, como, aunque en menor medida, con la duración de la vida. La variación de  $r$  con la temperatura parece asociada a un incremento general de las tasas metabólicas, que determina tanto una disminución del tiempo de generación como el incremento del esfuerzo reproductivo diario. De esta manera, en unas condiciones de cultivo con recursos ilimitados, el ritmo de los procesos reproductivos y la duración de la vida

covarían en sentido opuesto, por lo que el número medio de descendientes que produce un individuo a lo largo de su vida se mantiene bastante estable.

17. La duración de la vida es aproximadamente el doble del tiempo de generación. Esta relación podría venir determinada por varios fenómenos, como los procesos de protección de la descendencia contrapuestos con fenómenos de competencia intergeneracional, o bien porque la muerte tiende a ocurrir cuando se ha producido el agotamiento del potencial reproductivo, una vez que se ha generado el número máximo de descendientes.

Globalmente este estudio apoya, y en alguna medida configura, una visión de la variabilidad intraespecífica del rotífero *Brachionus plicatilis* como adaptación para la colonización eficaz de ecosistemas con características diversificadas y con valores que se pueden considerar extremos para algunos parámetros físico-químicos.

El fenómeno en que se apoya la citada adaptación es fundamentalmente la fragmentación genética de la especie en poblaciones bien diferenciadas entre sí y estructuradas principalmente según diferencias y gradientes geográficos, aun cuando también se estructura estacionalmente. La rigidez y plasticidad genética en la determinación del fenotipo se combinan y jerarquizan para dar respuesta a factores más o menos fluctuantes. Así, la temperatura se relaciona más con modificaciones del fenotipo -morfológico o demográfico- que la salinidad, a cuya variación la respuesta parece más rígida. Algo parecido ocurre con respecto a los distintos grados de fluctuación de los ambientes, de forma que los ecosistemas más fluctuantes son habitados por clones más eurioicos, en cuyos genotipos se incorpora la previsión de las asociaciones más frecuentes entre los factores ambientales.

La partenogénesis, así como la conducta reproductiva de los machos tendente al aislamiento genético entre clones, favorecería el mantenimiento de dichos genotipos, limitando la carga genética que sería introducida por hibridación. Estas características de la reproducción contribuirían a que se diera, junto a una elevada variabilidad interpoblacional acorde con la diversidad de las aguas en que habita la especie, una alta uniformidad intrapoblacional, la cual se vería además favorecida por la intensa competencia con exclusión entre los genotipos que es esperable cuando éstos poseen unas características biológicas muy próximas, pero cada uno de ellos está preferentemente adaptado a un ambiente.

Aun cuando se esté lejos de comprender completamente cómo y con qué matices ocurren los fenómenos implicados en la visión que se acaba de exponer, éstos parecen ser algunos de los rasgos del drama representado por *B. plicatilis* en el teatro que este autor ha observado.

## **BIBLIOGRAFÍA**





## BIBLIOGRAFÍA

- Abren-Grobois, F.A. y J.A. Beardmore, 1980. International Study on *Artemia* II. Genetic characterization of *Artemia* populations -an electrophoretic approach-. G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Rode y E. Jaspers (eds.), the Brine Shrimp *Artemia* (vol. I). Universa Press, Wetteren (Belgium), 345 pp.
- Afifi, A.A. y S.P. Azen, 1979. Statistical Analysis. A computer oriented approach. Academic Press, London, 442 pp.
- Ahlstrom, E.H., 1940. A revision of the rotatoria genera *Brachionus* and *Platyas* with description of one new species and two new varieties. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 77: 143-184.
- Allan, J.D., 1976. Life history patterns in zooplankton. Am. Nat. 110: 165-180.
- Amat, F., 1980a. Diferenciación y distribución de las poblaciones de *Artemia* (crustáceo, braquiópodo) de España. I. Análisis morfológico. Estudios alométricos referidos al crecimiento y a la forma. Invest. Pesq. 44: 217-240.
- Amat, F., 1980b. Diferenciación y distribución de las poblaciones de *Artemia* (crustáceo, braquiópodo) de España. II. Incidencia de la salinidad ambiental sobre la morfología y desarrollo. Invest. Pesq. 44: 485-503.
- Bart, J. y D.S. Robson, 1982. Estimating survivorship when the subjects are visited periodically. Ecology 63: 1078-1090.
- Bayly, I.A.E., 1969. The occurrence of calanoid copepods in athalassic saline waters in relation to salinity and anionic proportions. Verh. Internat. Verein. Limnol. 17: 449-455.
- Berger, E. y J. Sutherland, 1978. Allozyme variation in two natural populations of *Daphnia pulex*. Heredity 91: 13-23.
- Bérzins, B., 1960. Rotatoria IV. Order: Monogonta. Sub-order Ploima. Family: Brachionidae (cont.). Genera: *Brachionus*, *Kellicottia*, *Argonotholca*, *Notholca*, *Pseudonotholca*, *Euchlanis*, *Tripleuchlanis*. Cons. Sci. Explor. Mer Zooplankton Sheet, 87.
- Birch, L.C., 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. J. Anim. Ecol. 17: 15-26.
- Blackwelder, R.E. y Sheperd, B.A., 1981. The Diversity of Animal Reproduction. CRC Press, Boca Ratón (Florida), 141 pp.

- Brand, G.W., 1981. Responses of a colanoid copepod to existence in saline waters. *Hydrobiologia* 81: 145-149.
- Brewer, G.J., 1970. An introduction to isozyme techniques. Academic Press, New York, 186 pp.
- Buchner, H. y F. Mulzer, 1961. Untersuchungen über die Variabilität der Rädertiere. II. Der Ablauf der Variation im Freien. *Z. Morph. Ökol. Tiere* 50: 330-374.
- Caswell, H., 1980. On the equivalence of maximizing reproductive value and maximizing fitness. *Ecology* 61: 19-24.
- Cole, L.C., 1954. The population consequences of life history phenomena. *Q. Rev. Biol.* 29: 103-137.
- Clément, P., 1977. Ultrastructural research on rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 8: 270-297.
- Clément, P., 1980. Phylogenetic relationships of rotifers, as derived from photoreceptor morphology and other ultrastructural analyses. *Hydrobiologia* 73: 93-117.
- Clément, P. y R. Pourriot, 1980. About a transmissible influence through several generations in a clone of the rotifer *Notommata copens* Ehr. *Hydrobiologia* 73: 27-31.
- Cooley, V.W. y P.K. Lohnes, 1971. *Multivariate Data Analysis*. J. Wiley & Sons, N.Y., 364 pp.
- Charlesworth, B., 1980. *Evolution in age-structured populations*. Cambridge University Press, Cambridge, 300 pp.
- Charnov, E.L. y W.M. Schaffer, 1973. Life history consequences of natural selection: Cole's results revisited. *Am. Nat.* 107: 791-793.
- Chotiayaputta, C. y K. Hirayama, 1978. Food selectivity of the rotifer *Brachionus plicatilis* feeding on phytoplankton. *Mar. Biol.* 45: 105-111.
- Doohan, M., 1973. An energy budget for adult *Brachionus plicatilis* Muller. *Oecologia (Berl.)* 13: 351-362.
- Dumont, H.J., 1977. Biotic factors in the population dynamics of rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 8: 98-122.
- Dumont, H.J., 1983. Biogeography of rotifers. *Hydrobiologia* 104: 19-30.
- Edmonson, W.T., 1945. Ecological studies of sessile Rotatoria. Part II. Dynamics of populations and social structures. *Ecol. Monogr.* 15: 141-172.
- Epp, R.W. y P.W. Winston, 1977. Osmotic regulation in brackish-water rotifer *Brachionus plicatilis* (Muller). *J. Exp. Biol.* 68: 151-156.
- Epp, R.W. y W.M. Lewis (Jr.), 1979. Sexual dimorphism in *Brachionus plicatilis* (Rotifera): Evolutionary and adaptive significance. *Evolution* 33: 919-928.
- Fisher, R.A., 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford University Press, Oxford, XIV+272 pp.

- Fukusho, K. y H. Iwamoto, 1981. Polymorphosis in size of rotifer, *Brachionus plicatilis*, cultures with various feeds. Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. 2: 1-10.
- Fukusho, K. y M. Okauchi., 1982. Strain and size of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, being cultured in Southeast Asian countries. Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. 3: 107-109.
- Fukusho, K., M. Okauchi, H. Tanaka, y P. Kraisingdecha, 1985. Food Value of the small S-strain of a rotifer *Brachionus plicatilis* cultured with *Tetraselmis tetrathele* for larvae of Black Sea Bream *Acanthopagrus shlegeli*. Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. 8: 5-13.
- Gehan, E.A. y M.M. Siddiqui, 1973. Simple regression methods for survival time studies. J. Am. Stat. Assoc. 68: 845-856.
- Gilbert, J.J., 1977. Mictic-female production in monogonont rotifers. Arch. Hydrobiol. Beih. 8: 142-155.
- Gilbert, J.J., 1980a. Developmental polymorphism in the rotifer *Asplanchna sieboldi*. Am. Sci. 68: 636-646.
- Gilbert, J.J., 1980b. Further observations on developmental polymorphism and its evolution in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. Freshwater Biol. 10: 281-294.
- Gilbert, J.J., 1981. Control of morphotype frequency distributions in populations of the rotifer *Asplanchna sieboldi*: factors influencing the production of the tocopherol-dependent cruciform and campanulate morphotypes. Ecology 62: 1299-1310.
- Gilbert, J.J. y J.R. Litton, 1978. Sexual reproduction in the rotifer *Asplanchna girodi*: Effects of tocopherol and population density. J. Exp. Zool. 204: 113-122.
- Gilbert, J.J. y R.S. Stemberger, 1984. *Asplanchna*-induced polymorphism in the rotifer *Keratella slacki*. Limnol. Oceanogr. 29: 1309-1316.
- Green, J., 1972. Latitudinal variation in associations of planktonic Rotifera. J. Zool. (Lond.) 167: 31-39.
- Green, J., 1981. Associations of rotifers in Australian crater lakes. J. Zool. (Lond.) 193: 469-486.
- Green, J. y O.B. Lan, 1974. *Asplanchna* and the spines of *Brachionus calyciflorus* in two Javanese sewage ponds. Freshwater Biol. 4: 223-226.
- Green, R.H., 1971. A multivariate statistical approach to the Hutchinsonian niche: Bivalve molluscs of Central Canada. Ecology 52: 543-556.
- Gould, S.J., 1966. Allometry and Size in ontogeny and phylogeny. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 41: 587-640.
- Guillard, R.R.L. y J.H. Ryther, 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* (Hustedt) and *Detonula confervacea* (Cleve). Can. J. Microbiol. 8: 229-239.
- Halbach, H., 1970. Die Ursachen des Temporalvariation von *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotatoria). Oecologia (Berl.) 4: 262-318.

- Halbach, H., 1973. Life table data and population dynamics of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas as influenced by periodically oscillating temperature. En: W. Wieser (ed.), Effects of temperature in ectothermic organism. Springer-Verlag. Berlin: 217-228.
- Halbach, H. y J. Jacobs., 1971. Seasonal selection as a factor in rotifer cyclomorphosis. *Naturwissenschaften* 57: 1-2.
- Hebert, P.D.N., 1978. The population biology of *Daphnia* (Crustacea, Daphnidae). *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 53: 387-426.
- Herzig, A., 1983. Comparative studies on the relationship between temperature and duration of embryonic development of rotifers. *Hydrobiologia* 104: 237-246.
- Hino, A. y R. Hirano, 1980. Relationship between body size of the rotifer *Brachionus plicatilis* and the maximum size of particles ingested. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46: 1217-1222.
- Hino, A. y R. Hirano, 1984. Relationship between the temperature given at the time of fertilized egg formation and bisexual reproduction pattern in the deriving strain of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 51: 512-514.
- Hirata, H. y Y. Mori, 1967. Mass-culture of the marine rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed on the bread yeast. *Saibai-gyogyo* 5: 36-40.
- Hirata, H., S. Yamasaki, T. Kawaguchi y M. Ogawa, 1983. Continuous culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed recycle algal diets. *Hydrobiologia* 104: 71-73.
- Hirayama, H. y K. Watanabe., 1973. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. IV. Nutritional effect of yeast on population growth of rotifer. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 39: 1129-1133.
- Hirayama, K. y T. Kusano, 1972. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. II. Influence of water temperature on population growth of rotifer. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 38: 1357-1363.
- Hirayama, K. y S. Ogawa, 1972. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. I. Filter Feeding of Rotifer. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 38: 1207-1214.
- Hirayama, K., K. Watanabe y T. Kusano, 1973. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. III. Influence of phytoplankton density on population growth. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 39: 1223-1227.
- Hubendick, B., 1962. Aspects on the diversity of fresh-water fauna. *Oikos* 13: 249-261.
- Hubby, J. y R.C. Lewontin, 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural population. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54: 577-594.

- Hutchinson, G.E., 1967. A treatise on limnology. 2. Introduction to lake biology and the limnoplankton. John Wiley & Sons, N.Y., 1115 pp.
- Hutchinson, G.E., 1981. Introducción a la ecología de poblaciones. Blume, Barcelona, 492 pp.
- Ito, T., 1953. Studies on the morphological variation in natural population of Calanoide Copepoda of Japanese Island waters. Rep. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie 1: 273-400.
- Ito, T., 1956. Studies on the "Mizukawari" in eel-culture ponds. III. The effects of chlorinated lime, copper sulphate, calcium hydroxide, sea- and fresh-waters in "Mizukawari" pond. Rep. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie 2: 317-324.
- Ito, T., 1960. On the culture of the mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* Müller in sea water. Rep. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie 3: 708-740.
- Ito, T. y T. Iwai., 1957. Studies on the "Mizukawari" in eel-culture ponds. VII. The relation between the feeding habits of *Brachionus plicatilis* and the size of phytoplankters. Rep. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie 2: 509-516.
- Jensen, A.L., 1986. Functional regression and correlation analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43: 1742-1745.
- Jolicoeur, P. y J.E. Mossiman., 1960. Size and shape variation in the painted turtle. A principal component analysis. Growth 24: 339-354.
- Kerfoot, W.C., 1980. Perspectives on cyclomorphosis: separation of phenotypes and genotypes. En: W.C. Kerfoot (ed.), Evolution and ecology of zooplankton communities. The University Press of New England, Hanover (NH.): 470-496 pp.
- King, C.E., 1967. Food, age, and the dynamics of a laboratory population of rotifers. Ecology 48: 111-128.
- King, C.E., 1972. Adaptation of rotifers to seasonal variation. Ecology 53: 408-418.
- King, C.E., 1977a. Genetics of reproduction, variation, and adaptation in rotifers. Arch. Hydrobiol. Beih. 8: 187-201.
- King, C.E., 1977b. Effects of cyclical ameiotic parthenogenesis on gene frequency population size. Arch. Hydrobiol. Beih. 8: 207-211.
- King, C.E., 1980. The genetic structure of zooplankton populations. En: W.C. Kerfoot (ed.), Evolution and ecology of zooplankton communities. The University Press of New England, Hanover (N.H.): 315-328.
- King, C.E., 1982. The evolution of life span. En: H. Dingle y J.P. Hegman (eds.), Evolution and genetics of life histories. Springer-Verlag, N.Y., 121-138.
- King, C.E., 1983. A re-examination of the Lansing Effect. Hydrobiologia 104: 135-139.
- King, C.E. y M.R. Miracle, 1980. A perspective on aging in rotifers. Hydrobiologia 73: 13-19.

- King, C.E. y T.W. Snell, 1977a. Sexual recombination in rotifers. *Heredity* 39: 357-360.
- King, C.E. y T.W. Snell, 1977b. Genetic basis of amphoteric reproduction in rotifers. *Heredity* 34: 361-364.
- King, C.E. y T.W. Snell, 1978. Culture media (natural and synthetic): Rotifera. CRC Handbook series in nutrition and food (Section G: Diets, culture media, food supplements): 71-75.
- King, C.E. y T.W. Snell, 1980. Density-dependent sexual reproduction in natural populations of the rotifer *Asplanchna girodi*. *Hydrobiologia* 73: 149-152.
- Koste, W., 1978. Rotatoria (2 vols). Borntraeger, Berlin: 637 pp.+234 pls.
- Koste, W., 1980. Portrait of Rotifera: *Brachionus plicatilis*, a freshwater rotifer. *Mikrokosmos* 69: 148-155.
- Koste, W. y R.J. Shiel, 1980. Preliminary remarks on the characteristics of the rotifer Fauna of Australia (Notogaea). *Hydrobiologia* 73: 221-227.
- Krebs, C.J., 1985. Ecología. Estudio de la distribución y la abundancia. Industria Editorial Mexicana, México, XXXII+753 pp.
- Kres, H., 1983. Statistical tables for multivariate analysis. Springer-Verlag, N.Y., 504 pp.
- Kutikova, L.A., 1970. Rotifers. The fauna of the U.S.S.R. L. izq. "Nauka", 744 pp.
- Lair, N., 1980. The rotifer fauna of the river Loire (France), at the level of the nuclear power plants. *Hydrobiologia* 73: 153-160.
- Lande, R., 1982. A quantitative genetic theory of life history evolution. *Ecology* 63: 607-615.
- Lansing, A.I., 1942. Some effects of hydrogen ion concentration, total salt concentration, calcium and citrate on longevity and fecundity of rotifer. *J. Exp. Zool.* 91: 195-211.
- Lansing, A.I., 1947. A transmissible, cumulative and reversible factor in aging. *J. Gerontol.* 2: 228-234.
- Lansing, A.I., 1948. Evidence for aging as a consequence of growth cessation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 34: 304-310.
- Lansing, A.I., 1954. A nongenetic factor in the longevity of rotifers. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 57: 455-464.
- Lee, E.T., 1980. Statistical methods for survival data analysis. Lifetime Learning Publications, Belmont (California), 557 pp.
- Legendre, L. y P. Legendre., 1983. Numerical ecology. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, XXII+246 pp.
- Lewontin, R.C. y J.L. Hubby, 1966. A Molecular Approach to the Study of Genic Heterozygosity in Natural Populations. II. Amount of Variation and Degree of Heterozygosity in Natural Populations of *Drosophila pseudoscura*. *Genetics* 54: 595-609.

- Lenski, R.E. y P.M. Service, 1982. The statistical analysis of population growth rates calculated for schedules of survivorship and fecundity. *Ecology* 63: 655-662.
- Lindström, K. y B. Pejler, 1975. Experimental studies on the seasonal variation of the Rotifer *Keratella cochlearis* (Gosse). *Hydrobiologia* 2: 191-197.
- López, P., 1983. Aguas salinas epicontinentales próximas a la costa española. Estudio del medio. ph. Tesis doctoral. U. de Barcelona. Barcelona.
- Lotka.A.J., 1922. The stability of the normal age distribution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 8: 339-345.
- Lubzens, E., 1981. Rotifer resting eggs and their application to marine aquaculture. *Eur. Maricult. Soc. Spec Publ.* 6: 163-179.
- Lubzens, E., G. Minkoff y S. Marom, 1985. Salinity dependence of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Mar. Biol. (Berl.)* 85: 123-126.
- Luciani, A., J. Chassé y P. Clément, 1983. Aging in *Brachionus plicatilis*: The evolution of swimming as a function of age at two different calcium concentrations. *Hydrobiologia* 104: 141-146.
- Margalef, R., 1947. Estudios sobre la vida en las aguas continentales de la región endorreica manchega. *Publ. Inst. Biol. Apl. Barc.* 4: 5-51.
- Margalef, R., 1955. Los organismos indicadores en la limnología. Ministerio de Agricultura (Inst. Forestal Inv. y Exp.), Madrid, 300 pp.
- Margalef, R., 1974. *Ecología*. Omega, Barcelona, 951 pp.
- Margalef, R., 1983. *Limnología*. Omega, Barcelona, 1010 pp.
- Merrell, D.J., 1981. *Ecological genetics*. Longman, London, XII+500 pp.
- Michod, R.E. y W.W. Anderson, 1980. On calculating demographic parameters from age frequency data. *Ecology* 61: 265-269.
- Miracle, M.R., 1974. Niche structure in freshwater zooplankton. A principal components approach. *Ecology* 55: 1306-1316.
- Miracle, M.R., 1975. Segregation of zooplankton populations several depressions within one lake basin. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 19: 1140-1149.
- Miracle, M.R., 1977. Migrations, patchiness, and distribution in time and space of planktonic rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 8: 19-37.
- Miracle, M.R., 1982. Biogeography of the freshwater zooplanktonic communities of Spain. *J. Biogeogr.* 9: 455-467.
- Miracle, M.R. y A. Guisset, 1977. Some effects of enclosure on congeneric species of rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 8: 94-97.
- Miracle, M.R. y E. Vicente, 1983. Vertical distribution and rotifer concentration in the chemocline of meromictic lake. *Hydrobiologia* 104: 259-267.

- Minkoff, G., E. Lubzens y D. Kahan, 1983. Environmental factors affecting hatching of rotifer (*Brachionus plicatilis*) resting eggs. *Hydrobiologia* 104: 61-69.
- Moulton, T.P., 1973. Principal components analysis of variation in form within *Oncaea conifera*, a species of Copepoda (Crustacea). *Syst. Zool.* 22: 141-156.
- Nie, N., D.H. Bent y C.H. Hull, 1970. Statistical package for the social sciences. McGraw-Hill, N.Y., 343 pp.
- Okauchi, M. y K. Fukusho, 1985a. Different modes in carrying resting eggs between two wild types of the rotifer *Brachionus plicatilis* from Matsusaka. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 51: 1907.
- Okauchi, M. y K. Fukusho, 1985b. Different modes in carrying resting eggs of wild s-strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.* 8: 54-61.
- Pascual, E. y M. Yúfera, 1983. Crecimiento en adulto de una cepa de *Brachionus plicatilis* O.F. Müller en función de la temperatura y la salinidad. *Invest. Pesq.* 47: 151-159.
- Pejler, B., 1974. On the Rotifer Plankton of some East African Lakes. *Hydrobiologia* 44: 389-396.
- Pejler, B., 1977a. On the global distribution of the family Brachionidae (Rotatoria). *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 53: 255-306.
- Pejler, B., 1977b. General problems on rotifer taxonomy and global distribution. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 8: 212-220.
- Pejler, B., 1980. Variation in the genus *Keratella*. *Hydrobiologia* 73: 207-213.
- Perron, F.E., 1983. Growth, fecundity, and mortality of *Conus pennaceus* in Hawaii. *Ecology* 64: 53-62.
- Peters, R.H., 1983. The ecological implications of body size. Cambridge University Press, N.Y., XII+329 pp.
- Pianka, E.R., 1982. *Ecología evolutiva*. Omega, Barcelona, 365 pp.
- Pielou, E.C., 1974. *Populations and community ecology: Principles and methods*. Gordon and Breach, N.Y., VIII+424 pp.
- Pielou, E.C., 1982. The relations between  $F_1$  and  $m_1$ : a reply to Michod and Anderson. *Ecology* 63: 574-575
- Pinder, J.E.; J.G. Wiener y M.H. Smith, 1978. The Weibull distribution: a new method of summarizing survivorship data. *Ecology* 59: 175-179.
- Pourriot, R., 1965. Recherches sur l'écologie des rotifères. *Vie Milieu Suppl.* 21, 224 pp.
- Pourriot, R., 1973. Rapports entre la température, la taille des adultes, la longueur des oeufs et le taux de développement embryonnaire chez *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifère). *Ann. Hydrobiol.* 4: 103-115.



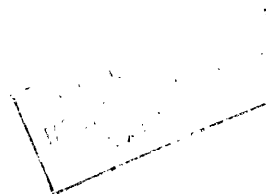
- Pourriot, R., 1974. Relations prédateur-proie chez les rotifères: influence du prédateur (*Asplanchna brightwelli*) sur la morphologie de la proie (*Brachionus bidentata*). Ann. Hydrobiol. 5: 43-55.
- Pourriot, R., 1977. Food and feeding habits of rotifers. Arch. Hydrobiol. Beih. 8: 243-260.
- Pozuelo, M., 1977. Male production in sea water cultured *Brachionus plicatilis*. Arch. Hydrobiol. Beih. 8: 172-173.
- Prevosti, A., 1974. La distancia genética entre poblaciones. Miscellanea Alcobé. Publ. Univ. Barcelona: 104-118.
- Pyke, D.A. y J.N. Thompson, 1986. Statistical analysis of survival and removal rate experiments. Ecology 67: 240-245.
- Remane, A. y C. Schlieper, 1971. Biology of brackish waters. John Wiley & Sons, N.Y., 372 pp.
- Ricci, C., 1983. Life histories of some species of Rotifera Bdelloidea. Hydrobiologia 104: 175-180.
- Riera, T., 1981. Variabilitat morfològica de *Tropocyclops* i *Temora*. Tesis Doctoral. U. de Barcelona, Barcelona.
- Robertson, J.R. y G.W. Salt, 1981. Responses in growth, mortality, and reproduction to variable food levels by the rotifer, *Asplanchna girodi*. Ecology 62: 1585-1596.
- Rougier, Cl. y R. Pourriot, 1977. Aging and control of the reproduction in *Brachionus calyciflorus* (Pallas) (Rotatoria). Exp. Gerontol. 12: 137-151.
- Ruiz-Maya, L., 1983. Métodos estadísticos de investigación. Instituto Nacional de Estadística, Madrid, 367 pp.
- Ruttner-Kolisko, A., 1974. Plankton Rotifers. Biology and taxonomy. Binnengewasser 26: 146 pp.
- Ruttner-Kolisko, A., 1977. Amphoteric reproduction in a population of *Asplanchna priodonta*. Arch. Hydrobiol. Beih. 8: 178-181.
- Ruttner-Kolisko, A., 1980. The abundance and distribution of *Filinia terminalis* in various types of lakes as related to temperature, oxygen and food. Hydrobiologia 73: 169-175.
- Ruttner-Kolisko, A., 1983. The significance of mating processes for the genetics and for the formation of resting eggs in monogonont rotifers. Hydrobiologia 104: 181-190.
- Ruttner-Kolisko, A., 1985. Results of individual cross-mating experiments in three distinct strains of *Brachionus plicatilis* (Rotatoria). Verh. Internat. Verein. Limnol. 22: 2979-2982.
- Scott, J.M., 1981. The vitamin B<sub>12</sub> requirement of the marine rotifer *Brachionus plicatilis*. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 61: 983-994.

- Scott, J.M., 1983. Rotifer nutrition using supplemented monoxemic cultures. *Hydrobiologia* 104: 155-166.
- Schaal, B.A. y W.W. Anderson, 1974. An outline of techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from the American Oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Technical Report Number 74-3. Georgia Marine Science Center. University System of Georgia, Skidway Island.
- Seal, H.L., 1964. Multivariate statistical analysis for biologists. Methuen, London, 207 pp.
- Sharma, B.K., 1983. The Indian species of the genus *Brachionus* (Eurotatoria: Monogonanta: Brachionidae). *Hydrobiologia* 104: 31-39.
- Shaw, C.R. y R. Prasad, 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes: A compilation of recipes. *Biochem. Genet.* 4: 297-320.
- Shiel, R.J., 1983. The genus *Brachionus* (Rotifera: Brachionidae) in Australia, with a description of a new species. *Proc. R. Soc. Vict.* 95: 33-37.
- Simpson, G.G., 1961. Principles of animal taxonomy. Columbia University Press, N.Y., 247 pp.
- Slatkin, M., 1985. Gene flow in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 16: 393-440.
- Snedecor, G.W. y W.G. Cochran, 1971. Métodos estadísticos. CECSA, México, 703 pp.
- Sneath, P.H.A. y R.R. Sokal, 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco. XV+573 pp.
- Snell, T.W., 1977a. Clonal selection: Competition among clones. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 8: 202-204.
- Snell, T.W., 1977b. Lifespan of male rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 8: 65-66.
- Snell, T.W., 1978. Fecundity, developmental time, and population growth rate. *Oecologia (Berl.)* 32: 119-125.
- Snell, T.W., 1979. Intraspecific competition and population structure in rotifers. *Ecology* 60: 494-502.
- Snell, T.W. y B.C. Winkler, 1984. Isoenzymes analysis of rotifer proteins. *Biochem. Syst. Ecol.* 12: 199-202.
- Snell, T.W., y C.A. Hawkinson, 1983. Behavioral Reproductive isolation among populations of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Evolution* 37: 1294-1305.
- Snell, T.W. y K. Carrillo, 1984. Body size variation among strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 37: 359-367.
- Snell, T.W., B.E. Burker y S.D. Messur, 1983. Size and distribution of eggs in a natural population of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Gulf Res. Rep.* 7: 285-287.
- Snell, T.W. y C.E. King, 1977. Lifespan and fecundity patterns in rotifers: the cost of reproduction. *Evolution* 31: 882-890.

- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf, 1979. *Biometría*. Blume, Madrid, 832 pp.
- Stearns, S.C., 1977. The evolution of life history traits: a critique of the theory and a review of data. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 8: 145-171.
- Stemberger, R.S. y J.J. Gilbert, 1985. Body size, food concentration, and population growth in planktonic rotifers. *Ecology* 66: 1151-1159.
- Sudzuki, M., 1964. New systematical approach to the Japanese planktonic Rotatoria. *Hydrobiologia* 23: 1-124.
- Tanner, J.T., 1978. *Animal Populations*. The University of Tennessee Press. Knoxville (Tennessee), XII+186 pp.
- Teilacker, G.H. y M.F. McMaster, 1971. Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Mar. Biol.* 10: 183-188.
- Thompson, D'A.W., 1981 (edición inglesa, 1917). *Sobre el crecimiento y la forma*. Blume, Madrid, XIII+330 pp.
- Walker, K.F., 1973. Studies on a saline lake ecosystem. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* 24: 21-71.
- Walker, K.F., 1981. A synopsis of ecological information on the saline lake rotifer *Brachionus plicatilis* Müller 1786. *Hydrobiologia* 81: 159-167.
- Weider, L.J., 1985. Spatial and temporal genetic heterogeneity in a natural *Daphnia* population. *Plankton Res.* 7: 101-123.
- Williams, G.C., 1966. Natural selection, the cost of reproduction, and a refinement of Lack's principle. *Am. Natur.* 100: 687-690.
- Wolf, H.G., 1982. A comparison of different electrophoretic techniques for the detection of isoenzymes in single Daphnids. *Arch. Hydrobiol.* 95: 521-531.
- Young, J.P.W., 1979a. Enzyme polymorphism and cyclic parthenogenesis in *Daphnia magna*. I. Selection and clonal diversity. *Genetics* 92: 953-970.
- Young, J.P.W., 1979b. Enzyme polymorphism and cyclic parthenogenesis in *Daphnia magna*. II. Heterosis following sexual reproduction. *Genetics* 92: 971-982.
- Yúfera, M., 1982. Morphometric caracterización of a small-size strain of *Brachionus plicatilis* in culture. *Aquacultue* 27: 55-61.
- Yúfera, M., 1983. Aislamiento, caracterización, y puesta en cultivo de una cepa de pequeño tamaño de *Brachionus plicatilis* O.F. Muller (1786). Tesis Doctoral. U. de Sevilla, Sevilla.
- Yúfera, M., L.M. Lubian., E. Pascual, 1983. Efecto de cuatro algas sobre el crecimiento poblacional de dos cepas de *Brachionus plicatilis* (Rotifera: Brachionidae) en cultivo. *Invest. Pesq.* 47: 325-337.



## APÉNDICES





## **A. DATOS CORRESPONDIENTES A LA BIOMETRÍA I**

Datos para las medidas de la lóriga que se indican, correspondientes a las cepas de laboratorio y muestras estudiadas en la Biometría I (Capítulo 4). Las medidas son L, A, SEL, SED y LED (véase la figura 4.1) y vienen dadas en  $\mu\text{m}$ . El origen de las muestras y cepas es el indicado en las tablas 2.3 y 2.4 (véase también la figura 2.5).

**n:** número del individuo.

Tabla a.1. Biometría I. Ceba FCS.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	134	102	54	12	19	26	139	104	59	14	18
2	131	107	57	14	21	27	168	134	75	12	20
3	143	122	71	16	20	28	129	100	60	14	17
4	170	131	72	16	23	29	129	102	53	11	16
5	156	134	65	14	22	30	165	134	70	13	23
6	131	100	55	11	22	31	148	119	65	16	21
7	170	131	68	14	19	32	165	134	70	11	20
8	160	122	70	13	21	33	143	114	68	16	21
9	163	122	66	14	19	34	141	114	65	16	20
10	124	107	58	12	22	35	136	104	65	15	19
11	124	92	57	14	17	36	141	109	63	13	18
12	146	107	65	16	21	37	126	95	58	11	20
13	151	117	69	9	19	38	165	139	70	17	19
14	163	122	70	14	20	39	175	136	70	14	21
15	146	112	63	14	18	40	168	134	68	15	23
16	182	141	68	12	21	41	122	97	58	14	18
17	131	107	58	11	19	42	180	146	67	15	19
18	180	148	72	13	24	43	131	100	62	8	19
19	177	143	68	11	22	44	158	134	66	15	21
20	136	102	55	14	20	45	141	109	70	12	21
21	136	104	55	10	16	46	124	100	62	14	18
22	168	131	62	12	19	47	173	139	73	14	22
23	124	100	63	13	20	48	124	97	60	9	19
24	119	92	58	12	19	49	129	102	64	13	19
25	143	114	68	10	20	50	129	102	56	10	16

Tabla a.2. Biometría I. Ceba FCB.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	241	192	113	18	28	26	170	126	81	16	18
2	226	173	119	21	24	27	267	187	118	23	24
3	192	146	96	19	21	28	224	170	107	18	25
4	284	207	129	17	19	29	277	199	117	17	24
5	238	187	99	21	26	30	204	148	101	17	23
6	245	175	113	20	20	31	221	153	102	18	20
7	211	158	110	19	24	32	221	170	113	26	16
8	265	194	124	22	26	33	289	207	127	23	23
9	202	151	103	20	24	34	299	211	119	20	26
10	211	160	116	21	23	35	265	214	119	22	26
11	299	209	124	29	22	36	207	165	93	19	21
12	282	214	132	26	27	37	277	199	125	24	22
13	282	194	126	24	23	38	267	194	115	24	27
14	158	122	75	12	16	39	221	177	105	15	26
15	219	160	101	18	21	40	197	151	94	16	22
16	185	158	96	20	21	41	192	160	106	17	24
17	253	175	112	24	23	42	243	180	117	16	16
18	262	197	128	19	22	43	214	168	103	19	21
19	245	190	107	24	25	44	270	177	113	20	22
20	126	102	58	10	14	45	163	124	72	11	16
21	272	207	117	19	24	46	265	182	109	20	21
22	190	143	92	16	19	47	260	190	123	24	24
23	270	197	121	23	26	48	238	173	113	26	21
24	287	202	117	22	27	49	173	126	86	17	18
25	284	199	100	20	24	50	207	156	99	18	23



Tabla a.3. Biometría I. Ceba AD.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	139	112	71	16	15	26	124	102	70	16	13
2	129	97	67	15	12	27	143	114	73	16	14
3	192	146	82	16	16	28	204	160	84	20	15
4	170	134	77	15	16	29	143	102	70	16	13
5	163	131	78	19	13	30	139	114	73	17	13
6	160	126	74	17	14	31	160	131	78	15	14
7	170	134	74	17	16	32	124	92	62	17	10
8	168	129	71	16	14	33	148	126	77	17	14
9	185	153	88	16	16	34	165	134	74	18	14
10	146	114	69	16	13	35	163	134	78	16	16
11	156	129	71	18	15	36	143	107	65	16	13
12	139	104	69	17	12	37	156	124	74	17	13
13	151	119	66	15	14	38	158	129	72	14	16
14	134	109	63	16	16	39	153	122	76	19	12
15	168	139	84	17	16	40	124	95	62	15	12
16	163	131	70	15	14	41	163	131	74	15	15
17	194	148	77	16	14	42	141	117	70	16	13
18	141	109	65	17	13	43	156	129	68	16	16
19	143	112	73	17	14	44	153	131	74	16	16
20	134	102	63	16	16	45	156	124	79	16	15
21	160	122	69	16	13	46	160	134	79	19	12
22	182	148	73	15	15	47	168	134	86	18	13
23	141	114	78	16	15	48	122	95	61	13	13
24	122	95	61	13	12	49	131	109	68	16	10
25	170	134	79	16	18	50	163	122	78	15	15

Tabla a.4. Biometría I. Ceba SPO.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	224	168	88	18	20	26	153	129	71	21	14
2	134	114	74	17	16	27	192	122	81	22	16
3	192	131	81	16	17	28	151	114	78	16	18
4	197	143	88	20	18	29	192	148	89	19	20
5	148	109	77	17	17	30	211	163	90	19	20
6	156	114	74	16	17	31	160	117	77	21	16
7	226	165	88	17	19	32	187	131	87	23	18
8	182	129	85	18	18	33	197	151	90	19	20
9	163	117	69	14	15	34	175	126	83	16	19
10	194	146	88	20	19	35	192	141	87	19	18
11	158	122	82	18	18	36	219	175	90	21	24
12	194	148	90	18	21	37	180	134	84	18	19
13	197	143	86	18	17	38	192	139	89	19	18
14	228	170	98	25	19	39	187	136	82	17	17
15	156	126	82	19	20	40	175	126	82	20	18
16	148	112	73	16	17	41	199	156	88	16	23
17	185	146	89	20	22	42	182	131	83	18	16
18	173	129	84	19	18	43	177	134	86	20	19
19	163	122	81	16	17	44	219	165	97	18	25
20	173	119	81	19	19	45	207	151	84	16	19
21	170	122	78	14	18	46	153	122	82	19	18
22	146	109	74	15	17	47	209	158	92	21	20
23	143	109	73	16	17	48	224	170	94	21	17
24	175	134	85	19	20	49	146	107	72	16	16
25	165	124	79	17	18	50	151	112	74	16	16

Tabla a.5. Biometría I. Ceba CU.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	194	146	75	10	20	26	187	153	81	21	16
2	204	143	80	10	19	27	197	139	82	13	18
3	199	136	88	20	27	28	204	143	90	17	20
4	207	136	77	15	20	29	265	187	109	23	25
5	265	209	121	20	26	30	221	170	94	19	21
6	228	173	102	21	27	31	202	156	88	12	23
7	216	163	82	11	28	32	207	146	83	16	22
8	194	143	88	16	20	33	219	170	98	17	29
9	190	139	81	14	20	34	287	202	112	30	26
10	207	151	90	18	21	35	197	156	85	16	25
11	202	158	80	9	24	36	226	177	100	21	20
12	187	141	73	11	19	37	182	146	81	12	20
13	185	136	83	16	22	38	190	151	81	13	24
14	241	165	89	17	23	39	194	146	78	11	22
15	233	158	97	17	20	40	177	129	77	10	18
16	216	168	93	17	17	41	207	168	80	12	24
17	270	194	115	28	27	42	231	165	95	16	25
18	209	156	93	21	24	43	209	148	97	22	20
19	219	170	94	16	26	44	219	153	86	16	26
20	301	207	118	28	25	45	190	148	82	16	22
21	255	199	121	25	28	46	197	151	86	13	24
22	209	158	92	21	22	47	289	207	118	25	24
23	190	146	86	16	20	48	216	165	103	19	26
24	267	194	111	24	27	49	199	148	92	16	22
25	190	146	80	7	23	50	248	190	117	26	30

Tabla a.6. Biometría I. Ceba FCA.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	192	170	88	16	20	26	173	136	73	12	16
2	148	100	70	11	16	27	211	175	96	15	19
3	180	148	72	6	19	28	170	141	81	13	16
4	209	185	91	15	18	29	168	129	78	11	19
5	160	119	77	12	16	30	146	109	72	10	18
6	146	119	70	15	16	31	153	119	75	12	18
7	199	168	86	13	15	32	175	143	78	15	16
8	165	129	81	14	19	33	148	119	72	15	16
9	136	112	70	15	17	34	187	148	78	16	19
10	209	168	89	14	18	35	170	146	75	15	18
11	170	139	73	13	16	36	139	109	66	9	16
12	182	146	78	10	17	37	139	109	73	13	16
13	185	146	78	15	19	38	148	119	70	15	15
14	146	122	66	9	16	39	187	156	82	12	19
15	126	100	60	12	14	40	156	124	66	8	17
16	122	143	72	14	16	41	160	126	77	13	18
17	180	146	77	15	16	42	139	117	60	4	14
18	187	151	81	16	19	43	185	134	76	13	17
19	134	114	74	13	16	44	153	119	76	12	17
20	199	173	92	14	18	45	214	175	87	15	20
21	180	151	76	13	18	46	148	109	72	15	16
22	141	100	68	12	16	47	153	131	71	11	18
23	146	117	77	10	20	48	175	136	81	13	19
24	199	168	85	13	16	49	207	170	84	14	18
25	153	122	74	11	16	50	185	148	82	13	17

Tabla a.7. Biometría I. Ceba CA.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	129	97	74	13	14	26	199	160	84	14	16
2	124	97	67	14	16	27	129	102	69	7	16
3	202	173	89	16	14	28	197	168	81	12	18
4	136	100	59	15	16	29	177	131	84	15	16
5	175	136	79	16	16	30	165	136	79	10	16
6	185	158	93	15	20	31	187	170	96	12	18
7	192	173	99	13	19	32	163	129	75	15	16
8	175	143	80	14	16	33	190	156	92	16	18
9	136	100	67	13	16	34	141	107	74	14	16
10	163	126	77	14	16	35	177	143	82	11	19
11	124	92	71	13	16	36	194	156	86	12	18
12	209	170	91	10	18	37	102	95	68	10	16
13	185	158	83	12	17	38	202	158	95	15	18
14	160	129	80	16	17	39	168	139	80	12	15
15	231	182	103	16	18	40	141	109	72	12	12
16	163	129	73	12	16	41	226	175	99	18	20
17	170	143	80	13	15	42	131	102	68	13	18
18	160	126	81	16	16	43	170	146	82	11	18
19	207	175	97	16	17	44	153	117	70	8	15
20	182	153	93	15	17	45	190	156	91	15	17
21	214	170	81	15	16	46	207	160	98	15	19
22	197	156	82	15	18	47	158	136	81	19	17
23	131	102	70	15	13	48	175	143	80	14	16
24	136	109	69	10	15	49	158	131	75	11	16
25	190	151	92	11	18	50	190	153	88	12	16

Tabla a.8. Biometría I. Muestra M1P.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	156	112	73	15	16	26	126	97	63	13	14
2	131	102	64	14	15	27	114	85	52	15	12
3	175	126	82	16	18	28	136	104	68	12	19
4	119	90	56	14	16	29	168	122	73	12	16
5	151	114	72	15	17	30	131	90	60	9	13
6	170	124	78	15	17	31	139	97	64	15	15
7	124	87	55	11	14	32	153	109	57	13	17
8	134	95	65	13	14	33	151	109	64	12	14
9	168	124	79	16	13	34	136	95	56	12	14
10	168	126	83	16	17	35	134	92	62	15	16
11	141	114	69	16	16	36	129	97	66	16	14
12	182	129	83	16	16	37	168	122	78	16	16
13	156	114	67	13	15	38	170	136	81	16	18
14	168	107	66	13	16	39	173	119	73	16	17
15	160	122	78	16	17	40	168	129	74	15	17
16	139	100	61	14	13	41	119	90	58	14	15
17	146	104	63	15	15	42	122	97	56	6	14
18	117	85	59	13	13	43	119	90	62	16	14
19	156	122	74	15	18	44	119	90	57	15	14
20	165	122	73	16	16	45	117	92	53	13	13
21	143	104	70	13	16	46	175	122	81	16	17
22	158	114	73	15	15	47	165	119	75	19	19
23	122	95	61	14	15	48	131	104	68	14	16
24	165	119	73	16	16	49	131	104	69	16	15
25	170	124	78	14	16	50	168	129	87	16	18

Tabla a.9. Biometría I. Muestra M1V.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	146	117	72	13	17	26	146	109	71	15	17
2	141	107	62	14	14	27	168	124	76	14	18
3	160	117	66	14	17	28	112	90	55	12	13
4	163	114	77	15	18	29	151	117	76	15	16
5	131	97	52	15	16	30	168	122	76	16	17
6	153	126	80	15	18	31	148	112	71	11	15
7	141	102	61	10	15	32	177	129	73	13	16
8	151	124	70	12	20	33	122	90	54	12	15
9	143	122	76	11	15	34	148	114	66	8	14
10	139	114	74	15	16	35	146	126	82	14	19
11	134	100	53	11	17	36	151	112	67	13	15
12	139	109	73	16	11	37	160	126	82	14	18
13	170	131	80	15	18	38	153	114	77	10	17
14	129	95	53	9	13	39	117	90	58	12	14
15	122	107	58	11	16	40	143	114	65	10	11
16	153	117	75	13	16	41	168	129	79	16	18
17	100	78	47	5	12	42	156	112	72	13	15
18	97	83	48	7	16	43	165	129	78	12	20
19	117	95	54	11	15	44	148	117	68	13	16
20	158	124	76	14	21	45	122	95	62	12	15
21	156	122	75	11	18	46	134	97	56	8	17
22	175	129	78	15	18	47	129	100	65	12	11
23	122	92	58	13	14	48	151	95	66	12	16
24	134	104	66	12	15	49	158	122	76	13	18
25	143	112	72	13	16	50	124	104	58	10	16

Tabla a.10. Biometría I. Muestra M1O.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	160	126	81	20	13	26	160	117	73	17	15
2	197	148	90	18	15	27	163	134	87	20	18
3	187	136	83	15	17	28	185	141	90	17	17
4	185	136	89	18	16	29	175	126	78	16	18
5	168	134	84	16	19	30	182	134	85	18	16
6	134	107	57	16	13	31	160	122	78	14	16
7	163	122	82	16	18	32	143	117	73	16	12
8	165	124	76	16	18	33	175	129	87	18	14
9	177	129	84	17	16	34	170	136	86	17	17
10	170	134	86	17	16	35	175	136	85	16	15
11	182	141	92	19	15	36	156	104	77	19	15
12	190	134	85	16	16	37	156	109	68	15	16
13	211	160	93	20	16	38	117	90	54	6	12
14	175	126	81	14	17	39	134	100	68	13	14
15	175	141	96	18	13	40	146	114	72	15	16
16	182	139	92	21	18	41	177	134	84	15	16
17	182	139	88	17	17	42	192	141	84	16	18
18	177	131	84	18	12	43	131	100	69	13	15
19	134	102	63	13	16	44	182	136	87	20	17
20	129	97	63	14	12	45	170	126	81	17	14
21	180	122	78	15	14	46	156	117	78	16	16
22	134	102	61	7	12	47	175	129	87	15	13
23	141	102	66	16	14	48	168	129	88	17	16
24	175	134	87	18	17	49	134	109	69	17	13
25	190	136	89	18	19	50	134	107	66	13	15

Tabla a.11. Biometría I. Muestra M2P.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	117	90	55	13	11	26	192	141	82	15	17
2	129	92	54	12	14	27	194	134	81	17	21
3	141	114	59	13	13	28	124	100	58	14	17
4	141	104	61	14	16	29	146	112	68	15	16
5	175	134	67	12	19	30	139	104	62	11	15
6	175	122	76	16	17	31	177	136	84	16	18
7	139	109	61	12	18	32	129	112	72	13	20
8	165	139	81	16	21	33	141	109	61	15	14
9	160	124	58	15	22	34	139	102	58	12	17
10	177	134	65	13	18	35	163	129	79	14	19
11	190	146	84	22	26	36	160	124	72	12	17
12	151	109	71	16	17	37	141	119	67	13	18
13	124	109	63	13	17	38	175	126	68	16	18
14	182	139	85	17	20	39	131	95	56	15	16
15	126	97	66	12	17	40	143	117	73	15	20
16	185	141	88	16	19	41	153	114	67	13	18
17	192	143	82	16	19	42	177	131	81	16	19
18	158	117	75	14	17	43	180	136	82	16	26
19	160	114	58	12	19	44	177	136	86	15	17
20	177	129	76	18	20	45	187	146	86	19	24
21	199	136	87	17	20	46	160	114	75	16	22
22	143	112	59	12	12	47	146	104	67	11	15
23	165	129	78	15	21	48	192	136	81	12	18
24	139	104	61	14	15	49	139	100	60	14	19
25	160	124	77	15	19	50	192	114	66	14	22

Tabla a.12. Biometría I. Muestra M10P.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	153	104	66	11	16	26	143	109	65	13	12
2	170	119	71	15	22	27	168	122	72	19	19
3	160	114	70	17	20	28	131	100	59	9	12
4	168	117	69	16	20	29	151	117	63	13	18
5	143	109	66	11	16	30	131	97	58	10	17
6	129	102	60	13	17	31	168	124	72	15	22
7	109	80	48	6	12	32	177	124	74	14	22
8	151	107	66	14	16	33	126	104	50	8	16
9	158	109	73	14	16	34	160	119	71	12	17
10	156	112	68	15	17	35	160	117	73	13	17
11	143	102	61	12	18	36	165	117	80	15	19
12	146	102	67	12	18	37	131	97	58	10	18
13	146	104	63	15	17	38	156	109	64	14	17
14	124	92	49	8	16	39	170	122	56	16	25
15	148	107	66	15	17	40	160	117	74	14	16
16	131	92	58	10	15	41	158	129	80	15	23
17	153	114	71	15	19	42	153	107	61	15	18
18	141	107	65	9	18	43	170	117	63	13	19
19	158	117	73	15	21	44	151	112	73	16	19
20	177	124	75	15	21	45	153	119	71	16	17
21	190	134	82	18	21	46	139	109	62	10	17
22	153	112	75	12	19	47	165	117	56	11	20
23	156	112	71	14	17	48	165	117	76	17	22
24	168	124	75	19	19	49	170	129	78	13	22
25	168	122	70	13	22	50	165	124	81	16	21

Tabla a.13. Biometría I. Muestra M100.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	204	141	92	19	21	26	175	126	78	13	17
2	190	143	85	20	16	27	204	143	80	14	20
3	190	134	82	19	17	28	192	131	83	15	19
4	187	141	89	17	16	29	194	131	87	19	18
5	236	160	112	19	22	30	175	117	74	14	16
6	185	134	82	16	19	31	192	134	83	18	20
7	141	112	59	10	16	32	173	136	86	14	18
8	182	136	87	16	18	33	146	112	67	15	15
9	168	136	84	15	20	34	202	151	96	23	19
10	194	134	97	20	19	35	194	134	85	16	16
11	182	124	79	15	19	36	194	141	92	20	16
12	148	112	65	16	12	37	177	129	64	12	17
13	180	134	83	16	17	38	124	117	67	9	16
14	190	136	82	20	18	39	158	122	67	16	12
15	190	131	83	19	16	40	194	143	92	22	14
16	187	141	92	18	22	41	190	126	92	21	16
17	221	156	95	25	17	42	199	143	89	26	21
18	182	146	82	16	20	43	185	129	83	18	19
19	216	148	83	18	19	44	165	126	83	16	16
20	214	148	102	20	17	45	204	153	100	21	19
21	211	139	93	21	18	46	141	102	66	15	13
22	185	129	91	19	15	47	158	117	61	14	13
23	204	141	91	23	18	48	153	129	80	15	16
24	170	136	83	18	18	49	168	129	81	18	14
25	177	136	85	18	17	50	182	134	83	21	15

Tabla a.14. Biometría I. Muestra M101.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	148	143	58	12	15	26	245	190	104	14	27
2	250	173	98	17	26	27	304	216	130	17	30
3	214	163	85	17	24	28	241	175	90	7	22
4	187	143	77	8	21	29	156	117	55	1	16
5	340	238	125	17	26	30	289	197	124	18	29
6	255	175	97	12	24	31	243	165	99	17	21
7	211	163	82	10	21	32	301	214	128	19	25
8	199	158	84	9	23	33	226	175	83	8	25
9	253	170	94	11	22	34	265	182	105	20	22
10	236	163	79	12	23	35	228	168	95	13	22
11	301	209	111	15	35	36	253	170	96	9	22
12	253	190	106	11	25	37	258	197	104	14	28
13	243	165	88	15	24	38	226	173	91	12	25
14	313	219	120	20	24	39	182	131	66	4	18
15	255	187	104	17	26	40	255	182	97	10	28
16	248	190	98	14	29	41	156	126	61	5	22
17	292	216	118	16	26	42	211	156	77	5	25
18	262	180	110	14	25	43	267	182	113	12	25
19	221	153	81	9	24	44	277	182	107	12	24
20	204	146	74	12	23	45	253	194	109	25	34
21	192	146	70	7	19	46	272	187	105	20	24
22	267	185	99	11	27	47	221	158	84	6	21
23	248	182	104	14	26	48	231	175	95	13	25
24	238	175	96	15	23	49	170	124	73	12	16
25	258	185	98	16	26	50	221	170	88	6	30

Tabla a.15. Biometría I. Muestra M12V.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	122	97	62	13	12	26	104	83	57	15	10
2	97	83	51	15	8	27	136	97	66	12	16
3	107	83	53	12	10	28	95	75	50	14	8
4	104	80	55	13	8	29	104	85	54	15	12
5	92	73	46	13	8	30	114	85	57	14	12
6	107	85	55	16	10	31	97	75	46	14	8
7	92	70	49	12	10	32	104	83	49	12	7
8	114	85	56	14	13	33	117	92	57	13	10
9	170	124	79	14	19	34	97	80	44	7	8
10	97	80	49	11	11	35	102	85	51	11	8
11	97	70	44	10	9	36	87	70	47	13	9
12	134	122	68	13	16	37	109	87	54	14	10
13	92	73	46	14	11	38	114	87	56	12	11
14	109	83	51	12	10	39	107	87	58	15	9
15	117	87	58	13	12	40	104	83	54	16	8
16	112	85	53	13	11	41	83	66	42	8	7
17	194	139	83	16	24	42	85	73	46	11	8
18	95	70	48	11	10	43	119	83	54	13	11
19	114	90	58	15	12	44	253	158	99	17	28
20	87	68	47	14	7	45	100	85	50	15	8
21	117	95	63	15	10	46	185	141	78	15	26
22	97	78	50	12	9	47	122	95	60	16	10
23	107	85	53	12	8	48	107	95	58	13	10
24	194	131	84	16	20	49	102	80	46	12	10
25	104	78	55	12	12	50	104	85	50	14	8

Tabla a.16. Biometría I. Muestra M13V.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	177	124	83	17	15	26	187	148	94	16	21
2	173	119	71	16	17	27	100	92	52	10	10
3	131	117	69	16	17	28	165	109	77	16	18
4	112	92	57	12	11	29	131	92	64	11	16
5	185	134	84	16	21	30	170	109	74	16	16
6	168	119	76	14	16	31	192	131	86	18	21
7	126	102	64	13	14	32	129	107	64	14	13
8	160	107	74	16	17	33	109	97	65	13	9
9	114	102	60	12	11	34	126	107	64	15	11
10	126	109	61	14	12	35	185	122	81	16	22
11	160	112	68	12	19	36	104	92	53	14	8
12	92	73	48	11	9	37	122	104	59	16	10
13	114	100	63	15	8	38	126	102	61	14	11
14	146	104	73	13	17	39	156	107	65	13	18
15	124	112	62	14	12	40	117	104	65	15	10
16	170	119	77	16	17	41	100	90	53	13	9
17	187	129	82	15	17	42	117	97	48	10	12
18	156	114	74	16	19	43	114	104	60	16	7
19	180	122	76	13	17	44	129	104	69	14	12
20	122	107	63	16	11	45	117	102	59	15	11
21	168	117	73	16	17	46	170	112	76	14	19
22	163	119	80	15	16	47	165	117	70	15	16
23	143	100	67	12	14	48	151	104	70	16	19
24	109	95	52	13	10	49	107	87	60	15	16
25	126	100	56	13	10	50	190	131	85	17	19

Tabla a.17. Biometría I. Muestra M13O.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	180	129	93	20	16	26	177	122	94	18	17
2	141	102	64	15	16	27	211	139	110	30	18
3	134	95	66	13	14	28	182	122	88	16	16
4	168	119	86	19	17	29	165	126	85	22	17
5	199	136	98	20	18	30	158	109	78	17	15
6	192	129	86	19	17	31	192	126	88	20	19
2	170	112	77	18	18	32	175	117	84	19	19
8	139	104	71	16	15	33	202	141	106	20	16
9	136	97	63	12	14	34	173	117	74	18	16
10	190	124	86	21	19	35	204	129	96	24	18
11	165	122	81	16	16	36	199	151	104	25	20
12	139	102	63	8	13	37	158	112	74	20	16
13	194	141	104	25	16	38	165	124	87	16	18
14	173	122	87	21	19	39	173	131	86	16	19
15	214	134	100	26	19	40	187	131	97	20	16
16	204	139	103	22	17	41	148	107	77	16	16
17	146	102	69	19	16	42	187	134	92	20	17
18	165	122	77	15	16	43	129	97	72	14	13
19	134	100	63	17	14	44	192	126	86	19	17
20	114	80	58	12	15	45	197	139	98	24	16
21	134	107	67	14	15	46	214	146	103	21	19
22	163	122	87	20	17	47	175	122	92	18	16
23	170	126	80	14	16	48	190	134	97	23	19
24	187	122	84	20	17	49	129	95	61	12	15
25	197	134	87	20	18	50	134	95	64	11	13

Tabla a.18. Biometría I. Muestra M18V.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	226	163	99	23	18	26	233	163	99	20	18
2	211	148	95	19	19	27	243	180	113	29	20
3	221	160	99	25	19	28	231	156	98	21	20
4	216	158	93	20	17	29	241	175	102	25	20
5	216	160	96	23	16	30	238	177	101	17	17
6	221	165	109	23	17	31	199	158	101	25	20
2	221	153	88	21	18	32	219	163	93	21	21
8	221	165	101	20	16	33	211	148	97	19	18
9	219	158	99	24	13	34	216	156	98	21	18
10	248	192	112	22	21	35	253	180	106	21	18
11	236	165	100	24	18	36	248	173	103	24	23
12	243	173	107	24	19	37	231	163	94	21	19
13	245	170	103	23	21	38	209	153	93	19	16
14	219	153	99	27	18	39	236	170	101	19	16
15	238	163	87	24	18	40	241	173	105	22	17
16	236	180	110	23	23	41	245	168	87	22	17
17	233	160	95	25	18	42	233	175	102	23	19
18	238	173	102	26	21	43	245	170	101	22	19
19	233	158	102	25	16	44	226	160	97	22	18
20	224	170	100	27	20	45	233	168	101	24	19
21	238	168	94	23	19	46	238	170	100	24	20
22	216	153	92	22	15	47	236	146	104	26	20
23	219	160	84	19	19	48	241	163	100	24	17
24	236	170	103	21	20	49	236	173	104	17	20
25	202	160	88	21	17	50	221	158	99	23	20



Tabla a.19. Biometría I. Muestra M19V.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	134	104	61	9	14	26	180	129	81	13	17
2	148	122	79	14	19	27	151	119	69	13	19
3	173	126	78	14	20	28	158	117	74	12	17
4	117	97	58	7	14	29	170	124	81	12	17
5	182	129	79	15	19	30	160	117	70	13	17
6	136	109	69	14	20	31	168	114	79	16	16
7	173	124	81	15	16	32	153	117	80	14	20
8	163	129	81	16	21	33	156	114	72	14	17
9	170	122	74	12	16	34	168	122	77	14	16
10	182	134	87	16	18	35	168	126	80	15	21
11	194	143	87	15	24	36	129	92	63	11	14
12	163	119	74	15	18	37	153	117	71	11	18
13	158	114	70	14	16	38	158	119	72	13	16
14	182	131	81	14	17	39	187	134	84	16	20
15	131	104	63	11	16	40	146	117	71	15	16
16	194	143	91	15	19	41	182	136	87	17	19
17	163	124	80	15	17	42	173	129	83	15	17
18	151	112	72	13	14	43	177	124	76	16	19
19	168	117	72	16	18	44	156	109	77	16	15
20	146	109	67	15	15	45	143	102	66	12	17
21	170	148	82	21	21	46	156	114	75	11	16
22	119	95	61	10	14	47	173	124	82	15	18
23	177	131	81	15	20	48	151	141	77	15	17
24	163	119	62	9	16	49	134	97	59	10	14
25	165	122	75	16	17	50	182	134	87	16	19

Tabla a.20. Biometría I. Muestra M30V.

n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	119	90	62	12	16	26	122	90	63	13	14
2	112	78	55	12	15	27	151	119	81	16	16
3	117	90	60	13	16	28	126	100	71	15	16
4	139	97	75	16	19	29	119	87	61	11	14
5	122	95	64	14	16	30	122	92	64	13	15
6	158	114	74	16	20	31	129	95	65	14	16
7	146	119	81	16	18	32	131	104	70	16	16
8	129	95	67	14	16	33	107	87	60	12	13
9	109	80	56	14	14	34	109	83	57	12	13
10	129	90	61	12	16	35	136	97	67	14	16
11	146	109	70	16	17	36	124	100	59	12	15
12	141	107	69	14	14	37	141	107	70	14	16
13	117	85	66	13	12	38	126	87	58	13	15
14	131	102	73	15	16	39	107	85	59	11	14
15	122	90	63	13	16	40	134	97	71	16	15
16	126	87	58	13	15	41	122	100	70	15	16
17	160	141	76	17	19	42	146	104	66	15	20
18	136	100	67	15	18	43	122	87	63	13	15
19	100	73	49	13	14	44	146	117	76	16	18
20	158	117	66	15	16	45	122	85	58	14	16
21	153	119	79	14	15	46	156	119	84	15	16
22	119	85	62	14	16	47	139	104	69	12	14
23	148	112	72	15	16	48	146	112	70	15	16
24	175	124	82	16	19	49	124	90	69	15	16
25	119	97	69	16	14	50	148	109	78	16	16



## **B. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MULTIVARIANTES (BIOMETRÍAS I Y II)**

Coefficientes de las tres primeras variables canónicas para los siete análisis discriminantes de las Biometrías I y II (Capítulo 4), y coeficientes de correlación con las variables primitivas de los primeros ejes para los cuatro análisis de componentes principales de la Biometría I. (L, A, LED, SED y SEL según la figura 4.1).

Tabla b.1. Coeficientes de las variables canónicas y análisis discriminantes que se indican (*p.d.*: proporción de poder discriminante).

Análisis Variable canónica	Parámetro					p. d.
	L	A	LED	SED	SEL	
ADI 4.1						
1	10.10	-10.89	8.11	-0.76	-	0.63
2	8.39	-2.41	-4.62	1.88	-	0.25
3	2.91	-9.68	1.80	4.80	-	0.11
ADI 4.2						
1	-1.59	-1.18	-9.55	-0.30	13.80	0.63
2	9.80	-12.79	3.18	4.01	3.19	0.21
3	-0.72	4.87	-3.61	3.87	-12.45	0.18
ADI 4.3						
1	0.87	-4.62	-5.99	-	10.73	0.61
2	6.87	-22.02	2.88	-	7.39	0.27
3	9.86	-6.75	3.40	-	-0.28	0.10
ADI 4.4						
1	-	-6.68	-0.29	3.49	8.10	0.48
2	-	-10.73	3.65	-3.66	10.13	0.28
3	-	-7.92	-4.99	-0.87	9.01	0.18
ADI 4.5						
1	6.47	5.30	-3.54	2.07	-3.55	0.72
2	-4.52	5.89	3.38	-5.13	2.98	0.19
3	-3.25	-9.83	3.17	3.17	9.61	0.09
ADI 4.6						
1	0.31	0.66	0.19	-0.39	0.02	0.55
2	1.01	-0.14	-1.06	0.56	0.04	0.25
3	1.56	-2.37	0.89	0.58	-0.02	0.13
ADI 4.7						
1	-0.80	0.60	0.09	0.04	0.03	0.66
2	-0.68	0.71	0.14	-0.03	-0.48	0.16
3	0.46	-0.45	-0.07	-0.48	0.59	0.11

Tabla b.2. Coeficientes de correlación entre la primera componente principal y los parámetros biométricos, para los análisis que se indican (*p.v.*: proporción de varianza explicada).

Análisis	Parámetro					p. v.
	L	A	LED	SED	SEL	
ACP 4.2	0.96	0.94	0.81	0.60	0.53	0.62
ACP 4.3	0.99	0.97	0.82	0.56	0.98	0.77

Tabla b.3. Coeficientes de correlación (multiplicados por 1000) entre las primeras componentes principales y los coeficientes de alometría, para los análisis que se indican (p.v.: proporción de varianza explicada).

	ACP 4.1			ACP 4.4			ACP 4.5	
	1	2	3	1	2	3	1	2
<b>Alometría<sup>a</sup></b>								
L:A	726	617	64	803	-163	306	-	-
L:LED	-451	426	755	-220	166	914	-	-
L:SED	453	874	-63	509	620	511	-	-
L:SEL	-710	563	-68	-373	-434	635	-	-
A:L	-888	-336	-104	-845	44	226	-665	-524
A:LED	-633	255	630	-631	208	710	-	-
A:SED	291	899	-315	232	-592	522	-	-
A:SEL	-923	224	-23	-818	-285	408	-	-
LED:L	808	79	-547	815	-422	-97	511	786
LED:A	891	199	353	872	-346	-166	579	785
LED:SED	473	550	640	643	-543	255	-	-
LED:SEL	-83	680	-253	485	-711	152	-	-
SED:L	870	-376	191	503	806	65	823	-418
SED:A	821	-454	175	567	766	88	867	-360
SED:LED	612	-134	639	313	742	421	679	-605
SED:SEL	744	-406	222	318	812	144	-	-
SEL:L	902	-270	218	667	580	252	898	-239
SEL:A	963	-29	159	879	376	69	951	108
SEL:LED	121	236	938	26	504	792	395	-639
SEL:SED	665	661	-226	633	-518	413	376	567
p.v., %	49	22	17	41	31	21	49	30

a. La primera variable de cada par es la variable independiente.



## **C. DATOS CORRESPONDIENTES A LA BIOMETRÍA II**

Datos para las medidas de la lóriga que se indican, correspondientes a las cepas de laboratorio y condiciones de cultivo estudiadas en la Biometría II (Capítulo 4). Las medidas son L, A, SEL, SED y LED (véase la figura 4.1) y vienen dadas en  $\mu\text{m}$ .

**n:** número del individuos.

**T:** Temperatura.

**S:** Salinidad.

Tabla c.1. Biometría II. Cepa CU; T: 20°C; S: 9 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	255	181	106	19	24	1	278	190	118	23	26
2	297	202	110	30	25	2	226	164	102	19	25
3	233	162	110	24	25	3	276	188	123	23	25
4	297	195	118	22	24	4	255	198	123	21	25
5	255	190	116	22	25	5	264	186	106	22	22
6	295	198	115	20	27	6	276	195	125	23	28
7	283	200	125	23	27	7	286	200	125	25	25
8	262	190	113	20	25	8	276	193	129	26	22
9	286	207	126	23	25	9	243	171	121	23	24
10	262	190	117	25	25	10	248	183	117	18	26
11	257	188	123	28	22	11	224	152	102	17	23
12	252	176	116	21	26	12	236	178	110	17	24
13	255	190	123	20	18	13	252	183	121	23	27
14	236	171	119	20	23	14	224	167	104	20	25
15	238	169	110	20	25	15	262	198	129	31	26
16	262	190	126	29	25	16	209	162	113	21	21
17	240	181	122	20	27	17	300	195	115	24	29
18	250	178	119	21	26	18	259	200	117	20	29
19	205	155	105	20	22	19	271	202	118	25	26
20	281	202	113	28	26	20	264	195	133	30	26
21	274	186	123	24	26	21	231	174	112	19	27
22	267	181	112	19	23	22	274	200	124	23	27
23	276	181	121	25	26	23	264	190	122	25	25
24	240	171	103	24	26	24	278	193	124	20	24
25	209	152	99	16	22	25	243	178	113	21	28

Tabla c.2. Biometría II. Tabla CU; T: 20°C; S: 12 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	264	181	112	26	23	1	240	174	104	21	24
2	257	188	107	26	21	2	312	233	113	21	25
3	293	221	129	21	29	3	288	209	122	25	22
4	259	181	104	23	23	4	309	252	141	30	29
5	205	162	83	13	24	5	252	183	115	23	25
6	281	202	110	19	24	6	333	236	125	19	30
7	262	188	109	23	25	7	290	217	118	18	27
8	240	171	110	27	25	8	314	233	143	35	31
9	252	171	104	24	23	9	252	178	102	18	27
10	202	152	84	14	19	10	281	205	133	17	29
11	221	159	87	19	23	11	305	226	126	25	28
12	248	176	93	20	23	12	324	238	127	25	31
13	255	178	107	22	23	13	302	231	119	25	29
14	336	238	117	23	35	14	174	126	75	6	18
15	238	181	110	22	24	15	212	152	94	20	21
16	250	181	102	17	22	16	300	233	132	24	29
17	278	195	111	21	26	17	302	236	115	21	28
18	248	183	100	16	24	18	252	169	112	25	25
19	300	217	124	22	29	19	198	138	94	16	22
20	274	190	111	23	27	20	305	207	114	17	28
21	252	181	114	24	24	21	297	202	114	23	28
22	238	169	102	17	22	22	300	221	122	24	27
23	269	188	106	20	24	23	198	143	97	17	20
24	297	212	127	18	29	24	321	226	132	27	30
25	302	209	130	26	25	25	336	238	121	29	29



Tabla c.3. Biometría II. Ceba CU; T: 20°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	192	143	91	21	23	1	317	234	119	22	27
2	299	203	113	22	30	2	322	231	128	25	26
3	213	156	99	23	21	3	302	234	137	36	23
4	304	208	121	20	30	4	283	218	114	25	30
5	195	143	91	20	21	5	315	224	118	25	29
6	242	179	107	23	24	6	265	198	103	20	25
7	291	205	126	26	30	7	268	208	114	23	20
8	247	192	106	13	26	8	291	218	117	22	26
9	304	205	131	25	32	9	309	231	120	20	30
10	195	130	93	25	21	10	312	234	126	25	27
11	281	203	125	37	24	11	231	156	88	22	24
12	198	140	92	22	23	12	218	153	88	22	22
13	226	198	93	22	23	13	203	159	101	29	22
14	166	122	77	20	19	14	291	221	125	25	29
15	185	135	81	14	22	15	312	224	111	24	26
16	260	177	120	27	23	16	294	216	120	21	26
17	213	138	88	21	20	17	291	216	115	25	27
18	179	117	66	9	19	18	281	203	112	24	26
19	247	198	107	21	24	19	255	224	113	44	21
20	239	177	108	26	24	20	268	216	107	30	24
21	255	182	110	23	26	21	242	195	113	25	43
22	299	216	119	29	29	22	289	208	123	27	27
23	299	208	120	27	33	23	239	174	98	21	24
24	283	221	95	25	26	24	286	211	115	26	26
25	216	164	107	25	23	25	229	169	96	27	22

Tabla c.4. Biometría II. Ceba CU; T: 25°C; S: 9 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	259	178	113	23	23	1	255	195	115	25	26
2	183	129	81	15	20	2	262	178	98	24	23
3	262	169	102	30	28	3	233	150	100	25	22
4	205	148	97	22	25	4	236	157	104	25	23
5	281	202	117	25	30	5	274	176	107	27	24
6	262	176	113	22	29	6	243	162	96	27	23
7	274	178	113	22	30	7	245	176	106	22	25
8	212	145	103	24	23	8	219	157	104	26	22
9	245	171	118	29	22	9	252	169	110	24	23
10	214	143	92	21	24	10	217	155	98	18	24
11	257	178	114	26	25	11	238	157	108	26	24
12	252	178	124	25	30	12	248	174	103	23	23
13	209	143	101	28	24	13	255	195	113	29	27
14	155	114	73	11	20	14	264	176	116	28	22
15	233	167	112	25	27	15	214	155	104	26	23
16	257	186	125	23	27	16	245	167	100	23	22
17	274	176	108	26	23	17	190	136	85	20	20
18	207	150	101	23	24	18	236	162	102	25	23
19	250	174	106	25	25	19	228	157	104	25	22
20	221	148	76	15	23	20	219	157	91	17	24
21	195	143	106	28	23	21	228	164	112	29	26
22	278	112	121	26	23	22	243	178	113	31	25
23	240	190	123	27	30	23	212	150	88	20	22
24	181	129	90	20	21	24	252	171	115	27	23
25	248	112	107	25	23	25	224	150	99	30	24

Tabla c.5. Biometría II. Ceba CU; T: 25°C; S: 12 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	174	131	90	17	13	1	190	131	84	12	17
2	200	131	88	17	19	2	209	148	89	21	24
3	221	150	90	19	21	3	262	188	124	25	26
4	228	159	110	19	23	4	195	131	83	16	20
5	259	183	112	30	25	5	255	190	122	28	28
6	267	176	100	20	25	6	219	143	93	16	21
7	207	129	87	18	20	7	255	171	119	30	24
8	190	131	83	22	18	8	257	176	120	20	21
9	269	186	114	26	26	9	257	183	109	23	24
10	257	186	119	26	26	10	264	181	112	24	26
11	245	174	103	27	23	11	259	186	120	26	26
12	248	174	111	22	28	12	259	178	121	27	26
13	238	157	105	24	23	13	264	183	122	28	26
14	183	129	79	15	20	14	248	171	109	23	25
15	238	171	104	22	24	15	238	167	103	26	24
16	259	178	102	26	26	16	267	181	121	26	27
17	178	133	82	17	20	17	205	148	96	14	25
18	264	171	96	21	20	18	202	138	96	13	17
19	174	121	71	16	20	19	240	171	102	25	25
20	252	176	103	25	26	20	188	136	76	8	19
21	264	171	99	26	24	21	243	176	119	25	25
22	198	131	74	19	21	22	278	190	114	31	26
23	200	138	92	22	22	23	233	143	99	20	23
24	243	157	100	21	21	24	264	181	106	22	26
25	267	183	120	26	29	25	233	148	99	19	22

Tabla c.6. Biometría II. Ceba CU; T: 25°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	181	124	88	34	17	1	250	155	108	23	24
2	186	133	84	16	18	2	226	145	95	23	21
3	190	133	100	44	12	3	205	143	88	20	19
4	236	157	102	25	22	4	233	155	101	26	24
5	250	183	126	30	27	5	262	155	102	23	26
6	276	186	104	25	29	6	126	107	65	22	10
7	205	131	86	20	19	7	226	155	106	25	22
8	195	143	91	20	17	8	238	155	107	22	22
9	214	152	100	27	23	9	176	138	91	20	20
10	190	131	85	22	21	10	209	155	101	25	21
11	186	129	89	17	20	11	214	157	95	22	24
12	198	129	88	23	19	12	186	131	82	23	18
13	188	133	98	24	22	13	231	155	91	24	20
14	193	121	88	18	19	14	267	174	113	28	26
15	190	131	90	18	18	15	207	143	102	29	22
16	178	121	80	30	16	16	209	138	96	21	20
17	226	145	108	30	23	17	209	143	98	24	22
18	205	140	89	19	19	18	236	164	111	25	25
19	202	145	83	18	12	19	178	121	81	20	15
20	205	136	87	20	20	20	178	131	89	20	19
21	259	176	100	21	26	21	243	150	102	26	22
22	240	176	96	4	25	22	205	155	90	21	23
23	174	119	83	24	19	23	221	150	96	23	22
24	181	121	81	25	17	24	174	124	74	29	11
25	195	131	88	19	19	25	240	155	106	21	24

Tabla c.7. Biometría II. Ceba CU; T: 30°C; S: 9 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	207	148	97	21	22	1	202	150	95	23	20
2	257	183	120	21	26	2	212	143	84	20	20
3	205	152	108	22	21	3	245	171	94	22	22
4	183	129	102	26	19	4	195	136	77	21	21
5	157	119	77	14	20	5	219	143	85	20	19
6	238	150	105	23	24	6	217	162	97	25	24
7	214	155	102	20	25	7	202	150	101	30	22
8	243	155	112	26	26	8	214	159	92	20	21
9	252	178	122	30	27	9	224	157	95	27	18
10	217	150	102	21	27	10	209	155	91	23	22
11	217	162	105	31	24	11	198	138	85	25	18
12	226	167	103	21	25	12	224	155	100	21	23
13	231	155	108	30	21	13	209	133	83	18	18
14	259	176	114	28	26	14	178	121	77	17	18
15	162	109	77	17	17	15	217	148	83	20	23
16	188	131	94	21	22	16	188	131	79	20	18
17	290	198	130	32	26	17	248	174	90	23	19
18	198	143	100	27	23	18	233	181	106	28	22
19	264	178	120	28	25	19	219	167	92	25	21
20	274	171	120	30	27	20	217	167	95	21	21
21	238	171	108	25	25	21	243	176	95	21	24
22	236	174	115	23	25	22	162	121	78	23	15
23	219	143	96	24	23	23	198	143	87	20	19
24	198	138	100	30	22	24	205	140	80	20	19
25	248	169	111	28	25	25	214	150	86	19	21

Tabla c.8. Biometría II. Ceba CU; T: 30°C; S: 12 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	186	129	85	15	22	1	255	176	116	27	24
2	238	167	111	27	25	2	278	193	115	25	25
3	252	178	105	24	23	3	238	181	108	26	24
4	264	176	118	26	24	4	278	190	112	29	26
5	236	159	98	22	22	5	269	195	102	25	24
6	248	186	112	30	24	6	228	167	104	27	23
7	198	138	80	14	20	7	200	138	87	23	21
8	226	159	103	26	22	8	257	183	114	31	25
9	240	167	92	21	23	9	193	136	92	22	17
10	250	174	105	27	25	10	267	178	104	26	25
11	233	167	105	26	24	11	228	176	103	26	20
12	202	167	97	17	22	12	240	169	115	26	22
13	226	148	96	24	21	13	262	178	107	28	26
14	259	174	106	22	24	14	252	195	112	30	28
15	233	159	104	23	24	15	243	178	103	28	24
16	228	167	107	30	25	16	214	155	102	30	22
17	226	159	98	21	22	17	233	174	113	23	25
18	252	157	105	29	21	18	231	171	116	36	20
19	205	202	84	19	20	19	214	145	96	24	20
20	183	133	92	25	19	20	228	167	98	25	21
21	214	155	97	22	22	21	250	171	106	30	21
22	248	174	109	25	24	22	238	178	105	27	20
23	252	178	105	24	27	23	248	186	105	25	24
24	167	129	100	25	19	24	228	174	94	26	20
25	238	167	98	22	21	25	228	167	102	24	23

Tabla c.9. Biometría II. Ceba CU; T: 30°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	255	190	121	34	21	1	259	181	99	29	21
2	209	150	103	20	22	2	286	188	114	28	26
3	207	150	116	32	21	3	283	198	119	28	31
4	236	167	109	39	16	4	243	169	97	22	26
5	214	143	108	31	19	5	262	202	106	30	25
6	243	171	110	31	23	6	252	178	108	22	24
7	190	136	105	35	17	7	250	169	101	31	25
8	214	155	105	40	18	8	297	217	120	33	32
9	238	169	109	31	23	9	274	195	112	30	25
10	224	171	93	22	14	10	290	195	115	28	30
11	212	145	104	41	14	11	226	164	99	24	25
12	231	148	113	33	20	12	269	205	115	27	25
13	262	186	112	32	24	13	288	207	121	34	24
14	228	171	110	34	26	14	245	174	110	25	27
15	207	143	107	35	18	15	264	195	102	26	26
16	231	157	108	27	20	16	226	167	107	23	26
17	250	195	122	38	21	17	262	178	110	23	30
18	240	167	113	25	23	18	250	171	107	30	29
19	202	136	98	27	21	19	252	183	108	27	23
20	217	145	106	27	28	20	259	183	105	24	25
21	245	183	109	28	25	21	252	178	111	30	28
22	224	150	105	29	23	22	243	188	110	23	24
23	181	138	94	33	14	23	293	195	118	30	31
24	224	148	100	30	21	24	245	178	97	25	24
25	257	198	120	48	22	25	245	176	107	29	24

Tabla c.10. Biometría II. Ceba SPO; T: 20°C; S: 9 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	150	107	69	16	16	1	195	136	87	20	24
2	136	107	73	15	11	2	148	109	61	14	14
3	148	98	52	11	15	3	174	119	60	13	19
4	143	100	72	16	15	4	183	131	78	15	24
5	176	124	73	23	18	5	155	112	71	17	15
6	193	131	80	16	15	6	200	131	86	13	15
7	169	119	69	13	19	7	214	140	86	17	18
8	190	131	80	18	18	8	190	126	82	16	21
9	138	102	72	18	16	9	159	121	79	21	16
10	212	148	94	17	19	10	176	117	72	15	14
11	183	136	80	17	19	11	188	129	78	15	14
12	183	119	77	23	17	12	145	107	82	16	18
13	155	107	72	18	16	13	193	126	78	17	20
14	193	131	84	13	17	14	150	105	60	13	19
15	148	105	71	14	15	15	174	119	86	25	20
16	169	117	77	20	18	16	178	121	79	19	18
17	171	112	75	17	18	17	183	126	84	20	17
18	198	138	87	18	20	18	183	124	72	15	18
19	198	131	84	19	20	19	150	121	75	16	19
20	140	105	69	13	16	20	167	121	80	12	17
21	186	126	82	21	19	21	157	117	75	17	18
22	143	105	77	17	15	22	193	131	76	16	18
23	176	119	83	21	20	23	181	129	86	19	17
24	140	105	77	19	17	24	188	126	80	19	10
25	221	148	90	18	20	25	174	133	85	18	20

Tabla c.11. Biometría II. Cepa SPO; T: 20°C; S: 12 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	174	138	70	15	16	1	127	114	66	14	19
2	200	153	77	15	19	2	198	146	88	21	23
3	130	99	59	11	13	3	161	117	79	18	16
4	203	143	81	21	18	4	208	151	90	18	23
5	156	125	66	11	13	5	190	140	91	22	22
6	182	140	73	14	19	6	211	143	92	21	21
7	159	125	63	12	15	7	182	130	71	11	14
8	148	104	62	10	14	8	177	130	81	16	20
9	195	151	75	14	14	9	203	143	82	22	18
10	164	120	79	18	19	10	190	140	82	19	20
11	143	114	57	11	15	11	229	156	103	18	23
12	159	120	71	18	16	12	182	130	88	21	21
13	190	148	78	15	18	13	203	143	85	18	20
14	187	146	74	18	14	14	205	140	84	19	19
15	151	117	62	10	12	15	179	127	76	14	18
16	182	138	76	11	15	16	172	125	85	19	21
17	156	117	71	11	11	17	169	125	66	13	18
18	148	104	66	11	14	18	185	125	78	15	19
19	195	140	68	13	16	19	192	138	84	18	19
20	187	133	78	9	16	20	185	133	82	16	20
21	179	138	82	16	18	21	156	117	68	12	20
22	213	169	88	21	19	22	179	130	71	16	21
23	192	143	79	14	13	23	221	146	87	18	19
24	200	164	73	10	15	24	187	151	88	21	21
25	187	143	82	19	20	25	190	120	88	21	20

Tabla c.12. Biometría II. Cepa SPO; T: 20°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	190	140	85	17	20	1	190	138	69	17	18
2	171	131	74	16	19	2	155	114	65	17	16
3	193	145	88	15	17	3	162	119	70	21	17
4	155	112	72	17	14	4	193	138	75	14	20
5	198	143	88	20	16	5	190	136	81	20	18
6	159	117	73	20	16	6	167	124	69	14	18
7	200	136	83	20	17	7	181	148	77	19	18
8	205	155	94	20	20	8	186	145	77	20	18
9	200	143	85	15	20	9	212	152	92	23	21
10	217	162	91	20	17	10	186	143	79	22	19
11	143	109	63	12	15	11	205	143	73	15	20
12	178	148	82	12	21	12	167	112	60	10	13
13	148	112	70	14	16	13	157	119	63	12	15
14	205	148	86	16	18	14	202	143	80	19	19
15	195	164	88	18	19	15	207	150	94	18	21
16	219	155	91	20	18	16	214	148	83	16	19
17	195	145	81	13	15	17	171	129	69	16	17
18	190	145	90	18	19	18	171	131	77	15	18
19	207	148	91	18	20	19	136	105	65	14	13
20	198	140	87	17	17	20	205	145	73	16	19
21	183	143	88	19	18	21	190	143	72	24	23
22	207	155	96	20	20	22	145	112	74	16	15
23	150	119	71	18	15	23	198	143	80	19	20
24	202	143	99	18	15	24	238	171	91	21	19
25	186	131	84	15	18	25	188	143	81	20	13

Tabla c.13. Biometría II. Cepa SPO; T: 25°; S: 9 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	129	95	66	13	15	1	100	79	44	5	7
2	176	126	80	17	19	2	176	133	90	13	19
3	145	100	63	13	17	3	138	95	64	12	16
4	143	102	57	12	18	4	183	126	74	12	21
5	183	140	80	16	21	5	209	143	81	12	18
6	190	131	84	22	20	6	174	121	78	13	17
7	167	121	64	11	19	7	183	138	86	18	19
8	188	131	87	19	21	8	148	105	70	12	17
9	162	114	69	17	17	9	152	114	77	15	20
10	186	138	94	19	20	10	169	119	65	11	16
11	195	155	87	21	20	11	109	76	45	7	15
12	169	112	72	16	18	12	150	107	62	9	18
13	157	114	75	16	18	13	183	136	76	14	19
14	162	121	66	12	21	14	190	143	88	19	18
15	126	100	63	15	15	15	157	107	70	10	18
16	164	124	75	16	22	16	157	114	75	12	18
17	174	126	88	16	20	17	152	109	66	10	15
18	145	119	74	16	20	18	200	145	79	10	21
19	143	112	76	15	18	19	164	121	78	12	18
20	157	112	73	15	18	20	129	93	54	11	14
21	188	133	86	19	18	21	167	129	78	15	21
22	193	133	82	20	19	22	162	126	73	10	21
23	178	126	80	16	19	23	169	124	72	13	19
24	195	143	92	21	21	24	169	126	74	9	20
25	117	81	55	12	16	25	150	107	75	13	17

Tabla c.14. Biometría II. Cepa SPO; T: 25°C; S: 12 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	164	127	75	13	18	1	187	130	84	21	19
2	195	138	81	22	18	2	203	140	99	23	22
3	169	117	82	20	18	3	185	135	93	20	21
4	153	114	52	18	16	4	203	135	96	21	21
5	138	120	67	12	18	5	182	130	95	22	23
6	143	104	71	16	18	6	198	130	80	21	22
7	151	112	80	16	18	7	174	120	85	20	19
8	146	104	69	16	14	8	182	130	93	25	19
9	156	112	78	16	16	9	195	143	92	21	23
10	143	117	70	12	16	10	190	143	92	22	22
11	187	130	82	18	19	11	174	125	82	21	20
12	156	109	69	15	16	12	185	130	86	21	21
13	172	117	77	16	19	13	187	130	95	24	22
14	146	104	71	18	18	14	195	130	85	20	20
15	130	99	59	11	13	15	190	130	92	22	22
16	130	99	70	21	18	16	211	138	103	24	21
17	135	99	73	16	18	17	164	117	82	19	20
18	138	104	66	13	13	18	195	143	97	24	20
19	177	135	84	18	18	19	169	125	89	23	19
20	148	120	56	15	16	20	200	140	91	19	20
21	130	117	58	7	15	21	179	125	81	22	19
22	138	104	58	13	15	22	179	122	89	22	18
23	117	83	67	15	16	23	200	143	95	19	22
24	164	94	68	16	18	24	195	130	66	22	22
25	174	122	93	21	19	25	182	130	87	18	22

Tabla c.15. Biometría II. Ceba SPO; T: 25°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	129	93	64	15	14	1	198	150	83	22	19
2	178	119	86	16	19	2	190	143	79	19	19
3	174	114	75	17	17	3	226	167	87	22	18
4	183	119	83	15	18	4	200	136	78	18	20
5	162	119	76	15	14	5	202	162	83	20	20
6	131	95	70	17	17	6	202	148	80	19	19
7	162	105	70	16	17	7	228	157	88	25	19
8	131	95	74	17	17	8	174	121	73	18	15
9	126	88	60	10	11	9	178	129	79	20	17
10	178	119	80	15	19	10	202	145	81	20	20
11	178	121	83	18	19	11	209	155	85	22	18
12	133	100	75	18	16	12	181	131	66	20	15
13	162	117	75	15	17	13	214	157	84	20	19
14	155	117	75	17	17	14	209	152	85	21	17
15	126	107	76	16	17	15	190	133	78	19	18
16	140	98	71	17	18	16	167	131	67	12	15
17	152	119	80	19	20	17	176	133	68	13	17
18	167	119	76	16	17	18	188	140	58	8	17
19	143	117	75	19	18	19	126	129	72	17	14
20	150	112	74	18	16	20	190	145	73	13	20
21	131	95	70	15	16	21	176	131	74	13	17
22	162	117	70	17	17	22	205	150	83	16	19
23	124	90	60	13	16	23	193	143	72	13	18
24	167	121	74	14	16	24	214	155	90	24	20
25	152	107	75	16	18	25	150	119	73	14	16

Tabla c.16. Biometría II. Ceba SPO; T: 30°C; S: 9 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	169	119	75	14	20	1	164	140	88	14	18
2	121	95	60	12	16	2	207	138	83	16	18
3	143	112	76	15	19	3	155	105	68	14	15
4	164	131	78	13	20	4	148	100	70	16	17
5	112	79	56	9	15	5	181	129	72	13	21
6	155	112	67	13	14	6	145	117	71	15	20
7	169	121	75	13	20	7	157	98	68	14	20
8	138	98	57	10	17	8	171	131	86	18	20
9	169	129	77	13	17	9	183	131	81	15	18
10	133	95	57	11	17	10	178	131	84	15	19
11	140	100	66	9	15	11	150	107	71	13	16
12	183	119	68	8	17	12	167	114	83	15	17
13	136	102	61	17	11	13	176	119	79	17	17
14	138	98	61	14	16	14	157	112	73	15	17
15	174	119	76	14	19	15	174	136	89	17	19
16	157	109	68	10	19	16	186	140	88	18	21
17	167	112	68	10	21	17	181	126	79	16	20
18	162	114	69	18	19	18	169	117	77	14	19
19	150	100	62	9	16	19	178	131	81	12	20
20	138	98	68	15	18	20	171	119	79	13	19
21	157	119	76	14	20	21	181	131	86	17	20
22	129	93	55	10	16	22	178	129	82	15	19
23	119	86	54	10	14	23	169	114	75	14	20
24	169	119	72	10	12	24	167	114	75	11	19
25	167	117	63	14	16	25	174	129	80	16	20

Tabla c.17. Biometría II. Ceba SPO; T: 30°C; S: 12 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	126	81	51	11	14	1	221	167	106	22	24
2	138	95	68	14	18	2	162	121	81	20	18
3	174	119	66	12	16	3	126	90	61	16	13
4	152	109	75	16	14	4	164	119	85	12	16
5	152	109	58	9	16	5	169	129	79	19	17
6	148	105	65	15	16	6	176	131	95	20	18
7	169	119	64	13	20	7	138	112	75	17	15
8	126	88	59	14	16	8	178	131	89	18	17
9	162	119	81	14	18	9	148	107	76	16	16
10	162	112	67	12	19	10	167	124	80	17	18
11	148	95	60	10	15	11	143	107	72	16	14
12	155	105	55	11	18	12	174	121	85	17	17
13	148	95	55	11	17	13	164	117	79	17	17
14	152	109	58	9	16	14	171	131	91	16	21
15	148	102	71	25	14	15	169	126	89	18	17
16	150	102	52	7	16	16	183	133	85	21	17
17	152	107	70	16	17	17	129	90	57	17	11
18	121	90	61	14	15	18	157	109	74	17	14
19	133	95	61	16	13	19	150	126	82	18	19
20	129	88	60	14	13	20	167	117	75	17	16
21	171	119	78	16	14	21	176	124	82	20	18
22	136	98	67	16	17	22	181	124	92	18	16
23	152	102	65	13	16	23	169	117	83	19	18
24	150	102	70	15	15	24	183	131	91	18	18
25	157	112	79	18	18	25	178	129	90	20	18

Tabla c.18. Biometría II. Ceba SPO; T: 30°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	198	136	79	21	20	1	152	109	73	17	12
2	157	119	82	20	19	2	157	112	79	20	18
3	162	117	79	21	14	3	176	131	90	18	17
4	183	136	82	22	18	4	181	133	85	20	19
5	176	124	80	18	19	5	169	112	68	16	18
6	159	112	76	20	17	6	114	83	58	14	13
7	159	126	79	21	15	7	181	138	86	21	18
8	164	129	85	18	18	8	157	112	76	15	16
9	162	109	71	18	18	9	171	131	87	19	18
10	174	126	88	19	20	10	174	117	67	16	17
11	200	143	80	19	21	11	181	119	84	20	17
12	214	155	80	17	18	12	167	121	78	17	17
13	155	119	74	16	17	13	178	131	80	18	14
14	202	155	80	21	20	14	167	121	75	20	15
15	169	119	81	22	6	15	162	117	70	15	19
16	174	138	87	21	17	16	169	121	79	19	21
17	143	107	75	20	14	17	155	112	78	18	18
18	148	105	80	21	14	18	171	117	78	13	17
19	167	119	84	21	16	19	131	95	60	16	14
20	164	112	82	21	16	20	129	95	68	14	13
21	150	114	80	19	17	21	155	109	77	19	21
22	157	112	80	21	16	22	171	117	49	17	17
23	140	107	75	20	13	23	186	136	90	23	18
24	202	145	70	16	14	24	209	155	99	19	20
25	190	143	85	20	20	25	178	124	86	17	16



Tabla c.19. Biometría II. Ceba FCA; T: 20°C; S: 9 g/L

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	178	143	83	25	15	1	183	138	84	16	16
2	176	124	75	17	17	2	181	138	86	12	21
3	178	131	70	15	18	3	188	140	87	16	16
4	181	129	75	17	16	4	178	131	90	16	21
5	186	138	77	17	18	5	176	131	73	12	20
6	178	143	82	19	19	6	164	121	74	17	18
7	178	126	72	18	16	7	171	124	83	16	17
8	152	114	71	15	20	8	169	124	74	17	19
9	167	117	81	17	18	9	178	131	83	17	20
10	190	145	83	16	20	10	167	117	77	16	19
11	190	143	89	19	21	11	190	136	89	16	20
12	169	131	77	19	16	12	183	131	81	16	20
13	169	129	71	15	19	13	178	126	75	17	13
14	176	131	92	19	18	14	164	124	90	18	19
15	178	133	82	19	20	15	159	129	80	13	19
16	178	133	82	18	17	16	176	131	84	19	21
17	159	126	81	18	16	17	193	126	90	19	16
18	167	126	80	16	14	18	190	143	86	16	18
19	155	119	81	17	15	19	178	131	75	12	16
20	167	136	87	18	16	20	200	155	87	14	16
21	169	145	86	22	17	21	167	129	85	19	14
22	188	138	88	19	19	22	167	136	87	17	18
23	202	157	99	22	17	23	198	148	83	17	16
24	169	138	85	18	17	24	145	107	76	15	12
25	190	150	89	19	19	25	174	126	77	16	11

Tabla c.20. Biometría II. Ceba FCA; T: 20°C; S: 12 g/L

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	203	151	85	27	18	1	140	101	60	20	14
2	211	143	84	22	19	2	143	104	62	21	11
3	174	130	73	19	18	3	166	125	79	22	16
4	203	151	93	25	19	4	166	127	65	21	11
5	159	127	77	19	18	5	179	143	85	16	18
6	200	156	80	24	20	6	156	104	77	21	15
7	164	130	82	19	15	7	182	148	95	18	20
8	182	135	78	18	18	8	177	140	87	16	21
9	187	138	82	22	20	9	187	146	91	16	18
10	174	130	81	20	19	10	159	130	91	20	19
11	218	156	101	24	20	11	172	140	82	13	19
12	172	138	74	9	18	12	195	151	87	16	16
13	190	174	88	21	15	13	169	130	93	25	21
14	179	148	95	18	19	14	192	146	81	22	15
15	185	148	84	18	16	15	177	138	82	18	14
16	177	135	85	18	16	16	177	125	76	21	15
17	198	151	86	24	18	17	182	133	87	22	20
18	174	127	86	21	18	18	182	138	82	24	13
19	140	117	66	18	11	19	208	166	95	25	20
20	169	140	78	20	20	20	185	143	86	21	16
21	195	153	101	21	21	21	174	138	86	27	14
22	200	153	89	22	20	22	164	120	81	21	16
23	164	130	85	19	15	23	185	135	97	20	22
24	179	130	74	20	20	24	190	146	86	21	19
25	203	156	85	22	19	25	174	135	93	21	21

Tabla c.21. Biometría II. Ceba FCA; T: 20°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	152	124	78	16	19	1	176	143	74	20	21
2	174	136	76	20	21	2	157	131	77	21	19
3	176	148	86	29	19	3	183	145	78	20	19
4	214	164	95	17	18	4	190	162	88	15	20
5	183	155	92	19	21	5	190	152	83	16	16
6	181	133	76	17	16	6	131	95	68	19	15
7	221	174	91	16	22	7	186	155	80	17	16
8	188	148	80	22	20	8	183	148	78	22	16
9	183	150	91	29	20	9	178	145	77	19	18
10	188	145	88	21	18	10	167	131	66	16	17
11	214	183	113	23	23	11	181	145	80	19	18
12	119	86	62	5	16	12	131	107	71	12	20
13	193	155	91	30	20	13	183	143	75	16	18
14	155	117	81	19	19	14	188	148	84	18	18
15	169	131	82	21	19	15	190	157	83	20	15
16	148	109	77	21	16	16	190	150	84	17	17
17	126	100	65	19	16	17	193	157	85	15	18
18	155	119	78	22	20	18	195	178	90	17	22
19	190	157	91	46	12	19	188	148	84	15	16
20	150	119	84	18	16	20	188	167	90	18	23
21	202	162	98	23	23	21	171	145	78	20	20
22	157	121	84	22	20	22	207	167	90	28	20
23	157	119	71	18	19	23	138	98	67	16	16
24	178	145	75	19	21	24	202	167	90	21	20
25	174	131	80	18	20	25	186	152	85	18	15

Tabla c.22. Biometría II. Ceba FCA; T: 25°C; S: 9 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	162	133	76	14	18	1	176	136	82	13	19
2	162	119	67	10	16	2	162	133	77	17	17
3	169	124	82	18	15	3	171	131	84	14	15
4	138	107	80	14	15	4	202	145	86	15	16
5	152	107	80	17	29	5	131	95	50	13	10
6	152	112	77	16	17	6	183	133	76	14	12
7	157	117	77	14	15	7	136	107	70	11	17
8	167	126	84	14	16	8	157	117	77	11	14
9	159	126	78	17	14	9	181	133	77	13	13
10	176	126	77	17	17	10	178	129	76	12	17
11	157	107	70	13	14	11	178	131	76	10	13
12	159	119	73	16	14	12	174	136	78	10	16
13	155	119	76	13	19	13	193	148	83	13	15
14	162	133	72	14	17	14	159	131	74	14	13
15	155	121	80	19	16	15	164	129	77	14	15
16	171	131	89	18	13	16	157	114	80	12	14
17	152	121	89	15	20	17	159	119	67	16	16
18	162	124	80	24	16	18	202	155	92	15	16
19	159	121	79	17	15	19	157	119	75	13	13
20	167	129	74	14	15	20	169	126	79	12	14
21	162	126	88	16	20	21	150	112	75	19	12
22	143	100	80	17	16	22	121	100	71	13	16
23	178	126	84	14	19	23	143	105	67	11	11
24	162	117	83	17	17	24	159	117	75	13	15
25	152	109	65	12	17	25	148	114	82	13	15

Tabla c.23. Biometría II. Ceba FCA; T: 25°C; S: 12g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	136	109	63	15	13	1	143	104	77	18	18
2	167	119	73	17	19	2	182	130	97	19	21
3	167	119	81	18	18	3	177	138	92	15	21
4	162	119	82	14	17	4	172	135	87	19	20
5	143	109	72	15	16	5	153	120	81	18	20
6	131	107	63	14	15	6	107	81	60	13	15
7	145	114	75	17	17	7	195	148	91	18	22
8	131	119	75	15	15	8	192	143	95	18	23
9	178	183	83	12	17	9	185	140	88	16	21
10	183	140	82	14	17	10	153	117	84	15	18
11	169	126	92	14	17	11	177	187	92	21	16
12	148	119	75	17	17	12	187	143	86	18	18
13	164	119	70	15	18	13	164	117	88	18	16
14	155	131	88	17	17	14	182	130	93	20	22
15	131	107	60	16	13	15	153	130	88	16	21
16	176	140	80	14	16	16	172	138	77	16	20
17	181	133	79	17	16	17	169	127	84	18	21
18	140	112	60	10	13	18	179	140	87	18	20
19	167	131	79	14	17	19	153	156	92	21	24
20	143	117	71	15	16	20	208	203	99	18	26
21	178	124	79	16	17	21	190	143	93	16	21
22	152	119	74	16	16	22	200	148	91	22	23
23	188	143	81	15	17	23	177	140	99	11	21
24	131	102	57	14	13	24	182	156	86	19	20
25	133	102	65	15	15	25	130	99	70	13	16

Tabla c.24. Biometría II. Ceba FCA; T: 25°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	151	112	71	16	15	1	161	130	74	8	16
2	151	127	73	16	18	2	133	96	66	12	14
3	172	185	74	18	18	3	177	127	77	14	18
4	146	125	76	16	19	4	177	133	84	16	21
5	172	130	75	15	16	5	179	133	84	18	22
6	169	120	71	16	16	6	164	125	74	19	19
7	151	127	75	16	18	7	172	130	85	16	19
8	153	117	82	16	19	8	151	112	67	18	16
9	182	138	82	14	18	9	185	140	81	15	19
10	161	114	71	15	19	10	182	146	87	15	22
11	156	125	69	15	19	11	182	130	82	15	21
12	151	130	85	15	18	12	172	138	92	15	23
13	161	130	74	16	15	13	169	130	82	18	21
14	146	99	62	14	14	14	146	104	74	14	19
15	172	125	78	11	16	15	200	146	81	13	21
16	164	127	86	16	19	16	164	135	88	9	21
17	166	127	73	12	16	17	169	120	71	13	18
18	156	117	69	14	18	18	179	135	84	22	18
19	169	127	81	18	21	19	182	143	86	18	20
20	161	127	70	11	15	20	172	127	69	16	19
21	164	130	80	15	19	21	151	125	71	22	19
22	177	146	79	16	18	22	179	135	78	19	18
23	148	107	77	16	19	23	172	130	80	16	18
24	161	133	75	19	18	24	182	138	78	15	18
25	112	78	59	11	15	25	174	138	82	19	18

Tabla c.25. Biometría II. Ceba FCA; T: 30°C; S: 9 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	159	126	78	15	13	1	159	124	70	13	13
2	140	100	58	11	17	2	136	95	58	12	14
3	174	131	77	12	17	3	133	100	66	12	14
4	157	133	73	11	10	4	152	121	78	15	15
5	171	131	73	13	19	5	174	136	80	17	15
6	136	102	70	12	14	6	124	100	70	20	12
7	133	98	56	8	15	7	157	112	73	13	12
8	174	124	77	14	17	8	176	136	87	18	17
9	171	131	75	13	16	9	121	88	60	15	11
10	195	150	83	18	16	10	114	90	59	11	13
11	178	133	85	14	15	11	131	95	66	12	14
12	126	95	60	14	12	12	136	100	69	11	15
13	176	136	83	15	15	13	152	119	76	14	18
14	136	107	65	12	8	14	159	124	77	13	14
15	155	117	68	10	17	15	171	131	83	15	18
16	155	114	71	13	13	16	169	131	80	15	14
17	178	145	90	15	17	17	136	107	71	16	16
18	171	117	69	13	17	18	136	102	77	15	17
19	121	95	57	10	12	19	124	102	74	12	18
20	162	126	65	12	15	20	174	131	88	14	14
21	131	98	64	13	11	21	150	119	72	16	13
22	171	131	83	16	16	22	143	107	72	13	13
23	169	124	73	14	19	23	143	112	79	13	16
24	150	114	73	12	13	24	164	131	81	14	17
25	178	140	86	14	15	25	133	95	65	12	13

Tabla c.26. Biometría II. Ceba FCA; T: 30°C; S: 12 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	138	107	79	15	16	1	186	152	95	13	19
2	131	112	73	24	16	2	190	136	88	18	17
3	169	138	80	16	17	3	126	100	67	14	13
4	138	100	72	14	16	4	176	138	82	16	19
5	150	109	63	11	12	5	183	136	90	16	19
6	150	105	69	13	14	6	178	145	76	8	15
7	169	129	79	11	14	7	181	131	85	14	18
8	140	114	73	20	16	8	183	124	76	15	14
9	157	107	72	13	18	9	176	124	90	17	20
10	159	117	71	10	15	10	171	131	87	20	15
11	155	131	74	15	15	11	159	138	90	16	18
12	138	107	72	12	17	12	178	131	86	17	17
13	150	119	75	15	18	13	178	131	75	13	16
14	174	131	77	11	12	14	186	136	82	14	18
15	167	126	86	15	15	15	145	109	86	13	17
16	155	112	84	13	15	16	178	131	92	16	20
17	145	107	65	11	14	17	148	119	90	17	20
18	157	117	68	9	17	18	178	136	84	15	18
19	143	98	70	11	16	19	178	138	85	16	19
20	117	86	60	11	13	20	181	133	86	15	20
21	145	112	76	22	16	21	133	100	68	13	16
22	155	119	87	15	13	22	159	126	75	14	15
23	174	121	71	11	14	23	202	145	94	16	19
24	150	107	72	15	14	24	169	131	84	14	18
25	164	119	85	15	16	25	174	138	85	17	18

Tabla c.27. Biometría II. Cepa FCA; T: 30°C; S: 24 g/l.

Bloque 1						Bloque 2					
n	L	A	SEL	SED	LED	n	L	A	SEL	SED	LED
1	164	126	80	12	16	1	164	129	82	19	19
2	171	129	72	11	17	2	138	107	70	15	17
3	174	129	65	13	18	3	148	114	72	21	16
4	167	136	71	14	12	4	188	124	67	13	18
5	167	129	75	16	15	5	157	114	74	13	20
6	171	124	76	14	18	6	148	117	76	13	17
7	169	136	71	13	16	7	167	119	80	18	16
8	174	133	72	14	15	8	124	98	65	15	13
9	171	138	74	15	16	9	155	117	78	15	17
10	183	133	70	11	18	10	150	119	75	15	17
11	198	164	82	14	15	11	183	148	81	14	18
12	162	124	72	14	15	12	169	131	82	13	16
13	157	124	75	14	15	13	138	98	70	15	16
14	190	148	79	14	13	14	183	145	85	16	17
15	171	136	74	15	12	15	174	136	85	17	20
16	181	140	77	13	14	16	145	107	68	13	13
17	174	133	68	15	14	17	150	112	73	13	17
18	162	131	75	17	13	18	138	114	68	19	14
19	136	112	71	14	16	19	162	119	75	15	17
20	176	145	74	13	13	20	148	114	76	13	16
21	155	126	75	16	17	21	178	143	80	15	16
22	169	152	77	12	20	22	145	114	76	14	17
23	176	133	70	19	15	23	138	114	70	13	15
24	162	124	70	15	12	24	136	105	78	12	16
25	190	167	89	15	17	25	159	131	77	14	18



#### **D. DERIVACIÓN DE LAS EXPRESIONES PARA LOS PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS SEGÚN LOS MODELOS II Y III.**

A continuación se deducen las expresiones para los parámetros demográficos más importantes correspondientes a los Modelos II y III. Dado que el proceso de deducción es muy similar en ambos casos, se presentan simultáneamente, y cuando una expresión sólo se refiere a uno de los modelos, se indica junto a ella mediante los números correspondientes (*i.e.*, II y III). La notación empleada es la que se reseña en el Capítulo 6 (tablas 6.1 y 6.2).

Siendo  $x$  la edad a la que se realiza una observación, se asume que la supervivencia, en cada intervalo de tiempo entre observaciones, viene dada por la expresión:

$$(ec. d.1;II) \quad l[x+h] = l[x] - h \cdot q[x] \cdot l[x], \quad 0 < h \leq a[x]$$

o, alternativamente,

$$(ec. d.2;III) \quad l[x+h] = l[x] \cdot \exp(-q'[x] \cdot h) \quad ,$$

en donde la tasa de mortalidad ( $q[x]$  o  $q'[x]$ ) es constante durante el intervalo y  $l[x]$  es la supervivencia al inicio del intervalo.

Dado que

$$l[x] \text{ y } l[x+a[x]] = l[\text{suc}(x)]$$

son conocidos (coinciden con las supervivencias en una obserbación y la siguiente),  $q[x]$  y  $q'[x]$  se pueden calcular haciendo  $h = a[x]$ , de donde, a partir de la ecuación d.1, queda

$$(ec. d.3;II) \quad q[x] = \frac{l[x] - l[\text{suc}(x)]}{l[x] \cdot a[x]} \quad ,$$

y a partir de la ecuación d.2

$$(ec. d.4;III) \quad q'[x] = \frac{\ln(l[x]) - \ln(l[\text{suc}(x)])}{a[x]} \quad .$$

El número medio de supervivientes entre dos observaciones será

$$(ec. d.5) \quad s[x] = \frac{1}{a[x]} \int_0^{a[x]} l[x+h] \cdot dh \quad .$$

Sustituyendo en esta ecuación  $l[x+h]$ , según las expresiones d.1 y d.2, quedan

$$(ec. d.6;II) \quad s[x] = \frac{1}{a[x]} \int_0^{a[x]} l[x] \cdot (1 - h \cdot q[x]) \cdot dh \quad ,$$

$$(ec. d.7;III) \quad s[x] = \frac{1}{a[x]} \int_0^{a[x]} l[x] \cdot \exp(-h \cdot q'[x]) \cdot dh \quad ;$$



y resolviendo las integrales de ambas expresiones:

$$(ec. d.8; II) \quad s[x] = l[x] \left[ 1 - \frac{a[x] \cdot q[x]}{2} \right] = \frac{l[x] + l[suc(x)]}{2} ,$$

$$(ec. d.9; III) \quad s[x] = \frac{l[x] \cdot (1 - \exp(-a[x] \cdot q'[x]))}{q'[x] \cdot a[x]} .$$

El número de nacimientos por hembra en un intervalo cualquiera entre observaciones se deduce de la expresión:

$$n[x] = \int_0^{a[x]} m[x+h] \cdot l[x+h] \cdot dh ,$$

que, asumiendo la constancia de la tasa de fecundidad para el intervalo da:

$$(ec. d.10) \quad n[x] = m[x] \int_0^{a[x]} l[x+h] \cdot dh ;$$

el término a integrar vale  $a[x] \cdot s[x]$  (ecuación d.5), por lo que la ecuación anterior queda

$$(ec. d.11) \quad m[x] = \frac{n[x]}{s[x]} ,$$

que, según como se calcule  $s[x]$  (ecuaciones d.6 y d.7 respectivamente), sirve para los modelos II y III.

La esperanza de vida a la edad exacta  $x$  es

$$(ec. d.12) \quad e[x] = \frac{1}{l[x]} \int_x^{\infty} l[h] \cdot dh .$$

La integral contenida en esta expresión se puede transformar en una suma de integrales, quedando

$$(ec. d.13) \quad e[x] = \frac{1}{l[x]} \left[ \sum_{[i \geq x]} \int_0^{a[i]} l[i+h] \cdot dh \right] .$$

Las integrales contenidas en el sumatorio valen  $a[i] \cdot s[i]$  (véase la ecuación d.5), quedando

$$(ec. d.14) \quad e[x] = \frac{1}{l[x]} \left[ \sum_{[i \geq x]} a[i] \cdot s[i] \right] ,$$

que sirve para los modelos II y III, según cómo se realice el cálculo de  $s[i]$ .

El tiempo de generación de la cohorte viene dado por la expresión

$$(ec. d.15) \quad G_c = \frac{\int_0^{\infty} h \cdot m[h] \cdot l[h] \cdot dh}{\int_0^{\infty} m[h] \cdot l[h] \cdot dh} .$$

Asumiendo que  $m[h]$  es constante entre observaciones y que vale  $m[x]$  desde  $x$  hasta  $suc(x)$ , la expresión anterior queda como sigue

$$(ec. d.16) \quad G_c = \frac{\sum_{[x]} \int_0^{a[x]} (x+h) \cdot m[x] \cdot l[x+h] \cdot dh}{\sum_{[x]} \int_0^{a[x]} m[x] \cdot l[x+h] \cdot dh} .$$

Utilizando la ecuación d.10 se obtiene

$$(ec. d.17) \quad G_c = \frac{\sum_{[x]} m[x] \int_0^{a[x]} (x+h) \cdot l[x+h] \cdot dh}{\sum_{[x]} n[x]}$$

y, sustituyendo en el numerador  $l[x+h]$  según la ecuación d.1, será

$$(ec. d.18; II) \quad G_c = \frac{\sum_{[x]} m[x] \int_0^{a[x]} (x+h) \cdot (l[x] - h \cdot q[x] \cdot l[x]) \cdot dh}{\sum_{[x]} n[x]}$$

o, alternativamente, utilizando la ecuación d.2,

$$(ec. d.19; III) \quad G_c = \frac{\sum_{[x]} m[x] \int_0^{a[x]} (x+h) \cdot l[x] \cdot \exp(-q'[x] \cdot h) \cdot dh}{\sum_{[x]} n[x]}$$

Resolviendo las integrales, se obtienen las expresiones correspondientes a ambos modelos, las cuales se indican en la tabla 6.5

La expresión que permite el cálculo de  $r$  es

$$(ec. d.20) \quad 1 = \int_0^{\infty} \exp(-r \cdot h) \cdot l[h] \cdot m[h] \cdot dh$$

cuya expresión integral puede ser transformada en una suma de integrales, asumiendo la constancia de  $m[h]$  entre observaciones

$$(ec. d.21) \quad 1 = \sum_{[x]} m[x] \int_0^{a[x]} \exp(-r \cdot (x+h)) \cdot l[x+h] \cdot dh \quad ,$$

donde  $l[x+h]$  puede tomar los valores de las ecuaciones d.1 y d.2, dando

$$(ec. d.22; II) \quad 1 = \sum_{[x]} m[x] \int_0^{a[x]} \exp(-r \cdot (x+h)) \cdot (l[x] - h \cdot q[x] \cdot l[x]) \cdot dh$$

y, alternativamente,

$$(ec. d.23; III) \quad 1 = \sum_{[x]} m[x] \int_0^{a[x]} \exp(-r \cdot (x+h)) \cdot l[x] \cdot \exp(-q'[x] \cdot h) \cdot dh \quad .$$

Estas dos ecuaciones generan las correspondientes de la tabla 6.6, cuando se resuelven las integrales.

El valor reproductivo de una edad  $x$  es

$$(ec. d.24) \quad v[x] = \int_x^{\infty} \exp(-r \cdot h) \cdot l[h] \cdot m[h] \cdot dh \quad ,$$

expresión que puede ser convertida, igualmente que se ha hecho con la ecuación d.21, en

$$(ec. d.25; II) \quad v[x] = \sum_{[i \geq x]} m[i] \int_0^{a[i]} \exp(-r \cdot (i+h)) \cdot (l[i] - h \cdot q[i] \cdot l[i]) \cdot dh$$

o en

$$(ec. d.26;III) \quad v[x] = \sum_{[i \geq x]} m[i] \int_0^{a[i]} \exp(-r \cdot (i+h)) \cdot l[i] \cdot \exp(-q' [i] \cdot h) \cdot dh,$$

cuyas expresiones ya integradas están en la tabla 6.6.

El cálculo del valor reproductivo residual se resuelve a partir de su definición continua, de forma similar a como se ha hecho con  $v[x]$ :

$$(ec. d.27) \quad vr[x] = \frac{l[x]}{l[suc(x)]} \exp(-r \cdot a[x]) \cdot v[suc(x)] \quad .$$



## **E. DATOS CORRESPONDIENTES A LAS TABLAS DE VIDA (CAPÍTULO 6)**

Datos primitivos de fecundidad y supervivencia correspondientes al Capítulo 6. Los valores numéricos indican el número de descendientes observados en el día correspondiente. Cada hembra se observó muerta el último día en que se reseña un valor numérico o símbolo (+, x, \*) indicativo de descendencia. La descendencia es de machos cuando la hembra es mítica.

- T: temperatura.
- S: salinidad.
- H: tipo de hembra.
- a: hembra amítica.
- m: hembra mítica.
- i: hembra sin tipo de reproducción determinado.
- D: día.
- +: deposición de un huevo de resistencia.
- x: hembra que al morir llevaba en su interior un huevo de resistencia.
- \*: conjunción de las dos observaciones anteriores.





























Tabla e.14. Ceba SPO; T: 25°C; S: 12 g/l.

H	a	m	m	a	m	m	a	a	m	m	m	a	a	a	i	m	a	m	a	a	a	m	m	m	a	m	m	a	m	a	m	m	a	m	m	i													
D:																																																	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												
2	3	3	3	3	3	5	0	2	2	5	5	4	2	2	3	3	0	3	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0											
3	0	3	8	9	6	8	0	3	5	8	8	8	8	9	6	7	x	5	6	0	10	0	10	10	7	9	0	9	8	7	0	0	0	0	6	11	6	6	6	9	1	8	9	2	8	8	7	0	
4	-	6	7	7	5	8	0	4	5	1	7	7	-	7	5	6	-	3	5	0	9	4	6	8	4	1	0	7	7	7	0	0	0	0	0	-	5	7	4	4	0	5	6	2	5	7	4	0	
5	-	2	0	1	0	2	0	1	2	0	2	0	-	1	4	3	-	3	4	-	4	5	1	2	4	0	1	2	1	1	0	-	0	0	-	-	3	3	1	3	-	3	0	0	3	0	0	0	
6	-	0	1	0	0	0	3	0	1	0	1	-	-	3	2	2	-	0	1	-	0	3	0	0	2	0	3	0	0	0	0	-	x	0	-	-	1	0	-	0	-	0	0	0	1	0	0	-	
7	-	0	-	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	0	0	-	0	4	0	0	0	0	0	0	-	7	-	0	0	x	-	-	x	-	-	0	0	-	-	0	-	0	0	0	0	-		
8	-	-	-	-	-	-	x	-	-	-	0	-	-	0	-	0	-	0	2	-	0	-	0	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	-	0	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla e.15. Ceba SPO; T: 25°C; S: 24 g/l.

H	a	a	a	a	a	i	a	a	m	a	a	a	i	a	a	a	a	i	m	m	a	a	i	i	i	a	a	a	a	i	a	a	a	a	a	a	i	a	a	a	a	a	m	m	a						
D:																																																			
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	3	3	0	4	1	1	-	3	4	2	3	4	4	0	2	4	2	2	0	2	3	1	0	2	3	2	0	-	-	3	3	3	1	2	-	3	3	3	3	2	1	0	3	3	2	3	1	2	1	3	3
4	5	0	4	2	3	-	3	4	3	4	5	6	-	3	5	4	4	-	-	5	-	0	4	5	4	0	-	-	3	4	4	3	0	-	4	4	3	3	3	-	-	2	3	4	3	4	5	3	4	3	
5	2	0	3	1	4	-	3	3	5	4	3	3	-	2	4	2	3	-	-	5	-	0	3	4	3	-	-	-	1	1	2	1	-	-	4	3	0	4	2	-	-	3	2	3	2	3	2	3	3	3	
6	2	0	1	1	3	-	1	4	3	4	3	2	-	2	3	3	3	-	-	4	-	-	1	0	2	-	-	-	0	0	2	0	-	-	3	2	0	2	0	-	-	1	0	1	3	1	-	0	2	4	
7	-	1	0	0	3	-	0	3	0	3	1	-	-	2	0	2	-	-	-	2	-	-	0	-	3	-	-	-	-	1	-	-	-	4	2	0	2	-	-	-	2	-	0	2	0	-	-	0	3		
8	-	2	-	-	4	-	0	4	-	2	2	-	-	2	-	-	-	-	-	0	-	-	0	-	2	-	-	-	-	1	-	-	-	4	3	0	3	-	-	-	3	-	0	3	1	-	-	0	1		
9	-	2	-	-	3	-	-	1	-	0	0	-	-	0	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	2	-	0	-	-	-	0	-	-	2	0	-	-	0	-		
10	-	1	-	-	2	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	1	1	-	0	-	-	-	-	1	1	-	-	-	
11	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	
12	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-

























## FE DE ERRATAS

<i>Página:</i>	<i>donde dice:</i>	<i>debe decir:</i>
X	Karmen Rojo Morato	Karmen Rojo García-Morato
6	Chotiyuputta y Hirayama	Chotiyaputta y Hirayama
6	Hino y Hirata	Hino y Hirano
31(Título)	Distribución	Distribución
51	Fukuso	Fukusho
88 (línea 22)	inversa	directa

### *Además*

En la página VI (pie de la lámina de la derecha), falta dar crédito a *The British Library* por la cesión de la fotografía.

En todo el texto y la bibliografía, donde aparece "Yúfera, 1982", debería aparecer "Yúfera, 1982a", y donde aparece "Yúfera, 1983", debería aparecer "Yúfera, 1982b".



Reunido el Tribunal que suscribe, en el día de la fecha,  
ordó otorgar, por unanimidad, a esta Tesis doctoral de

D. Manuel Serra Galindo

calificación de APTO "Cum laude"

Valencia, a 5 de Octubre de 1987

El Secretario,

El Presidente

