

REVISTA

DE LA

FACULTAD DE CIENCIAS



INTRODUCCION

# UNIVERSIDAD DE OVIEDO

## INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

Los manuscritos, que serán trabajos originales no publicados, se envían en un ejemplar, se envían por duplicado, en un ejemplar en papel tamaño DINA-4, por una sola cara y con márgenes de 25 mm. (superior e inferior) de 10 hojas para el texto y 15 hojas en total (incluyendo dibujos, etc.) No se admiten trabajos con lenguaje coloquial o con alguna ilustración en color cuyo importe sea inferior a los 100.000 ptas.

### PRESENTACION

En la primera página se indica el título del trabajo, nombre y apellido del autor, Departamento, etc. en que se ha realizado el trabajo y título de grado.

Los trabajos estarán divididos en capítulos o en subcapítulos sucesivos. Resumir los artículos de 2 a 4 años, de 5 a 10 años, de 11 a 20 años, de 21 a 30 años, de 31 a 40 años, de 41 a 50 años, de 51 a 60 años, de 61 a 70 años, de 71 a 80 años, de 81 a 90 años, de 91 a 100 años. Materias: Matemáticas, Física, Química, Biología, Geología, Historia, Filosofía, Medicina, Veterinaria, Derecho, Economía, Sociología, Psicología, Pedagogía, Idiomas, Artes, etc. No se admiten trabajos de carácter científico que no estén basados en datos experimentales o en datos estadísticos.

Los trabajos se envían en un ejemplar con los originales y una copia en microfilm o en cinta magnética. Los trabajos deben ser originales, en un solo ejemplar, en un solo idioma, en un solo formato. Los trabajos deben ser originales y con un ejemplar en un solo idioma.

Los trabajos se envían en un ejemplar con los originales y una copia en microfilm o en cinta magnética. Los trabajos deben ser originales, en un solo ejemplar, en un solo idioma, en un solo formato. Los trabajos deben ser originales y con un ejemplar en un solo idioma.



El autor se responsabiliza de la veracidad de los datos que aparecen en el artículo, así como de la originalidad del mismo y de no haberlo publicado en otro lugar.

Depósito legal: O. 45 - 1958

ISSN-0473-6303

Edita:  
Servicio de Publicaciones U. de O.  
Jesús Arias de Velasco, s/n  
OVIEDO

Imprime:  
Gráficas Summa, S. A.  
Polígono Industrial de Silvota  
OVIEDO

## HERENCIA MATERNA DE ALTERACIONES ESTRUCTURALES DE LAS QUETAS EN *Drosophila simulans*

Por

MIGUEL A. COMENDADOR

Departamento Interfacultativo de Genética  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

En una cepa de *D. simulans* se detectó una alteración de las macroquetas dorsocentrales y escutelares con transmisión por vía materna. Este trabajo aporta nuevos datos sobre dicho carácter. Como propiedades más destacables de este carácter cabe destacar: *I* existe una fuerte respuesta a la selección, *II* las quetas dorsocentrales y escutelares en localizaciones atípicas también son susceptibles de sufrir modificación de la estructura, *III* existe una fuerte tendencia a que las quetas con la estructura alterada se localice en un mismo lado del cuerpo, *IV* individuos procedentes de líneas con fenotipo normal pueden adquirir el fenotipo mencionado mediante infección.

Se formula una hipótesis que podría explicar gran parte de las propiedades conocidas de este carácter.

### SUMMARY

An alteration of the structure of the dorsocentral and scutellar bristles with maternal transmission, was detected in a *D. simulans* line. This paper contributes new data about this alteration. As the most outstanding properties of this character we emphasize: *i* there is a strong response to the selection, *ii* the dorsocentral and scutellar bristles in atypic locations are also capable of experiencing modification of the structure, *iii* there is a strong tendency for the bristles with the altered structure to locate themselves on the same side of the body, *iv* individuals proceeding from lines with wildtype phenotype can acquire the aforementioned alteration by infection.

We formulate an hypothesis that could explain a great part of the known properties of this character.

### INTRODUCCION

Las especies del género *Drosophila*, por haber sido ampliamente utilizadas en la investigación genética, son generalmente muy bien conocidas en lo que se refiere a la transmisión de caracteres monogénicos así como al comportamiento de diferentes caracteres bajo control poligénico. Sin embargo, son pocos los casos

conocidos de caracteres transmitidos por vía materna y la mayor parte de ellos son debidos a la presencia de virus (BRUN y PLUS, 1980) o bacterias (DANIELS *et al.*, 1977; OTHA *et al.*, 1979). En otros casos la naturaleza del factor responsable permanece aún desconocida (BUCHETON y PICARD, 1978).

En lo que se refiere a las quetas, se han descrito varias decenas de genes sencillos que afectan al número o estructura de las mismas (LINSLEY y GRELL, 1968). También se conoce la respuesta a la selección de sistemas poligénicos que controlan el número de quetas localizadas sobre diferentes zonas del cuerpo, pero sólo se conoce un caso de alteración del número y estructura de las quetas, transmitida por vía materna (COMENDADOR, 1980).

El caso mencionado ha sido descrito en una línea de *D. simulans*, en la cual se presentan individuos con un fenotipo que ha sido denominado S, consistente en alteraciones en la estructura de las macroquetas, de tal manera que se pueden encontrar en las zonas dorsocentral y/o escutelar desde ausencia total de las quetas, incluido el anillo basal, hasta quetas de tamaño normal pero deformes. El número de quetas con la estructura alterada es variable, pudiendo encontrarse desde individuos con todas las quetas (dorsocentrales y escutelares) con la estructura alterada, hasta individuos con las ocho quetas normales.

Aunque fundamentalmente sólo están afectadas las quetas dorsocentrales y escutelares, también es posible que esta alteración se extienda a macroquetas de otras localizaciones torácicas, principalmente las postalaras.

En el presente trabajo se aportan nuevos datos para el conocimiento de este tipo de alteración estructural de las macroquetas y se formula una primera hipótesis explicativa del fenómeno.

## MATERIAL Y METODOS

La cepa que manifiesta el fenotipo S ha sido denominada *sim S* y fue establecida a partir de una hembra procedente de una población de *D. simulans* capturada en las islas Azores.

Esta cepa ha sido mantenida a 18°C en un medio de cultivo a base de levadura de pan muerta y azúcar. Todos los experimentos se han realizado en estas mismas condiciones.

### *Experimentos de selección*

Se efectuó selección intrafamiliar para aumento del número total de quetas dorsocentrales y escutelares de fenotipo S. El número de familias utilizadas fue 30 y la intensidad de selección variable. Aun cuando el carácter se transmite sólo a través de las hembras, la selección se llevó a cabo en los dos sexos.

Se realizaron tres generaciones de selección y los cruzamientos fueron controlados para evitar un aumento de la endogamia.



## Cruzamientos con la línea *sim E*

A fin de determinar si la alteración de la estructura de las quetas es un fenómeno que afecta únicamente a la queta como tal o por el contrario, es debido a la posición localizada en que normalmente se encuentra cada queta, se cruzaron hembras de la línea *sim S* con machos procedentes de una línea seleccionada para aumento del número total de quetas dorsocentrales y escutelares (*sim E*). Esta línea fue iniciada a partir de individuos de una población asturiana y por tanto sin relación con la población que dio origen a la línea *sim S*.

De la descendencia de estos cruzamientos se seleccionaron hembras que presentaban fenotipo *S*, las cuales fueron retrocruzadas con machos de la línea *sim E*. En la generación siguiente, pudieron ser seleccionadas hembras que presentaban simultáneamente fenotipo *S* y quetas extra, las cuales fueron de nuevo retrocruzadas. De acuerdo con este último criterio se efectuaron seis generaciones de retrocruzamiento.

## Infección artificial

Se tomaron 50 individuos (la mitad de cada sexo) de fenotipo *S*, los cuales fueron homogeneizados en 3 ml de solución de Ringer. En tres placas de 10 mm de diámetro y con alimento fresco, se hizo una extensión de 1 ml del homogeneizado. En cada una de estas placas se sembraron 100 huevos de 6-10 horas de edad.

## RESULTADOS

### Selección

En la figura 1 se muestran las distribuciones del número de quetas con fenotipo *S*, considerando conjuntamente las dorsocentrales y escutelares, en la población base ( $G_0$ ) y en las tres generaciones de selección (de  $G_1$  a  $G_3$ ). En la gráfica correspondiente a  $G_0$ , se puede apreciar una característica notable del carácter *S*: su dimorfismo sexual. Hay una mayor frecuencia de machos con este fenotipo (45,12 %) que de hembras (30,20 %) y el número medio de quetas anormales por mosca afectada es significativamente mayor en machos ( $2,32 \pm 0,06$ ) que en hembras ( $1,66 \pm 0,07$ ).

Esta situación es diferente de la encontrada en otras muchas líneas de *Drosophila* que presentan un fenotipo que afecta a las macroquetas, en las que tanto la penetración como la expresividad son mayores en hembras que en machos (FRASER, 1963; GIBSON, 1968 y RUBIO, 1970).

En las tres generaciones de selección llevadas a cabo, se obtiene una fuerte respuesta y la distribución del número de quetas con fenotipo *S* se desplaza

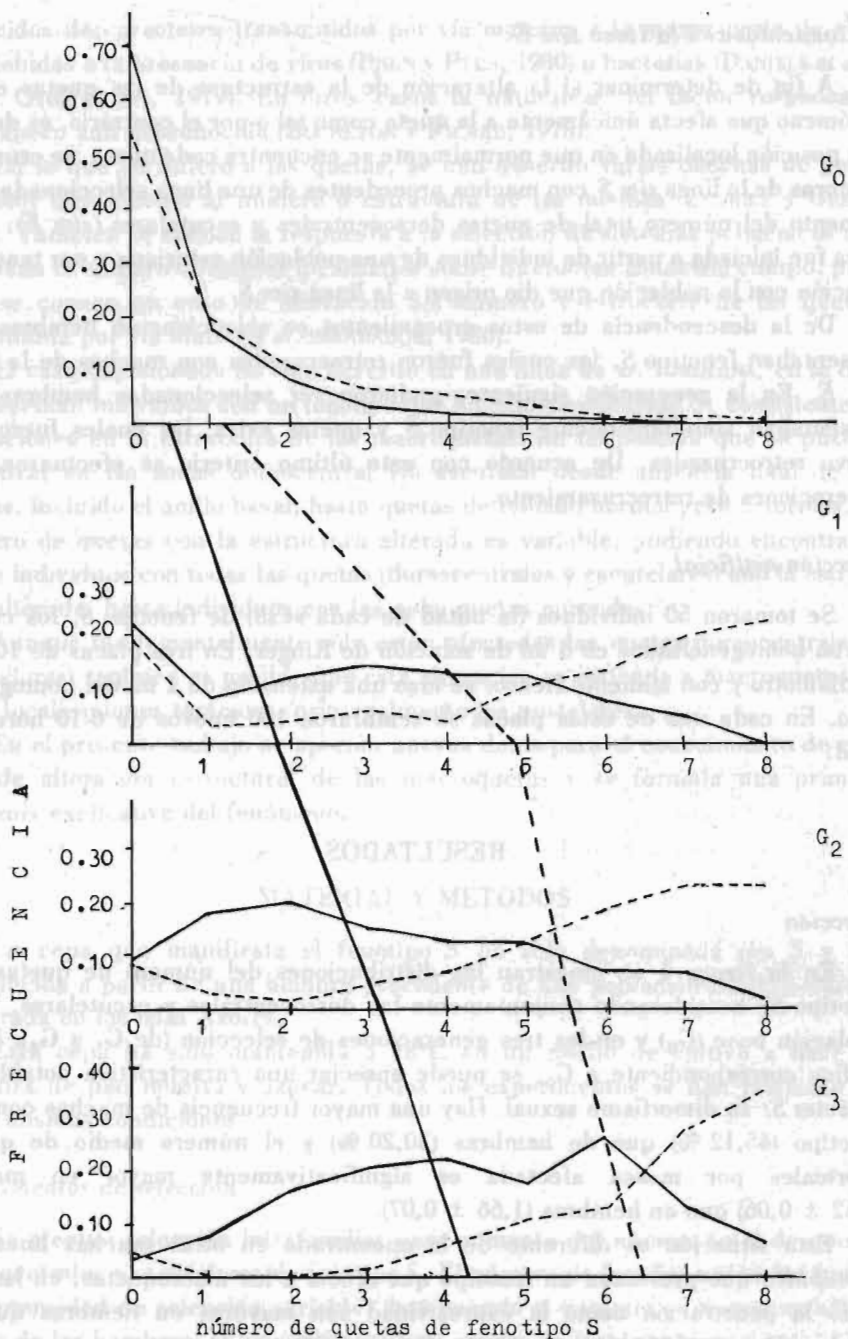


Fig. 1.—Distribución del número de quetas (dorsocentrales + escutelares) con fenotipo S (trazo fino) y variación del número medio de quetas de fenotipo S (trazo grueso) en la población base ( $G_0$ ) y en las tres generaciones de selección ( $G_1$ - $G_3$ ). Hembras — machos - - - -.

rápida hacia la derecha. El número medio de quetas *S* por individuo se incrementa significativamente tanto en hembras como en machos, si bien este incremento es mucho más fuerte en machos (de  $1,04 \pm 0,08$  en  $G_0$  pasa a  $6,50 \pm 0,19$  en  $G_3$ ) que en hembras (de  $0,50 \pm 0,05$  en  $G_0$  a  $5,35 \pm 0,20$  en  $G_3$ ). Así pues, como consecuencia del aumento del número total de quetas con fenotipo *S*, el dimorfismo sexual comentado antes, se hace mucho más patente.

### Cruzamientos con la línea *sim E*

En la tabla I se muestran los resultados de los cruzamientos de hembras de fenotipo *S* con machos de la línea *sim E*.

En la primera columna se da el número medio de quetas de fenotipo normal. Como se puede apreciar, hay un descenso significativo en el número de estas quetas o, lo que es lo mismo, un incremento en el número medio de quetas de fenotipo *S*. Este hecho es debido a que, por la metodología seguida, se hizo inevitable llevar a cabo una selección involuntaria para aumentar el número de quetas de fenotipo *S*; en el apartado anterior se mostró la alta eficacia de la selección y por tanto el descenso observado en el número de quetas normales por individuo cabe dentro de lo esperado.

Por otra parte, los retrocruzamientos de las hembras *S* con machos *E*, han mostrado ser eficaces para introducir en la línea *S*, genes responsables del aumento del número de quetas; en efecto, en la segunda columna de la tabla I se da el número medio de quetas extra en cada una de las generaciones y se puede

TABLA I  
Variación del número medio de quetas normales, número medio de quetas extra y número medio de quetas extras alteradas y sus errores típicos (E.T.), con las generaciones de retrocruzamiento

	Número medio quetas normales $\pm$ E.T.		Número medio quetas extra $\pm$ E.T.		Número medio quetas extra alteradas $\pm$ E.T.	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
$B_0$	$7,50 \pm 0,05$	$6,95 \pm 0,08$	-	-	-	-
$B_1$	$7,44 \pm 0,05$	$7,00 \pm 0,06$	$0,30 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,04$	-
$B_2$	$7,47 \pm 0,13$	$6,26 \pm 0,17$	$1,28 \pm 0,06$	$0,67 \pm 0,05$	$0,11 \pm 0,09$	$0,12 \pm 0,08$
$B_3$	$6,41 \pm 0,19$	$4,02 \pm 0,21$	$1,53 \pm 0,08$	$1,04 \pm 0,06$	$0,17 \pm 0,09$	$0,38 \pm 0,10$
$B_4$	$5,54 \pm 0,19$	$2,53 \pm 0,18$	$1,78 \pm 0,10$	$0,93 \pm 0,05$	$0,43 \pm 0,11$	$0,56 \pm 0,11$
$B_5$	$6,92 \pm 0,15$	$3,48 \pm 0,16$	$2,26 \pm 0,07$	$1,65 \pm 0,05$	$0,44 \pm 0,10$	$1,03 \pm 0,13$
$B_6$	$6,85 \pm 0,19$	$4,42 \pm 0,22$	$2,39 \pm 0,09$	$2,00 \pm 0,08$	$0,45 \pm 0,10$	$1,02 \pm 0,14$

apreciar un incremento significativo del número de quetas extra. Este incremento es mayor en hembras que en machos, tal y como se espera que ocurra de acuerdo con lo que se conoce en otras líneas de *Drosophila* (GIBSON, 1970 y RUBIO, 1970) y en la propia línea *sim E* (COMENDADOR, datos no publicados).

Se han considerado como quetas extra todas aquéllas cuya localización es diferente de las posiciones normales, pero puesto que en moscas de fenotipo *S* puede no quedar rastro de quetas, incluso en posiciones normales, es factible que algunas «posibles» quetas extra no puedan ser detectadas.

En la última columna de la tabla se refleja el número medio de quetas extra que tienen alterada su estructura, pero es posible que, por la razón señalada en el párrafo anterior, este número sea mayor.

El número medio de quetas extra que presentan fenotipo *S* aumenta con el número de generaciones de retrocruzamiento, y ello por dos razones: por una parte porque el número de quetas extra que pueden tener modificada su estructura aumenta con las generaciones de retrocruzamiento y por otra parte porque, como se señaló más arriba, también aumenta la probabilidad de que una queta presente fenotipo *S* por efecto de la selección ya mencionada.

Las quetas extra, tanto las escutelares como las dorsocentrales, tienden a localizarse sobre la línea que une las quetas anteriores con las posteriores y tanto en las proximidades de las posiciones normales como intersticialmente (WADDINGTON, 1973). En nuestros experimentos de introducción de quetas extra en la línea *sim S* se han podido encontrar quetas extra de fenotipo *S* en todas las localizaciones posibles. Así pues, el fenotipo *S* parece afectar a cualquier queta, normal o extra, con independencia de su localización concreta.

### Asimetría

Desde un principio se pudo apreciar que cuando sobre un mismo individuo existían dos o más quetas de fenotipo *S*, había una cierta tendencia a que éstas estuviesen localizadas en un mismo lado del cuerpo (COMENDADOR, 1980).

Para tratar de esclarecer esta idea se han analizado los individuos que presentan dos quetas de fenotipo *S*, tanto si eran dorsocentrales como escutelares, independientemente una zona de la otra. La razón por la cual se eligieron estos individuos es que son los únicos que permiten afrontar el problema: si el número de quetas de fenotipo *S* fuera impar (una o tres) independientemente de cuál sea la tendencia en su localización, necesariamente debe haber un número de quetas normales (o de fenotipo *S*) diferente a cada lado del cuerpo, debido a la simetría natural de cada individuo.

En la figura 2 se dan los seis fenotipos posibles en individuos con dos quetas de fenotipo *S*. En dicha figura, un cuadrado representa el mesonoto o el escutelo, y un círculo cada queta de fenotipo *S*. Los seis fenotipos aludidos son: *a*, dos quetas *S* posteriores; *b*, dos quetas *S* anteriores; *c*, dos quetas *S* en el lado izquierdo; *d*, dos quetas *S* en el lado derecho; *e*, una queta *S* posterior-izquierda y otra anterior-derecha; *f*, una queta *S* posterior-derecha y otra anterior-izquierda.

Si la distribución de las dos quetas fuese aleatoria sobre la superficie de cada zona (escutelo o mesonoto), es decir, si no hubiera una tendencia a la localización

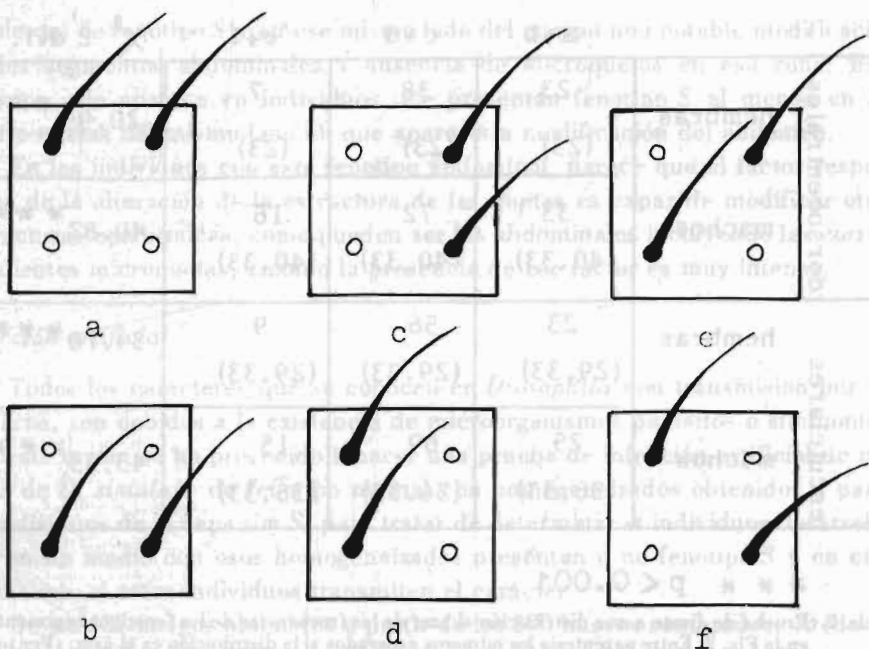


Fig. 2.-Fenotipos diferentes que pueden existir cuando hay dos quetas (dorsocentrales o escutelares) de fenotipos S. (Ver texto).

preferente en una zona determinada, la probabilidad de cada uno de los seis fenotipos es  $1:6 = 16,66\%$ .

En la tabla II se somete a una prueba de  $\chi^2$  si existe o no ajuste entre los datos observados y los esperados en la hipótesis enunciada de distribución al azar. Puesto que bajo el punto de vista de la simetría del individuo, los fenotipos *a* y *b*, *c* y *d*, *e* y *f* son equivalentes entre sí, en la tabla han sido agrupados.

De la tabla II se deduce que cuando sobre un mismo individuo existen dos quetas de fenotipo S, en el mesonoto o en el escutelo, tienen una tendencia altamente significativa a localizarse en un mismo lado del cuerpo. Esta tendencia es mucho más acusada en los machos que en las hembras y probablemente esto es debido al hecho ya mencionado de la mayor probabilidad de presencia de quetas de fenotipo S en los machos.

Habría sido interesante tratar simultáneamente las zonas dorsocentral y escutelar; sin embargo no ha sido posible dada la baja frecuencia con que se encuentran los individuos apropiados y la baja probabilidad con que se espera que aparezcan cada una de las diferentes clases fenotípicas.

Hay que destacar la existencia, en una proporción llamativa, de individuos con el fenotipo representado en la figura 3. Estos individuos se caracterizan por tener todas las quetas (dorsocentrales y escutelares) de un mismo lado (derecho o

	a+b	c+d	e+f	$\chi^2$ 2 d.f.
dorsocentrales	23 (23)	38 (23)	7 (23)	20.95 ***
	33 (40.33)	72 (40.33)	16 (40.33)	40.87 ***
escutulares	23 (29.33)	56 (29.33)	9 (29.33)	39.70 ***
	25 (36.33)	69 (36.33)	15 (36.33)	45.33 ***

\*\*\*  $p < 0.001$

Tabla 2.—Prueba de ajuste a una distribución al azar de las frecuencias de los fenotipos representados en la Fig. 2. Entre paréntesis los números esperados si la distribución es al azar. (Ver texto).

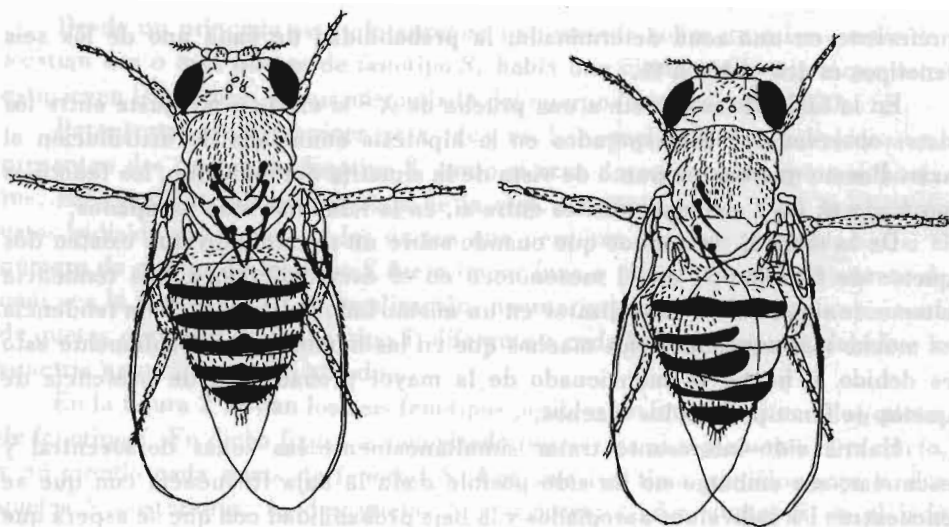


Fig. 3.—Izquierda: hembra de fenotipo normal. Derecha: hembra de fenotipo S con los segmentos abdominales deformados, ausencia y/o alteración de las macroquetas dorsocentrales y escutulares y ausencia de microquetas en la zona deformada del abdomen.



izquierdo) de fenotipo S y en ese mismo lado del cuerpo una notable modificación de los segmentos abdominales y ausencia de microquetas en esa zona. Este fenotipo sólo aparece en individuos que presentan fenotipo S al menos en las cuatro quetas del mismo lado en que aparece la modificación del abdomen.

En los individuos con este fenotipo abdominal, parece que el factor responsable de la alteración de la estructura de las quetas es capaz de modificar otras estructuras epidérmicas, como pueden ser las abdominales incluyendo las correspondientes microquetas, cuando la presencia de ese factor es muy intensa.

### *Infección artificial*

Todos los caracteres que se conocen en *Drosophila* con transmisión por vía materna, son debidos a la existencia de microorganismos parásitos o simbiotes. Por esta razón, se ha procedido a hacer una prueba de infección artificial de una línea de *D. simulans* de fenotipo normal con homogeneizados obtenidos a partir de individuos de la cepa *sim S*, para tratar de determinar si individuos desarrollados en un medio con esos homogeneizados presentan o no fenotipo S y en caso afirmativo, si estos individuos transmiten el carácter.

De los 187 imagos obtenidos a partir de los 300 huevos sembrados, 40 (de los que 25 eran machos y 15 hembras) mostraron un fenotipo S. La baja frecuencia (21,39 %) obtenida de individuos de fenotipo S puede deberse a la aleatoriedad del método experimental utilizado. Al obtener las descendencias de las 15 hembras, no se detectaron individuos de fenotipo S.

Este experimento fue repetido tres veces y en todas los resultados fueron similares.

## DISCUSION

Los caracteres conocidos en *Drosophila* que se tramiten por vía materna, son debidos, en su mayor parte, a la presencia de organismos parásitos o simbiotes que son transmitidos por el citoplasma materno y sólo ocasionalmente, y con una frecuencia muy baja, a través de los machos; además, en un cierto número de casos, es posible la transmisión por contagio, tanto a partir de las hembras como de los machos.

El tipo de herencia que presenta el carácter S en *D. simulans* es típico de la herencia materna, puesto que nunca se transmite por vía paterna y prácticamente sólo los hijos de hembras de fenotipo S heredan este fenotipo. No obstante, existe una pequeña proporción (7 %) de hembras de fenotipo normal, hijas de hembras de fenotipo S, que producen descendencia en la que se encuentran individuos que son también de fenotipo S (COMENDADOR, 1980).

Por otra parte, de los resultados obtenidos en los experimentos de infección artificial, parece mostrarse evidencia de que el carácter en cuestión está contro-



lado, al menos en parte, por un factor con propiedades infecciosas, a pesar de que no haya sido posible la transmisión del carácter *S* a la descendencia de los individuos que adquieren este carácter por infección artificial.

De hecho, en la cepa *sim S* se han podido aislar dos microorganismos. Por una parte, un picornavirus que ha sido caracterizado como DCV (virus C de *Drosophila*; JOUSSET *et al.*, 1972) y por otra, el microsporidio *Nosema kingi* (KRAMER, 1964), el cual no estaba citado aún como parásito de *Drosophila* más que en *D. willistoni*.

En el momento presente no se ha podido probar, ni descartar, que ninguno de estos dos microorganismos sea responsable del carácter *S*.

Teniendo en cuenta todas las propiedades conocidas del carácter *S*, se puede aceptar que dicho carácter está controlado por un factor citoplásmico; este factor podría ser, dadas sus propiedades infecciosas, un parásito o simbiote de *D. simulans*, de una forma similar a otros casos descritos por diferentes autores como responsables de diferentes caracteres. Además, muchos de los hechos aquí descritos podrían ser explicados si se acepta la hipótesis de que dicho factor presenta cierta variabilidad en su velocidad de división y su velocidad de división media es menor que la velocidad de división celular media de la cepa de *D. simulans* estudiada, de tal manera que no todas las células procedentes de una portadora del factor, sean portadoras del mismo.

Así por ejemplo, la alta respuesta a la selección obtenida podría explicarse si se admite que los individuos con el mayor número de quetas de fenotipo *S* son aquéllos en que existe un mayor número de células con presencia de este factor. Obviamente, esto podría ocurrir si hubieran sido seleccionadas las moscas con una menor velocidad de división celular, pero si así fuera, la duración del desarrollo total habría aumentado con las generaciones de selección; sin embargo no se ha observado un alargamiento del tiempo total de desarrollo y tampoco que los individuos con mayor número de quetas de fenotipo *S* sean los últimos en emerger. Otra alternativa más verosímil sería que los individuos seleccionados fuesen portadores de los factores que poseen una mayor velocidad de reproducción. Cabe pensar que esta mayor velocidad de reproducción del factor no sea una propiedad intrínseca suya, sino una consecuencia de la interacción del factor y la célula en la que se encuentra; es decir, la velocidad de división del factor está condicionada por la fisiología de la mosca sobre la cual se encuentra, de manera que se seleccionan aquellos individuos en los que la velocidad de reproducción del factor es mayor.

También podría explicarse la tendencia observada a la asimetría. Embriológicamente, cada mitad del notum procede de un disco imaginal alar (ver BRYANT, 1978). Cada disco alar procede de un primordio larval constituido por un número pequeño de células (MADHAVAN y SCHNEIDER-MAN, 1977) y los dos se independizan desde un estadio temprano del desarrollo, de tal manera que las células que se

encuentran en un lado del cuerpo están, bajo el punto de vista de su origen embiológico, más estrechamente relacionadas que las de un lado con las del otro. Puesto que las células que dan origen a las quetas dorsocentrales y escutelares de un mismo lado del cuerpo están separadas entre sí por un número menor de divisiones celulares que las que separan a las de un lado de las del otro, la probabilidad de que en un mismo lado del cuerpo se encuentren células portadoras del factor responsable del fenotipo S es mayor que la de que existan células en ambos lados del cuerpo portadoras de dicho factor.

Es obvio que la hipótesis formulada no está apoyada más que en datos indirectos y que su confirmación precisa fundamentalmente de la caracterización del factor o factores responsables del fenotipo S.

#### AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento al Prof. J. Rubio por sus útiles sugerencias, a la Dra. N. Plus por la determinación de los parásitos de la línea *sim S* y a la Sra. A. Kühl por la ayuda técnica prestada.

#### BIBLIOGRAFIA

- BRUN, G. y N. PLUS (1980).—The viruses of *Crosophila*. En *The genetics and biology of Drosophila* (Ed. M. Ashburner y T. R. F. Wright) vol. 2d, 625-702. Academic Press. London.
- BRYANT, P. J. (1978).—Pattern formation in imaginal discs. En *The genetics and biology of Drosophila* (Ed. M. Ashburner y T. R. F. Wright) vol. 2c, 229-335. Acad. Press. London.
- BUCHETON, A. y C. PICARD (1978).—Non-mendelian female sterility in *Drosophila melanogaster*: hereditary transmission of reactivity levels. *Heredity.*, **40**: 207-223.
- COMENDADOR, M. A. (1980).—Abnormal bristles that show maternal inheritance in *Drosophila simulans*. *Dros. Infor. Serv.*, **55**: 26-28.
- DANIELS, S. B., L. EHRMAN e I. B. PERELLE (1977).—Hybrid inviability a third reproductive isolating mechanism in the *Drosophila paulistorum* species-complex. *Biol. Zbl.*, **96**: 385-406.
- FRASER, A. (1963).—Variation of scutellar bristles in *Drosophila*. I. Genetic leakage. *Genetics.*, **48**: 497-514.
- GIBSON, J. B. (1968).—Selection for the absence of scutellar bristles. *Nature.*, **217**: 188-189.
- (1970).—Effects of temperature on selection for scutellar bristles. *Heredity.*, **25**: 591-607.
- JOUSSET, F. X., N. PLUS, G. CROIZIER y M. THOMAS (1972).—Existence chez *Drosophila* de deux groupes de picornavirus de propriétés sérologiques et biologiques différentes. *C.R. Acad. Sci. Paris.*, **275**: 3.043-3.046.
- KRAMER, J. P. (1964).—*Nosema kingi* sp. n., a microsporidian from *Drosophila willistoni* Sturtevant, and its infectivity for other muscoids. *J. Insect. Path.*, **6**: 491-499.
- LINSLEY, D. L. y E. H. GRELL (1968).—Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. *Carnegie Inst. Wash. Publ.*, **627**.
- MADHAVAN, M. M. y H. A. SCHNEIDERMAN (1977).—Histological analysis of the dynamics of growth of imaginal discs and histoblast nest during larval development of *Drosophila melanogaster*. *Wilhelm Roux Arch. Entw. Mech. Org.*, **183**: 269-305.
- OTA, T., KAWABE, M., K. OISHI y D. F. POULSON (1979).—Non-male-killing spiroplasmas in *Drosophila hydei*. *J. Hered.*, **70**: 211-213.
- RUBIO, J. (1970).—*Selección estabilizadora y canalización en las quetas de Drosophila*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona.
- WADDINGTON, C. H. (1973).—The morphogenesis of patterns in *Drosophila*. En *Developmental systems: Insects*. (Ed. S. J. Counce y C. H. Waddington). Vol. 2, 499-535. Academic Press. London.

#### INTRODUCCION

La selección estabilizadora en caracteres cuantitativos, al conferir ventaja reproductiva a una fenotipo óptimo, reduce la varianzas fenotípica disminuyendo lentamente derivadas del sistema, que suele ser intermedio. En la naturaleza se

## SELECCION ESTABILIZADORA ATENDIENDO A LA LOCALIZACION DE LAS MACROQUETAS EN *Drosophila*

Por  
EVA GARCIA-VAZQUEZ

y  
JULIAN RUBIO

Departamento Interfacultativo de Genética.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se ha realizado selección estabilizadora para un fenotipo distinto del normal en nueve líneas de *Drosophila melanogaster*, utilizando tres criterios de selección. Estos criterios son idénticos en cuanto al número (dos) de macroquetas extra del fenotipo seleccionado; pero difieren en la localización de dichas quetas en el mesonoto o en el escutelo y en posición anterior o posterior. Se analiza la respuesta tanto en el aspecto numérico como en el de localización de las quetas. La efectividad de la selección estabilizadora depende del patrón de localización de las quetas en el fenotipo seleccionado. Se discuten estos resultados en relación con las hipótesis sobre la equivalencia de las posiciones anteriores y posteriores, dentro del mesonoto y del escutelo, para concluir que apoyan la hipótesis de la no equivalencia de tales posiciones.

### ABSTRACT

Results of an experiment of stabilizing selection for a phenotype other than the wild type in *Drosophila melanogaster* are reported. Nine selection lines were established using three partly different selection criteria, where both number and pattern of extra bristles are equally considered; three lines selected for two extra anterior scutellar bristles; three lines for two extra anterior dorsocentral bristles; and three lines for two extra dorsocentral bristles, one anterior and one posterior, each placed at different side of the body. Selection has been clearly effective in all six lines selected for two anterior bristles either dorsocentral or scutellar, in contrast to lines selected for one anterior and one posterior dorsocentral bristles which also show differences among them. These results show that selection success greatly depends on the bristle pattern in the selected phenotype, and are taken to support the hypothesis that the four normal bristle sites are not equivalent.

### INTRODUCCION

La selección estabilizadora en caracteres cuantitativos, al conferir ventaja reproductiva a un fenotipo óptimo, reduce la varianza fenotípica eliminando fenotipos desviados del óptimo, que suele ser intermedio. En la naturaleza se

encuentran casos de selección natural estabilizadora que mantiene en las poblaciones un único fenotipo con tal fijeza que éste llega a constituir un carácter típico y diferencial de la especie. Tal es el caso de las cuatro macroquetas dorsocentrales y las cuatro escutelares de *Drosophila* (RUBIO, 1978). Sin duda por esa intensa estabilización natural del carácter ha sido posible restaurar, por selección artificial estabilizadora, el fenotipo normal en poblaciones donde había sido modificado por la presencia de un mutante monogénico (*scute*, RENDEL y SHELDON, 1960; *rough-shaven*, RUBIO, 1966).

Por otra parte, la aparición en las poblaciones naturales, en muy baja frecuencia, de individuos con alguna macroqueta dorsocentral o escutelar de más (macroquetas extra) ha permitido repetidas veces comprobar la existencia de una variación genética subyacente bajo el fenotipo canalizado, que responde positiva y rápidamente a la selección direccional para mayor número de macroquetas (p. ej. PAYNE, 1918; FRASER, 1963...). En algunos de estos experimentos, al progresar la selección direccional, se han detectado, mediante análisis de la amplitud de las clases fenotípicas numéricas (probits), indicios de canalización para los niveles de dos y cuatro macroquetas extra (MENSUA, 1966; PLA, PERIS y SÁNCHEZ, 1980). RUBIO (1978) ha mostrado que la selección estabilizadora para un fenotipo distinto del normal, en concreto para dos macroquetas extra, dorsocentrales o escutelares, produce una respuesta positiva inequívoca.

Sin embargo el fenotipo normal del carácter macroquetas no es un carácter sólo numérico, ya que además de constancia numérica presenta también una exacta localización de cada una de las macroquetas en el mesonoto (dorsocentrales) y en el escutelo (escutelares): es un carácter numérico-espacial. Su estabilización y canalización en la naturaleza debe incluir, por tanto, ambos aspectos. RUBIO (1966) demuestra que, en el caso de selección restauradora del fenotipo canalizado normal, la respuesta difiere significativamente según se tenga en cuenta o no la posición de las macroquetas en los individuos seleccionados como reproductores. Esto apoya experimentalmente la hipótesis de ROBERTSON (1965) de que, por tratarse de un carácter numérico-posicional, el fenotipo normal debe definirse como «una queta por localización» y no como número total de quetas en cada área (mesonoto o escutelo). En cambio RENDEL (1965), que admite que la determinación del número de pelos en el bigote del ratón sí está relacionado con su localización, mantiene que la canalización de las macroquetas escutelares hay que referirla a su número total en el escutelo, con independencia de la posición que ocupen; se basa en sus resultados de selección estabilizadora para sólo 2 macroquetas escutelares en una población mutante *scute* (RENDEL *et al.*, 1965).

La simetría bilateral del organismo tiene importancia predominante: MAYNARD-SMITH y SONDDHI (1961) demostraron que la selección para un fenotipo asimétrico bilateral es ineficaz. La cuestión se reduce a saber si al seleccionar para 2 quetas extra es indiferente que se seleccionen individuos con una queta

extra anterior y otra posterior (una a cada lado) o con ambas anteriores (o posteriores). Si el área real de unidad de control abarca todas las localizaciones (hipótesis de RENDEL) es indiferente, porque ambos criterios de selección son simétricos bilaterales; en la hipótesis de ROBERTSON el primer criterio será menos eficaz por seleccionar un fenotipo doblemente asimétrico bilateral.

En el presente trabajo se establecen líneas según estos dos criterios para el mesonoto (dorsocentrales), y sólo para 2 macroquetas extra anteriores para el escutelo. Esta desigualdad para las dos áreas se debe, en primer lugar, a que los resultados de RUBIO (1978) para el área dorsocentral no son tan claros como los del área escutelar. En segundo lugar, a que en la población de origen de este experimento la variabilidad espontánea para macroquetas extra escutelares expresa casi exclusivamente en posición anterior.

## MATERIAL Y METODOS

### *Variación en la población de origen*

Se examinó el fenotipo macroquetas en 58 líneas isomaternas, procedentes de la muestra de *Drosophila melanogaster* capturada en Los Areneros (Oviedo). Estas líneas se habían preparado para otros fines, mediante un número variable (entre 1 y 6) de generaciones de endogamia hermano-hermana, y al comenzar este trabajo llevaban además unas 35-40 generaciones mantenidas por reproducción masiva. En la mayoría de las líneas (62,07 %) hay un número significativo de individuos con quetas extra; de estas líneas el 80,56 % presentan quetas extra sólo dorsocentrales (en posición intermedia 19 líneas, en posición anterior predominante 5 líneas, y las restantes 5 líneas en posiciones anterior y posterior simultáneamente). En el 11,11 % de las líneas las quetas extra son sólo escutelares, casi todas en posición anterior. Sólo 3 líneas (8,33 %) presentan quetas extra dorsocentrales y escutelares.

### *Línea de selección*

Tomando como origen una línea isomaterna para cada línea de selección, se inició ésta con tres criterios diferentes, resultando tres tipos de selección, cada uno de ellos practicado en tres líneas independientes. (1) *tipo SC*: selección para fenotipo de 2 quetas extra escutelares, una en cada posición anterior (líneas SC-1, SC-2, SC-3); (2) *tipo ADC*: el fenotipo seleccionado son 2 quetas extra en el mesonoto ocupando las dos posiciones anteriores (líneas ADC-1, ADC-4, ADC-7); (3) *tipo AP*: las 2 quetas extra del fenotipo seleccionado se encuentran en el mesonoto, una anterior y otra posterior en distinto lado respecto al eje de simetría bilateral del animal (líneas AP-2, AP-3, AP-5).

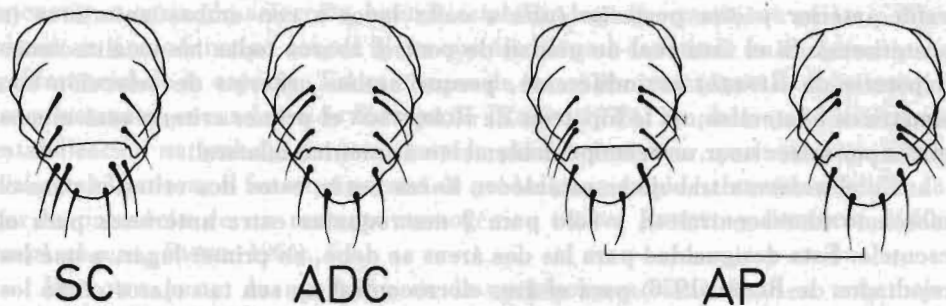


Fig. 1.—Fenotipos seleccionados en las líneas escutelares, SC, y dorsocentrales, ADC y AP.

En los tres tipos se practica selección estabilizadora para un fenotipo distinto del normal canalizado en la especie.

Cada línea independiente se mantiene mediante 8-10 parejas de reproductores vírgenes; aunque se preparan 4 cultivos por línea en cada generación, sólo se utiliza uno de ellos para analizar y mantener la línea, atendiendo a las condiciones de fertilidad de los mismos. En cada línea y generación se examinan 60 individuos de cada sexo; cada individuo que presenta quetas extra es clasificado por su fenotipo numérico y también por la localización de dichas quetas (fenotipo posicional). Para los individuos con 2 quetas extra se utilizan estos símbolos: fenotipo anterior (A) si tiene las 2 en posiciones anteriores; fenotipo posterior (P), ambas en posición posterior; fenotipo antero-posterior (A + P) si tiene una anterior y otra posterior; fenotipo intermedio (I), cuando al menos una queta extra ocupa una posición que no es claramente anterior ni posterior. No es preciso añadir si es escutelar o dorsocentral, porque en ninguna línea prácticamente aparecen individuos con quetas extra dorsocentrales y escutelares a la vez.

Todas las líneas se mantuvieron a temperatura ambiente y con el alimento a base de azúcar, levadura y agar.

## RESULTADOS

Por claridad en la exposición se presentan primero los resultados de la selección en todas las líneas bajo el aspecto numérico del fenotipo seleccionado, y después los resultados referentes al aspecto posicional del mismo.

Para la *respuesta en número de quetas extra* sólo se presentan los datos de las hembras, aunque se contaron también siempre en los machos. En ambos sexos la respuesta es paralela, a pesar del dimorfismo sexual del fenotipo quetas extra, bien comprobado en anteriores experimentos de selección direccional y estabilizadora (RUBIO, 1966; FRASER y GREEN, 1964); en ambos casos el número de quetas extra es mayor y, en general, la respuesta mejor en las hembras. También está comprobado que este dimorfismo es más claro en el escutelo que en el



mesonoto (RUBIO, 1978). Finalmente, si la selección estabilizadora y canalizadora para un fenotipo fijado es efectiva reduce, como es lógico, el dimorfismo (LATTER, 1963; FRASER, 1963; RUBIO, 1978). Nuestros resultados se ajustan a estas anteriores comprobaciones.

La proporción de hembras que representan una o más quetas extra en todas las líneas y tipos de selección aumenta hasta alcanzar entre el 90 % y el 100 %; unas líneas alcanzan antes que otras este nivel, con diferencia de varias generaciones, incluso dentro del mismo tipo de selección. Más importante es la distribución por clases fenotípicas que presentan las descendencias en cada línea, al principio y al final de la selección (Fig. 2). Ya en la Gen. 1 aparecen en las líneas ADC y AP individuos con más de 2 quetas extra, cosa que no ocurre en las SC. Y en el

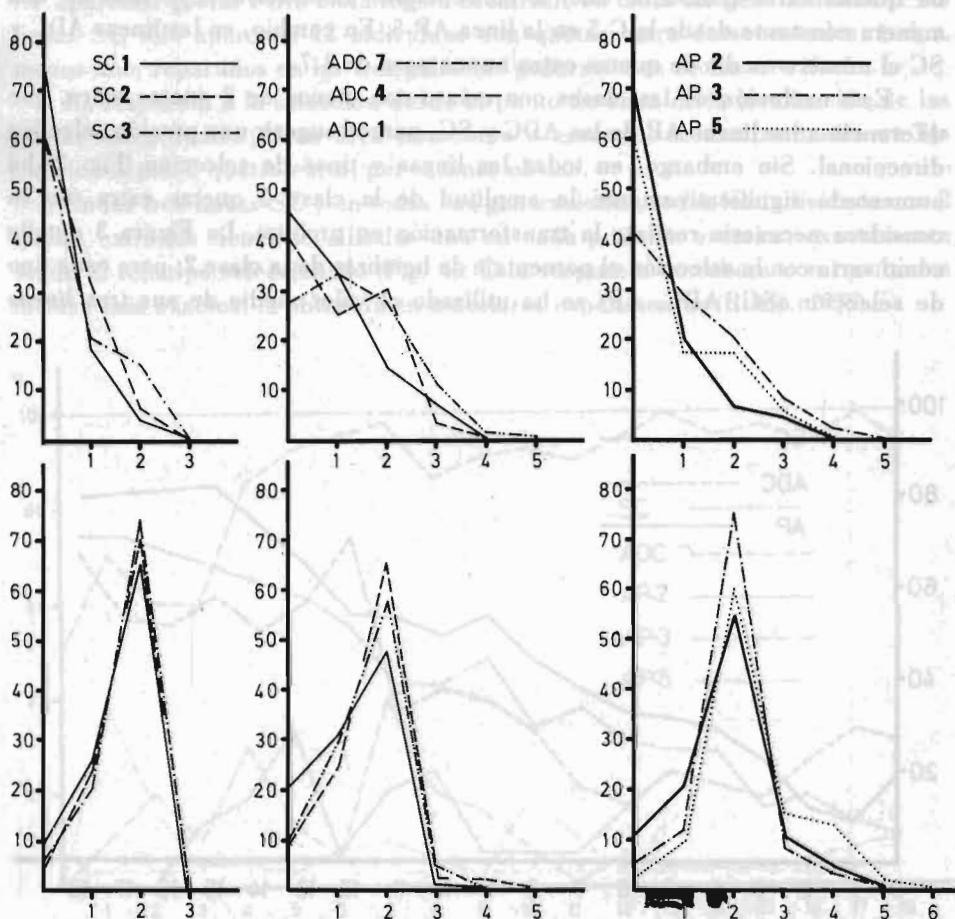


Fig. 2.—Distribución de frecuencias por número de quetas extra al comienzo y al final de la selección. Gráficas obtenidas reuniendo los datos de las generaciones G-0 y G-1 (gráficas superiores) y de las tres últimas generaciones (gráficas inferiores).



conjunto de todas las generaciones de las líneas SC, sólo han aparecido 4 hembras con más de 2 quetas extra en la misma línea. En las líneas ADC se va reduciendo la proporción inicial de hembras con más de 2 extras e incluso desaparecen ya en varias generaciones. En cambio, en las tres líneas AP aumenta significativamente esa proporción de hembras con más de 2 quetas extra (hasta 5 en algunas hembras) alcanzando un nivel final del 10 % en 2 líneas y más del 20 % en la AP-5 (Fig. 2). Esta diferencia en la evolución y resultado final entre las líneas ADC y AP es todavía más significativa teniendo en cuenta sus similares frecuencias iniciales de esas clases (Fig. 2, primeras generaciones).

Por otra parte, las clases 0 y 1 quetas extra disminuyen mucho más en las líneas AP que en las ADC. Como consecuencia, en las líneas AP el número medio de quetas extra rebasa el valor 2 en repetidas generaciones, incluso de una manera constante desde la G-5 en la línea AP-5. En cambio, en las líneas ADC y SC el número medio de quetas extra nunca pasa de 1,7.

Esta evolución de las clases con más o con menos de 2 quetas extra, que diferencia a las líneas AP de las ADC y SC, parece sugerir una presión selectiva direccional. Sin embargo, en todas las líneas y tipos de selección (Fig. 2) ha aumentado significativamente la amplitud de la clase 2 quetas extra (no se considera necesario realizar la transformación en probits). La Figura 3 detalla cómo varía con la selección el porcentaje de hembras de la clase 2; para cada tipo de selección (SC, ADC, AP) se ha utilizado el valor medio de sus tres líneas

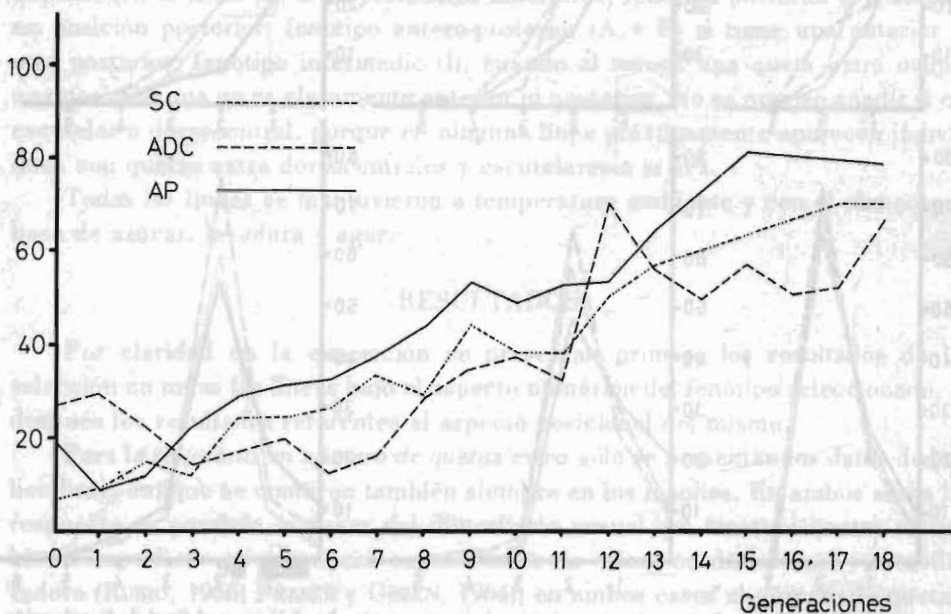


Fig. 3.-Frecuencia de individuos con dos quetas extra en las sucesivas generaciones en cada uno de los tipos de selección estabilizadora.

independientes. Esto permite afirmar que todas ellas dan respuesta positiva a la selección estabilizadora para el número de quetas extra, fenotipo distinto del normal en la especie (0 quetas extra). Hay que señalar que las líneas ADC tardaron unas 6 generaciones en iniciar una respuesta clara, hecho reflejado también en la proporción de individuos con alguna queta extra. La causa de este retraso debe estar en alguna circunstancia de la variabilidad inicial de dichas líneas que resulta difícil concretar. Pero, una vez iniciada la respuesta, la pendiente y el nivel final son similares a los de los otros tipos de selección.

La respuesta para el aspecto posicional del fenotipo seleccionado confirma, en primer lugar, resultados anteriores indicadores de la independencia entre el mesonoto y el escutelo (RUBIO, 1978). En ninguna generación de las líneas ADC y AP aparecen quetas extra en la región escutelar; en todas las generaciones de las líneas SC sólo aparecen 12 individuos con quetas extra dorsocentrales, todos, menos uno, repartidos en las tres primeras generaciones de las tres líneas.

La respuesta a la selección desde el punto de vista de la localización de las quetas extra dentro de su área (mesonoto o escutelo) se analizará sólo en los individuos con 2 quetas extra, por razones obvias.

En las tres líneas SC y en todas sus generaciones, todos los individuos con 2 quetas extra las tienen localizadas una en cada posición anterior, exactamente según el fenotipo seleccionado (Fig. 4). Esta respuesta corrobora con resultados incluso más exactos, la obtenida en anteriores experimentos (RUBIO, 1978).

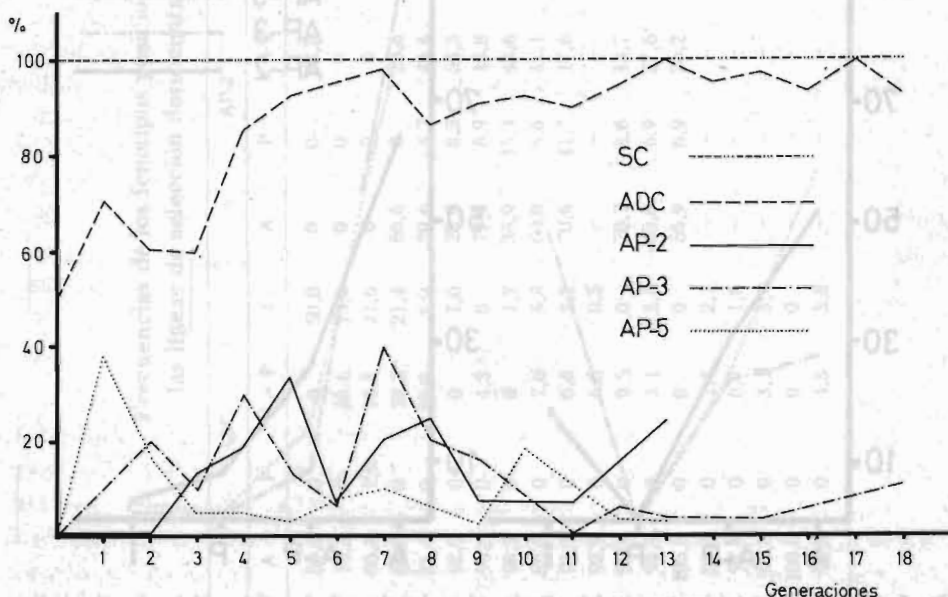


Fig. 4.—Frecuencia de los individuos con 2 quetas extra que las presentan en la posición seleccionada, en las sucesivas generaciones de cada tipo de selección.

Las respuestas de las líneas ADC y AP se presentan (Tabla I) como porcentajes de individuos clasificados por la localización de sus 2 quetas extra, reuniendo los datos de machos y hembras porque el dimorfismo sexual observado para el número de quetas extra no se encuentra para su localización. También se han reunido los datos de las tres líneas ADC por su notable homogeneidad, en contraste con unas tendencias dispares en las líneas AP. Además si éstas se reunieran podría enmascarse otro dato importante: las bruscas oscilaciones de frecuencias de todos los fenotipos posicionales en generaciones sucesivas (Tabla I). Ya en la generación 5 de las líneas ADC el 90 % de los 2 quetas extra las tienen localizadas según el fenotipo seleccionado (A) (Fig. 5); a partir de ahí se van aproximando lentamente al 100 %. Otro dato notable es la ausencia, desde el principio, de individuos con sus dos quetas extra en posición posterior (P). Los individuos (A + P), con una queta anterior y otra posterior, y los (I), con alguna queta extra en posición intermedia, que no eran raros en las primeras generaciones, tienden rápidamente a desaparecer.

En cambio, en ninguna de las tres líneas AP aumenta la frecuencia del fenotipo (A + P), que sólo ocasionalmente pasa del 40 % en las primeras generaciones; aunque tampoco se le puede señalar una tendencia clara y sistemática a

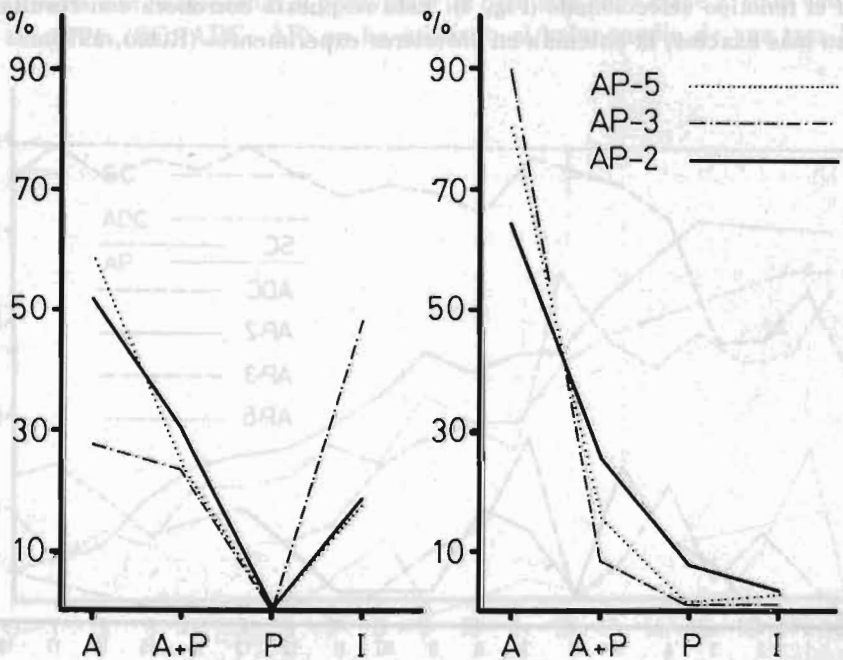


Fig. 5.—Frecuencias iniciales (izquierda) y finales (derecha) de cada fenotipo posicional en los individuos con 2 quetas extra en las líneas AP. Gráficas obtenidas reuniendo los datos de las dos primeras generaciones y de las tres últimas.

TABLA I  
Frecuencias de los fenotipos posicionales en los individuos con 2 quetas extra, en las líneas de selección dorsocentrales anterior (ADC) y antero-posterior (AP)

Generaciones	ADC						AP-2						AP-3						AP-5					
	A	P	A+P	I	A	I	A	P	A+P	I	A	I	A	P	A+P	I	A	I	A	P	A+P	I	A	I
	0	50,0	0	0	50,0	0	66,6	0	0	33,3	66,6	0	0	0	22,2	77,7	55,5	0	0	11,1	33,3	11,1	33,3	0
1	70,3	0	16,6	13,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	57,1	0	0	42,8	0	42,8	0	0	0
2	60,4	1,6	16,3	21,6	0	0	0	0	0	0	40,0	0	0	25,0	35,0	38,9	0	0	22,2	38,9	22,2	38,9	0	0
3	60,0	0	18,5	21,4	66,6	0	28,6	0	28,6	4,7	40,0	10,0	10,0	20,0	30,0	80,0	0	0	7,5	12,5	7,5	12,5	0	0
4	85,4	0	10,6	3,9	29,6	3,7	44,4	22,2	44,4	22,2	40,0	10,0	10,0	40,0	10,0	83,3	0	0	16,6	0	16,6	0	0	0
5	92,9	0	0	7,0	25,0	8,3	58,3	8,3	58,3	8,3	57,1	0	0	42,8	0	78,4	1,5	15,4	15,4	15,4	15,4	4,6	4,6	0
6	95,6	0	4,3	0	79,3	6,9	13,8	0	13,8	0	15,4	7,7	7,7	46,1	30,7	80,0	0	0	16,9	3,0	16,9	3,0	0	0
7	98,2	0	0	1,7	35,9	15,4	43,6	5,1	43,6	5,1	0	33,3	66,6	66,6	0	62,5	5,0	32,5	32,5	0	32,5	0	0	0
8	86,5	0	7,6	5,8	60,0	6,6	31,1	2,2	31,1	2,2	52,6	0	0	31,5	15,8	88,0	0	0	12,0	0	12,0	0	0	0
9	91,1	0	6,6	2,2	70,6	11,7	17,6	0	17,6	0	45,8	12,5	12,5	37,5	4,1	85,0	1,2	12,5	12,5	12,5	12,5	1,2	1,2	0
10	92,9	0	6,5	0,5	0	0	0	0	0	0	82,9	1,6	14,6	14,6	0,8	58,0	0	30,0	30,0	12,0	30,0	12,0	0	0
11	90,4	0	9,5	0	70,7	8,6	13,7	6,9	13,7	6,9	89,2	2,9	7,8	7,8	0	70,1	0	24,5	24,5	12,0	24,5	5,3	5,3	0
12	94,9	0	3,1	2,0	63,8	6,9	27,6	1,7	27,6	1,7	86,5	0	12,7	12,7	0,7	71,4	1,8	19,6	19,6	12,0	19,6	7,1	7,1	0
13	100,0	0	0	0	56,9	6,9	36,2	0	36,2	0	89,2	0,7	10,0	10,0	0	90,1	0,8	9,1	9,1	12,0	9,1	0	0	0
14	95,4	0	1,4	2,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	97,6	0	0,7	1,6	0	0	0	0	0	0	93,0	0,5	6,5	6,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	93,8	0	3,1	3,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	100,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	92,8	0	4,3	2,8	0	0	0	0	0	0	83,2	0,9	11,8	11,8	3,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0

disminuir en ninguna de las líneas, por la característica, común a las tres, de grandes oscilaciones de frecuencia de (A + P) de una generación a otra. Por otra parte este fenotipo (A + P) incluye dos clases de individuos: los que presentan ambas quetas extra (anterior y posterior) al mismo lado del eje de simetría bilateral del organismo, y los que tienen una a cada lado de dicho eje. La primera clase muestra clara asimetría bilateral y no puede por ello ser equivalente a la segunda clase, que además es la única conforme al fenotipo seleccionado. Las proporciones relativas de cada una de estas dos clases varían, al parecer, aleatoriamente a lo largo del experimento en las tres líneas AP: en unas generaciones predomina una u otra clase para después, en siguientes generaciones, tener frecuencias casi iguales, y viceversa. Por todo ello al comparar (Fig. 4) las frecuencias que alcanza el correspondiente fenotipo seleccionado en cada uno de los tres tipos de selección (SC, ADC, AP), para las líneas AP se representan sólo los porcentajes de individuos con una queta extra en cada lado del eje de simetría bilateral.

Es muy llamativo en las líneas AP el alto porcentaje de individuos de fenotipo (A), sobre todo en las líneas AP-3 y AP-5, donde llega a veces al 90 %. Es decir, aumenta la frecuencia de un fenotipo no seleccionado, pero que responde a la simetría bilateral en cualquier hipótesis sobre la equivalencia de las posiciones anterior y posterior; y no aumenta (incluso parece disminuir) el fenotipo (A + P) que sería simétrico bilateral *sólo* en la hipótesis de equivalencia y que además es el seleccionado. La respuesta posicional en la línea AP-5 se asemeja además a la de las líneas ADC en la muy escasa presencia de individuos con las dos quetas extra en posición posterior (P). La línea AP-3 en cambio presenta en algunas generaciones una proporción apreciable de individuos (P), que luego se reduce mucho. La línea AP-2 se destaca de las otras dos por ser la de menor incremento de la frecuencia de fenotipo (A), por su frecuencia constante, aunque no alta, de fenotipos (P), y por su mayor proporción de individuos de fenotipo (A + P). Finalmente, en las tres líneas AP tienden a desaparecer los fenotipos con quetas extra intermedias (I), como en las líneas ADC. Como resumen de esta diversidad de tendencias en cada línea AP la Figura 5 contrasta las distribuciones inicial y final de sus fenotipos posicionales.

## DISCUSION

Algunos datos de diferencias entre el mesonoto y el escutelo confirman la conclusión obtenida en anteriores trabajos (RUBIO, 1971, 1978) sobre la independencia de ambas regiones del tórax en el control genético del desarrollo en su relación con la formación de quetas extra. Tal es la aparición espontánea, en la mayoría de las líneas isomaternas, de fenotipos con quetas extra localizadas exclusivamente en una u otra de esas regiones: sólo el 5,1 % de todas las líneas las presentan en ambas regiones, proporción que no supera la probabilidad de



ocurrencia simultánea de dos sucesos independientes. Además la selección, siendo para un número de quetas superior al normal, en ninguna línea ha producido quetas extra en región distinta de aquella donde se seleccionan. Es decir, en distintas líneas isomaternas la endogamia pone de manifiesto diferente variabilidad fenotípica, y en las líneas seleccionadas a partir de aquéllas se explota, de modo independiente y exclusivo para cada región, la variabilidad genotípica existente en cada línea isomaterna. Otros datos se refieren a la regularidad y fijeza de localización en posiciones anteriores y posteriores de la quetas extra (aparecidas espontáneamente en las líneas somaternas o como respuesta en las líneas seleccionadas) que es mucho mayor en el escutelo que en el mesonoto. Estos datos aparecerán dentro de la discusión de las respuestas a la selección estabilizadora aunque ya no se comente su significado para esta cuestión preliminar.

Al valorar las respuestas a la selección estabilizadora por el aspecto numérico del fenotipo quetas extra, si se atiende sólo al incremento relativo de la clase 2, no parecen darse diferencias entre los tres tipos de selección (Fig. 3). Pero hay diferencias claras en la evolución de las clases con menos o más de 2 quetas extra. Y esto es importante, porque los tres criterios de selección aplicados aquí pueden considerarse simultáneamente direccionales y estabilizadores: tienden a aumentar el número de quetas extra (0 en la población normal) utilizando la variabilidad oculta bajo el fenotipo canalizado, pero al mismo tiempo ponen un corto límite a esa variabilidad y ese aumento al intentar estabilizar el fenotipo en sólo 2 quetas extra (debe aumentar sólo una queta extra en sólo dos de las varias localizaciones posibles). La cuestión, pues, está en si este efecto limitante (estabilizador) es operativo en los tres criterios de selección empleados. En las líneas SC la respuesta estabilizadora es máxima desde el principio, no hay clases con más de 2 quetas extra, y en las líneas ADC va camino de serlo, ya que el efecto de límite está reduciendo las clases iniciales de más de 2 quetas extra. Esta menor exactitud y rapidez de la respuesta en las líneas ADC puede relacionarse con otras observaciones de una mayor fijeza y regularidad de varios aspectos del fenotipo quetas extra en el escutelo y con la mayor facilidad en lograr canalización en él (RUBIO, 1971, 1978 y datos no publicados) todo ello debido a distintas características de los procesos de desarrollo en el escutelo y el mesonoto.

En cambio en las líneas AP incluso aumentan los individuos con más de 2 quetas extra. Hay además intensa reducción de las clases 0 y 1 (mayor que en las líneas ADC donde sí es eficaz el efecto limitante), lo cual refleja que toda la distribución puede desplazarse hacia clases superiores. Todo ello se traduce en que el número medio de quetas extra pase de 2, y explica que estas líneas vayan algo por delante de las demás en porcentaje de individuos con 2 quetas extra. En suma la selección de tipo AP no posee efecto estabilizador suficiente para hacer de la clase 2 un tope a su presión direccional. Esto se comprende mejor exami-

nando la respuesta en el fenotipo posicional, donde puede explicarse también que haya aumento real de la clase 2 sin contradicción con esa escasa eficacia del efecto estabilizador.

Dadas las características numérico-espaciales del fenotipo canalizado, al evaluar la respuesta a la selección estabilizadora la localización de las quetas es tan importante como su número, lo mismo si se trata de restaurar el fenotipo normal como de estabilizar en la población un fenotipo distinto del normal.

Las respuestas de las líneas SC y ADC en el aspecto posicional del fenotipo son coherentes con las encontradas para el efecto limitante en el fenotipo numérico: respuesta máxima desde el principio en las líneas SC y aproximándose a ello en las ADC. Es decir, el grado de estabilización de la respuesta numérica es paralelo al grado de estabilización posicional. La selección para 2 quetas extra, realizada con criterios que no mezclan posiciones anteriores y posteriores, claramente es estabilizadora por igual para el número y para la localización de las quetas.

Muy diferentes son las respuestas de las líneas AP, decisivas para discriminar entre las hipótesis de RENDEL y ROBERTSON. En ninguna de ellas aumenta la frecuencia del fenotipo seleccionado y en dos de ellas incluso disminuye significativamente. Tampoco aumenta el fenotipo (A + P) con ambas quetas extra al mismo lado del eje de simetría bilateral. En cambio aumenta en las tres líneas AP la frecuencia del fenotipo (A), y en una también la de (P), fenotipos no seleccionados pero que son los únicos que respetan la simetría bilateral en la hipótesis de ROBERTSON.

Por tanto, la clase *numérica* 2 quetas extra, cuya frecuencia aumenta en los tres tipos de selección, es muy heterogénea en fenotipos posicionales en las líneas AP y homogénea en las otras. Para que nuestros resultados en las líneas AP no discreparan de la hipótesis de RENDEL habría que considerar equivalentes todos estos fenotipos posicionales. Resulta difícil equiparar los fenotipos (A) y (P) al fenotipo (A + P) con ambas quetas extra al mismo lado del eje de simetría, que es claramente asimétrico bilateral, incluso en la hipótesis de RENDEL, pues si el conjunto del área dorsocentral es la unidad fenotípica debe serlo también de simetría. Tampoco es fácil explicar la alta frecuencia de este fenotipo (A + P) asimétrico en las líneas AP, similar a la del otro fenotipo (A + P) que sí es simétrico en esta hipótesis. En esta hipótesis de equivalencia de posiciones no se explica por qué las tres líneas ADC son tan homogéneas y constantes en reducir las dos clases de fenotipos (A + P) y no presentar nunca los (P), mientras las líneas AP no son homogéneas y todas muestran oscilaciones súbitas en la evolución de las frecuencias de fenotipos posicionales. En una AP-5, casi nunca aparece el fenotipo (P), en otra AP-3 tiende a desaparecer, y en una tercera, AP-2, se mantiene. Las de baja frecuencia de (P) coinciden en mostrar el mayor aumento del fenotipo (A), pero difieren en la evolución del fenotipo seleccionado.



La AP-2, única que mantiene la frecuencia del fenotipo (P), aumenta poco el (A) y es la de mayor proporción del (A + P). No se explican resultados tan dispares para fenotipos equivalentes e igualmente simétricos en esta hipótesis. Finalmente, en esta hipótesis también el fenotipo (I) es equivalente y simétrico bilateral y sin embargo es el único que se elimina en todas las líneas ADC y AP.

La hipótesis de la no equivalencia de las posiciones anteriores y posteriores (ROBERTSON) parece ofrecer una explicación coherente de todos estos datos. Porque en esta hipótesis las líneas ADC (y las SC) son de selección estabilizadora para una posición definida de tal manera que al seleccionar para sólo dos quetas extra se selecciona a la vez para simetría bilateral; en las líneas AP se selecciona para posiciones que pertenecen a unidades fenotípicas distintas, anterior y posterior, y por tanto, al seleccionar para *sólo* 2 quetas extra, el fenotipo seleccionado es asimétrico bilateral y debe encontrar la resistencia del control global de simetría bilateral. En esta hipótesis los individuos (A + P) no se definen como «2 quetas» sino como «1 y 1 quetas». Esta selección simultánea sobre las dos unidades fenotípicas, más la acción del control general de la simetría bilateral, explica que la línea AP tiendan a producir fenotipos (A) y (P), que son los únicos simétricos en esta hipótesis, pero lo hagan en diversa proporción según su variabilidad inicial y la desconocida relación entre fenotipo y genotipo subyacente en cada individuo seleccionado. Por esto mismo difieren estas líneas en sus frecuencias de fenotipo (A + P), pero las tres presentan las dos clases de este fenotipo en similar proporción pues ambas son igualmente asimétricas en esta hipótesis. El fenotipo (A + P) no puede estabilizarse; el fenotipo estabilizable sería 2 quetas anteriores y 2 posteriores, pero su consecución está frenada, incluso en las líneas AP, por seleccionar sólo para 2 quetas extra. Es lógico que sólo la línea AP-2 mantenga la proporción inicial del fenotipo (A + P) porque es la única línea en que aumentan simultáneamente ambos fenotipos (A) y (P), y por eso mismo ambos aumentan poco. En las otras dos líneas AP disminuye el fenotipo (A + P) porque la selección se inclina sólo hacia el fenotipo (A) que aumenta considerablemente más que en la AP-2, aunque hay algunos individuos (P) y (A + P) por la continuada selección de quetas posteriores. El resultado en las tres líneas es un aumento real de la clase numérica 2, pero esto ocurre reuniendo fenotipos que son heterogéneos en su significación y en consecuencia aparecen en distintas proporciones relativas en cada línea. La tendencia de una línea a producir fenotipos simétricos dentro de una unidad fenotípica, sumándose a la continuada selección de quetas extra en la otra unidad fenotípica, explica también el aumento de las clases con más de 2 quetas extra, incluso en la línea AP-5 donde coinciden la mayor tendencia a fijarse la respuesta en el fenotipo (A) y la mayor frecuencia en las clases con más de 2 quetas extra. Finalmente, la selección simultánea en dos unidades fenotípicas explica también las rápidas y amplias oscilaciones en las frecuencias de los distintos fenotipos posicionales en inmediatas generaciones, hecho que sólo aparece en las líneas AP como uno de sus rasgos más llamativos.

En suma, la ajustada respuesta de las líneas SC, donde no aparece por selección ningún otro de los fenotipos, que serían equivalentes en la hipótesis de RENDEL, y el contraste de respuestas en las líneas ADC y AP, cuyos criterios de selección sólo difieren en la relación posicional anterior-posterior de las 2 quetas extra, apoyan la hipótesis de la no equivalencia de las varias localizaciones de quetas dentro del mesonoto y del escutelo.

#### BIBLIOGRAFIA

- FRASER, A. S. (1963).—Variation of scutellar bristles in *Drosophila*. I. Genetic leakage. *Genetics*, **48**: 497-514.
- FRASER, A. S. y M. M. GREEN (1964).—Variation of scutellar bristles in *Drosophila*. III. Sex-Dimorphism. *Genetics*, **50**: 351-362.
- LATTER, D. H. y W. R. SCOWCROFT (1970).—Regulation of anterior and posterior scutellar bristle number in *Drosophila*. *Genetics*, **66**: 685-694.
- MAYNARD-SMITH, J. y K. C. SONDHI (1960).—The genetic of a pattern. *Genetics*, **45** (8): 1.039-1.050.
- MAYNARD-SMITH, J. y K. C. SONDHI (1961).—The arrangement of bristles in *Drosophila*. *J. Embryol. exp. Morph.*, **9** (4): 661-672.
- MENSUA, J. L. (1966).—Análisis del genotipo de dos líneas seleccionadas por aumento de macroquetas dorsocentrales en *Dr. melanogaster*. *Genética Ibérica*, **18** (1-2): 167-180.
- PAYNE, F. (1918).—An experiment to test the nature of the variations on which selection acts. *Indian Univ. Stud.*, **5**: 1-45.
- PLA, C., F. PERIS y A. SANCHEZ (1980).—Selección por aumento en el número de macroquetas dorsocentrales en una población natural de *Dr. melanogaster*. Com. XVI Jorn. de Gen. Luso-Españolas, Zaragoza.
- RENDEL, J. M. (1965).—Bristle pattern in scute stock of *Dr. melanogaster*. *The American Naturalist*, **XCIX**, **904**: 25-32.
- RENDEL, J. M. y B. L. SHELDON (1960).—Selection for canalization of the scute phenotype in *Dr. melanogaster*. *Aust. J. Biol. Sci.*, **13**: 36-47.
- RENDEL, J. M., B. L. SHELDON y D. E. FINLAY (1965).—Canalization of development of scutellar bristles in *Drosophila* by control of the scute locus. *Genetics*, **52**: 1.137-1.151.
- ROBERTSON, (1965).—Variation in scutellar bristle number- an alternative hypothesis. *The American Naturalist* **XCIX**, **904**: 19-23.
- RUBIO, J. (1966).—A study of stabilizing selection in a mutant character of *D. suboscuro*. Ph. D. thesis. London University.
- RUBIO, J. (1971).—Selección estabilizadora y canalizadora en las quetas de *Drosophila*. Public. Univ. de Barcelona, 46 pp.
- RUBIO, J. (1978).—Selección estabilizadora de un fenotipo distinto del normal en macroquetas de *Drosophila*. *Rev. Fac. Ciencias, Univ. Oviedo*: **17-18-19**: 101-115.

## HUSOS MULTIPOLARES EN ANAFASE I DE HIBRIDOS DE TRITICALE × CENTENO DIPLOIDE

Por  
TOMAS NARANJO\*

y  
JUAN RAMÓN LACADENA

Departamento de Genética. Facultad de Biología.  
Universidad Complutense de Madrid

### RESUMEN

Se señala la formación de husos multipolares en la anafase I de tres híbridos ABRR obtenidos en el cruzamiento de triticales hexaploide por centeno diploide, con una frecuencia de 14 %, 10 % y 32 % respectivamente. Este comportamiento dio lugar a que en segunda división aparecieran meiocitos que presentaban tres células, triadas, separadas por tres tabiques radiales. Se ha detectado en las triadas una relación entre tamaño de la célula y cantidad de cromatina, siendo las células de menor tamaño las que contienen menor cantidad de cromatina. Las triadas se observaron dividiendo sincrónica o asincrónicamente. Se discute un posible origen de esta irregularidad.

### SUMMARY

Multipolar spindles formation at anaphase I in three ABRR hybrids obtained from the cross of hexaploid triticales by diploid rye, their respective frequencies being 14 %, 10 % and 32 %, is reported. This special behaviour led meiocytes to appear composed by three cells, triad, separated by three radial walls at second division. A relation between cell size and chromatin account was detected in triads, small cells having lesser chromatin account than large cells. Shynchronous and ashynchronous triads both were observed. A possible origin of this irregularity is discussed.

### INTRODUCCION

Los procesos normales de división celular, que ocurren tanto a nivel de mitosis como de meiosis, requieren la formación de un huso bipolar que arrastre a ambos polos las dos mitades en que se divide el contenido cromosómico de la célula. Sin embargo, ya en los primeros estudios efectuados sobre la división celular se detectaron mitosis multipolares tanto en animales (MAYZEL, 1875) como

\* Dirección actual: Departamento interfacultativo de Genética. Universidad de Oviedo. Oviedo, España.

en plantas (STRASBURGER, 1880), que fueron calificadas por BOVERI (1888) como anomalías patológicas debido a que ocasionaban una distribución cromosómica anómala que originaba células con números cromosómicos alterados.

Posteriormente las mitosis multipolares se han encontrado frecuentemente en cultivos de tejidos y se ha observado que su frecuencia aumenta cuando se someten a la acción de radiaciones ionizantes y de determinados agentes químicos (revisiones por PERA, 1970 y BAJER and MOLÉ-BAJER, 1972). También han sido descritos en plantas numerosos casos de husos multipolares en meiosis, siendo muy resaltable el hecho de que se observaran preferentemente en híbridos o especies polipoides (revisión por TAI, 1970).

En el presente trabajo se analiza la ocurrencia de husos multipolares en la anafase I de la meiosis de híbridos de Triticale por centeno diploide.

## MATERIAL Y METODOS

El material utilizado en este trabajo ha sido siete híbridos de constitución genómica ABRR obtenidos en el cruzamiento de triticale hexaploide (AABRR,  $2n = 6x = 42$ ) por *Secale cereale* diploide (RR,  $2n = 14$ ). Cinco de estos híbridos tenían números cromosómicos normales,  $2n = 28$ , mientras que los otros dos eran aneuploides,  $2n = 26$ .

Las observaciones se efectuaron en anteras que habían sido fijadas en alcohol-acético 3:1 y teñidas con la técnica de Feulgen después de efectuar una hidrólisis con CIH IN a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos. Las preparaciones se hicieron permanentes con Sandeural después de separar porta y cubre con nieve carbónica.

## RESULTADOS Y DISCUSION

De las siete plantas analizadas cuatro presentaban husos bipolares normales en anafase I y después de la subsiguiente división celular aparecían las clásicas diadas que posteriormente entrarían en segunda división.

Sin embargo en dos plantas de 28 cromosomas 1341-2 y 1338-4 y en otra de 26 1606-1 aparecieron anafases I con al menos tres polos (Fig. 1a) que dieron lugar a telofases trinucleadas (Fig. 1b). Como consecuencia de este comportamiento, durante la segunda división podían observarse grupos de tres células, triadas, dentro del receptáculo de la célula madre de polen inicial, que estaban separadas por tres tabiques radiales (Figs. 1c, d y e). Teniendo en cuenta que en las plantas la formación del tabique se produce en un plano perpendicular al eje del huso, esta disposición radiada de los tabiques sugiere que durante la anafase I de la célula originaria habrían existido tres direcciones de separación cromosómica, correspondiendo cada una de ellas a los lados del triángulo formado por los tres polos. A su vez este hecho, también descarta la posibilidad de que el núcleo

extra que aparecía en las telofases I trinucleadas se hubiera formado por acumulación de cromosomas desconectados de un huso bipolar hipotético, siendo por tanto únicamente originadas por husos multipolares. Durante la segunda división las tres células de la triada podían avanzar en el proceso de división sincrónicamente o podían encontrarse en diferente fase. Después de telofase II se producía de nuevo la división celular que originaba una hexada (Fig. 1f).

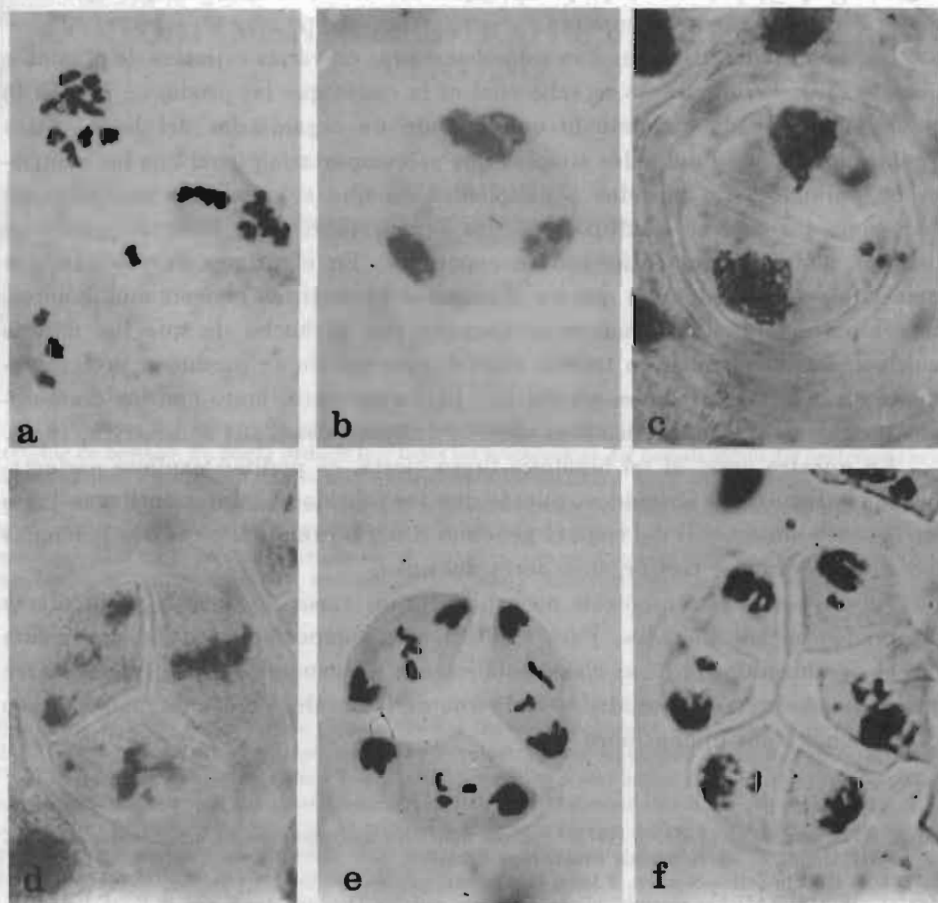


Fig. 1.—Se representan las distintas etapas transcurridas desde la formación de un huso tripolar en anafase I hasta el final de la meiosis. a) anafase tripolar, b) célula trinucleada en telofase I, c) triada mostrando la relación entre tamaño celular y contenido en cromatina, d) triada asincrónica con dos células en metafase II y una en anafase II, e) triada sincrónica en anafase II, f) hexada.

La frecuencia de meiocitos multipolares la obtuvimos a partir de la frecuencia de triadas en segunda división. Esto fue motivado por el hecho de que contábamos con pocas CMP en anafase I, y además por efecto del squash podían



considerarse como bipolares anafases I que eran multipolares si dos polos se superponían. Los porcentajes de células multipolares para cada planta fueron: 1341-2 14 %, 1338-4 10 % y 1606-1, 32 %.

Se pudo observar que los tres tabiques formados no delimitaban siempre la misma cantidad de citoplasma, puesto que el tamaño de la célula parecía guardar una cierta relación con el contenido de cromatina que almacenaba en su interior (Figs. 1c, d y e), siendo mas pequeñas aquellas células de la triada que aparentemente contenían menos cromatina.

Las meiosis multipolares han sido observadas en varias especies de plantas e híbridos (TAI, 1970) pero no se sabe cual es la causa que las produce. TAI (1970) supone que a cada genomio le corresponde un organizador del huso. Estos organizadores serían unidades simples que se comportarían igual que los centriolos en animales. En híbridos y poliploides en que se producen con bastante frecuencia las meiosis multipolares, los organizadores del huso de genomios distintos podrían estar fusionados o separados. En el primer caso originarían meiosis bipolares, mientras que en el segundo producirían meiosis multipolares. Esta hipótesis puede considerarse apoyada por el hecho de que las mitosis multipolares observadas en tejidos animales en cultivo se producen preferentemente en células poliploides en las que probablemente, junto con los cromosomas, también se ha multiplicado el número de centriolos (PERA and RAINER, 1973).

En nuestro caso, si tal hipótesis fuera cierta, se podrían explicar perfectamente los resultados obtenidos, puesto que los híbridos en cuestión llevan junto con los genomios A y B del trigo el genomio R del centeno. A estos tres genomios podían corresponder tres organizadores del huso.

No obstante, esta hipótesis no explicaría los casos de meiosis multipolares observados en los diploides. Para explicar este comportamiento TAI argumenta que el organizador del huso correspondiente a un genomio podría fragmentarse espontáneamente en subunidades cada una de las cuales podría originar un huso proporcional a sus dimensiones.

#### BIBLIOGRAFIA

- BAJER, A. S. and J. MOLÉ-BAJER (1972).—Spindle dynamics and chromosome movements. *Int. Rev. Cytol.* Suppl. 3, XI. Academic Press. New York.
- BOVERI, T. (1888).—Zellen-Studien, 2 Jena: G. Fischer.
- MAYZEL, W. (1875).—Ueber eigenthümliche Vorgänge bei der Theilung der Kerne in Epithelialzellen. *Zbl. med. Wiss.*, 13: 849-852.
- PERA, F. (1970).—Mechanismen der Polyploidisierung und der somatischen reduktion. *Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.*, 43 (5): 1-112.
- PERA, F. AND B. RAINER (1973).—Studies of multipolar mitoses in euploid tissue cultures I. Somatic reduction to exactly haploid and triploid chromosome sets. *Chromosoma*, 42: 71-80.
- STRASBURGER, E. (1880).—Zellbildung und Zellteilung. Jena: G. Fischer.
- TAI, W. (1970).—Multipolar meiosis in diploid crested wheatgrass *Agropyron cristatum*. *Amer. J. Bot.*, 57 (10): 1.160-1.169.

## COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE UN TRIPLOIDE DE CENTENO

Por  
TOMAS NARANJO

Departamento Interfacultativo de Genética.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se analizan los valores de apareamiento cromosómico y la distribución de cromosomas en un triploide de centeno. Se puede deducir que todos los cromosomas del complemento del centeno tienen la misma probabilidad, 0,7, de formar un trivalente en metafase I. La probabilidad en paquítenu resultó ser  $f = 0,71$ , lo cual sugiere que el apareamiento puede empezar en más de dos puntos o que existe preferencia para que dos cromosomas aparezcan en un punto y otros dos en otro. El número de quiasmas en el triploide era mayor que en los diploides. Los cromosomas del grupo extra seguían una distribución al azar en anafase I, teniendo los univalentes observados en metafase I una probabilidad  $e = 0,64$  de dividir ecuacionalmente.

### SUMMARY

Chromosome pairing values and chromosome distribution were analyzed in one triploid plant of rye. It was deduced that all seven chromosomes of the rye complement showed the same probability, 0.7, to form a trivalent at metaphase I. The trivalent pairing frequency at pachytene resulted in  $f = 0.71$ , which suggested that a number of pairing initiation points larger than two or a preference for pairing between two specific chromosomes at one end and the other two at the other end could take place. The number of chiasmata in the triploid was greater than in diploids. The chromosome of the extra set showed a random distribution at anaphase I, univalents observed at metaphase I having probability  $e = 0.64$  of dividing equationally.

### INTRODUCCION

El comportamiento meiótico viene determinado por tres fenómenos fundamentales: apareamiento cromosómico, formación de quiasmas y distribución cromosómica. Cualquier variación o irregularidad que afecte a estos procesos puede tener consecuencias genéticas importantes al repercutir de forma directa en las diferentes clases y frecuencias gaméticas.

En general, la poliploidia puede considerarse como causante de variaciones



en el comportamiento meiótico, si bien nos restringiremos a continuación a los efectos de la triploidia. Puesto que se admite como regla general que en un punto sólo pueden aparearse dos cromosomas homólogos, en los triploides se establece una competencia para formar la pareja dentro de cada trío de cromosomas homólogos (SYBENGA, 1975). Aunque este hecho es común a todos los triploides, las frecuencias con las que aparecen los dos tipos básicos de asociaciones cromosómicas en metafase I, trivalentes y bivalentes más univalentes, no son las mismas en todos los casos (DAWSON, 1962; JOHN y LEWIS, 1965). Esta variación sugiere la existencia de otros factores, además de la competencia, que pueden afectar al apareamiento en los triploides.

En cuanto a la distribución de los cromosomas en anafase I, los resultados obtenidos en *Datura stramonium* (SATINA y BLAKESLEE, 1937 a y b) indican que existe una tendencia a que el grupo de cromosomas extra emigre conjuntamente a un polo, no existiendo por tanto segregación al azar. No obstante ésta no es la regla general para todos los triploides (JOHN y LEWIS, 1965).

En el presente trabajo se estudia el apareamiento y la distribución cromosómica en anafase I en un triploide de centeno.

## MATERIAL Y METODOS

El material utilizado ha sido una planta triploide de centeno, *Secale cereale*, ( $3n = 21$ , Fig. 1) obtenida en el cruzamiento de centeno tetraploide cultivar «Gigantón» ( $2n = 4x = 28$ ) (TJIO, SÁNCHEZ-MONGE y ALVAREZ-PEÑA, 1953) por centeno diploide cultivar «Ailés» ( $2n = 14$ ).

Para el control del número cromosómico se emplearon meristemas de raíz que fueron pretratados con frío, 4°C durante 48 h, para contraer los cromosomas. Seguidamente, las raíces se fijaron en alcohol-acético 3:1. La tinción se realizó con la técnica de Feulgen tras haber efectuado una hidrólisis con CIH IN a 60°C durante 12 minutos. Para la observación de la meiosis se utilizaron anteras fijadas en alcohol acético 3:1 que fueron teñidas también con la técnica de Feulgen. Las preparaciones se hicieron permanentes con sandeural después de separar porta y cubre con nieve carbónica.

## RESULTADOS

### *Apareamiento en metafase I*

Cada trío de cromosomas homólogos presentaba únicamente dos alternativas en metafase I: podía formar un trivalente o bien, un bivalente más un univalente. En ningún caso se observaron tres univalentes homólogos, puesto que no aparecieron células madres de polen con menos de siete asociaciones de cromosomas apareados.

La distribución de trivalentes por célula en las 200 CMP analizadas se expresa en la Tabla I. Esta distribución se ajusta a la binomial  $(0,7 + 0,3)^7$ , donde 0,7 es la probabilidad de que tres cromosomas homólogos estén formando un trivalente en metafase I y 0,3 la probabilidad de que formen un bivalente más un univalente (ver NARANJO *et al.* 1979).

Ahora bien, tres cromosomas homólogos apareados en trivalente durante paquitena, pueden no dar lugar a un trivalente en metafase I si no se han formado los quiasmas apropiados. En consecuencia, la probabilidad de formación de trivalentes estimada anteriormente con un valor de 0,7, puede resultar por debajo de su valor real. SYBENGA (1965) desarrolla un método aplicable a trisómicos primarios que estima con mayor exactitud la probabilidad de que los tres cromosomas homólogos estén apareados en paquitena. Este método se basa en las frecuencias que presentan los distintos tipos de trivalente (cadena, sartén o Y), bivalentes (abiertos o cerrados) y trio de univalentes. Dicha probabilidad (f) de formación de un trivalente en paquitena viene dada por la expresión siguiente:

$$f = \frac{\text{triv. cadena} + \text{triv. sartén}}{\text{biv. cerrados} + \text{triv. cadena} + \text{triv. sartén}}$$

Este método puede ser perfectamente aplicable a los triploides que se consideran como trisómicos primarios múltiples. En 100 CMP de las 200 analizadas fue posible distinguir con claridad los distintos tipos de trivalentes siendo sus frecuencias respectivas: trivalentes en cadena 291, trivalentes en sartén 191 y trivalentes en forma de Y 9. Además aparecieron 195 bivalentes cerrados, 14 bivalentes abiertos y los correspondientes 209 univalentes. Para estos valores corresponde una  $f = 0,71$  y  $1-f = 0,29$ . Además, considerando que entre dos brazos unidos ha ocurrido como mínimo un quiasma, fue posible establecer en estas 100 CMP la distribución del número mínimo de quiasmas por célula (Tabla I). Dicha distribución presenta una media de  $15,77 \pm 0,28$ .

#### *Distribución cromosómica en anafase I*

En anafase I se observaron dos tipos de comportamiento cromosómico: cromosomas que dividían reduccionalmente, las dos cromátidas dirigidas al mismo polo, y cromosomas que aparecían como retardatarios y dividían ecuacionalmente, una cromátida a cada polo. Mientras que el primer tipo de comportamiento lo pueden presentar cromosomas que en metafase I están apareados o como univalentes, el segundo es exclusivo de los univalentes.

Para establecer como tiene lugar la distribución cromosómica en anafase I hay que tener en cuenta las siguientes observaciones:

1) En todas las CMP se van a repartir siete cromosomas a cada polo puesto que de cada trío de homólogos, al menos dos estaban apareados en metafase I.

TABLA I

Distribución de frecuencias para trivalentes y número mínimo de quiasmas por célula en un triploide de centeno

Trivalentes	Configuración meiótica		Número células	Número (l) mínimo de quiasmas	Número de células
	Bivalentes	Univalentes			
0	7	7	0	20	1
1	6	6	0	19	4
2	5	5	6	18	5
3	4	4	18	17	15
4	3	3	48	16	33
5	2	2	64	15	24
6	1	1	43	14	14
7	0	0	21	13	4
Total			200		100
Media			4,91 ± 0,17		15,77 ± 0,28

(1) El número mínimo de quiasmas se ha establecido en base a que un trivalente en cadena forma como mínimo dos quiasmas, un trivalente en sartén tres, un trivalente en Y dos, un bivalente cerrado dos y un bivalente abierto 1. Los tres tipos de trivalentes fueron claramente distinguidos en las 100 CMP analizadas.

2) Los siete cromosomas restantes pueden dividir ecuacionalmente o reduccionalmente.

2.1) El número de cromosomas que dividen ecuacionalmente por CMP va a venir determinado por dos factores: el número de univalentes existentes en esa célula en metafase I y la probabilidad de que dividan ecuacionalmente. En el supuesto de que los univalentes fueran independientes con respecto a su orientación, y que todos tuvieran la misma probabilidad  $e$  de dividir ecuacionalmente (y por tanto reduccionalmente,  $r = 1-e$ ), la distribución de univalentes por célula dividiendo ecuacionalmente vendría dada por la siguientes expresión (GIRÁLDEZ and LACADENA, 1976).

$$E_x = \sum_{i=0}^{i=5} P_i \binom{i}{x} e^x r^{i-x}$$

donde:

$i$  = número de univalentes por célula en metafase I.

$E_x$  = probabilidad de obtener una CMP en anafase I con  $x$  univalentes dividiendo ecuacionalmente.

$P_i$  = probabilidad de que dicha CMP presentara en metafase I  $i$  univalentes.

Siguiendo a GIRÁLDEZ y LACADENA (1976) el valor de  $e$  lo podemos estimar de la siguiente manera:

$$e = \frac{M \times E}{A \times U}$$

siendo:

M = número de CMP examinadas en metafase I.

A = número de CMP examinadas en anafase I.

E = número de univalentes dividiendo ecuacionalmente en las A células.

U = número de univalentes en las M células.

De acuerdo con esta expresión el valor de  $e$  resultó ser  $e = 0,64$  y por tanto  $r = 0,36$ .

2.2) Si los cromosomas que dividen reduccionalmente, procedan de trivalentes o de univalentes, son independientes y tienen 1/2 de probabilidad para emigrar a un polo determinado, la probabilidad de las distintas clases de distribución vendría dada por la expresión (SFICAS, 1963):

$$E_z = 2 \binom{7-x}{z} \left(\frac{1}{2}\right)^{7-x} \quad \text{para } z < \frac{7-x}{2}$$

$$E_z = \binom{7-x}{z} \left(\frac{1}{2}\right)^{7-x} \quad \text{para } z = \frac{7-x}{2}$$

siendo:

$E_z$  = probabilidad de que en una CMP con 7-x cromosomas dividiendo reduccionalmente, z vayan a un polo y 7-x-z vayan al polo opuesto (x = univalentes dividiendo ecuacionalmente en esa CMP).

2.3) La probabilidad compuesta de obtener una CMP con x cromosomas dividiendo ecuacionalmente y 7-x dividiendo reduccionalmente de los cuales: z van a un polo y el resto 7-x-z al polo opuesto, vendrá dada por la expresión:

$$\bar{E}_z E_x = 2 \binom{7-x}{z} \left(\frac{1}{2}\right)^{7-x} \sum_{i=0}^{i=5} P_i \binom{i}{x} e^x r^{i-x} \quad \text{para } z < \frac{7-x}{2}$$

$$\bar{E}_z E_x = \binom{7-x}{z} \left(\frac{1}{2}\right)^{7-x} \sum_{i=0}^{i=5} P_i \binom{i}{x} e^x r^{i-x} \quad \text{para } z = \frac{7-x}{2}$$

3) Considerando el total de 21 cromosomas, las distintas clases de células que aparecerán en anafase I tendrían x cromosomas dividiendo ecuacionalmente, 14-x-z en un polo y 7 + z en el polo opuesto. En la Tabla II se expresan los valores observados para cada uno de estos tipos de células y los esperados según

las expresiones indicadas en el punto 2.3. La prueba de  $\chi^2$  efectuada indica que estas distribuciones no difieren significativamente y por lo tanto, 14 de los 21 cromosomas se distribuyen en dos grupos de 7 cada uno a un polo y de los 7

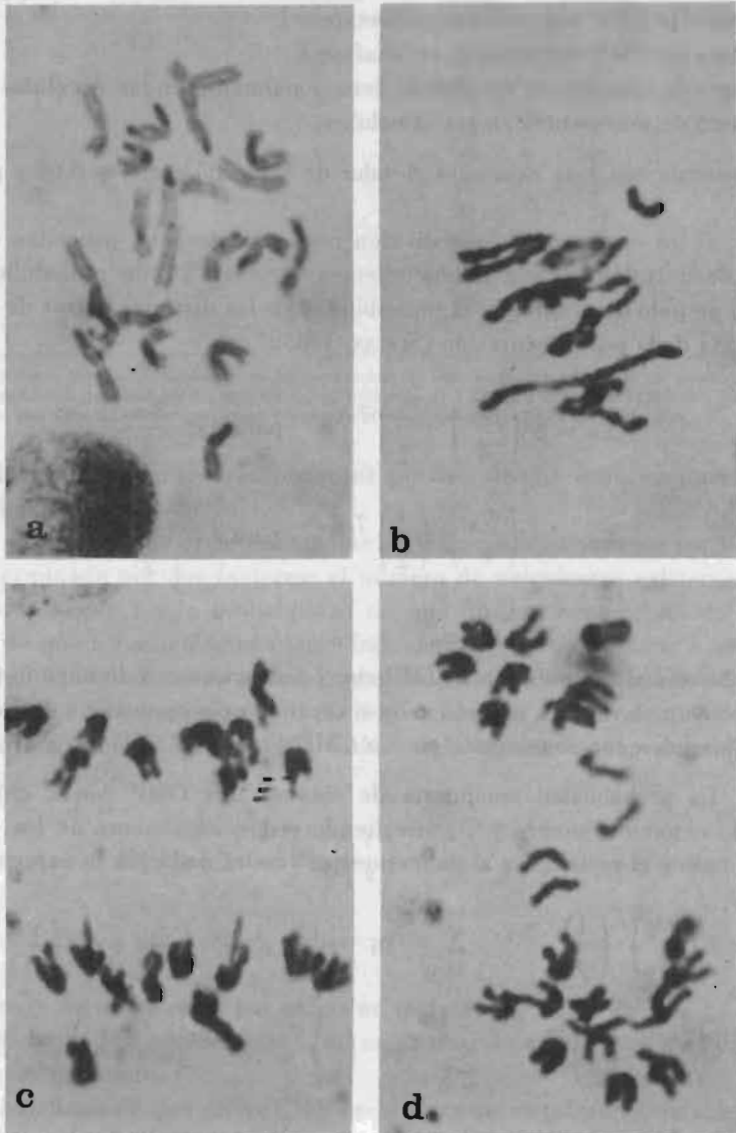


Fig. 1.—Centeno triploide,  $2n = 3x = 21$  cromosomas. a) Metafase somática. b) Metafase I mostrando 5 III en cadena, 1 III en sartén, 1 II cerrado y 1 I. c) Anafase I con 11 cromosomas en un polo y 10 en el otro. d) Anafase I con dos cromosomas dividiendo ecuacionalmente, 11 cromosomas en un polo y 8 en el otro.

cromosomas extras, los derivados de univalentes dividen ecuacionalmente con una probabilidad  $e = 0,64$  y los restantes se distribuyen al azar entre los dos polos anafásicos.

TABLA II

Comparación entre los resultados observados para la distribución de cromosomas en la anafase I de un triploide de centeno y los esperados según una distribución al azar de los 7 cromosomas extra, tanto si los univalentes dividen ecuacionalmente como reduccionalmente

Ecuacional X	Distribución		Valores esperados	Valores observados
	Polo 1 14-X-Z	Polo 2 7 + Z		
0	14	7	0,74	3
0	13	8	5,17	4
0	12	9	15,53	16
0	11	10	25,88	31
1	13	7	2,23	3
1	12	8	13,39	11
1	11	9	33,47	22
1	10	10	22,32	26
2	12	7	3,40	2
2	11	8	16,98	21
2	10	9	33,97	32
3	11	7	2,68	4
3	10	8	10,72	8
3	9	9	8,04	9
4	10	7	1,21	2
4	9	8	3,63	6
5	-	-	0,64	0
Total			200,00	200
$\chi^2 = 7,43$			g.l. = 8	$0,30 < p < 0,50$

## DISCUSION

### Apareamiento

Según DAWSON (1962), la frecuencia media de trivalentes por célula en los triploides puede ser influida por tres factores: a) La longitud de los cromosomas: a mayor longitud corresponde una mayor probabilidad de que se asocien los tres homólogos. b) El número haploide de cromosomas, la elevación del número



haploide disminuiría la frecuencia de trivalentes. c) La frecuencia de quiasmas, ésta guarda una relación directa con la probabilidad de que una asociación trivalente se mantenga como tal en metafase I.

El primer punto queda reflejado al comparar las frecuencias medias de trivalentes por célula observadas en *Lycopersicum esculentum*, 4,9 III por célula ( $2n = 3x = 24$ , cromosomas relativamente cortos) (UPCOTT, 1935) y *Lilium tigrinum*, 9,7 III por célula ( $2n = 3x = 24$ , cromosomas relativamente largos) (CHANDLER *et al.*, 1937). El efecto de la longitud se puede observar también en el comportamiento de un triploide de maíz en el que los cromosomas más largos forman más trivalentes que los más cortos (MCCLINTOCK, 1929). Por el contrario, en el centeno, que tiene cromosomas de longitud muy similar (GIRALDEZ *et al.*, 1979), todos los cromosomas presentan la misma probabilidad de formar trivalente en metafase I en el triploide analizado.

El efecto de la frecuencia de quiasmas puede ser responsable, al menos en parte, de que en un trisómico primario de centeno con 13,01 quiasmas por célula apareciera un trivalente en metafase I con una probabilidad de 0,39 (SYBENGA, 1965), mientras que en el triploide aquí estudiado con una media de 15,77 quiasmas por célula (Tabla I) se obtenga una probabilidad de formación de un trivalente de 0,7. Es decir, que la mayor frecuencia de quiasmas del triploide podría haber determinado el aumento de la probabilidad de aparición de trivalentes en metafase I con respecto al trisómico.

Por otro lado, el número (mínimo) de quiasmas estimado en el triploide es mayor que el que se observa en los diploides normales (NARANJO and LACADENA, 1980). Este resultado está en consonancia con los obtenidos por MATHER (1939) en maíz y que sugieren que el aumento en el número de genomas produce una elevación en la capacidad bioquímica de la célula que afecta a la formación de quiasmas. Esta interpretación podría explicar también las diferencias en el número de quiasmas entre el triploide y el trisómico señalado anteriormente.

Las diferentes configuraciones aparecidas en metafase I son consecuencia de los diferentes tipos de asociaciones que se producen entre los tres cromosomas que compiten en el apareamiento. A su vez, las posibilidades de apareamiento entre los cromosomas homólogos están condicionadas por el número de puntos de iniciación de dicho apareamiento. Con sólo dos puntos de iniciación se pueden obtener asociaciones de dos cromosomas o de tres cromosomas homólogos, con una frecuencia de  $1/3$  y  $2/3$  respectivamente, si no existen preferencias en el apareamiento (SYBENGA, 1975). Esto daría lugar a que en el triploide los trivalentes se distribuyeran según la binomial  $(2/3 + 1/3)^7$ . Sin embargo, los valores encontrados no siguen esta distribución ( $\chi^2 = 11,06$ , g.l. = 5,  $p = 0,05$ ) sino la distribución  $(0,7 + 0,3)^7$ , en la que 0,7 que es la probabilidad de que aparezca un trivalente en metafase I, es mayor de  $2/3$ . Pero mayor aún es la probabilidad de que se forme un trivalente en paquitena  $f = 0,71$ , y por lo tanto se puede concluir que en

algunos o en todos los cromosomas del triploide hay más de dos puntos de iniciación del apareamiento, o que dos cromosomas tienen preferencia para iniciar el apareamiento en un punto y otros dos en el otro.

### Distribución cromosómica

Los resultados observados en la distribución cromosómica en anafase I ponen de manifiesto los siguientes hechos:

1) Los univalentes de centeno dividen ecuacionalmente con la misma probabilidad,  $e = 0,64$ , e independientemente los unos de los otros. Este hecho había sido observado también por GIRÁLDEZ y LACADENA (1976) en ciertos pares de univalentes producidos en centeno consanguíneo desinápico. Encontraban dos tipos de pares de univalentes: unos que dividían siempre reduccionalmente emigrando un cromosoma a cada polo y otros en que cada miembro del par dividía ecuacional o reduccionalmente e independientemente del otro miembro. Sugieren que la diferencia entre ambos tipos pueda ser achacada a que se originan en distinto momento durante la metafase I. En nuestro caso los univalentes derivarían prácticamente en su totalidad de cromosomas no apareados, como parecen indicar las probabilidades obtenidas para asociaciones trivalentes en paquitenia (0,71) y en metafase I (0,70). Por tanto no cabe esperar ningún comportamiento diferencial.

2) Los univalentes de centeno que dividen reduccionalmente ( $r = 0,36$ ) se distribuyen al azar entre los dos polos anafásicos.

3) Los cromosomas integrados en un trivalente se separan dos a un polo y el tercero al opuesto. Las diferentes asociaciones son independientes entre sí en su orientación en el huso y esto determina una distribución al azar de los cromosomas.

Estos resultados son contradictorios con los encontrados en *Datura stramonium* (SATINA and BLACKESLEE, 1937 a y b) donde aparece una fuerte tendencia a que los cromosomas del grupo extra emigren juntos al mismo polo. Del mismo modo, dos triploides de *Endymion nonscriptus* y *E. hispanicus* (WILSON, 1959), con el mismo número cromosómico ( $2n = 3x = 24$ ) y frecuencias de apareamiento similares, presentan sin embargo, una diferente distribución cromosómica: al azar *E. nonscriptus*, no al azar *E. hispanicus*. Estos resultados contrapuestos no permiten generalizar sobre los mecanismos que regulan la distribución cromosómica en los triploides.

### BIBLIOGRAFIA

- CHANDLER, C., W. M. PORTERFIELD and A. B. STOUT (1937).—Microsporogenesis in diploid and triploid types of *Lilium tigrinum* with special reference to abortions Cytologia Fujii Jub. vol., 756-784.
- DAWSON, G. W. (1962).—An introduction to the cytogenetics of polyploids. Blackwell Scient. Publ., Oxford, 96 pp.

- GIRÁLDEZ, R., M. C. CERMEÑO and J. ORELLANA (1979).—Comparison of C-banding pattern in the chromosomes of inbred lines and open pollinated varieties of rye, *Secale cereale* L. *Z Pflanzenzüchtg.* **83**: 40-48.
- GIRÁLDEZ, R. and J. R. LACADENA (1976).—Univalent behaviour at anaphase I in desynaptic rye. *Chromosoma*, **59**: 63-72.
- JOHN, B. and K. R. LEWIS (1965).—*The meiotic system. Protoplasmatologia*, VI/F/1, Springer-Verlag, Wien, IV + 335 pp.
- MATHER, K. (1939).—Competition for chiasmata in diploid and trisomic maize. *Chromosoma*, **1**: 119-129.
- MACCLINTOCK, B. (1929).—A cytological and genetical study of triploid maize. *Genetics*, **14**: 180-222.
- NARANJO, T. and J. R. LACADENA (1980).—Interaction between wheat chromosomes and rye telomeric heterochromatin on meiotic pairing of chromosome pair 1 R of rye in wheat rye derivatives. *Chromosoma*, **81**: 249-261.
- NARANJO, T., J. R. LACADENA and R. GIRÁLDEZ (1979).—Interaction between wheat and rye genomes on homologous and homoelogous pairing. *Z. Pflanzenzüchtg.*, **82**: 289-305.
- SATINA, S. and A. F. BLAKESLEE (1937a).—Chromosome behaviour in triploid *Datura stramonium*. I. The male gametophyte. *Amer. J. Bot.*, **24**: 518-527.
- (1937b).—Chromosome behaviour in triploid *Datura*. II. The female gametophyte. *Amer. J. Bot.*, **24**: 621-627.
- SFICAS, A. G. (1963).—Statistical analysis of chromosome distribution to the poles in interspecific hybrids with variable chromosome pairing. *Genet. Res.*, **4**: 266-276.
- SYBENGA, J. (1965).—The quantitative analysis of chromosome pairing and chiasma formation based on the relative frequencies of MI configurations. II. Primary trisomics. *Genetica*, **36**: 339-350.
- (1975).—*Meiotic Configurations. Monographs on Theoretical and Applied Genetics*, 1, Springer Verlag, Berlin, X + 251 pp.
- TJIO, J. K., E. SANCHEZ-MONGE y M. ALVAREZ-PEÑA (1953).—Centenos tetraploides españoles. *Agricultura*, **251**: 138-140.
- UPCOTT, M. B. (1935).—The cytology of triploid and tetraploid *Lycopersicum esculentum*. *J. Genetics*, **31**: 1-19.
- WILSON, J. Y. (1959).—Cytogenetics of triploid bluebells, *Endymion nonscriptus* (L.) Garcke and *E. hispanicus* (M. U.) Choward. *Cytologia*, **23**: 435-446.

## CARACTERIZACION DE ENZIMAS PLASMIDICOS MODIFICADORES DE AMINOGLICOSIDOS EN UN AISLADO CLINICO DE *Serratia marcescens*

Por  
M. GLORIA BLANCO, M. CARMEN MENDOZA

y  
CARLOS HARDISSON

Departamento Interfacultativo de Microbiología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se estudia la naturaleza de la resistencia a nueve antibióticos aminoglicósidos que expresa un aislado clínico de *Serratia marcescens*. Esta cepa alberga dos plásmidos de resistencia de masa molecular 50 y 85 megadaltons respectivamente, que pueden cotransferirse por conjugación a *Escherichia coli*. La expresión fenotípica de las resistencias ha sido correlacionada con las actividades adeniltransferasa y acetiltransferasa tanto en células transconjugantes de *E. coli*, albergando uno o ambos plásmidos, como en segregantes plasmídicos obtenidos por tratamiento con bromuro de etidio, que habían perdido algunas marcas de resistencia a aminoglicósidos. Se encontró que el plásmido de 50 Mdal. codifica una adeniltransferasa cuyo perfil de sustratos incluye estreptomina y espectinomicina. El plásmido de 85 Mdal. codifica tres enzimas diferentes: una adeniltransferasa similar a la anterior pero con menor afinidad por los sustratos; una acetiltransferasa con fuerte afinidad por gentamicina, tobramicina y sisomicina y menor por kanamicina y deoxikanamicina B; y una fosfo-transferasa cuyo perfil incluye al menos kanamicina, neomicina, aminosidina y ribostamicina.

### SUMMARY

The nature of resistance to nine aminoglycoside antibiotics shown in a clinical isolate of *Serratia marcescens* is studied. This strain carries two resistance plasmids of 50 and 85 megadaltons in size that were cotransferred by conjugation to *Escherichia coli*. The phenotypic resistance has been correlated with the adenyltransferase and acetyltransferase activities of the *E. coli* transconjugants harboring one or both plasmids, and in plasmidic segregants obtained by ethidium bromide treatment which showed loss of some resistance markers to aminoglycosides. It was found that the plasmid of 50 Mdal. codifies an adenyltransferase with a profile of substrates which includes streptomycin and spectinomycin, whereas the 85 Mdal. plasmid codifies three different enzymes: an adenyltransferase similar to the preceding, but with less affinity for the substrates; an acetyltransferase with strong affinity for gentamicin, sisomicin and tobramycin, but weak for kanamycin and deoxykanamycin B; and a phosphotransferase whose profile includes at least kanamycin, neomycin, aminosidine and ribostamicine. The experimental data obtained indicate that in the resistance to nine aminoglycosides in the nosocomial strain of *S. marcescens* three different enzymes are implicated.

## INTRODUCCION

Los aminoglicósidos constituyen un grupo de antibióticos cuya utilización es básica en la quimioterapia actual. Su espectro de acción incluye fundamentalmente bacterias Gram-negativas, micobacterias y *Staphylococcus aureus*. En cuanto a su modo de acción tienen un efecto bactericida, sobre las cepas susceptibles, relacionado con la interferencia en la síntesis protéica a nivel de la subunidad ribosómica 30 S. Este hecho determina la utilización en terapia de estos antibióticos, debido a la existencia de grandes diferencias entre el sistema ribosómico de las bacterias y el de las células eucariotas.

La resistencia a los aminoglicósidos, en situaciones clínicas, se ha planteado desde poco tiempo después de su introducción en terapia, estando determinada predominantemente por la existencia de plásmidos de resistencia (plásmidos R) que codifican la síntesis de enzimas periplásmicos específicos que modifican químicamente al aminoglicósido provocando un bloqueo en su sistema de transporte<sup>5</sup>. Los mecanismos de modificación descritos comprenden: acetilación de grupos amino, adenilación y fosforilación de grupos hidróxilo<sup>2</sup>. Para que la modificación tenga lugar, además del enzima y del aminoglicósido sustrato, se requiere la presencia de un catión divalente y de un cofactor (acetil-coenzima A para la N-acetilación y un nucleótido para la O-adenilación y O-fosforilación).

Actualmente el método de elección para la valoración de las distintas actividades enzimáticas es el radioenzimático, descrito inicialmente por OZANNE<sup>11</sup> y ampliando y modificajoo por BENVENISTE y DAVIES<sup>1</sup>, que se basa en la valoración de la transferencia al aminoglicósido de los cofactores, que intervienen en la reacción, marcados radioactivamente.

El objeto del presente trabajo ha sido poner de manifiesto si la resistencia a nueve aminoglicósidos, habitualmente utilizados en clínica, que presentaba la cepa de origen hospitalario de *Serratia marcescens* CSC 29381 era debida a la presencia de enzimas modificadores de aminoglicósidos de origen plasmídico. Para ello hemos desarrollado los siguientes puntos:

- 1.-Elección de un sistema de células apropiado.
- 2.-Caracterización de los elementos genéticos extracromosómicos portadores de las resistencias.
- 3.-Valoración de las distintas actividades enzimáticas implicadas en la resistencia a aminoglicósidos.

## MATERIALES Y METODOS

### *Cepas bacterianas*

*Serratia marcescens* CSC 29381, aislada de una muestra de tejido pulmonar en el Servicio de Microbiología de la Ciudad Sanitaria «Ntra. Sra. de Covadonga»



de Oviedo, no pigmentada y resistente a ampicilina, carbenicilina, cefalosporina, sulfadiazina, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, fosfomicina, a ocho aminoglicósidos (estreptomina, gentamicina, sisomicina, tobramicina, kanamicina, neomicina, aminosidina, ribostamicina) y al aminociclitol espectinomicina.

*Serratia marcescens* CECT 159, cepa neotipo, sensible a todos los antibióticos anteriormente descritos.

*Escherichia coli* K12 W3110, resistente a la rifampicina. Dos transconjugantes de *E. coli* W3110 que en experimentos previos de conjugación habían recibido alguno de los siguientes bloques de resistencia, Tc 1: ampicilina, carbenicilina, fosfomicina, estreptomina y espectinomicina. Tc 2: todos los del Tc 1 y además sulfadiazina, trimetoprim-sulfametoxazol, cefalosporina, tetraciclina y los aminoglicósidos gentamicina, sisomicina, kanamicina, neomicina, aminosidina y ribostamicina.

### *Pruebas de sensibilidad a antibióticos*

La resistencia a los antibióticos fue determinada por técnicas de difusión en agar recomendadas por la O.M.S. (antibiograma, replica en placas conteniendo antibióticos y C.I.M.) con las modificaciones descritas en trabajos previos<sup>7,8</sup>.

### *Obtención de segregantes*

El método utilizado se basó en las técnicas descritas por SALISBURY, HEDGES y DATTA<sup>12</sup> y TOMOEDA *et al.*<sup>13</sup> utilizando bromuro de etidio en concentraciones subinhibitorias (150-200  $\mu\text{g/ml}$ ).

### *Aislamiento del ADN plasmídico*

El ácido desoxirribonucleico plasmídico fue extraído de las células por el método del lisado claro de CLEWELL y HELINSKI<sup>3</sup> parcialmente modificado<sup>8</sup>.

### *Electroforesis en geles de agarosa y estimación del peso molecular*

Las bandas de ADN plasmídico fueron visualizadas por electroforesis de geles de agarosa en placas horizontales aplicando el método de MEYERS *et al.*<sup>9</sup>. Para la estimación de la masa molecular de los plásmidos problema se incluyeron en los geles plásmidos patrones de masa molecular conocida. La electroforesis fue realizada durante 5 horas a 100 m.A. Después de haber sido teñidas con bromuro de etidio, las placas fueron visualizadas en un transiluminador de luz ultravioleta, y posteriormente fotografiadas.

Las movilidades relativas de los plásmidos problema fueron correlacionadas frente al logaritmo de las masas moleculares de los plásmidos standards.



Para el ensayo radioenzimático nos basamos en el método descrito por BENVENISTE y DAVIES<sup>1</sup> según el siguiente protocolo:

1.-Obtención de extractos enzimáticos crudos.

Para la preparación de los extractos enzimáticos crudos las células fueron crecidas a 37°C en un medio LB (Luria Broth) hasta la fase logarítmica de crecimiento, sometidas a centrifugación y lavado con tampón (tris-clorato 10 mM, cloruro magnésico 10 mM y β-mercaptoetanol 3 mM, pH 7,8). Las células resuspendidas en el mismo tampón fueron sometidas a un proceso de sonicado durante 3 intervalos de 45 segundos. Los extractos enzimáticos resultantes fueron centrifugados a 45.000 rpm durante 60 minutos, y el sobrenadante, que es el extracto enzimático crudo, fue mantenido en hielo hasta proceder al ensayo radioenzimático.

2a.-Componentes integrantes de la mezcla reactiva para la valoración de la actividad adeniltransferasa:

10 µl. de ATP (<sup>14</sup>C) con una actividad de 10 µCi/µmol/ml.

10 µl. de una solución de 1 mg/ml del antibiótico sustrato (estreptomicina, espectinomina, kanamicina, gentamicina, neomicina).

10 µl. de extracto enzimático crudo.

10 µl. de tampón (Tris 1 M, cloruro magnésico 1 M, cloruro amónico 2 M y DTT 0,5 M) pH 7,8.

2b.-Componentes de la mezcla reactiva para la valoración de la actividad acetiltransferasa:

10 µl. de Acetil-coenzima A (<sup>14</sup>C) con una actividad de 25 µCi/ml.

10 µl. de una solución de 1 mg/ml de antibiótico sustrato (gentamicina, sisomicina, tobramicina, kanamicina, neomicina, aminosidina, amikacina).

10 µl. de extracto enzimático crudo.

10 µl. de tampón pH 5,8 (ácido cítrico 0,6 M, citrato sódico 0,6 M, acetato magnésico 1 M, DTT 0,5 M), o bien tampón pH 7,6 (Tris base 1 M, cloruro magnésico 1 M, cloruro amónico 1 M, DTT 0,5 M).

3.-Desarrollo y valoración de la reacción.

Después de incubada la mezcla 30 minutos a 30°C; alícuotas de 20 µl. fueron pipeteadas en filtros de fosfocelulosa Whatman P-81, de 1 cm<sup>2</sup>. Estos filtros, al estar cargados negativamente, permiten la unión electrostática de los aminoglicósidos, que tienen naturaleza catiónica. Los filtros fueron introducidos en 200 ml. de agua destilada a 80°C durante 2 ó 3 minutos y lavados tres veces en agua destilada fría. Una vez secos se procedió a la lectura de la radioactividad fijada en un contador de centelleo que registra cuentas por minuto. Puesto que la reacción de modificación es estequiométrica, la suma de radioactividad fijada es directamente proporcional a la cantidad de enzima presente en el extracto. Para hallar el

perfil de sustrato del enzima, los valores, obtenidos en cuentas por minuto, para los distintos sustratos se expresan en forma de porcentajes relativos a uno de ellos al que se le da el valor de 100.

## RESULTADOS

### I. ELECCIÓN DEL SISTEMA DE CÉLULAS

En la literatura se cita que un determinado enzima puede modificar diferentes antibióticos aminoglicósidos y que un determinado aminoglicósido puede ser modificado por más de un tipo de enzimas<sup>5,10</sup>. Para poder aplicar el método radioenzimático necesitábamos un sistema de células apropiado en el que no se solapasen los efectos de los diferentes tipos de posibles enzimas responsables de la resistencia múltiple a aminoglicósidos que expresaba el aislado clínico de *S. marcescens* CSC 29381. Con este fin intentamos obtener y seleccionar distintos tipos de segregantes plasmídicos en la cepa de *S. marcescens* y en los dos tipos de células transconjugantes de *E. coli* que habían recibido distintas marcas de resistencia de *S. marcescens* en experimentos previos de conjugación. Para ello los tres tipos de células fueron crecidas en presencia de 150-200 µg/ml de bromuro de etidio. El bromuro de etidio es un agente intercalante que, a concentraciones subinhibitorias, actúa impidiendo la replicación del ADN plasmídico sin afectar a la replicación del ADN cromosómico.

En células de *S. marcescens* no se obtuvieron segregantes en los que se hubiesen eliminado todas o parte de las marcas de resistencia, mientras que en células transconjugantes de *E. coli* se obtuvieron distintos tipos de segregantes y, ante los resultados obtenidos, fue seleccionado el sistema de células que se incluye en la Tabla I.

### II. ANÁLISIS DEL ADN PLASMÍDICO

Con objeto de caracterizar el plásmido o plásmidos de resistencia presentes en los distintos tipos de células seleccionadas, cultivos independientes de toda ellas fueron crecidos, lisados y analizado el ADN plasmídico, presente en los lisados, por electroforesis en geles de agarosa. En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos, puede observarse que en los lisados de *S. marcescens* CSC 29381 aparecen dos bandas que corresponden a dos plásmidos de 85 y 50 megadaltons de masa molecular, a los que hemos designado como pUO 320 y pUO 321 respectivamente. Dos bandas de la misma masa aparecen en *E. coli* Tc 2, mientras que en *E. coli* Tc 1 solamente aparece la banda de 50 Mdal. y en *E. coli* Tc 2 segregante 1 la de 85 Mdal. En los otros dos tipos de segregantes obtenidos a partir de células de *E. coli* Tc 2 se observa la banda de 50 Mdal. y una banda con movilidad ligeramente superior a la del plásmido de 85 Mdal. (pUO 320) por lo

**TABLA I**  
**Correlación entre niveles de resistencia a aminoglicósidos (C.I.M.) y presencia de plásmidos en el sistema de cepas elegido**

Cepa	Concentración inhibitoria mínima (µg/ml)											Plásmidos	
	Sm	Sp	Gm	Si	Tm	Km	Nm	Am	Rib	DKB	Ak	Masa molecular (megadaltons)	Denominación
<i>S. marcescens</i> CSC 29381	64	> 128	128	64	16	> 128	> 128	> 128	> 128	8	2	85 ; 50	(a) pUO 320 ; pUO 321
<i>S. marcescens</i> CECT 159	2	16	< 1	< 1	1	2	2	1	8	2	1	-	-
<i>E. coli</i> K12 W3110	< 1	8	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	-	-
Transconjugante 1	32	128	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	- 50	- pUO 321
Transconjugante 2	32	> 128	32	16	4	> 128	128	> 128	> 128	2	1	85 ; 50	pUO 320 ; pUO 321
Tc-2 segregante 1	16	64	16	8	< 1	> 128	16	> 128	> 128	< 1	< 1	85	- pUO 320 ;
Tc-2 segregante 2	32	> 128	16	16	4	< 1	< 1	< 1	2	2	4	≈ 83 ; 50	(b) pUO 320Δ <sup>1</sup> ; pUO 321
Tc-2 segregante 3	32	> 128	< 1	2	< 1	128	128	> 128	> 128	< 1	< 1	≈ 83 ; 50	(c) pUO 320Δ <sup>2</sup> ; pUO 321

Símbolos.-Sm: estreptomina; Sp: espectinomina; Gm: gentamicina; Si: sisomicina; Tm: tobramicina; Km: kanamicina; Nm: neomicina; Am: amikacina; Rib: ribostamicina; DKB: deoxikanamicina B; Ak: amikacina.

(a) pUO: plásmido de la Universidad de Oviedo.

(b) y (c): Delecciones en el plásmido pUO 320.

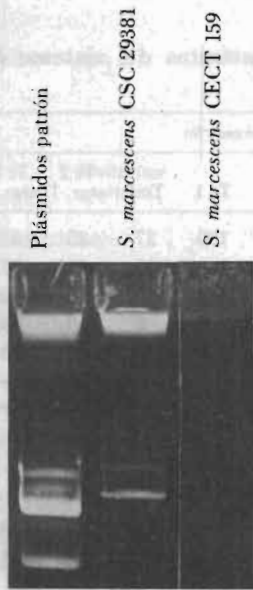


Fig. 1a

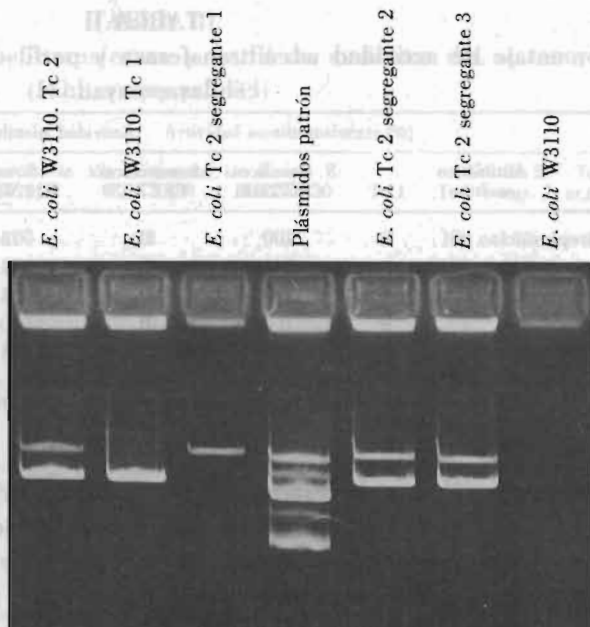


Fig. 1b

Fig. 1.—Electroforesis en geles de agarosa de plásmidos de resistencia a aminoglicósidos en *S. marcescens* (figura 1a), y en derivados de *E. coli* W3110 (figura 1b). Masa molecular de los plásmidos patrón: R124 (77 Mdal.); R1 (62 Mdal.); R1-dRd19K (47 Mdal.); RP4 (34 Mdal.); R388 (21 Mdal.).

que suponemos que este plásmido, en ambos casos, ha sufrido una delección de aproximadamente 2-3 Mdal. Los segregantes que han perdido la expresión fenotípica de todas las resistencias no presentan ninguna banda de ADN extracromosómico. En la Tabla I se correlaciona el tipo y niveles de resistencia que expresan diferentes tipos de células con la masa molecular de los plásmidos que albergan.

### III. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ADENILTRANSFERASA

Para valorar la posible actividad adeniltransferasa de las cepas seleccionadas, las células fueron crecidas y lisadas y los extractos enzimáticos crudos fueron ensayados en presencia de ATP ( $^{14}\text{C}$ ). En la Tabla II se relacionan los porcentajes de actividad de los extractos de los diferentes tipos de células frente a cinco moléculas de aminoglicósidos y se puede observar que, mientras los procedentes de la cepa neotipo, *S. marcescens* 159, no muestran actividad, los del aislado clínico *S. marcescens* CSC 29381 muestran actividad y con un perfil de sustratos específico para estreptomycin y espectinomycin. Esta actividad también la muestran los dos tipos de células transconjugantes y los distintos tipos de

TABLA II

Porcentaje de actividad adeniltransferasa y perfil de sustratos del sistema de células ensayado (1)

Antibiótico sustrato	Actividad adeniltransferasa (%)						
	<i>S. marcescens</i> CSC 29381	<i>S. marcescens</i> CECT 159	<i>E. coli</i> K12 W3110	Tc 1	Tc 2	Tc 2 segr. 1	Tc 2 segr. 2
Estreptomina	100	0	13	100	37	25	37
Espectinomicina	145	0	4	140	49	28	72
Kanamicina	0	0	4	3	0	1	0
Gentamicina	0	0	0	0	0	0	0
Neomicina	0	0	1	0	1	0	0

(1) Los porcentajes de actividad están calculados en relación a la estreptomina, e independientemente para *S. marcescens* y *E. coli*.

segregantes. Hemos de resaltar que los porcentajes de adenilación mostrados por el Tc-1, que sólo presenta resistencia a aminoglicósidos estreptidínicos (estreptomina) y al aminociclitol espectinomicina, son superiores a los valorados en las células Tc 2, que además presentaban resistencia a por lo menos 6 aminoglicósidos deoxi-estreptamínicos (Tabla II).

Cuando se correlaciona la expresión fenotípica de la resistencia (CIM) (Tabla I) con el porcentaje de actividad adeniltransferasa (Tabla II) se observa que todas las cepas resistentes a estreptomina y espectinomicina presentan actividad adeniltransferasa con un perfil de sustratos que incluye solamente estas dos moléculas.

#### IV. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ACETILTRANSFERASA

Para valorar la actividad acetiltransferasa de las cepas seleccionadas, los extractos enzimáticos crudos del sistema de cepas elegido fueron ensayados en presencia de Acetil-CoA. Solamente se ha ensayado dicha actividad frente a los aminoglicósidos deoxi-estreptamínicos ya que, en la literatura, nunca se ha descrito una acetiltransferasa con afinidad por los aminoglicósidos estreptidínicos. En la Tabla III se relacionan los porcentajes de actividad de los extractos enzimáticos del sistema de células seleccionado frente a ocho aminoglicósidos deoxi-estreptamínicos, observándose que mientras que en el caso de la cepa neotipo, *S. marcescens* CECT 159, no se presenta actividad, los extractos procedentes del aislado clínico de *S. marcescens* CSC 29381 muestran actividad acetilante con gran especificidad de sustrato por gentamicina, tobramicina y sisomicina y en menor grado por kanamicina y DKB. Dicha actividad también la presentan las células Tc 2 y su segregante de tipo 2. Sin embargo, como era de esperar, las células sensibles fenotípicamente a los antibióticos deoxi-estreptamínicos ensayados no presentan actividad enzimática acetilante.

TABLA III

Porcentaje de actividad acetiltransferasa y perfil de sustratos del sistema de células ensayado (1)

Antibiótico sustrato	Actividad acetiltransferasa (%)						
	<i>S. marcescens</i> CSC 29381	<i>S. marcescens</i> CECT 159	<i>E. coli</i> K12 W3110	Tc 1	Tc 2	Tc 2 segr. 2	Tc 2 segr. 3
Gentamicina	100	1	2	2	100	80	0
Tobramicina	108	0	0	0	27	22	0
Sisomicina	106	3	1	1	20	12	0
Kanamicina	63	0	0	0	5	2	0
DKB	61	0	0	0	2	5	0
Neomicina	6	3	3	2	0	2	1
Aminosidina	1	0	1	1	0	2	0
Amikacina	3	4	1	1	2	2	0

(1) Los porcentajes de actividad están calculados en relación a la gentamicina, e independientemente para *S. marcescens* y *E. coli*.

TABLA IV

Enzimas plasmídicos modificadores de aminoglicósidos del aislado clínico *S. marcescens* CSC 29381

Nombre sistemático	Actividad enzimática	ENZIMA		PLASMIDO	
		Rango sustratos	Punto de modificación	Masa molecular	Denominación
AAD (3'')	Nucleotidil-transferasa	Sm Sp	3''- hidroxilo de la amino- hexosa III de la Sm, 9'- hidroxilo de la actinamina de la Sp	85 Mdal.	pUO 320
AAD (3''')	Nucleotidil-transferasa	Sm Sp	3''- hidroxilo de la amino- hexosa III de la Sm, 9'- hidroxilo de la actinamina de la Sp	50 Mdal.	pUO 321
AAC (3)-II	Acetiltransferasa	Gm, Si, Tm y *(Km, DKB)	3- amino del anillo de deoxi-estreptamina	85 Mdal.	pUO 320
APH (3')	Fosfotransferasa	Km, Nm, Am, Rib	3'- hidroxilo de la amino- hexosa I de la molécula	85 Mdal.	pUO 320

\* Con baja afinidad.

Al correlacionar la expresión fenotípica de la resistencia (Tabla I) con el porcentaje de actividad acetiltransferasa (Tabla III) se observa que todas las cepas resistentes fenotípicamente a gentamicina y sisomicina muestran actividad



acetilante con especificidad por gentamicina, sisomicina, tobramicina y en menor grado por kanamicina y DKB.

## V. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA FOSFOTRANSFERASA

La presencia de una actividad fosfotransferasa ha sido deducida atendiendo al estudio comparado de los fenotipos de resistencia (CIM) y el análisis de bandas de ADN plasmídico de las células del sistema elegido. Tanto las células de *S. marcescens* CSC 29381 como las derivadas de *E. coli* W3110, Tc 2 y los segregantes de tipo 1 y 3, presentan niveles de resistencia elevados a los aminoglicósidos kanamicina, neomicina, aminosidina y ribostamicina, mientras que frente a ninguno de estos sustratos existe una fuerte actividad acetiltransferasa o adeniltransferasa. Por otro lado, cuando se correlacionan dichas resistencias con la presencia de bandas de ADN plasmídico en las células segregantes, obtenidas por tratamiento con bromuro de etidio de *E. coli* TC 2, se observa que estas cuatro resistencias se transfieren y eliminan conjuntamente y están en una misma banda de ADN.

## DISCUSION

Ante los resultados obtenidos podemos deducir que son tres los mecanismos implicados en la resistencia a aminoglicósidos que presenta el aislado clínico de *S. marcescens* CSC 29381. El primero corresponde a un enzima adenilante de grupos hidróxilo de la espectinomicina y de los aminoglicósidos estreptidínicos como la estreptomycin. Este perfil de sustratos corresponde al enzima estreptomycin adeniltransferasa caracterizado por BENVENISTE y DAVIES en 1971<sup>1</sup> y cuyo nombre sistemático actual es AAD (3''): nucleotidiltransferasa<sup>10</sup>. El segundo corresponde a un enzima acetilante de grupos amino, con afinidad fuerte por los aminoglicósidos deoxi-estreptamínicos: gentamicina, sisomicina y tobramicina y débil por kanamicina y DKB; este perfil de sustratos corresponde al del enzima descrito en 1974 por LE GOFFIC (citado en 6) en *Klebsiella* denominado en principio gentamicin-acetiltransferasa y cuyo nombre sistemático actual es AAC (3)-II acetiltransferasa<sup>10</sup>. La resistencia a los otros cuatro aminoglicósidos deoxi-estreptamínicos: kanamicina, neomicina, aminosidina y ribostamicina se transfería en bloque a células de *E. coli* y en este huésped era eliminada también en bloque por tratamiento con bromuro de etidio. Pero ni en la cepa parental de *S. marcescens* ni en células transconjugantes de *E. coli* resistentes a estos cuatro antibióticos se encontró actividad adeniltransferasa ni acetiltransferasa significativa frente a ninguno de ellos, lo que nos lleva a deducir que el tercer mecanismo de resistencia es debido a una fosfotransferasa de tipo APH (3') cuya caracterización más completa requeriría la valoración radioenzimática de dicha actividad frente a estos y a otros dos sustratos: butirosina y lividomicina<sup>10</sup>.

Los determinantes genéticos responsables de los tres mecanismos de resistencia parecen estar localizados en moléculas de ADN extracromosómico de tipo plasmídico (factores R, o plásmidos de resistencia). En el aislado clínico de *S. marcescens* CSC 29381 coexisten dos de estos plásmidos, de masa molecular 85 y 50 Mdal. a los que hemos designado pUO 320 y pUO 321. Ambos plásmidos pueden cotransferirse mediante conjugación a *E. coli* y en este huésped son albergados de forma estable y expresan el mismo espectro de resistencia a aminoglicósidos que en el aislado clínico de *S. marcescens* aunque a distintos niveles. Cada uno de estos plásmidos también puede ser portado por *E. coli* de forma independiente y estable; cuando el plásmido albergado es el de 50 Mdal. (pUO 321) las células de *E. coli* (Tc 1) sólo presentan el enzima AAD (3''): nucleotidiltransferasa, mientras que cuando albergan el plásmido de 85 Mdal. (Tc 2) presentan los tres tipos de enzimas descritos.

En la TABLA IV se resumen las características de los enzimas presentes en el aislado clínico de *S. marcescens* CSC 29381 y se correlacionan con los plásmidos que los codifican.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Dr. R. Alvarez, Jefe del Servicio de Bacteriología de la C. S. Covadonga por la cepa de *S. marcescens* CSC 29381.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) BENVENISTE, R. and J. DAVIES (1971).—Enzymatic acetylation of aminoglycoside antibiotics by *Escherichia coli* carrying an R-factor. *Biochem.*, **10**: 1.787-1.796.
- 2) — (1973).—Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.*, **42**: 471-506.
- 3) CLEWELL, D. B. and D. R. HELINSKI (1968).—Supercoiled circular DNA-protein complex in *Escherichia coli* purification and induced conversion to an open circular DNA form. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **62**: 1.159-1.166.
- 4) DATTA, N. and R. W. HEDGES (1972).—Host ranges of R-factor. *J. Gen. Microbiol.*, **70**: 456-460.
- 5) DAVIES, J. and D. I. SMITH (1978).—Plasmid resistance to antimicrobial agents. *Ann. Rev. Microbiol.*, **32**: 469-518.
- 6) HAAS, M. J. and J. E. DOWDING (1975).—Aminoglycoside-modifying enzymes. *Methods Enzymol.*, **43**: 611-628.
- 7) LLANEZA, J., F. J. MÉNDEZ, M. C. MENDOZA y C. HARDISSON (1979).—Transferencia por conjugación y eliminación por agentes curantes de un factor R de *Serratia marcescens*. *Arch. Fac. Med. Oviedo*, **1**: 359-366.
- 8) MENDOZA, C., J. M. GARCÍA, J. LLANEZA, F. J. MÉNDEZ, C. HARDISSON and J. M. ORTIZ (1980).—Plasmid-Determined Resistance to Fosfomicin in *Serratia marcescens*. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, **18**: 215-219.
- 9) MEYERS, J. A., D. SÁNCHEZ, L. P. ELWELL and S. FALKOW (1976).—Simple agarose electrophoretic method for de identification and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid. *J. Bacteriol.*, **127**: 1.529-1.537.
- 10) MITSUHASHI, S., S. YAMAGIDHI, T. SAWAI and H. KAWABE (1977).—*R-factor*. Ed. University Park Press.
- 11) OZANNE, B., R. BENVENISTE, D. TIPPER and J. DAVIES (1969).—Aminoglycoside antibiotics inactivation by phosphorylation in *E. coli* carrying R-factors. *J. Bacteriol.*, **100**: 1.144-1.146.
- 12) SALISBURY, W., R. W. HEDGES and N. DATTA (1971).—Two modes of curing transmissible bacterial plasmids. *J. Gen. Microbiol.*, **70**: 443-452.
- 13) TOMOEDA, N., M. INUZUKA, N. KUBO and S. NAKAMURA (1968).—Effective elimination of drug resistance and sex-factors in *Escherichia coli* by Sodium Dodecyl Sulfate. *J. Bacteriol.*, **95**: 1.078-1.089.

## ESTUDIO COMPARATIVO DE LA RESPIRACION DE ESPORAS DURMIENTES E HINCHADAS DE *Streptomyces antibioticus*

Por  
JOSE ANTONIO SALAS

y  
CARLOS HARDISSON

Departamento Interfacultativo de Microbiología.  
Universidad de Oviedo. España

### RESUMEN

Las esporas durmientes de *S. antibioticus* presentan valores  $QO_2$  para la respiración endógena y exógena de 10,69 y 32,71  $\mu l O_2/h/mg$  peso seco, respectivamente. Diversas especies estudiadas de este género presentaron valores superiores e inferiores a los obtenidos con *S. antibioticus*. La respiración exógena, tanto en esporas durmientes como en esporas hinchadas, fue sensible al cianuro potásico, atabrina, EDTA y 2,4-dinitrofenol e insensible a rotenona, antimicina A y dicumarol. La azida sódica ejerció un doble efecto: inhibidor y estimulante de la respiración exógena, dependiendo el efecto observado de la concentración de inhibidor y del estado morfológico de las esporas. Para conseguir el mismo efecto en esporas hinchadas que en esporas durmientes fueron necesarias concentraciones 10 veces superiores de azida sódica. Se demuestra asimismo la presencia en las esporas durmientes de dos actividades enzimáticas relacionadas con el metabolismo respiratorio: catalasa y citocromo oxidasa. Ambas actividades específicas fueron muy superiores en esporas hinchadas con respecto a las esporas durmientes. Estos resultados sugieren la participación de flavoproteínas y citocromos en la cadena respiratoria de las esporas, ausencia de quinonas y la presencia de actividad citocromo oxidasa y catalasa. Asimismo, muestran que no parecen existir diferencias significativas importantes en la composición de la cadena respiratoria en ambos estados morfológicos de la germinación.

### SUMMARY

Dormant spores of *S. antibioticus* showed  $QO_2$  values for endogenous and exogenous respiration of about 10.69 and 32.71  $\mu l O_2/h/mg$  dry weight. There was important differences in the  $QO_2$  values obtained with different *Streptomyces* species. No significant differences in sensitivity to several metabolic inhibitors in dormant and swollen spores were detected. Exogenous respiration was sensitive to potassium cyanide, atabrin, EDTA and 2,4-dinitrophenol and insensitive to rotenone, antimycin A and dicoumarol. Sodium azide produced inhibition and stimulation of the respiration depending on the inhibitor concentration and of the morphological stage of the spores, being necessary 10 times superior concentrations to get the same effect in swollen spores than in dormant spores. Other two enzymatic activities related with the respiratory metabolism were also detected in dormant and swollen spores. These enzymatic specific activities were 3-4 times higher in swollen spores than in dormant spores. Our results suggest the presence of flavoproteins, cytochromes *b* and *c*, cytochrome oxidase and catalase in the respiratory chain of the spores.

## INTRODUCCION

El estudio del género *Streptomyces* presenta un gran interés tanto en el aspecto industrial como en el aspecto científico. La mayor parte de los antibióticos conocidos así como distintos metabolitos de interés industrial son producidos por especies de este género. Por otro lado, este microorganismo presenta un ciclo de vida complejo que comprende distintos procesos de gran importancia en estudios de diferenciación celular: diferenciación de micelio sustrato en aéreo, esporulación y germinación. Distintos aspectos de la germinación de las esporas han sido estudiados por varios autores (ATTWELL y CROSS, 1973; CROSS y ATTWELL, 1975; HIRSCH y ENSIGN, 1976 a y b; HARDISSON, MANZANAL, SALAS y SUÁREZ, 1978; HARDISSON, SALAS, GUIJARRO y SUÁREZ, 1980), pero a pesar de ser *Streptomyces* un microorganismo aerobio estricto, se conoce muy poco sobre los procesos de obtención de energía, su metabolismo respiratorio, la composición de su cadena respiratoria, actividades enzimáticas relacionadas con ella, etc., y los pocos datos existentes en la bibliografía han sido obtenidos empleando micelio vegetativo. Así, se ha estudiado la composición de la cadena respiratoria del micelio de varias especies de *Streptomyces* (INOUE, 1958; NIEDERPRUEM y HACKETT, 1961; REHACEK, RAMANKUTTY y KOZOVA, 1968; INOUE, 1973) y solamente en un trabajo se ha señalado la presencia de citocromos en las esporas de *Streptomyces* (TAPTIKOVA, KALAKOUTSKII y AGRE, 1969).

Durante la germinación de las esporas de *Streptomyces antibioticus* se suceden distintos estados morfológicos que han sido descritos y caracterizados previamente (HARDISSON, MANZANAL, SALAS y SUÁREZ, 1978): espora durmiente, espora oscura, espora hinchada y espora con tubo germinativo. El presente trabajo presenta un estudio comparativo de la respiración de las esporas durmientes e hinchadas de *Streptomyces antibioticus*, así como un estudio de la acción de distintos inhibidores respiratorios y desacoplantes de la fosforilación oxidativa y la detección en las esporas de dos actividades enzimáticas, catalasa y citocromo oxidasa, relacionadas con el metabolismo respiratorio.

## MATERIAL Y METODOS

### *Microorganismo, medios de cultivo y obtención de esporas*

El microorganismo empleado en este trabajo fue *Streptomyces antibioticus* ATCC\* 11891. En algunos experimentos se emplearon también otras especies del mismo género que se citan a continuación: *Streptomyces viridochromogenes* ATCC 14290, *Streptomyces fradiae* ATCC 10745, *Streptomyces aureofaciens* ATCC 13304 y *Streptomyces scabies* ATCC 99049. El medio de cultivo empleado

\* ATCC American Type Culture Collection.

para el crecimiento y esporulación del microorganismo fue el medio sólido GAE, cuya composición es la siguiente (g/l): glucosa, 10; asparragina, 1; extracto de levadura, 0,5;  $K_2PO_4H$ , 0,5;  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ , 0,5;  $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ , 0,01; agar, 20. Este medio, una vez esterilizado, se distribuyó en matraces de 250 ml estériles conteniendo aproximadamente 75 ml de medio y una vez inoculados con una suspensión de esporas, se incubaron a 28°C durante 7-9 días; transcurridos estos, se obtuvieron suspensiones de esporas libres de fragmentos de micelio empleando el método ya descrito anteriormente (HARDISSON, MANZANAL, SALAS y SUÁREZ, 1978).

#### *Preparación de las esporas para las medidas de consumo de oxígeno*

Las esporas recién obtenidas se lavaron varias veces mediante centrifugación a 10.000 rpm durante 5 minutos en una centrífuga refrigerada empleando tampón fosfato 5 mM pH 7,0, y finalmente se suspendieron en el mismo tampón en una concentración de  $5 \cdot 10^8$  esporas/ml. Esta suspensión se empleó como muestra de esporas durmientes. Paralelamente se incubaron esporas en medio GAE líquido a 35°C y en agitación durante unas 2 horas (tiempo necesario para que un elevado porcentaje de la población alcanzase la fase de espора hinchada). A continuación, las esporas se centrifugaron y se lavaron varias veces con tampón fosfato 5 mM pH 7,0 siendo suspendidas finalmente en este tampón en una concentración de  $5 \cdot 10^8$  esporas/ml. Esta muestra se denominó esporas hinchadas. En ambos casos, esporas durmientes e hinchadas, las esporas fueron usadas inmediatamente para las medidas de consumo de oxígeno.

#### *Preparación de extractos libres de células*

Para la obtención de extractos libres de células, las esporas durmientes o hinchadas obtenidas como se describió en el apartado anterior, se trataron en un homogeneizador Braun modelo MSK durante 3 minutos a 4.000 rpm en presencia de bolas de vidrio de 0,11 mm de diámetro y refrigeración mediante nieve carbónica. Tras este tratamiento se comprobó mediante observación al microscopio de contraste de fases que más de un 95 % de las esporas habían sido desintegradas.

#### *Determinaciones respiratorias*

El consumo de oxígeno por las esporas se determinó a 35°C empleando un electrodo de oxígeno polarográfico tipo Clark, tanto en ausencia de sustrato exógeno (respiración endógena) como tras la adición de glucosa 20 mM (respiración exógena). Cuando se ensayó el efecto de inhibidores sobre la respiración, se prepararon soluciones frescas de cada uno de ellos inmediatamente antes de ser usados. Azida sódica, cianuro potásico, EDTA, atabrina y 2,4-dinitrofenol, se



disolvieron en tampón fosfato 5 mM pH 7,0. Rotenona y antimicina A se disolvieron en etanol absoluto; dicumarol se disolvió en KOH 0,03 M. En el caso de estos tres últimos inhibidores, todos ellos insolubles en agua, se realizaron controles sin adición de inhibidor pero con la adición del solvente, con el fin de comprobar que la cantidad de solvente añadido a la cubeta del electrodo de oxígeno no afectaba al consumo de oxígeno de las esporas.

La determinación de las actividades catalasa y citocromo oxidasa se realizó asimismo en un electrodo de oxígeno por los métodos descritos por RORTH y JENSEN (1967) y JURTSUK, MARCUCCI y MC QUITTY (1975) respectivamente, empleando como sustratos  $H_2O_2$  1 mM para catalasa y ascorbato sódico 10 mM y NNN'N'-tetrametil-p-fenilendiamina (TMPD) 2,5 mM para la citocromo oxidasa.

### *Determinación de peso seco*

Para la determinación del peso seco de las muestras de esporas durmientes e hinchadas, se centrifugaron alícuotas de 6 ml de la suspensión de esporas en tampón fosfato 5 mM pH 7,0 (concentración total  $3 \times 10^9$  esporas) y se lavaron varias veces con agua destilada. Finalmente las esporas se suspendieron en un pequeño volumen de agua destilada y la suspensión se colocó en placas de vidrio de 3-4 cms de diámetro, que habían sido previamente pesadas. Las placas se colocaron en un horno a 100°C y tras 24 horas en estas condiciones se determinó su peso, realizándose distintas pesadas hasta obtener un peso constante.

## RESULTADOS

### *Respiración de esporas durmientes e hinchadas*

Empleando un electrodo de oxígeno detectamos consumo de oxígeno por las esporas durmientes de *S. antibioticus* (Tabla I), incluso en ausencia de una fuente de carbono exógena metabolizable. Esta respiración endógena presentó valores  $QO_2$  de 7,71  $\mu l O_2/h/mg$  peso seco en agua destilada. La adición de fosfato inorgánico (respiración en tampón fosfato 5 mM pH 7,0) produjo un incremento en el valor  $QO_2$  (de 7,71 a 10,69  $\mu l O_2/h/mg$  peso seco). La respiración exógena de las esporas durmientes, tras la adición de glucosa 20 mM, fue unas 2,5 veces superior a la respiración endógena en agua destilada. Sin embargo, ni la adición de galactosa ni de fructosa produjo ningún efecto sobre el valor  $QO_2$  obtenido para la respiración endógena.

Las esporas hinchadas, obtenidas tras 2 horas de incubación en medio líquido GAE, presentaron valores  $QO_2$  para la respiración endógena 3-4 veces superiores a los obtenidos con las esporas durmientes: 29,29 y 32,71  $\mu l O_2/h/mg$  peso seco en agua destilada y en tampón fosfato respectivamente (Tabla I). La adición de un sustrato exógeno, glucosa 20 mM, produjo un fuerte incremento en



TABLA I

*Respiración endógena y exógena de esporas durmientes e hinchadas de Streptomyces antibioticus.*

Las esporas, en su fase durmiente o hinchada, fueron obtenidas como se describió en Material y Métodos, determinándose el consumo de oxígeno a 35°C empleando un electrodo de oxígeno. Paralelamente se determinó el peso seco de las muestras, calculándose finalmente los valores  $QO_2$  ( $\mu\text{l O}_2/\text{h}/\text{mg}$  peso seco) que son los que se presentan en esta Tabla

Condiciones	Fase morfológica ( $QO_2$ )	
	Durmientes	Hinchadas
Agua destilada	7,71 $\pm$ 0,25	29,29 $\pm$ 1,02
Tampón fosfato 5 mM pH 7,0	10,69 $\pm$ 0,62	32,71 $\pm$ 0,98
Idem + Glucosa 20 mM	18,50 $\pm$ 0,67	77,10 $\pm$ 0,44

el valor  $QO_2$  con respecto al de las esporas durmientes (de 18,50 a 77,10  $\mu\text{l O}_2/\text{h}/\text{mg}$  peso seco).

Con el fin de estudiar la importancia de la integridad física y estructural de las esporas para el proceso respiratorio, se estudió la respiración de las esporas durmientes e hinchadas empleando extractos libres de células. La respiración exógena de las esporas durmientes e hinchadas disminuyó en un 15-25 % cuando el valor  $QO_2$  se determinó con un extracto crudo procedente de la rotura mecánica de las esporas con bolas de vidrio (Tabla II). Esta disminución fue mucho mayor cuando estos extractos se centrifugaron y se determinó el consumo de

TABLA II

*Respiración exógena de extratos libres de células de esporas de Streptomyces antibioticus.*

Las esporas durmientes e hinchadas fueron rotas mecánicamente con bolas de vidrio de 0,11 mm de diámetro como se describió en Material y Métodos, determinándose el valor  $QO_2$  en varias fracciones del extracto así obtenido, en presencia de glucosa 20 mM

Esporas	Condiciones	$QO_2$ ( $\mu\text{l O}_2/\text{h}/\text{mg}$ peso seco)
Durmientes	Intactas	17,25 $\pm$ 0,32
	Extracto crudo	14,20 $\pm$ 0,40
	Sobrenadante extracto crudo	7,40 $\pm$ 0,15
Hinchadas	Intactas	77,40 $\pm$ 0,32
	Extracto crudo	54,25 $\pm$ 0,44
	Sobrenadante extracto crudo	27,36 $\pm$ 0,37

oxígeno con el sobrenadante de esta centrifugación a 10.000 rpm durante 5 minutos.

### *Respiración de esporas durmientes de varias especies de Streptomyces*

Los resultados obtenidos para la respiración endógena y exógena de esporas durmientes de *S. antibioticus*, se compararon con los mismos obtenidos con esporas de otras especies del mismo género. En la Tabla III, se puede observar que existieron grandes diferencias en los valores  $QO_2$  para la respiración de las esporas de las distintas especies estudiadas. Así, algunas especies presentaron valores  $QO_2$  elevados como *S. viridochromogenes* y *S. aureofaciens*, otros valores  $QO_2$  muy bajos como *S. fradiae* y algunas presentaron valores intermedios como *S. antibioticus* y *S. scabies*.

TABLA III

### *Respiración endógena y exógena de esporas durmientes de varias especies del género Streptomyces.*

Las esporas durmientes de las distintas especies fueron obtenidas como se describió en Material y Métodos, determinándose el consumo de oxígeno en ausencia de sustrato exógeno (respiración endógena) y tras la adición de glucosa 20 mM (respiración exógena) de modo análogo al descrito en la Tabla I

	$QO_2$ ( $\mu$ l $O_2$ /h/mg peso seco)	
	Resp. endógena	Resp. exógena
<i>S. fradiae</i>	1,11 $\pm$ 0,01	1,22 $\pm$ 0,02
<i>S. scabies</i>	8,81 $\pm$ 0,16	14,31 $\pm$ 0,84
<i>S. antibioticus</i>	10,79 $\pm$ 0,32	18,50 $\pm$ 0,82
<i>S. aureofaciens</i>	19,57 $\pm$ 0,44	34,30 $\pm$ 0,62
<i>S. viridochromogenes</i>	31,19 $\pm$ 0,72	43,54 $\pm$ 0,94

### *Acción de inhibidores metabólicos sobre la respiración de las esporas durmientes e hinchadas*

Se estudió la acción de varios inhibidores respiratorios y desacoplantes de la fosforilación oxidativa sobre la respiración exógena de las esporas durmientes e hinchadas de *S. antibioticus*. El propósito de estos experimentos fue por un lado la caracterización de los componentes de la cadena respiratoria de las esporas y, por otro lado, estudiar las diferencias en sensibilidad a estos inhibidores en ambas fases morfológicas de la germinación. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla IV. Cianuro potásico y atabrina, inhibidores de la citocromo oxidasa y de flavoproteínas respectivamente, inhibieron fuertemente la respiración en ambos estados morfológicos (80-90 % inhibición con 1 mM de ambos

TABLA IV

*Acción de inhibidores respiratorios y desacoplantes de la fosforilación oxidativa sobre la respiración exógena de esporas durmientes e hinchadas de Streptomyces antibioticus.*

Inhibidor (mM)	QO <sub>2</sub> (μl O <sub>2</sub> /h/mg peso seco)		Inhibición (%)	
	Durmientes	Hinchadas	Durmientes	Hinchadas
Control	20,15 ± 0,88	78,10 ± 0,23	—	—
Atabrina 1	4,03 ± 0,38	11,71 ± 0,62	80	85
Atabrina 0,1	8,06 ± 0,64	23,43 ± 0,63	60	70
Atabrina 0,01	11,08 ± 0,53	53,10 ± 1,25	45	32
Dicumarol 0,1	19,92 ± 0,15	78,04 ± 1,08	0	0
Rotenona 0,1	20,64 ± 0,32	78,72 ± 0,45	0	0
Antimicina A 0,1	19,86 ± 0,64	77,94 ± 0,32	0	0
Cianuro potásico 1	2,61 ± 0,52	7,02 ± 0,10	86	91
Cianuro potásico 0,1	5,64 ± 0,76	32,02 ± 0,34	72	59
Cianuro potásico 0,01	13,30 ± 0,82	42,17 ± 0,25	34	46
Azida sódica 1,25	12,58 ± 0,43	92,15 ± 0,45	38	+ 18
2,4-dinitrofenol 0,25	24,18 ± 0,83	89,03 ± 0,32	+ 20	+ 14
EDTA 1,25	12,29 ± 0,72	62,48 ± 0,15	39	20

El signo + indica estimulación del consumo de oxígeno.

agentes). Sin embargo, ni dicumarol (análogo de quinonas) ni antimicina A y rotenona (inhibidores de la cadena respiratoria a nivel de citocromos) tuvieron ningún efecto sobre la respiración. Pudiera ocurrir que existiera una barrera de permeabilidad en las cubiertas esporales que dificultase la penetración de estos inhibidores; sin embargo, esta posibilidad fue descartada, ya que tampoco ejercieron ningún efecto sobre la respiración empleando extractos libres de células. El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) inhibió parcialmente la respiración: 39 % y 20 % en esporas durmientes e hinchadas respectivamente. El agente desacoplante de la fosforilación oxidativa, 2,4-dinitrofenol (2,4-DNP) estimuló el consumo de oxígeno en un 20 % y 14 % en esporas durmientes e hinchadas respectivamente. La acción de la azida sódica sobre la respiración fue sorprendente, ya que una misma concentración del inhibidor (1,25 mM) inhibió la respiración de las esporas durmientes y estimuló la respiración de las esporas hinchadas (Tabla IV). Por ello, ensayamos varias concentraciones de este inhibidor sobre la respiración en ambas fases morfológicas, con el fin de ensayar si ambos efectos tenían lugar dependiendo de la concentración del agente. En esporas durmientes (Figura 1a), hasta una concentración de 0,25 mM, la azida produjo efecto estimulante y por encima de esta concentración la respiración fue inhibida; la máxima estimulación se obtuvo con una concentración de azida de 0,05 mM. En esporas hinchadas (Figura 1b), la estimulación de la respiración se observó hasta 2,5 mM, alcanzándose un máximo con 1 mM y por encima de 2,5 mM la

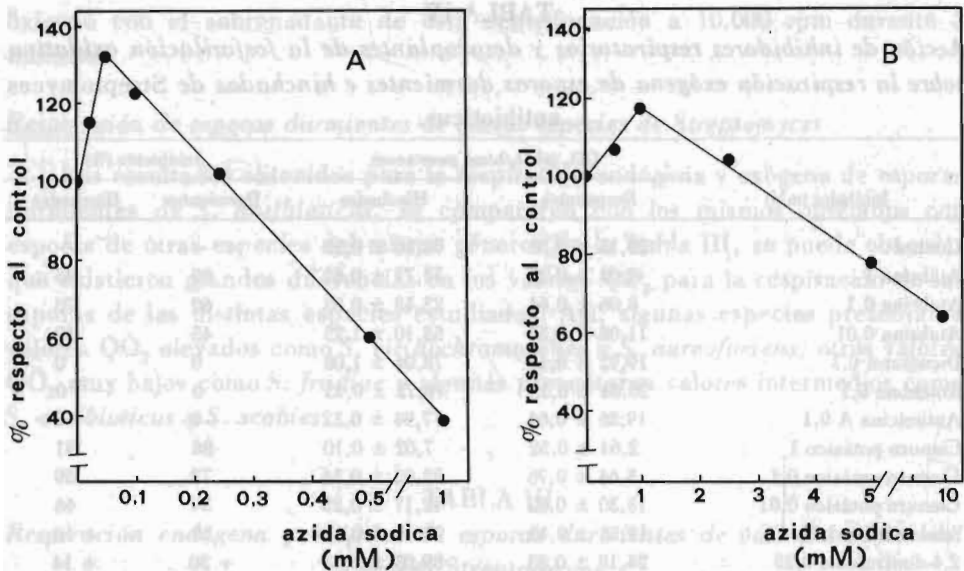


Fig. 1.—Acción de la azida sódica sobre la respiración exógena de esporas durmientes (A) y esporas hinchadas (B) de *Streptomyces antibioticus*.

respiración fue inhibida. Se puede observar que el mismo modelo de inhibición y estimulación se dio en ambas fases morfológicas de la germinación, pero la concentración de inhibidor necesaria para obtener el mismo resultado fue unas 10 veces superior en esporas hinchadas que en esporas durmientes.

#### *Actividad catalasa y citocromo oxidasa en las esporas durmientes e hinchadas*

Las esporas durmientes presentaron niveles detectables de dos actividades enzimáticas, catalasa y citocromo oxidasa, íntimamente relacionadas con el metabolismo respiratorio. Ambas actividades presentaron valores de 1,5 UE/mg proteína para la actividad catalasa y 712  $\mu\text{l O}_2/\text{h/mg}$  peso seco para la actividad citocromo oxidasa. El cianuro potásico fue un potente inhibidor de las dos actividades enzimáticas, bloqueando casi totalmente su actividad en concentración 1 mM. Con el hinchamiento de las esporas, las actividades específicas de estos dos enzimas aumentaron considerablemente: 3,25 UE/mg proteína y 1.050  $\mu\text{l O}_2/\text{h/mg}$  peso seco para catalasa y citocromo oxidasa respectivamente.

## DISCUSION

Las esporas durmientes de *S. antibioticus* presentan una tasa de respiración endógena detectable, en ausencia de una fuente de carbono exógena. Esta respiración endógena fue estimulada por la adición de fosfato inorgánico, resultado

que ya había sido descrito en micelio de *S. griseus* (HOCKENHULL, FANTES, HERBERT y WHITEHEAD, 1954). Sin embargo, existen grandes diferencias entre la respiración endógena de esporas durmientes de distintas especies de este género. Estas diferencias pueden estar relacionadas con una distinta concentración de reservas endógenas y/o con diferencias en concentración o actividad de los distintos componentes de la cadena respiratoria de las esporas. En cualquier caso, las esporas durmientes de *Streptomyces* presentan una respiración endógena, a diferencia de las endosporas bacterianas en las cuales no se detecta ningún consumo de oxígeno. Otra característica importante a destacar es la existencia en las esporas durmientes de la maquinaria enzimática necesaria para la oxidación de la glucosa, ya que la adición de este azúcar produjo un notable incremento del  $QO_2$ . Otros azúcares como galactosa y fructosa, no incrementaron el valor  $QO_2$  por encima del obtenido para la respiración endógena, probablemente debido a la ausencia en la espora durmiente de los sistemas de transporte para estos dos azúcares (SALAS y HARDISSON, 1981).

Con el hinchamiento de las esporas, los valores  $QO_2$  tanto para la respiración endógena como para la exógena aumentaron unas 2-4 veces con respecto a los obtenidos con las esporas durmientes, lo cual indica que como había sido descrito anteriormente (HARDISSON, MANZANAL, SALAS y SUÁREZ, 1978; HARDISSON, SALAS, GUIJARRO y SUÁREZ, 1980) esta fase de la germinación se caracteriza por una gran actividad metabólica y biosintética.

El estudio de la acción de inhibidores respiratorios y desacoplantes de la fosforilación oxidativa sobre la respiración exógena mostró que no existen diferencias significativas entre la sensibilidad a estos agentes en las esporas durmientes e hinchadas, a excepción del caso de la azida sódica. Este inhibidor produjo inhibición y estimulación de la respiración en ambos estados morfológicos, siendo necesaria una concentración 10 veces superior de inhibidor en esporas hinchadas para conseguir el mismo efecto que en esporas durmientes. Este doble efecto de la azida ya había sido descrito en *Bacillus cereus* (DRING y GOULD, 1975). Pensamos que la diferente sensibilidad de las esporas en función de su estado morfológico pudiera deberse a la existencia de una mayor concentración de citocromos en las esporas hinchadas. El inhibidor produciría simultáneamente ambos efectos: con altas concentraciones del agente, el efecto inhibidor sería superior y enmascararía el efecto desacoplante; por debajo de una determinada concentración de inhibidor, solamente se observaría el efecto desacoplante de la fosforilación oxidativa.

La respiración fue sensible al cianuro potásico lo cual indica la presencia de citocromos en la cadena respiratoria de las esporas, a diferencia de las esporas de *S. streptomycini* las cuales fueron insensibles al cianuro (KALAKOUTSKII, MUKHIN, LAPTEVA, TAPTIKOVA y DOUZA, 1970). Asimismo, la participación de flavoproteínas parece confirmada por la inhibición debida a la atabrina. La presencia de cito-



cromos y flavoproteínas en la cadena respiratoria de las esporas concuerda con los resultados obtenidos por varios autores en micelio de *Streptomyces* (NIEDERPRUEM y HACKETT, 1961; REHACEK, RAMANKUTTY y KOZOVA, 1968; INOUE, 1973) y en esporas (TAPTIKOVA, KALAKOUTSKII y AGRE, 1969). La no inhibición con rotenona y antimicina A puede explicarse por la ausencia en las esporas del sitio de acción de estos agentes. Puede descartarse la participación de quinonas interpuestas entre flavoproteínas y citocromos, ya que la respiración fue insensible al análogo de quinonas dicumarol. La respiración fue sensible al EDTA, el cual probablemente actúe entre flavoproteínas y citocromo b. Asimismo, parece existir un acoplamiento entre la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa sensible al 2,4-dinitrofenol.

En conclusión, las esporas de *Streptomyces* presentan una respiración endógena, transcurriendo probablemente el flujo de electrones a través de una serie de intermediarios respiratorios como son flavoproteínas, citocromos *b* y *c* y citocromo oxidasa. Nuestros resultados son coincidentes con los obtenidos por otros autores en micelio de *S. antibioticus* (REHACEK, RAMANKUTTY y KOZOVA, 1968).

#### BIBLIOGRAFIA

- ATTWELL, R. W. y T. CROSS (1973).—En *The Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance*, pp. 197-207. Ed. por G. Sykes y F. A. Skinner. Academic Press London and New York.
- CROSS, T. y R. W. ATTWELL (1975).—En *Spores VI*, pp. 3-14. Ed. por P. Gerhardt, R. N. Costilow y H. L. Sadoff. American Society for Microbiology. Washington.
- DRING, G. J. y G. W. GOULD (1975).—En *Spores VI*, pp. 488-494. Ed. por P. Gerhardt, R. N. Costilow y H. L. Sadoff. American Society for Microbiology. Washington.
- HARDISSON, C., M. B. MANZANAL, J. A. SALAS y J. E. SUÁREZ (1978).—*J. Gen. Microbiol.*, **105**: 203-214.
- HARDISSON, C., J. A. SALAS, J. A. GULJARRO y J. E. SUÁREZ (1980).—*FEMS Microbiology Letters*, **7**: 233-235.
- HIRSCH, C. F. y J. C. ENSIGN (1976 a y b).—*J. Bacteriol.*, **126**: 13-30.
- HOCKENHULL, D. J. D., K. H. FANTES, M. HERBERT y B. WHITEHEAD (1954).—*J. Gen. Microbiol.*, **10**: 353-370.
- INOUE, Y. (1958).—*J. Antibiotics.*, **11 A**: 109-115.
- (1973).—*Bot. Mag. Tokyo*, **86**: 121-132.
- JURTSHUK, P. Jr., O. M. MARCUCCI y O. N. MC QUITTY (1975).—*Appl. Microbiol.*, **30**: 951-958.
- KALAKOUTSKII, L. V., L. M. MUKHIN, E. A. LAPTEVA, S. D. TAPTIKOVA y M. V. DOUZHA (1970).—*Izv. Akad. Nauk Az. SSSR Ser. Biol. Nauk*, **4**: 593-599.
- NIEDERPRUEM, D. J. y D. P. HACKETT (1961).—*J. Bacteriol.*, **81**: 557-563.
- REHACEK, Z., M. RAMANKUTTY y J. KOZOVA (1968).—*Appl. Microbiol.*, **16**: 29-32.
- RORTH, M. y P. K. JENSEN (1967).—*Biochim. Biophys. Acta*, **139**: 171-173.
- SALAS, J. A. y C. HARDISSON (1981).—*J. Gen. Microbiol.* (en prensa).
- TAPTIKOVA, S. D., L. V. KALAKOUTSKII y N. S. AGRE (1969).—*J. Gen. Appl. Microbiol.*, **15**: 383-386.

## APORTACIONES AL CONOCIMIENTO ULTRAESTRUCTURAL DE LAS BRANQUIAS DE *Diopatra neapolitana* (POLYCHAETA: ERRANTIA)

Por  
DELIO TOLIVIA FERNANDEZ, ARMANDO MENENDEZ PELAEZ

y  
JOSE MANUEL GARCIA FERNANDEZ

Departamento Interfacultativo de Morfología Microscópica.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se estudia en este trabajo la ultraestructura de las branquias de *Diopatra neapolitana* a nivel de la cutícula, prestando especial atención a la compleja organización del sistema fibrilar localizada en la denominada «capa fibrosa».

### SUMMARY

This paper reports results obtained from the study of the ultrastructural organization of the cuticle in the gills of *Diopatra neapolitana*, with special consideration to the complexity of the fibrillar system located in the so-called «fibrous layer».

### INTRODUCCION

Iniciamos con este estudio una serie de trabajos encaminados al conocimiento ultraestructural de las branquias de *Diopatra neapolitana*.

La ultraestructura de la cutícula de los anélidos poliquetos ha sido tratada por numerosos autores, tanto en diversas familias como en distintas partes del cuerpo de este grupo de invertebrados. Así, WESTHEIDE y RIEGER (1978) y STORCH y WELSCH (1970) estudian la cutícula en varias especies de la familia Hesionidae. PILATO (1964), BROKELMANN y FISHER (1966), MANAVALARAMANUJAN y RAJULU (1974) dedican su atención a los Neridae. BOILLY (1967) lo hace en Syllidae. BRANDERBURG (1970) y RIEGER y RIEGER (1976) en Archianelidae. MISURACA y NAGY (1970) en Eunicidae y BUBEL (1973) en Serpulidae. Por otro lado, se ha estudiado la morfogénesis de la cutícula larvaria de algunos poliquetos (ECKELBARGER y CHIA, 1978).

Prácticamente no existe bibliografía sobre la ultraestructura de las branquias

de poliquetos; solamente tenemos referencia de un trabajo sobre esta parte del cuerpo (STORCH y ALBERTI, 1978), aunque se refiere al aspecto ultraestructural de las células epidérmicas sin dedicar especial atención a la cutícula.

El propósito de este trabajo es describir la estructura fina de la cutícula de las branquias de *Diopatra neapolitana*, haciendo hincapié en el complejo sistema de ordenación del estrato fibroso cuticular.

## MATERIAL Y METODOS

Los ejemplares sobre los que se realizó este estudio fueron recolectados en El Puntal (Villaviciosa). Una vez trasladados al laboratorio se procedió a la amputación de las branquias que se sumergieron inmediatamente en el fijador previamente enfriado.

Tras una serie de ensayos encaminados a lograr una correcta fijación se lograron resultados bastante satisfactorios mediante el tratamiento de las piezas por glutaraldehído al 2,5 % en tampón fosfatos 0,1 M (pH = 7,4) adicionado de un 1,5 % de Cl Na.

Las branquias se mantuvieron en este fijador durante dos horas a 4°C y tras varios lavados en tampón se realizó la postfijación en OsO<sub>4</sub> al 1 % tamponado, a la misma temperatura y durante dos horas.

La deshidratación se realizó mediante acetona de concentración creciente, con un 2 % de Acetato de Uranilo en la acetona de 70 %.

La inclusión de las piezas se llevó a cabo en resinas Epon y Spurr, según el método descrito por KUSHIDA (1967). Tras la obtención de secciones en un ultramicrotomo LKB se procedió al contraste de las mismas mediante el citrato de plomo (REYNOLDS, 1963) y a su observación en un microscopio electrónico Phillips EM-300 y en un Zeiss EM-109.

## RESULTADOS

La cutícula de las branquias de *Diopatra neapolitana* parece presentar, tanto en cortes semifinos como en microscopía electrónica, una estructura uniforme y solamente en dos ocasiones hemos podido observar la presencia de algunos cilios (4-5) muy localizados presentándose el resto de la cutícula carente de ciliatura.

La cutícula muestra un grosor uniforme, de aproximadamente 1,6 micras, y se encuentra atravesada por prolongaciones de las células epidérmicas subyacentes. En un corte perpendicular a la superficie se puede reconocer una clara estratificación, observándose con claridad las siguientes capas desde el exterior hacia el interior: (Figs. 1 y 8).

- 1.º Epicutícula (e.p.).
- 2.º Zona cuticular media (c.m.).
- 3.º Zona cuticular fibrosa (c.f.).

A estas capas cuticulares se añade por fuera una cubierta de textura gránulo-filamentosa (c.e.).

### *Epicutícula*

Es la más fina de las tres capas (600-800 Å). Aparece al M.E. como una banda continua bastante uniforme y con un cierto grado de ondulación que es atravesada por prolongaciones digitiformes de las células epidérmicas. En la epicutícula cabe reconocer dos zonas: la más externa, de densidad media y textura granular homogénea y la más interna, de mayor densidad, con un grosor tres o cuatro veces menor y textura también homogénea (Fig. 1).

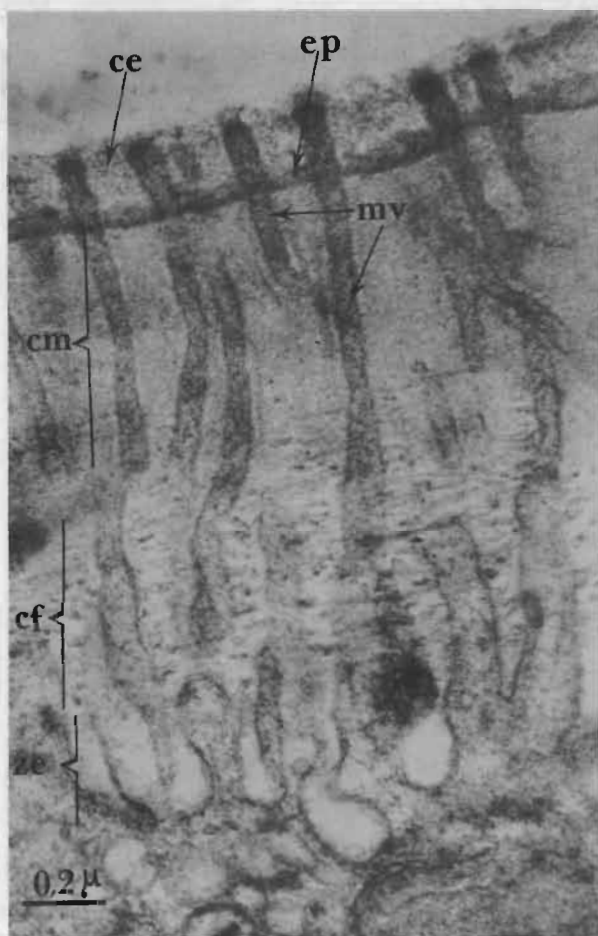


Fig. 1

Sección transversal de la cutícula en la que se observan la cubierta externa (ce), la epicutícula (ep) con sus dos zonas, la capa media (cm), la capa fibrosa (cf) y la zona esponjosa (ze). También se aprecia cómo los microvilli (mv) atraviesan la cutícula hasta el exterior ( $\times 58.500$ )

### *Zona cuticular intermedia*

Se sitúa inmediatamente por debajo de la anterior; presenta una matriz finamente granulosa en la que se pueden apreciar además fibrillas muy tenues de trayecto aparentemente irregular. El grosor de esta segunda capa es aproximadamente de 0,6 micras y presenta una densidad media a los electrones.

Las prolongaciones celulares al atravesar esta capa se ven rodeadas de un estrecho halo prácticamente transparente a los electrones (Fig. 2). En el límite de este halo con la matriz se observa en muchas ocasiones, tanto en secciones transversales como longitudinales, la presencia de una fina línea electrondensa (Fig. 2).

### *Zona cuticular fibrosa*

La zona más interna de la cutícula presenta un grosor aproximado de 0,75 micras y, tanto en corte transversal como longitudinal de la branquia, puede observarse que posee una densa trama de fibras de grosor y densidad variables cuyo trayecto parece discurrir preferentemente según planos paralelos a la superficie (Fig. 1), pero siguiendo un curso sinuoso entre las digitaciones celulares que atraviesan esta capa.

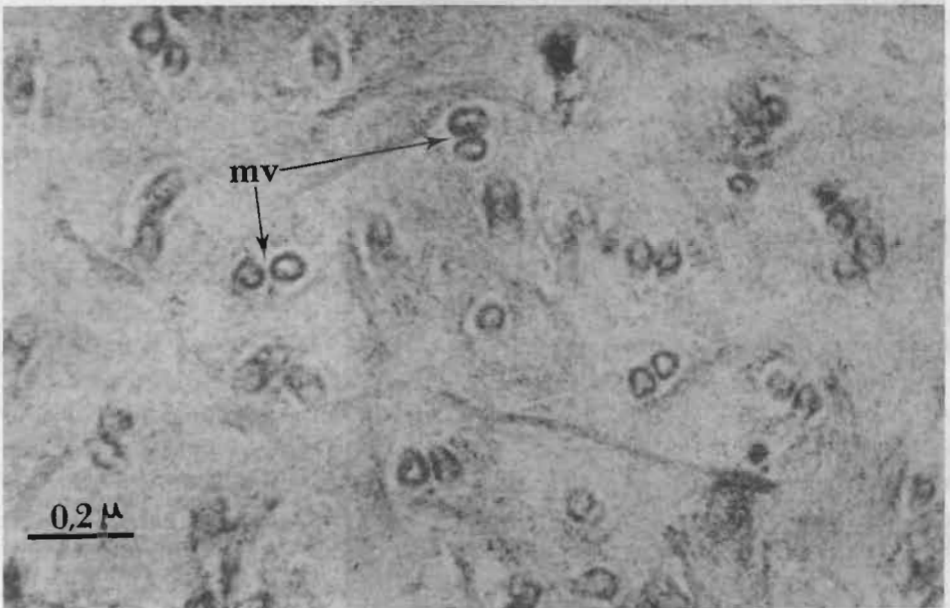


Fig. 2.-Sección tangencial de la capa media cuticular en donde se aprecian varios dobletes de microvilli (mv) rodeados de halo y la línea electrondensa que limita a estos ( $\times 74.000$ ).



En secciones paralelas a la superficie o ligeramente oblicuas se puede apreciar con facilidad que las fibras presentan un alto grado de ordenación, de tal forma que el estrato más profundo de esta zona fibrosa posee un grupo de fibras paralelas entre sí y limitando entre cada dos una fila de digitaciones citoplásmicas. En niveles más superficiales el sistema adquiere mayor complejidad, apareciendo un segundo grupo de fibras, también paralelas entre sí pero en dirección cruzada con el primer grupo, dando origen a la formación de áreas rómbicas interfibrilares en cada una de las cuales se localiza una digitación (Fig. 3).

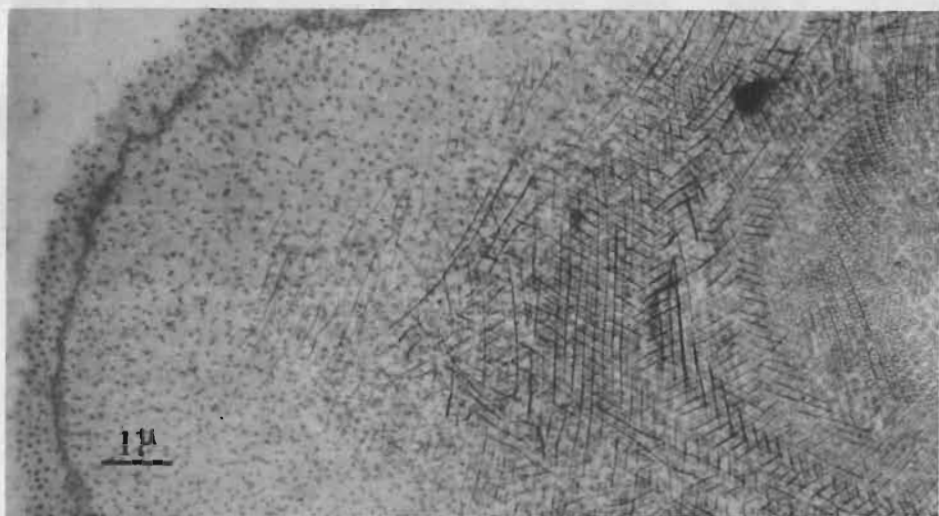


Fig. 3.—Sección oblicua de la cutícula en la que se puede ver la compleja y ordenada disposición de las fibras, así como de los microvilli que discurren entre ellas, observándose en los situados más al interior las formaciones granulares electrondensas ( $\times 10.200$ ).

El grado de complejidad todavía se ve aumentado en zonas más externas al aparecer un tercer grupo de fibras, nuevamente paralelas entre sí y que al cruzarse con los dos grupos anteriores ocasionan la descomposición de los rombos antes citados en un doble conjunto de triángulos y hexágonos, situándose las digitaciones en el interior de estos últimos.

En las zonas más externas de esta capa, limitantes con la capa cuticular media, se aprecia una progresiva pérdida de ordenación en el sistema fibrilar, de tal forma que llega a presentarse como distribuido al azar.

En diversas ocasiones hemos observado que los extremos terminales de las fibras parecen escindirse en dos o más fibrillas más delgadas, las cuales divergen y discurren según trayectorias variadas (Fig. 4), pareciendo relacionarse directamente con la malla fibrilar descrita en la zona cuticular media.

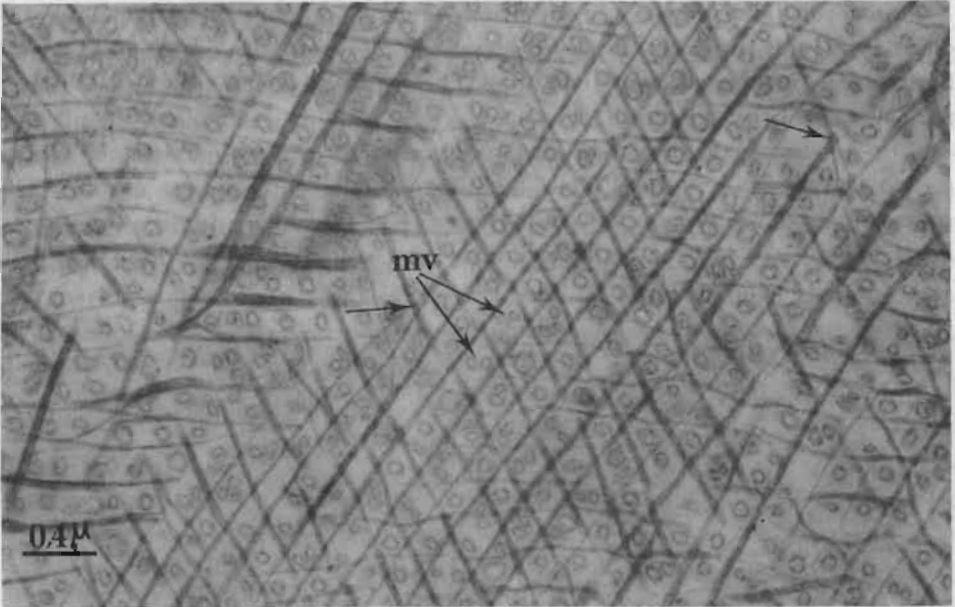


Fig. 4.-Sección oblicua de la capa fibrosa en donde se observa la presencia de dobletes de microvilli (mv) en las áreas rómbicas de la trama fibrilar. También se aprecia en varios puntos la bifurcación de fibras (flechas) ( $\times 29.000$ ).

#### *Prolongaciones digitiformes*

Las células epidérmicas de las branquias presentan en su zona apical un complejo sistema de largas microvellosidades que penetran en las capas cuticulares atravesándolas en su totalidad, según trayectorias preferentemente perpendiculares a la superficie (Fig. 1).

En su zona basal presentan un grosor de 0,1 micra y dejan entre sí espacios de contorno irregular aparentemente vacíos, que en unión con las microvellosidades, forman una capa de textura esponjosa de unas 0,18 micras en la que es frecuente observar la presencia de imágenes que sugieren procesos de pinocitosis (Fig. 1).

En muchas ocasiones se aprecia en el interior de las microvellosidades, en su zona basal, la presencia de estructuras densas, a modo de varillas longitudinales, que se continúan un cierto trecho en el citoplasma apical de la célula epidérmica (Fig. 5). También es frecuente ver, en secciones transversales de las prolongaciones digitiformes, formaciones electrondensas a modo de gránulos, situados inmediatamente por debajo de la membrana y en número de uno, dos o tres por cada microvellosidad (Fig. 6) y que presumiblemente se corresponden con las anteriores.

Al penetrar en la capa fibrosa las microvellosidades quedan englobadas en la

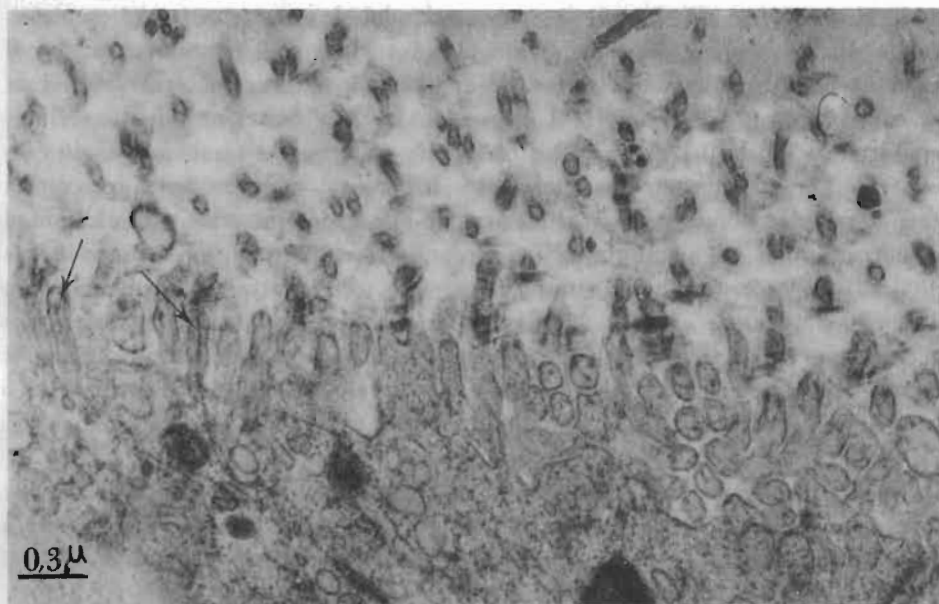


Fig. 5.—Sección transversal de la cutícula en la que se puede apreciar la presencia de formaciones electrondensas longitudinales (flechas), en el interior de los microvilli ( $\times 33.750$ ).

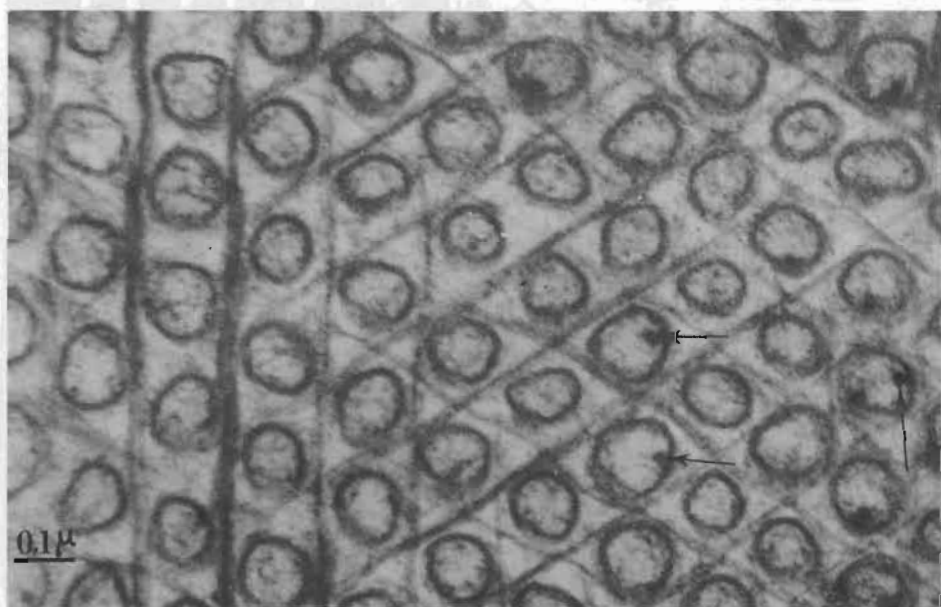


Fig. 6.—Sección tangencial al nivel del tercio interno de la capa fibrosa. Obsérvese la disposición de los microvilli según un patrón hexagonal y las formaciones electrondensas (flechas) ( $\times 91.000$ ).

mallá de la misma. En los niveles más profundos de esta zona se siguen observando en las prolongaciones celulares las formaciones electrondensas con el mismo aspecto y situación descritos, desapareciendo a partir del tercio inferior de la capa fibrosa. A este nivel el grosor de las prolongaciones de las células epidérmicas es de 0,1 micras. Por otro lado, ya desde el tercio medio de esta capa, se aprecia que muchas microvellosidades se dividen en dos o tres ramas secundarias de menor diámetro. Las ramas originadas por una microvellosidad discurren juntas, siguiendo la misma dirección que la principal y ocupando una de las áreas rómbicas de la red fibrilar (Fig. 4) mientras ésta mantiene su ordenación, ya que en la zona más superficial de la capa fibrosa las ramas secundarias de las prolongaciones celulares se distribuyen de modo irregular, si bien en muchos casos se sigue manteniendo la contigüidad entre las parejas o tríos de ramificaciones, situación que permanece en la capa cuticular media (Fig. 2).

Las prolongaciones de las células, al atravesar la cutícula, se localizan de una forma ordenada, que es particularmente aparente en el tercio inferior de esta cubierta, en donde se observa con claridad su disposición según un patrón hexagonal de 0,18 micras de lado (Fig. 6).

Tras atravesar la capa media las microvellosidades llegan hasta la epicutícula, que también perforan, formando unas proyecciones citoplásmicas extracuticulares de una longitud de 0,13 micras, las cuales presentan en su ápice un



Fig. 7.—Sección transversal de la cutícula en la que se ve cómo algunos microvilli presentan proyecciones dilatadas ( $\times 20.000$ ).

refuerzo de material electrodensito situado bajo la membrana celular (Fig. 1). Tales proyecciones aparecen en ocasiones prolongadas en una expansión globosa de forma y tamaño variables (Fig. 7).

Revestiendo la epicutícula y rellenando los espacios situados entre las proyecciones citoplásmicas extracuticulares se dispone un material de aspecto laxo y textura gránulo-filamentosa que recuerda a un glicocáliz (Fig. 1).

De lo anteriormente expuesto puede concluirse que las células epidérmicas de las branquias de *Diopatra neapolitana* aparecen revestidas, excepto a nivel de sus microvellosidades, por las siguientes capas (Fig. 8): 1.º cubierta externa (c.e.); 2.º epicutícula (e.p.); 3.º capa cuticular media (c.m.); 4.º capa cuticular fibrosa (c.f.); 5.º capa esponjosa basal (z.e.).

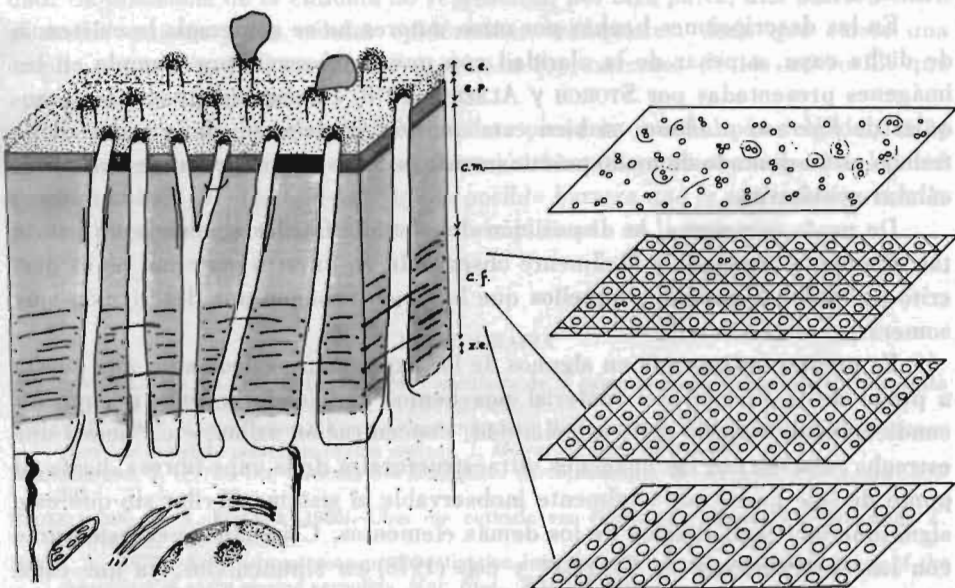


Fig. 8.—Esquema de la organización de la cutícula branquial de *Diopatra neapolitana* y de la disposición del sistema fibrillar en varios niveles.

## DISCUSION

La organización de la cutícula según el modelo de capas superpuestas de fibras paralelas entre sí en cada capa y de dirección cruzada con la de las fibras de capas inmediatas, embebidas en una matriz gránulo-filamentosa es muy común en anélidos.

Primeramente fue citada en oligoquetos por REED y RUDALL (1948) y confirmada posteriormente por diversos autores, como RICHARDS (1974).

Una estructura semejante del tegumento se da en los poliquetos (PILATO,



1964; BOILLY, 1967; BROKELMANN y FISHER, 1966; MICHEL, 1969; MISURACA y NAGY, 1970; STORCH y WELSCH, 1970; BANTZ y MICHEL, 1971; CHIEN y col., 1972; WELSCH y STORCH, 1973).

Sin embargo el único trabajo de que tenemos referencia sobre branquias de poliquetos (STORCH y ALBERTI, 1978) no aporta ningún dato sobre la organización ultraestructural de la cutícula. Por otra parte, los estudios llevados a cabo sobre esta cubierta no se refieren a las branquias, por lo que las particularidades observadas por nosotros podrían deberse a diferencias regionales de la organización cuticular. La existencia de una capa subepicuticular equivalente a la que nosotros designamos como «zona media» (c. m.) ha sido indicada solamente por MISURACA y NAGY (1970) en la cutícula corporal de *Diopatra neapolitana* y *Eunice mediterranea*.

En las descripciones hechas por otros autores no se contempla la existencia de dicha capa, a pesar de la claridad con que se observa, por ejemplo en las imágenes presentadas por STORCH y ALBERTI (1978) correspondientes a las branquias de *Pherusa plumosa*, si bien esta omisión se debe sin duda a que dicho trabajo está orientado de modo prácticamente exclusivo a la ultraestructura de las células epidérmicas.

De modo semejante, la disposición del sistema fibrilar siguiendo un patrón tan altamente ordenado y fácilmente observable en nuestro material, no es descrito por muchos autores y aquellos que lo hacen exponen una descripción muy somera.

Es preciso indicar que en algunos de los experimentos dedicados a la puesta a punto de la fijación del material nos hemos podido dar cuenta de que las condiciones de fijación (pH, osmolaridad, concentración salina, etc.) tienen una estrecha relación con las imágenes ultraestructurales de la capa fibrosa, hasta tal punto de que puede ser totalmente inobservable el sistema fibrilar sin que esto signifique una mala fijación de los demás elementos. Coincidimos en este punto con las observaciones de GOFFINET y col. (1978) en sipuncúlidos, ya que estos autores indican que con los métodos habituales de fijación y contraste seguidos por ellos y otros investigadores las fibras no son evidentes.

La inexistencia de estriación transversal en las fibras cuticulares de nuestro material coincide con los datos obtenidos por otros autores como BANTZ y MICHEL (1971) y STORCH y WELSCH (1970).

Por otro lado, la presencia de subfibrillas muy tenues es también citada por WESTHEIDE y RIEGER (1978), si bien este autor observa que tales subfibrillas aparecen entrelazadas entre sí formando fascículos relativamente laxos, mientras que en nuestro caso la agregación es más intensa y solamente se aprecia la descomposición en fibrillas en las zonas terminales.

El contacto directo de las prolongaciones celulares con el medio externo parece ser una disposición común en la cutícula de los oligoquetos (KRALL, 1968;

POSTWALD, 1971; GOODMAN y PARRISH, 1971; BURKE, 1974) y en la mayoría de los poliquetos (WESTHEIDE y RIEGER, 1978; STORCH y ALBERTI, 1978; ECKELBARGER y CHIA, 1978), salvo casos muy particulares en los que los microvilli aparecen aislados del medio externo, situación que, por otra parte, es la que se encuentra en sipuncúlidos (GOFFINET y col., 1978).

La presencia en oligoquetos de corpúsculos superficiales ha sido citada por REED y RUDALL (1948) y RUSKA y RUSKA (1961) y su naturaleza, consistente en hinchamientos distales de los microvilli epidérmicos fue demostrada por HESS y HENZEL (1967), lo cual coincide con nuestras observaciones.

Los datos morfológicos ultraestructurales obtenidos nos indican que la cutícula es una formación que reúne en sí una rigidez mecánica y una cierta plasticidad. La presencia de la cutícula no representa, por otra parte, una barrera entre el medio externo y las células epidérmicas branquiales, dado que existe una amplia superficie de intercambio gracias a los extremos de los microvilli que contactan con el exterior.

Por otra parte, la cutícula branquial se presenta mucho más delgada que la del resto del cuerpo y con una organización bastante menos compacta, lo cual apunta también en el sentido de que la posible barrera que la cutícula representa para el intercambio de sustancias está simplificada en la branquia.

#### BIBLIOGRAFIA

- BANTZ, M. y C. MICHEL (1971).—Revêtement cuticulaire de la gaine de trompe chez *Glycera convoluta* (annelide polychète). *Z. Zellforsch.*, **118**: 221-242.
- BOILLY, B. (1967).—Contribution à l'étude ultrastructurale de la cuticule épidermique et pharyngienne chez une annélide polychète (*Syllis amica*). *J. Micros.* (Paris), **6**: 469-484.
- BRANDERBURG, J. (1970).—Die Cuticula des *Dinophilus* (Archannelida). *Z. Morphol. Tierre*, **68**: 300-307.
- BROKELMANN, J., A. FISCHER (1966).—Über die cuticula von *Platynereis dumerilii* (Polichaeta). *Z. Zellforsch.*, **70**: 131-135.
- BUBEL, A. (1973).—An electromicroscope investigation into the cuticle and associated tissues of the operculum of some marine serpulids. *Mar. Biol.*, **23**: 147-164.
- BURKE, J. M. (1974).—An ultrastructural analysis of the cuticle, epidermis and esophageal epithelium of *Eisenia foetida* (Oligochaeta). *J. Morphol.*, **142**: 301-320.
- CHIEN, P. K., G. C. STEPHENS y P. L. HEALEY (1972).—The role of ultrastructure and physiological differentiation of epithelia in amino acid uptake by the bloodworm, *Glycera*. *Biol. Bull.*, **142**: 219-235.
- ECKELBARGER, K. J. y FU-SHIANG CHIA (1978).—A Correlated Scanning and Transmission Electron Microscopic Study from Egg Envelope Formation to Larval Metamorphosis. *Cell. Tiss. Res.*, **186**: 187-201.
- GOFFINET, G., M. F. VOSS-FOUCART y S. BARZIN (1978).—Ultrastructure of the cuticle of the sipunculans *Golfingia vulgaris* and *Sipunculus nudus*. *Trans. Amer. Micros. Soc.*, **97**, **4**: 511-523.
- GOODMAN, D. y W. B. PARRISH (1971).—Ultrastructure of the epidermis of the ice-worm, *Mesenchytraeus solifugus*. *J. Morph.*, **135**: 71-86.
- HESS, R. T. y D. B. HENZEL (1967).—The fine structure of the epicuticular particles of *Enchytraeus fragmentosus*. *J. Ultrastructur. Res.*, **19**: 487-498.
- KRALL, J. F. (1968).—The cuticle and epidermal cells of *Dero obtusa* (family Naididae). *J. Ultrastructur. Res.*, **25**: 84-93.
- KUSHIDA, H. (1967).—A new polyester embedding method for ultrathin sectioning. *J. Electron Microscopy*, **9**: 113.

- MANAVALARAMANUJAN, R. y J. S. RAJULU (1974).—An investigation on the chemical nature of the cuticle of a polychaete *Nereis diversicolor* (Annelida). *Acta Histochem.*, **48**: 69-81.
- MICHEL, C. (1969).—Ultrastructure et histochimie de la cuticule pharyngienne chez *Eulalia viridis* (annélidé polychète errante Phyllodocidae). *Z. Zellforsch.*, **98**: 54-73.
- MISURACA, G. y J. Zs.-NAGY (1970).—Some new structural data concerning the cuticle of Eunicidae (Polychaeta, Annelida). *Pubb. Staz. Zool. Napoli*, **38**: 249-261.
- PILATO, G. (1964).—Osservazioni sulla ultrastruttura della cuticola dei polycheti Nereidi. *Boll. Acad. Gioc. Sci. Nat. Catania, Ser. IV*, **8**: 210-220.
- POTSWALD, H. E. (1971).—The structural analysis of the epidermis and cuticle of the oligochaete *Aelosoma bengalense*. *J. Morphol.*, **135**: 185-212.
- REED, R. y K. M. RUDALL (1948).—Electron microscope studies on the structure of earthworm cuticles. *Biochim. Biophys. Acta*, **2**: 7-18.
- REYNOLDS, E. S. (1963).—The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, **17**: 208-212.
- RICHARDS, K. S. (1974).—The ultrastructure of the cuticle of some British lumbricids (Annelida). *J. Zool. London.*, **172**: 303-316.
- RIEGER, R. M. y G. E. RIEGER (1976).—Fine structure of the archiannelid cuticle and remarks on the evolution of the cuticle within the spiralia. *Acta. Zool.*, **57**: 53-68.
- RUSKA, C. y H. RUSKA (1961).—Die Cuticule der Epidermis des Regenwurmes (*Lumbricus terrestris*). *Z. Zellforsch.*, **53**: 759-764.
- SPURR, A. R. (1969).—A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.*, **26**: 31.
- STORCH, V. y U. WELSCH (1970).—Über die Feinstruktur des Polychaeten Epidermis. *Z. Morph. Tiere*, **66**: 310-322.
- STORCH, V. y G. ALBERTI (1978).—Ultrastructural observations on the gills of polychaetes. *Helv. Wis. Meeresunters.*, **31**: 169-179.
- WELSCH, U. y V. STORCH (1973).—*Einführung in die Cytologie und Histologie der Tiere*. Fischer Verlag, Stuttgart, 244 pp.
- WESTHEIDE, W. y R. M. RIEGER (1978).—Cuticle ultrastructure of Hesionid Polychaetes (Annelida). *Zoomorphologie*, **91**: 1-18.

## ULTRAESTRUCTURA DE LA GLIA DEL NUCLEO DORSAL DE *Salmo irideus*

Por  
ARSENIO FERNANDEZ  
y  
JOSE MANUEL GARCIA

Departamento Interfacultativo de Morfología Microscópica.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

En el presente trabajo se describen las células de tipo glial presentes en el núcleo dorsal de *Salmo irideus*. Se reconocen varios tipos celulares que se agrupan en: células endimarias, células asociadas a los vasos y células intersticiales.

### SUMMARY

The glial cells in the nucleus dorsal of *Salmo irideus* are described. We have identified several types: endipimal cells, blood vessels associated cells and interstitial cells.

### INTRODUCCION

La imagen a microscopio óptico de la neuroglia tal como ha sido descrita por los investigadores de principio de siglo, en base a impregnaciones argénticas (CAJAL, 1911; ACHÚCARRO, 1915; RÍO ORTEGA, 1921 a, b, 1924), no se correlaciona con las imágenes ultraestructurales.

Existen considerables discrepancias en la clasificación de la neuroglia desde el punto de vista ultraestructural, fundamentalmente en lo que refiere a la descripción de la microglia y al reconocimiento de su existencia. Algunos autores (MAXWELL y KRUGER, 1965; EAGER y EAGER, 1966; KING, 1968; KRUGER y MAXWELL, 1966, 1967; SCHONBACH, 1969) no admiten su existencia. Los autores que la reconocen no coinciden en su descripción (MORI y LEBLOND, 1969; BARON y GALLEGO, 1972; SCHULTZ y *al.* 1957; MUGNAINI y WALBERG, 1964; VAUGHN y PETERS, 1971; LEWIS, 1968, etc.).

El problema es también muy complejo en vertebrados inferiores. Con el presente trabajo pretendemos aportar nuevos datos ultraestructurales para un

mejor conocimiento de los elementos gliales del sistema nervioso central de Teleosteos.

## MATERIAL Y METODOS

Para el presente trabajo se han utilizado ejemplares de la especie *Salmo irideus* (GIBB, 1885) de un año de edad aproximadamente. Fueron anestesiados con MS 222 de Sandoz al 0,025 % por inmersión. La fijación se realizó por perfusión a través de la aorta utilizándose dos fijadores. El fijador I formado por una solución de formaldehído al 1 % y glutaraldehído al 1,2 % en tampón fosfato 0,2 M y pH 6,9. El fijador II consiste en una mezcla de formaldehído al 4 % y glutaraldehído al 5 % tamponado de idéntica forma que el anterior. A ambos fijadores se les añadieron 2 cc de cloruro cálcico al 0,5 % por cada 500 cc de fijador. Se dejó pasar fijador I durante 5 min aprox y a continuación el fijador II durante 3 min. A continuación se extrajo el encéfalo introduciéndolo en fijador II durante 1 hora a 4°C después de lo cual se aislaron zonas anterior media y posterior del área a estudiar de 1 mm de espesor. Previo lavado en tampón, se procedió a una postfijación con tetróxido de osmio al 2 % en el tampón citado. A continuación se deshidrató en acetonas de concentración creciente y se contrastó con acetato de uranilo al 2 % en acetona de 70.

La inclusión se hizo en resina EPON y las secciones se obtuvieron con un ultramicrotomo LBK-III. Las observaciones se hicieron en un microscopio Philips EM-300.

## RESULTADOS

En el núcleo dorsal del área vestibulo-lateral de *Salmo irideus* hemos observado además de las células neuronales y endoteliales, células que agrupamos de la siguiente forma: 1) Células endimarias que se disponen formando una o dos capas limitando con el ventrículo, 2) Células que se disponen asociadas a vasos y 3) Células intersticiales.

### *Células endimarias*

Presentan un soma alargado, próximo al ventrículo que emite una prolongación que se interna en el núcleo dorsal. Su núcleo es redondeado, alargado y en ocasiones lobulado, en el que la cromatina se presenta dispersa en pequeños grumos por todo el carioplasma y asociada a la carioteca formando una fina banda.

El citoplasma es abundante en general, con cisternas cortas de R. E. rugoso y numerosos ribosomas libres que destacan sobre una matriz clara. Las mitocondrias tienen una cámara interna muy densa y crestas claras. Su forma es redondeada o alargada, en general son pequeñas y en ocasiones presentan una zona



central filiforme. El R. E. liso es escaso. Se pueden observar paquetes de microfilamentos en las prolongaciones y en algunas ocasiones en las proximidades del núcleo (Fig. 1).

Las células endimarias que están en contacto con el ventrículo poseen cilios y evaginaciones digitiformes hacia éste, pudiendo apreciarse además en la porción apical del citoplasma numerosas mitocondrias, raíces ciliares y cuerpos basales además de complejos de unión entre ellas (Fig. 2).

### *Células asociadas a vasos*

Entre las células perivasculares se pueden reconocer dos tipos morfológicos. Uno de ellos está formado por células pequeñas, de núcleo muy denso, redondeado, con una banda de cromatina muy patente adosada a la carioteca. Aparecen también algunos grumos densos muy grandes en el interior.

El citoplasma es escaso y bastante denso, con un R. E. rugoso muy dilatado, algunas mitocondrias cuya matriz presenta una densidad similar al citoplasma y cámara externa más clara y abundantes ribosomas libres. Este tipo aparece dentro del espacio perivascular (Fig. 3).

El otro tipo celular asociado a los vasos es muy escaso, presenta un núcleo alargado o muy lobulado y un citoplasma abundante. Las cisternas de R. E.

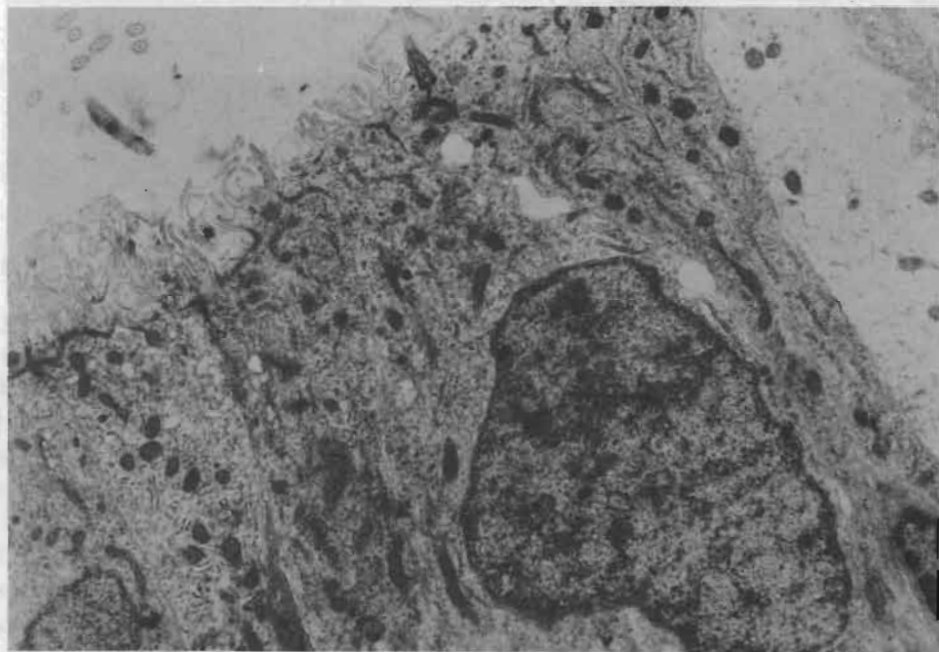


Fig. 1.—Célula endimaria en la que se observan cilios y evaginaciones digitiformes hacia la luz ventricular ( $\times 10.000$ ).

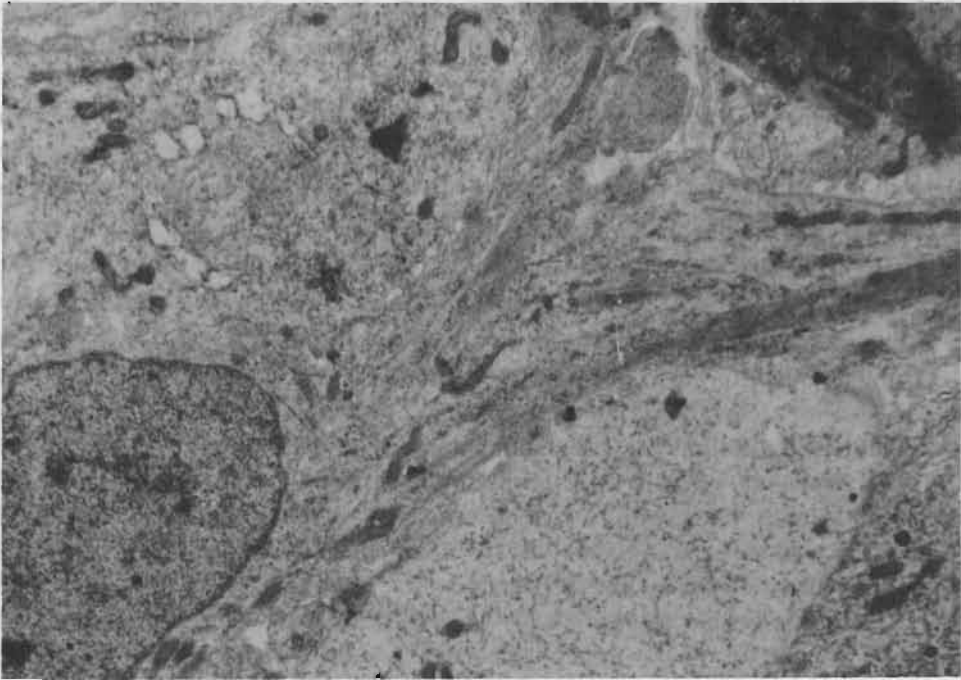


Fig. 2.—Citoplasma de célula ependimaria en el que se observan paquetes de filamentos. La célula se prolonga hacia la zona interna del núcleo dorsal ( $\times 12.000$ ).

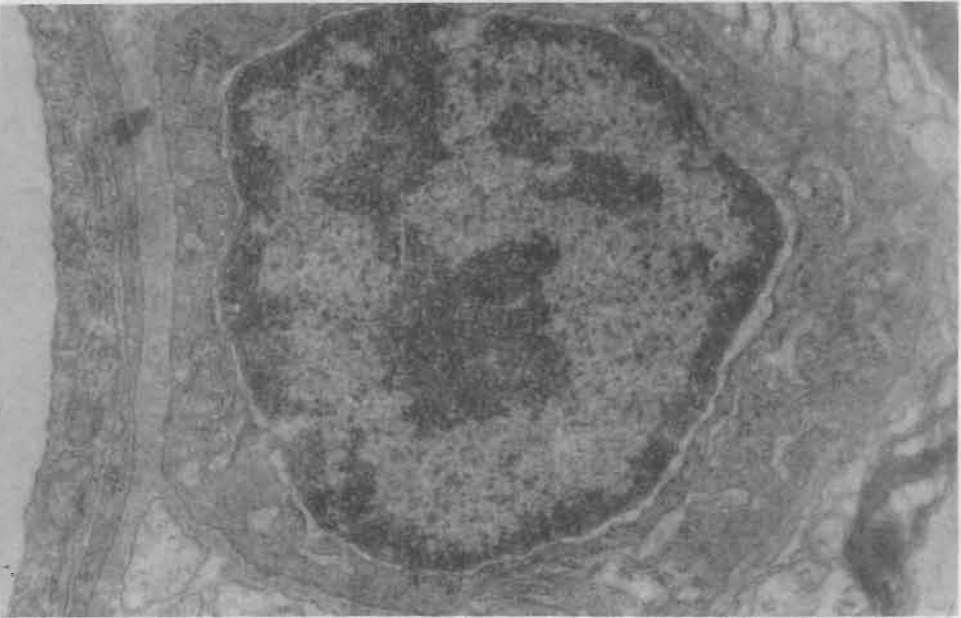


Fig. 3.—Célula asociada a un vaso localizada en el espacio perivascular ( $\times 12.000$ ).

rugoso se encuentran bastante dilatadas y aparecen también abundantes ribosomas libres. Las mitocondrias son muy escasas. El núcleo presenta una densidad homogénea (Fig. 4). Este tipo celular no lo hemos encontrado nunca en el espacio perivascular.

### *Células intersticiales*

Entre las células intersticiales se pueden reconocer dos tipos celulares. Uno de ellos está formado por células en general alargadas que presentan un núcleo muy lobulado, muy denso, con cromatina formando una gruesa banda perinuclear

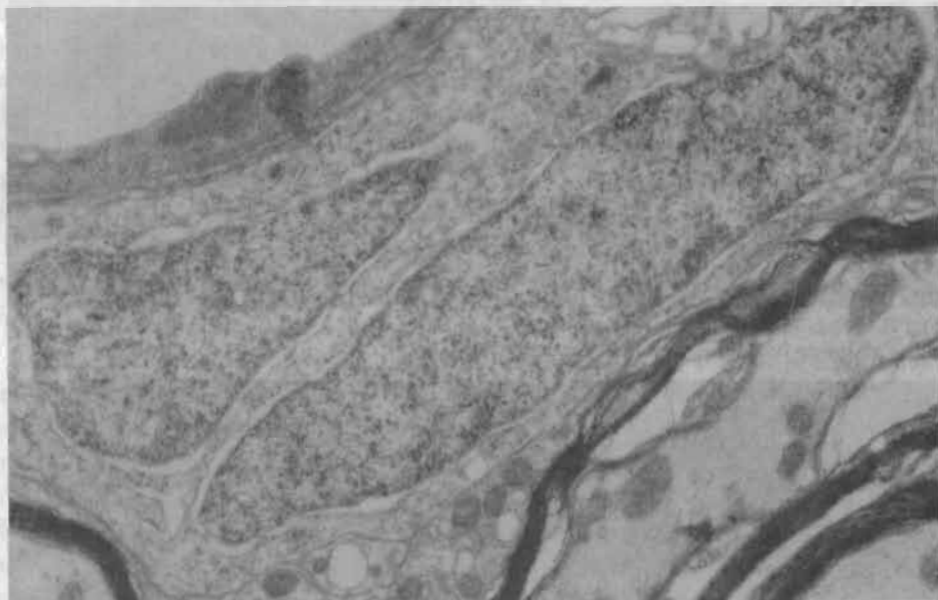


Fig. 4.—Célula asociada a un vaso situada fuera del espacio perivascular ( $\times 12.000$ ).

y algunos grumos en su interior. El citoplasma presenta una matriz de densidad alta en la que destacan numerosos cuerpos densos de aspecto lisosómico. El R. E. rugoso se encuentra bien desarrollado. Las mitocondrias son escasas, pequeñas y su matriz es de densidad similar al citoplasma. Células de este tipo aparecen en alguna ocasión entre las células endimarias (Fig. 5), y presentan prolongaciones cortas y delgadas.

El otro tipo de célula intersticial se presenta fundamentalmente entre las fiebres mielínicas. Tienen su núcleo mucho más claro que las anteriormente citadas. En el mismo no hemos observado lobulación. El citoplasma presenta una densidad media o alta con un R. E. rugoso desarrollado en cisternas que en ocasiones aparecen paralelas. Las mitocondrias son abundantes con una matriz ligeramente más densa que la del citoplasma y crestas más claras (Fig. 6).

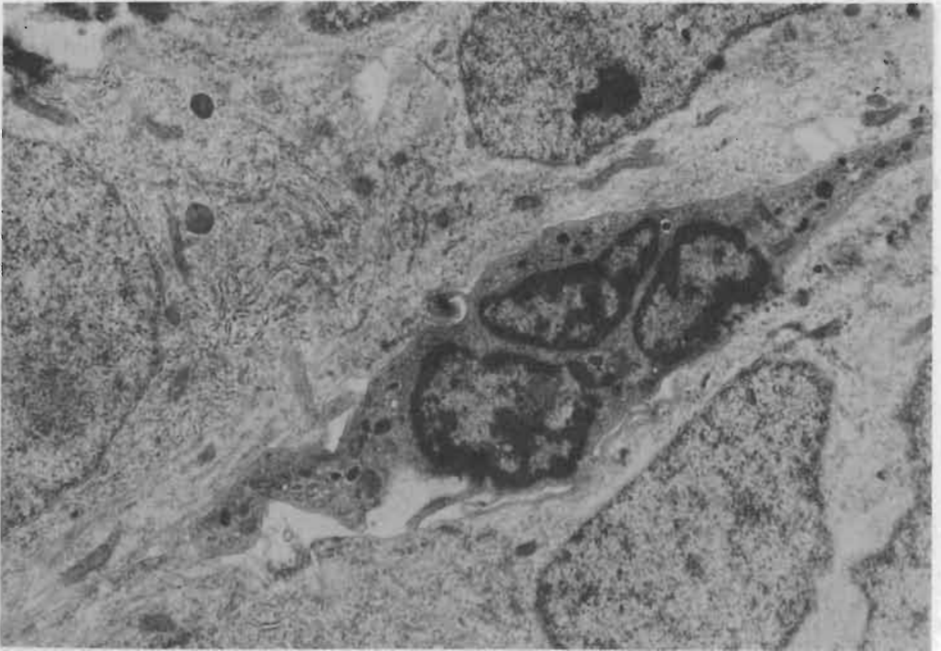


Fig. 5.-Célula intersticial. Obsérvese el núcleo lobulado y denso así como los numerosos cuerpos de aspecto lisosómico en su citoplasma ( $\times 15.000$ ).

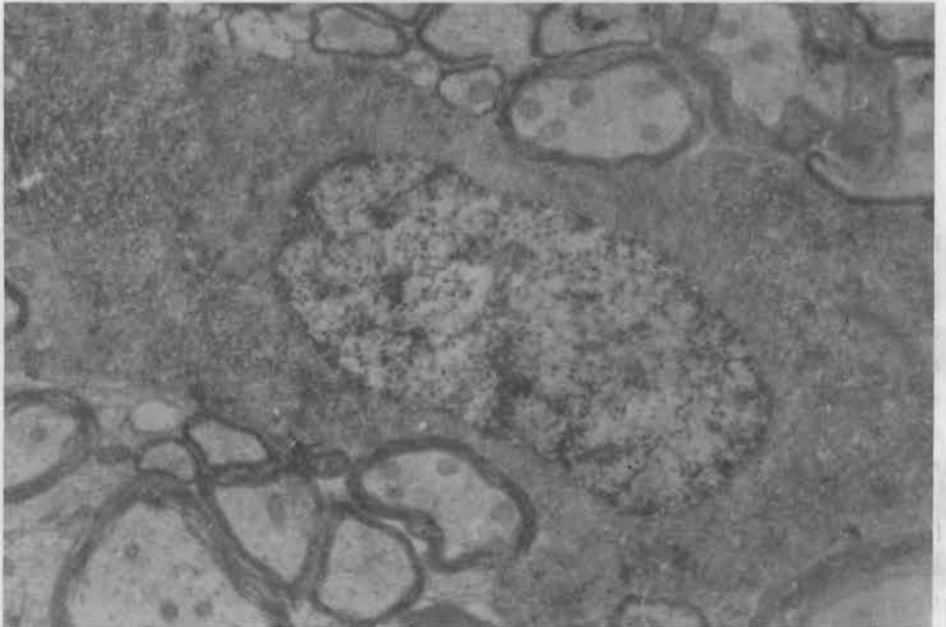


Fig. 6.-Célula intersticial situada entre las fibras mielínicas cuyo núcleo presenta la cromatina poco condensada ( $\times 10.000$ ).

## DISCUSION

Los estudios con microscopia electrónica de los elementos gliales en vertebrados, presentan enormes problemas a la hora de identificarlos con los tipos descritos con microscopia óptica en mamíferos, exceptuando la astroglia.

Hemos de destacar que no hemos observado en ningún caso células que presenten características que permiten definir las como astrocitos como han hecho KRUGER y MAXWELL (1967), MYSLIVECKOVA (1978) y SCHONBACH (1969) en peces, anfibios y reptiles. Tales características son fundamentalmente la presencia de glucógeno y sobre todo paquetes de microfilamentos. Estos caracteres se emplean también en mamíferos por MUGNAINI y WALBERG (1964). En nuestros resultados señalamos que las únicas células que presentan microfilamentos son las endimarias y pueden aparecer en el cuerpo celular y en las prolongaciones, las cuales cruzan el área ocupada por el núcleo dorsal. Por tanto, consideramos que las prolongaciones con microfilamentos en este núcleo deben identificarse como prolongaciones de las células endimarias y no pueden reconocerse astrocitos en el área que ocupa. Los estudios de MYSLIVECKOVA (1978) y KRUGER y MAXWELL (1967) no indican en qué regiones han reconocido astrocitos, por lo que cabe esperar que estas células puedan encontrarse en otras zonas del S. N. C. de *Salmo irideus*.

La existencia de microglia está puesta en duda no sólo en vertebrados inferiores (KRUGER y MAXWELL, 1966, 1967; SCHONBACH, 1969) sino también en mamíferos (MAXWELL y KRUGER, 1965; EAGER, 1966 y KING, 1968). Otros autores que admiten su existencia discrepan en cuanto a su origen, así, en mamíferos VAUGHN y PETERS (1971) y LEWIS (1968) indican que los tres tipos gliales provienen del endimo primitivo. MYSLIVECKOVA (1978) en su trabajo sobre la glía de peces, anfibios, y reptiles, señala que no ha encontrado microglia al microscopio electrónico. CAMMERMEYER (1966), señala en mamíferos que existe dificultad en diferenciar la microglia de la oligodendrogli a microscopia electrónica, ya que sus características morfológicas son muy similares.

La presencia de células en el espacio perivascular que hemos observado, indicaría un posible origen extraendimario de algunos tipos celulares del S. N. C. Las características ultraestructurales de algunas células intersticiales parecen coincidir con las de estas células situadas en el espacio perivascular, por lo que es posible que exista un tránsito a través de la membrana basal, introduciéndose en el tejido nervioso. Además, debemos apuntar que la presencia de cuerpos de aspecto lisosómico en el citoplasma de estas células parece indicar una posible función macrofágica. No podemos señalar si se han originado en el momento de la formación del sistema nervioso, a partir de células mesenquimáticas que ingresaron con los vasos, o bien a partir de células sanguíneas posteriormente.



BARÓN y GALLEGO (1972) y MORI y LEBLOND (1969) indican que existe paso de células hacia el sistema nervioso a través de la membrana basal; además señalan el carácter macrofágico de estas células y las denominan microglia. Dado que el concepto de microglia fue establecido con microscopía óptica y se relacionaron estas células con elementos fagocíticos, creemos que con microscopía electrónica en Teleósteos no es posible identificar la microglia tal como se describió en mamíferos por RÍO HORTEGA.

Dentro de las células intersticiales de nuestra descripción interpretamos que existen dos tipos celulares, uno de carácter posiblemente macrofágico y tal vez de origen extraependimario y otro que siempre hemos encontrado entre fibras miélicas, sin lisosomas en su citoplasma y que podríamos considerarlo como oligodendroglia. Sin embargo no hemos tenido la fortuna de observar a este tipo celular formando vainas de mielina, por lo que la asignación a oligodendrocito se hace con reservas.

En cuanto a las células asociadas a los vasos, pero situadas fuera de la membrana basal debemos indicar la dificultad de caracterizarlas ya que no presentan estructuras que nos permitan asignarlas a un tipo celular determinado.

#### BIBLIOGRAFIA

- ACHÚCARRO, N. (1915).—De l'évolution de la néuroglie, et spécialement de ses relations avec l'appareil vasculaire. *Trabajos Para Investigaciones Biológicas* (Madrid), **13**: 169-212.
- BARÓN, M. y A. GALLEGO (1972).—The Relation of the Microglia with the Pericytes in the Cat Cerebral Cortex. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, **128**: 42-57.
- CAJAL, S. R. y (1911).—*Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. 2 vols. París. A. Maloine.
- CAMMERMEYER, J. (1966).—Morphologic Distinctions between Oligodendrocytes and Microglia Cells in the Rabbit Cerebral Cortex. *Am. J. Anat.*, **118**: 227-247.
- EAGER, R. P. y P. R. EAGER (1966).—Glial responses to degenerating cerebellar cortico-nuclear pathways in the cat. *Science*, **153**: 553-555.
- KING, J. S. (1968).—A light and electron microscopic study of perineuronal glial cells and processes in the rabbit neocortex. *Anat. Record.*, **161**: 111-124.
- KRUGER, L. y D. S. MAXWELL (1966).—Electron microscopy of oligodendrocytes in normal rat cerebrum. *Am. J. Anat.*, **118**: 411-436.
- (1967).—Comparative fine structure of vertebrate neuroglia: Teleost and Reptiles. *J. comp. Neurol.*, **129**: 115-142.
- LEWIS, P. D. (1968).—The fate of the subependymal in the adult rat brain, with a note on the origin of microglia. *Brain*, **91**: 721-736.
- MAXWELL, D. S. y L. KRIGER (1965a).—The fine structure of astrocytes in the cerebral cortex and their response to focal injury produced by ionizing particles. *J. Cell Biol.*, **25**: 141-157.
- MORI, S. y C. P. LEBLOND (1969).—Identification of microglia in light and electron microscopy. *J. comp. Neur.*, **135**: 57-80.
- MUGNAINI, E. y F. WALBERG (1964).—III Ultrastructure of neuroglia. *Ergbn. Anat. Entwicklungsges.*, **37**: 194-236.
- MYSLIVECKOVA, A. (1978).—Ultrastructural image of the neuroglia of fishes, amphibians and Reptiles. *Pholia Morphol.* (Prague), **26** (1): 49-54.
- RÍO HORTEGA, P. (1921a).—Estudios sobre la neuroglia. La glía de escasas radiaciones (oligodendroglia). *Bol. Real Soc. Esp. Hist. Nat.*, **21**: 64-92.
- (1921b).—El tercer elemento de los centros nerviosos: Histogénesis y evolución normal; éxodo y distribución regional de la microglia. *Mem. Real Soc. Esp. Hist. Nat.*, **11**: 213-268.

— (1924).—Lo que debe entenderse por tercer elemento de los centros nerviosos. *Bol. Soc. Esp. Biol.*, **11**: 33-35.

SCHONBACH, Ch. (1969).—The neuroglia in the spinal cord of the newt *Triturus viridescens*. *J. Comp. Neur.*, **135**: 93-120.

SCHULTZ, R. L. y *al.* (1957).—Electron microscopy of neurons and neuroglia of cerebral cortex and corpus callosum. *Am. J. Anat.*, **100**: 369-407.

VAUGHN, J. E. y A. PETERS (1971).—The morphology and development of neuroglial cells. En *Cellular aspects of neural growth and differentiation*. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London.

## ULTRAESTRUCTURA DE LA PERIFERIA SOMÁTICA NEURONAL EN EL PLEXO MIENTERICO GASTRICO

M. J. RODRIGUEZ COLUMBA, A. LABRÉS MUÑOZ,

E. IBÁÑEZ GÓMEZ

Departamento de Anatomía de Medicina, Microscopía,  
Universidad de Sevilla

### RESUMEN

En el presente trabajo se ha realizado un estudio de la periferia somática neuronal, describiendo las relaciones ultraestructurales existentes entre dicho soma y las células gliales, las vesículas lisosómicas y mitocondrios circundantes.

### SUMMARY

An ultrastructural study of body neurons periphery has been carried out. The authors described the relationships of the soma with glial cells, fibroblasts, oligodendrocytes and somatic tissue.

### INTRODUCCION

La ultraestructura de los elementos neuronales que integran el plexo mientérico gástrico, ha sido objeto de estudios recientes en orden a definir los distintos tipos neurales en relación, tanto con el músculo estriado, como con las células gliales y mitocondrios (García, 1971-1976; Cruz, 1976; Hovas, 1966).

En estos, sin embargo, no se han abordado el tema intentando sistematizar a nivel ultraestructural las relaciones de dichas neuronas con las estructuras fibrilares, gliales y mitocondrios circundantes (Cruz, 1976).

En el presente trabajo describimos la ultraestructura de la periferia neuronal, destacando las particularidades estructurales más significativas, en relación a la organización orgánica del plexo.

### MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se ha realizado utilizando como animal de experimentación a la rata blanca, cepa Wistar. Se estudiaron cinco ratas de peso comprendido

## ULTRAESTRUCTURA DE LA PERIFERIA SOMATICA NEURONAL EN EL PLEXO MIENTERICO GASTRICO

Por  
M. J. RODRIGUEZ COLUNGA, A. CAMPOS MUÑOZ

y  
E. BRAÑEZ CEPERO

Departamento Interfacultativo de Morfología Microscópica.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

En el presente trabajo se ha realizado un estudio de la periferia somática neuronal, describiendo las relaciones ultraestructurales existentes entre dicho soma y las células gliales, los elementos fibrilares y el tejido conjuntivo circundante.

### SUMMARY

An ultrastructural study of body neurones periphery has been carried out. The authors described the relationships of the cell body with glial cells, fibrillary elements and connective tissue.

### INTRODUCCION

La ultraestructura de los elementos neuronales que integran el plexo mientérico gástrico, ha sido objeto de estudios recientes en orden a tipificar los distintos tipos neuronales en relación, tanto con su soma celular, como con las prolongaciones axónicas (GABELLA, 1971-1976; COOK, 1976; HOYES, 1980).

Existen, sin embargo, pocos trabajos que aborden el tema intentando sistematizar a nivel ultraestructural las relaciones de dichas neuronas con las estructuras fibrilares, gliales y conectivas circundantes (COOK, 1976).

En el presente trabajo describiremos la ultraestructura de la periferia neuronal, destacando las particularidades estructurales más significativas, en orden a la organización arquitectural del plexo.

### MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se ha realizado utilizando como animal de experimentación la rata blanca, cepa Wistar. Se estudiaron cinco ratas de peso comprendido

entre 200 y 250 gr que fueron anestesiadas con cloroformo/éter 1:1. La fijación se llevó a cabo mediante perfusión, utilizando como fijador una solución de glutaraldehído al 1 % - paraformaldehído al 1 % en tampón fosfato 0,12 M (pH 7,2-7,3), realizándose la postfijación con tetróxido de osmio al 2 % tamponado. La inclusión se realiza en EPON. Las áreas que contenían ganglios, fueron seleccionadas realizando previamente cortes semifinos de una micra de espesor, que se tiñeron con azul de toluidina o se observaron directamente por contraste de fases. Posteriormente se obtuvieron los cortes ultrafinos en un ultramicrotomo LKB-III, realizándose a continuación una segunda tinción de contraste con citrato de plomo y observándose finalmente las muestras en un microscopio PHILIPS-300.

## RESULTADOS

La membrana celular de los elementos neuronales delimita a nivel del soma un contorno polimorfo. Dicho contorno se configura como consecuencia de las distintas relaciones que se establecen entre las estructuras del plexo mientérico -glía, fibras y tejido conjuntivo- y el pirenóforo neuronal.

La membrana neuronal rodeada por células gliales satélite ofrece, generalmente, un contorno liso cuando dicho contacto neuro-glial se lleva a cabo a nivel del soma de la célula glial. Cuando las prolongaciones gliales circundan la periferia neuronal es posible visualizar pequeñas depresiones e invaginaciones en este último elemento celular (Figs. 1 y 2).

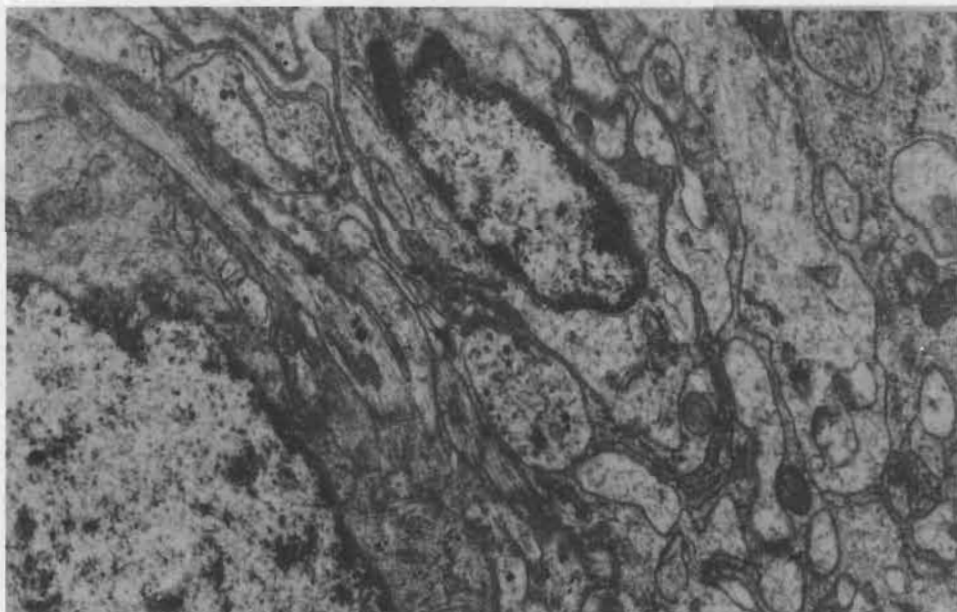


Fig. 1.-Célula glial periférica al soma neuronal. Existen elementos fibrilares interpuestos ( $\times 17.500$ ).

En algunos casos se observan áreas densas en las membranas celulares de la neurona y de la glía. El citoplasma subyacente a dichos niveles no ofrece particularidades estructurales de ningún género (Fig. 2).

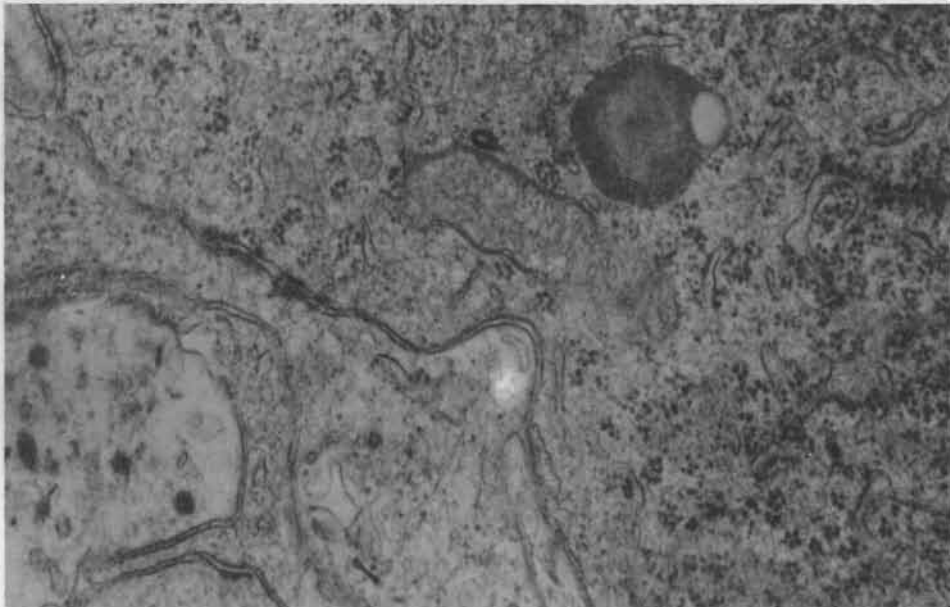


Fig. 2.—Expansión glial periférica al soma neuronal ( $\times 51.000$ ).

Los elementos fibrilares —dendritas y axones— originan en la superficie neuronal depresiones más o menos profundas configurando a ese nivel un cortorno generalmente irregular. En algunos casos existen prolongaciones delgadas de citoplasma neuronal que se introducen y ocasionalmente circundan a las formaciones fibrilares (Figs. 1 y 3). No se han observado diferencias estructurales entre la membrana neuronal que, a nivel del soma delimita las prolongaciones axónicas o las prolongaciones dendríticas. Existe tan sólo un engrosamiento membranoso ocasional en torno a estas últimas.

El citoplasma subyacente a las depresiones superficiales antes expuestas posee una menor concentración de organelos en relación con otras áreas citoplásmicas (Fig. 3). Algunas prolongaciones fibrilares constituyen sobre la superficie de la neurona terminales sinápticos cuya naturaleza ya hemos descrito en trabajos previos (RODRÍGUEZ COLUNGA, 1980; BRÁÑEZ y col., 1981).

Expansiones citoplásmicas de los elementos neuronales y en numerosas ocasiones los mismos somas neuronales establecen contactos con el tejido conjuntivo circundante al plexo mientérico. A dicho nivel la membrana basal que delimita las estructuras nerviosas del plexo se adelgaza notablemente. El con-



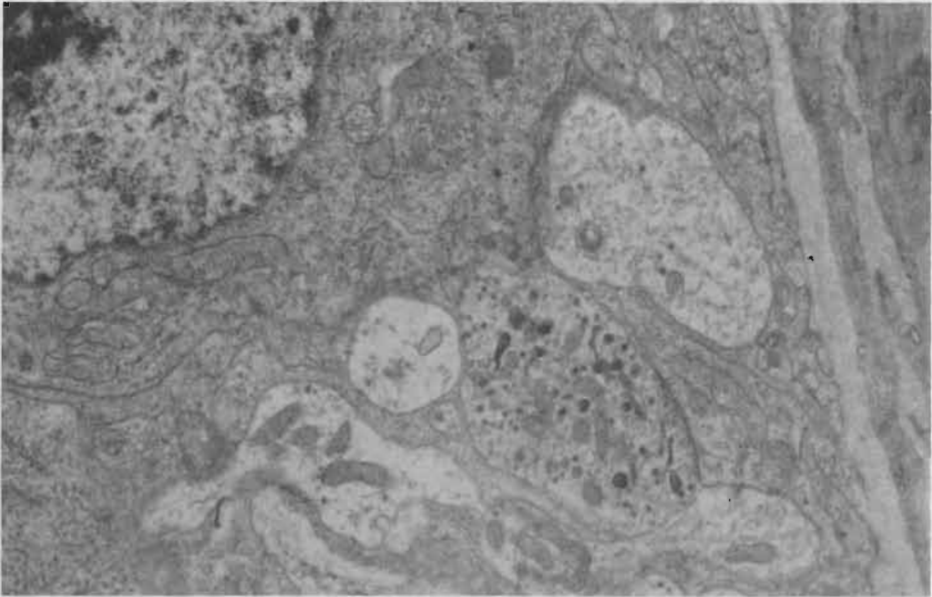


Fig. 3.-Prolongaciones axónicas y dendríticas periféricas al cuerpo neuronal. Existen algunas expansiones circundantes del soma que contornean dichas prolongaciones ( $\times 17.200$ ).

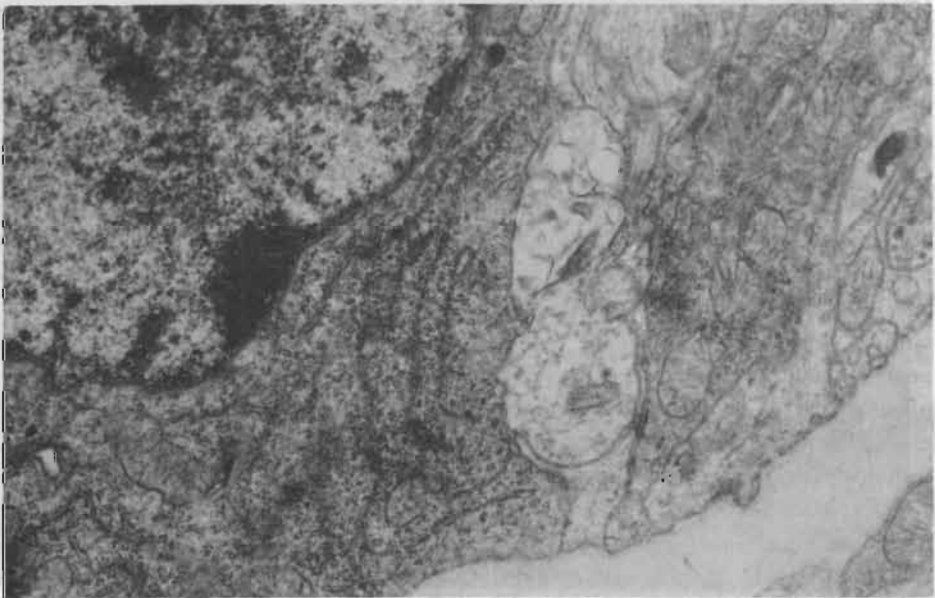


Fig. 4.-Soma neuronal en contacto con el tejido conjuntivo ( $\times 28.000$ ).

torno de la membrana neuronal en este contacto con el tejido conjuntivo es muy variable, oscilando desde un carácter estrictamente liso hasta otro marcadamente tortuoso. No se observa en el citoplasma subyacente ninguna particularidad estructural de carácter significativo (Fig. 4).

## DISCUSION

Los somas neuronales son ultraestructuralmente, como señalan BAUMGARTEM (1970) y GABELLA (1971), fácilmente identificables por sus caracteres nucleares y citoplásmicos. COOK y BURNSTOCK (1976) tipifican a nivel ultraestructural en el estómago del cobaya, nueve tipos diferentes de somas neuronales. Dichos tipos tienen por base el tamaño celular y la distribución de los organelos. Solamente uno de los parámetros de dicha clasificación tipológica esta relacionada con la periferia neuronal, concretamente con las relaciones neuro-gliales.

En cualquier caso, los parámetros utilizados constituyen más un conjunto de variedades descriptivas que una auténtica tipificación neuronal. Es obvio que la valoración ultraestructural de los tamaños exige además, un estudio seriado muy riguroso de las muestras.

El estudio que realizamos en el presente trabajo, pone de relieve que la morfología del soma neuronal y en conjunto el contorno celular, están estrechamente relacionados con el volumen y la morfología de las diferentes estructuras nerviosas. No hemos observado uniones intercelulares que permitan justificar sistemas de anclaje entre los elementos gliales y fibrilares periféricos al soma neuronal, si bien hemos comprobado reiteradamente el amplio contacto existente entre el soma neuronal o sus expansiones y el tejido conjuntivo circundante. Esta circunstancia no descrita por otros autores a nivel gástrico ni a nivel intestinal (GABELLA, 1972-1976; COOK, 1976; OKI, 1977; HOYES, 1980), parece sugerir que a nivel del plexo mientérico las necesidades tróficas de los elementos neuronales y quizás la disposición arquitectural del ganglio requieran un más estrecho contacto con la periferia conjuntiva. Es importante señalar, además, que a este nivel la membrana basal se encuentra sumamente adelgazada, hecho éste que ha sido descrito previamente por ASTUDILLO y BRÁÑEZ (1976) en la membrana basal que rodea la periferia glial en el plexo mientérico del intestino.

## BIBLIOGRAFIA

- ASTUDILLO GONZÁLEZ, M. A. y E. BRÁÑEZ CEPERO (1976).-A contribution to the ultrastructural morphological study of the neuroglia of the enteric nervous system. *Phronesis*, **27**: 207-222.
- BAUMGARTEM, H., A. F. HOLSTEIN y Ch. OWMAN (1970).-Auerbach's plexus of mammals and Man: Electron microscopic identification of three different types of neuronal processes in Myenteric ganglia of the large intestine from Rhesus monkeys, Guinea-pigs and Man. *Z. Zellforsch.*, **106**: 376-397.
- BRÁÑEZ CEPERO, E., A. CAMPOS MUÑOZ y M. J. RODRÍGUEZ COLUNGA (1981).-Estudio ultraestructural de los terminales sinápticos en el plexo mientérico gástrico. *Arcano*. En prensa.

- COOK, R. y G. BURNSTOCK (1976).—The ultrastructure of Auerbach's plexus in the guinea-pig. I. Neuronal elements. *J. of Neurocy.*, **5**: 171-194.
- (1976).—The ultrastructure of Auerbach's plexus in the guinea-pig. II. Non-neuronal elements. *J. of Neurocy.*, **5**: 195-206.
- GABELLA, G. (1971).—Glial cells in the myenteric plexus. *Z. Naturforschteil*, **26**: 244-245.
- (1972).—Fine structure of the myenteric plexus in the guinea-pig ileum. *J. Anat.*, **111**: 69-97.
- (1976).—*Structure of the Autonomic Nervous System*. Chapman and Hall, Ed. London.
- HOYES, A. D. y P. BARBER (1980).—Axonal terminal ultrastructure in the Myenteric ganglia of the Guinea-pig stomach. *Cell. Tissue Res.*, **209**: 329-343.
- OKI, M. y E. E. DANIEL (1977).—Effects of vagotomy on the ultrastructure of the nerves of the dog stomach. *Gastroenterology*, **73**: 1.020-1.040.
- RODRIGUEZ COLUNGA, M. J. (1980).—*Estudio ultraestructural y morfométrico del plexo mientérico gástrico*. Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo.

## *Viola persicifolia* Schreberi, EN EL NORTE DE ESPAÑA

Por  
M. A. FERNANDEZ CASADO  
Departamento de Botánica.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se cita la *Viola persicifolia* Schreberi, de Rodiezmo (provincia de León), indicando sus sinonimias, la descripción, el número cromosómico ( $2n = 20$ ), las características de los granos de polen y su distribución; se realiza una clave con los caracteres principales que separan esta especie de las más próximas.

### SUMMARY

The *Viola persicifolia* Schreberi is appointed from the Rodiezmo (León province), showing your synonymies, the descriptio, the chromosoma number ( $2n = 20$ ), the characteristics of the pollen grains and your distribution; we have realized a key with the main characters wich separate, this species from the nearest.

En una de las numerosas herborizaciones llevadas a cabo con objeto de recoger material para tratar de realizar la Revisión de las especies del Género *Viola* en la Península Ibérica, nos hemos encontrado en la Provincia de León, con una planta que hemos determinado como *V. persicifolia* Schreberi, *Spicilegium Florae Lipsicae*. 163 (1771).

Debido a que existe cierta confusión en cuanto a designar este taxon, pensamos que el nombre válido es *Viola persicifolia* Schreberi, de todas formas queremos acompañar las distintas sinonimias a las que se han hecho referencia.

*V. persicifolia* Roth. *Tent Fl. Germ.* II, I. 271 (1789).

*V. persicifolia* Baumgart *Fl. Lips.* 490 (1790).

*V. stagnina* Roem. & Schult. *Syst. V.* 370 (1819-20).

*V. stricta* Hornem. *Fl. Dan. non Hort.* hafn. Lange (1812).

- V. stagnina* Kit. in *Schult Oestr. Fl.* ed. II, I. 426 (1814).  
*V. persicifolia* Hartm. *Handb. Stand. Fl.* (1820).  
*V. lactea* Rehb. *Pl. crit.* I, 86 p.p. (part. *V. pumila*) (1823).  
*V. persicifolia* Fries *Nov. Fl. Suec.* ed. II. 274 (1828).  
*V. lactea* Rehb. *Fl. Germ. Excurs.* 707 (1832).  
*V. lactea* Rehb. *Dtschl. Fl.* III. 38 (1837-70), excl. var. 4.507 b.  
*V. persicifolia* B *Ruppiana* Walh. *Sched.* 101 (1840).  
*V. Billoti* F. Schultz in *Flora XXIII.* 120 (1840).  
*V. persicaefolia* Kirschl. in *Mém. Strasb.* III, n. II. 13 (1840).  
*V. stagnina* Led. *Fl. Ross. I.* 252 (1842), excl. Syn. Sm.  
*V. persicifolia* Fries *Mant III.* 124 (1842).  
*V. persicifolia* Fries var. *humilis* Fries, *Mant. III.* 124 (1842).  
*V. lactea* Kittel *Tschb. II.* 940 (1844), excl. var. b).  
*V. marginata* Ptern. *Anal Pflschl.* (1846).  
*V. montana* Plan non L. *Ens. Fl. Gallega.* 206 (1852).  
*V. recta* Garke *Fl. Deutschl.* ed. III. 47 (1854).  
*V. persicifolia* Wimmer *Fl. Schles.* 541 (1857).  
*V. stagnina* Koch. *Syn. ed. III,* I. 74 (1857).  
*V. canina* γ) *stagnina* Döll *Fl. Bad. III* (1862).  
*V. persicifolia stagnina* Kirschl. *Not. 14* (1870).  
*V. flexuosa* Moretti ex Roem. & Schult. *Bruenn.* XV, II. 119 (1877).  
*V. persicifolia* Grcke *Fl. Dtschl. XVIII,* Aufl. 78 (1887).  
*V. stagnina* Limonk. *Enum.* (1887).  
*V. stagnina* Pacher. *Fl. Kärnth.* Nr. 1690 (1887).  
*V. persicifolia* Borb. in Koch.-Wohlf. *Syn. I.* 208 (1892).  
*V. persicifolia* Buchenau *Fl. Nord-westdtsh. Tiefeb.* 352 (1894).  
*V. stagnina* Rouy et Fouc. *Fl. Fr. III.* 9 (1896) excl. f. *V. kutzingiana*.  
*V. persicifolia* b) *pumila* Abrom. *Fl. Ost. und West Preunen,* 20 (1898).  
*V. persicifolia* Aschers y Graebn. *Fl. nord-ostdtsh. Flchld.* 498 (1899).  
*V. stagnina* Neum Sver. *Fl.* 276 (1901).  
*V. stagnina* Beckr. *Fl. N.-Ost.* 523 (1902).  
*V. stagnina* Kupffer. *Tent. Viol. Ross.* 7 (1903).  
*V. stagnina* Schinz y Kell. *Fl. Schw.* ed. II, I. 336 (1905).  
 WILH. BECKER, en el trabajo *Violenstudien I*, publicado in *Beih. Bot. Centr.* 26 (2): 1-44 (1909), incluye la *V. persicifolia Schreberi* en XV. *V. stagnina* Kit. in *Schultes Ost. Fl.* ed. 2, I:426 (1814), dentro de la Sección I, NOMIMIUM, Ging. *Mém. Violac.* (1823), A.-Rostellatae Boiss. in *Fl. or.* I:451 (1879).  
 2) Axilliflorae W. Bckr. in *Beih. Bot. Centr.* 26 (2): 2 (1905).  
 c) Arosulatae Borb. in Koch.-Wohl. *Syn.* I:196 (1892).  
 γ) Caninae W. Bckr. in *Beihn. Bot. Centr.* 26 (2): 2 (1909).  
 J. LANGE, in *Prodromus Florae Hispanicae* Vol. III 695 (1880), incluye esta especie como *V. stagnina* Kit. de la Sección I. NOMIMIUM Gingins.



b) Caulescentes, herbáceos, sépalos agudos.

\*) Sin roseta central.

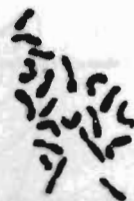
B. LÁZARO e IBIZA, en *Revisión crítica de las especies Peninsulares* del Género *Viola*: 7 (1919), la designa como *V. stagnina* Kit. (l.c.) y la incluye en el apartado.

B) Especies caulescentes y herbáceas; flores sobre pedúnculos axilares. Sección V - *CORNUTA*. Estípulas con los bordes dentados o hendidos. (Cuyas consideraciones no nos ofrecen muchas garantías).

D. H. VALENTINE, H. MERXMÜLLER & A. SCHMIDT, in *Flora Europaea*. Vol. 2: 275 (1968), la designan como *V. persicifolia* Schreberi, *Spicil Fl. Lips.*: 163 (1771), y la incluye en la Sección *VIOLA* (= Sección *NOMIMIUM* Ging.). Subsección *ROSTRATAE* Kupffer.



(A)



(B)

Fig. 1.—Mitosis: *V. persicifolia* Schreberi ( $2n = 20$ ). A-Fotografía; B-Esquema.

## DESCRIPCION

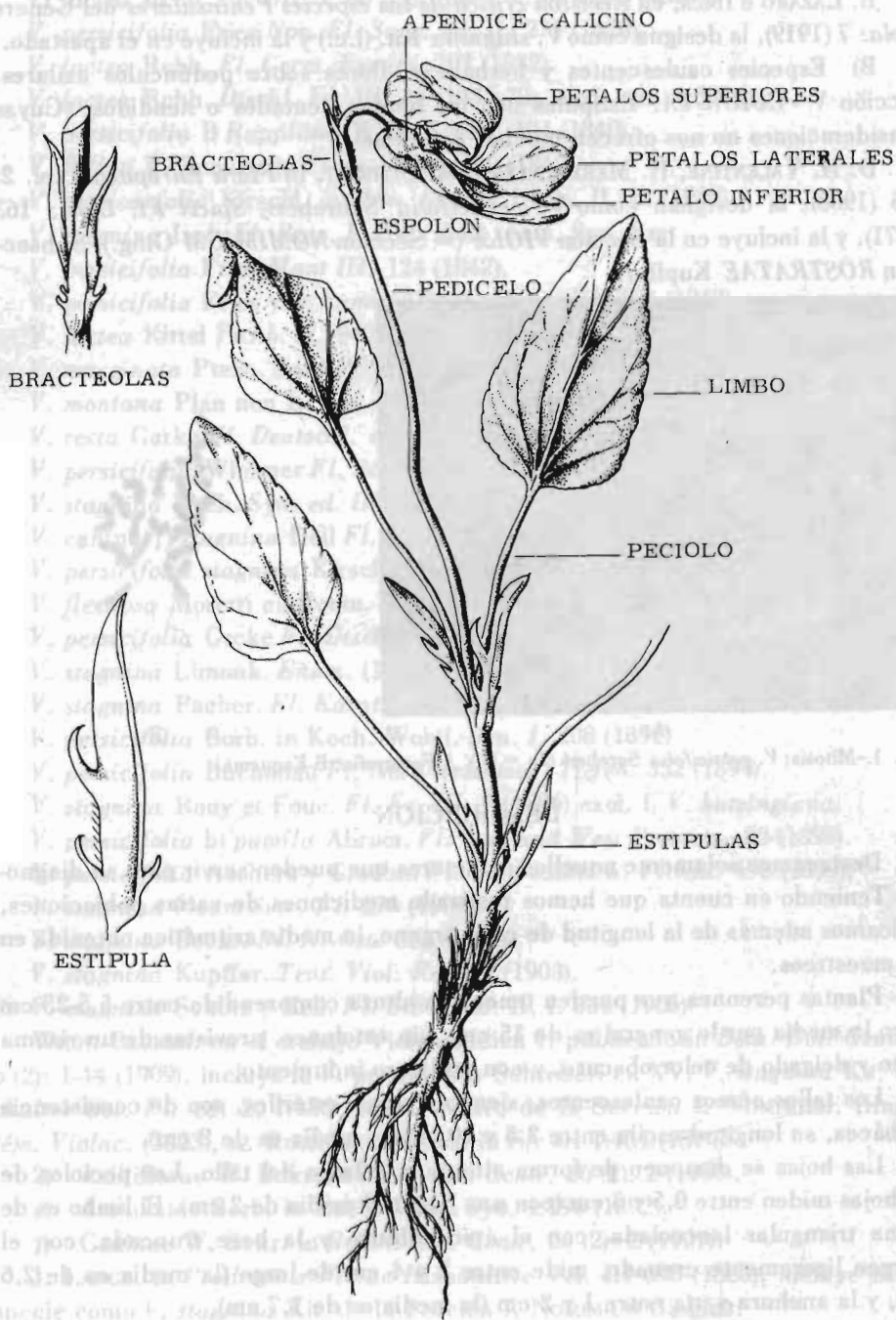
Destacamos solamente aquellos caracteres que pueden servir para su diagnóstico. Teniendo en cuenta que hemos realizado mediciones de varias poblaciones, indicamos además de la longitud de cada órgano, la media aritmética obtenida en los muestreos.

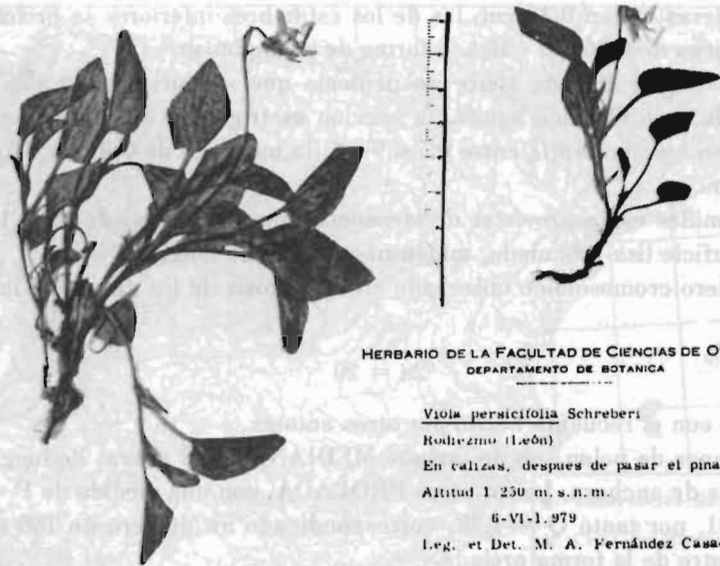
Plantas perennes que pueden tener una altura comprendida entre 5,5-25 cm (pero la media por lo general es de 15 cm), sin estolones, provistas de un rizoma corto y delgado de color obscuro, y con un ligero indumento.

Los tallos aéreos caulescentes, siendo algunos estériles, son de consistencia herbácea, su longitud oscila entre 2,5 y 20 cm (la media es de 8 cm).

Las hojas se disponen de forma alterna a lo largo del tallo. Los peciolos de las hojas miden entre 0,5 y 3 cm (con una longitud media de 2 cm). El limbo es de forma triangular lanceolada, con el ápice obtuso y la base truncada, con el margen ligeramente crenado, mide entre 2 y 4 cm de largo (la media es de 2,6 cm), y la anchura varía entre 1 y 2 cm (la media es de 1,7 cm).

VIOLA PERSICIFOLIA SCHREBERI





HERBARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE OVIEDO  
DEPARTAMENTO DE BOTANICA

*Viola persicifolia* Schreberi

Rodríezmo (León)

En calizas, despues de pasar el pinar.

Altitud 1 250 m. s. n. m.

6-VI-1.979

Leg. et Det. M. A. Fernández Casado

Fig. 2.—Ejemplares de *V. persicifolia* Schreberi.

Las estípulas son de forma lanceolada, con el borde casi entero o provisto de cilios y dientes cortos, poco abundantes en su base; la longitud varía entre 0,55 y 1 cm (la media es de 0,75 cm), la anchura oscila entre 0,4 y 2 mm (la media es 1,3 mm).

El pedicelo mide entre 2 y 8 cm (la media es de 5 cm) está provisto de un par de braceolas situadas ligeramente por debajo de la flor, en el quinto superior de su longitud.

Los sépalos, son de forma lanceolada y con el ápice agudo, su longitud varía entre 0,35 y 0,65 cm (la media es de 0,45 cm) están provistos en su base de unos apéndices que miden entre 1 y 2 mm (la media es de 1,4 mm), con el margen entero hialino.

Los pétalos son de color azul-violáceo claro, casi blancos, con venas muy marcadas de color violeta obscuro; su longitud oscila entre 0,8-1,1 cm (la media es de 1 cm), siendo aproximadamente 2 veces más largos que los sépalos. Los dos laterales se disponen horizontalmente, los dos superiores dirigidos hacia arriba y el inferior se prolonga en un espolón de 2-3 mm de longitud (con una media de 2,5 mm), con forma de un grueso saco, con el extremo obtuso y ligeramente curvado hacia arriba, excediendo muy ligeramente a los apéndices calicinos. En cuanto a la forma de los pétalos, los laterales y los superiores son oval-redondeados, con el ápice obtuso.

El estigma mide unos 2 mm de longitud y presenta forma de gancho subobtus.

Las anteras miden 0,45 cm, las de los estambres inferiores se prolongan en unos apéndices de 0,36 cm y tienen forma de saco obtuso.

La cápsula se dispone sobre un pedicelo que se curva hacia abajo, tiene forma ovoide, con el ápice agudo, la sección es trígona y sin indumento en su superficie; su longitud varía entre 0,7-0,9 cm (la media es de 0,8 cm), la anchura es de 0,4 cm.

Las semillas están provistas de aleosoma, son piriformes, de color blanco y con la superficie lisa-reticulada, miden unos 2 mm de longitud.

El número cromosómico observado en las mitosis de los ápices de las raíces es de:

$$2n = 20$$

coincidente con el recuento hecho por otros autores.

Los granos de polen son de tamaño MEDIANO, 44,8 micras de longitud por 32,40 micras de anchura. La forma es PROLADA, con una medida de  $P = 1,12$  y de  $E = 0,81$ , por tanto  $Q = 1,38$ , correspondiendo un número de 138 que está incluido dentro de la forma prolada.

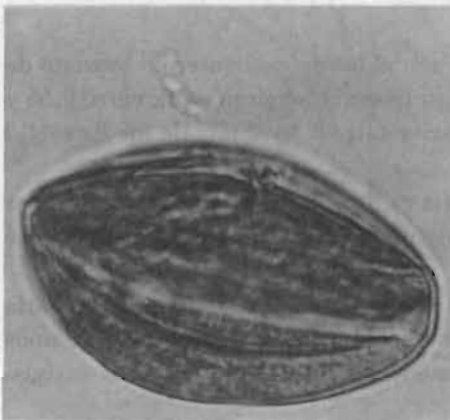


Fig. 3.—Grano de polen: visión ecuatorial.

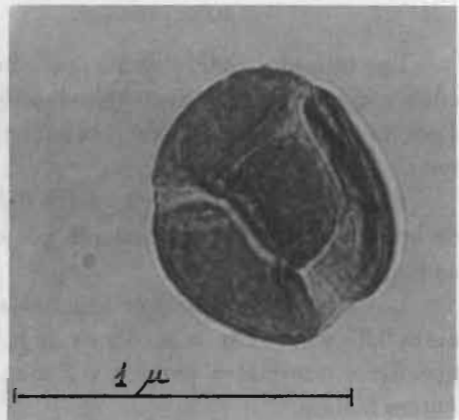


Fig. 4.—Grano de polen: visión polar.

Las citas bibliográficas según los trabajos consultados para la Península Ibérica son las siguientes:

ESPAÑA: **CORUÑA**, LA: Santiago de Compostela pr. a San Lorenzo (PLANELL), Sobrado de Furelos, Mellid, Arzúa (MERINO), Vite (PLANELL). **LUGO**: Palas de Rey, Carteira (E. SEIJAS VAZQUEZ), Begonte, Rabade, Valdemar, etc. (LANGE, MERINO). **NAVARRA**: Valle de Vertizarana (LACOIZQUETA). **ORENSE**: Carballino y San Cosme (MERINO). **PONTEVEDRA**: Campozaños, Bouzas, Marín, La Toja, etc. (MERINO), Arosa (RIVAS MATEOS). **VIZCAYA**: Bilbao (LANGE), Guecho (LÁZARO).



El material observado procede de:

ESPAÑA: **CORUÑA, LA:** Molino de Furelos (F. BELLOT y B. CASASECA), dada como *V. persicifolia* Roth., recogida el 14 de mayo de 1958, se encuentra en el herbario de MA, con el n.º 178813; **GALICIA:** sin especificar localidad (MERINO), como *V. persicifolia* Roth (= *V. stagnina* Kit var. *montana*), en el herbario MA 82229. **LEON:** Rodiezmo, recogida por nosotros el día 6-VI-1979 y que se encuentra en varios pliegos en nuestro herbario. **MADRID:** Peñalara, sin nombre de colector, como *V. stagnina* Kit., recogida el día 21-VII-1892, que se encuentra en el herbario MA 82234.

En cuanto a las citas de MERINO, no parecen corresponder a la *V. persicifolia* Schreberi, pues en «Aportaciones al conocimiento de la Flora Gallega V» (M. LAÍNZ, S. J.), in *Anales I.F. de Invest. y Experiencias* Tm. XII: 12 (1967), las atribuye a *V. lactea* Sm., pues dice: «175. *V. lactea* Sm.-Plantas mucho más difundidas en la región de lo que supuso MERINO, puesto que a ella deben adscribirse las citas del número 176 - contra lo admitido por LOSA en *Bol. Soc. Esp. H. N.* 41: 281-283. Ya PAU conocería el asunto gallego cuando negaba la existencia en España de *V. stagnina* Kit. (*Bol. Soc. Arag. C. N.* 14: 207)».



A pesar de esta afirmación, existe una cita en La Coruña, recogida por F. BELLOT y B. CASASECA, por tanto aunque los ejemplares de MERINO que hemos visto no pertenecen a esta especie, si debe admitirse la existencia de dicha especie en Galicia.

Lo que sorprende es la cita de Peñalara (Madrid), pues marcaría una fuerte disyunción, los datos de herbario no ofrecen mucha credibilidad, no en cuanto a la identificación de la especie, que nos parece la *V. persicifolia* Schreberi, sino en lo que hace referencia a la localidad geográfica, ya que ni siquiera figura el nombre de su recolector.

Por otra parte los trabajos de investigación sobre la flora del Sistema Central: Guadarrama, Gredos y Ayllón, no la han recogido.

En cuanto a la Ecología, se han tomado una serie de inventarios y de ellos se deduce que es una planta de pastizales mesotrofos afines a la Alianza *Bromion*.

CLAVE PARA SEPARAR *V. persicifolia* Schreb. DE LAS ESPECIES PRÓXIMAS.

La Sección *VIOLA* (= Sección *NOMIMIUM* Ging), incluye plantas herbáceas, con el estilo en forma de pico en el ápice y las estípulas no semejantes a las hojas, y se puede dividir en varias Subsecciones:

- |  |                                     |   |
|--|-------------------------------------|---|
| 1) Plantas caulescentes .....  | Subsección <i>ROSTRATAE</i>         |   |
| 1) Plantas acaulescentes .....   |                                     | 2 |
| 2) Cápsula globosa, no explosiva, dispuesta sobre pedúnculos decumbentes ..... | Subsección <i>VIOLA</i>             |   |
| 2) Cápsula trígona .....   |                                     | 3 |
| 3) Estípulas libres .....  |                                     | 4 |
| 3) Estípulas semiadnadas al peciolo .....                                      |                                     | 5 |
| 4) Con rizoma débil .....  | Subsección <i>PLAGIOSTIGMA</i>      |   |
| 4) Con rizoma corto y grueso .....   | Subsección <i>BOREALIAMERICANAE</i> |   |
| 5) Con rizoma largo .....  | Subsección <i>REPENTES</i>          |   |
| 5) Sin rizoma, ni estolones .....  | Subsección <i>ADNATAE</i>           |   |

En este caso se trata de una especie caulescente, por tanto pertenece a la Subsección *ROSTRATAE*, dentro de la cual se pueden separar dos grupos según que presenten o no una roseta de hojas en la base.

- Plantas con una roseta de hojas en la base ..... A
- Plantas sin presentar una roseta de hojas en la base ..... B

Habría que incluirla en el grupo B, ya que en la base del tallo nunca aparece una roseta de hojas. En este grupo podemos separar las siguientes especies:

- |   |   |
|---|---|
| 1) Hojas de forma oval u oblonga, con la base cordada o subcordada. | 2 |
| 1) Hojas lanceoladas, con la base no cordada .....                  | 3 |

- 2) Estípulas de las hojas medias de igual o mayor longitud que el peciolo ..... *V. jordanii*
- 2) Estípulas de las hojas medias sin sobrepasar la mitad de la longitud del peciolo ..... *V. canina*
- 3) Espolón mucho más largo que los apéndices calicinos ..... *V. lactea*
- 3) Espolón excediendo sólo ligeramente a los apéndices calicinos. 4
- 4) Planta glabra ..... *V. pumila*
- 4) Planta o al menos las hojas, cortamente pubescentes ..... 5
- 5) Tallos alcanzando 50 cm, estípulas de las hojas situadas hacia la mitad del tallo, de igual o mayor longitud que el peciolo ..... *V. elatior*
- 5) Tallos alcanzando como máximo 25 cm, estípulas no excediendo al peciolo, generalmente alcanzando sólo la mitad de su longitud ..... *V. persicifolia*

#### AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. M. Mayor López por sus orientaciones para la realización de este trabajo y a Guillermo Rodríguez González, por sus dibujos.

#### BIBLIOGRAFIA

- BECKER, W. (1909).—Violenstudien, *Beih. Bot. Centr.*, **26 (2)**: 1-2.  
 — (1910).—Violenstudien, *Beih. Bot. Centr.*, **26 (2)**: 307-308.  
 BUTCHER, R. W. (1961).—*A New illustrated British Flora*. Vol. I: 365. Leonard Hill. Londres.  
 DAYDON JACKSON, B. (1977).—*Index Kewensis an enumeration of Flowering plants*. Vol. II. University Press. Oxford.  
 FOURNIER, P. (1977).—*Les quatre Flores de la France*. 2<sup>ème</sup> edition. I, 444-452. Editions Lechevalier. Paris.  
 HEB, H. E., E. LANDOLT & R. HIRZEL (1970).—*Flora der Schweiz*. Tm. II: 748-750. Birkhäuser Verlag Basel. Zurich.  
 LAÍNZ, M. S. J. (1967).—Aportaciones al conocimiento de la flora gallega V: 12. *An. I. F. de Invest. y Experiencias*. Tm. XII.  
 LAZARO e IBIZA, B. (1919).—*Rev. Crítica de las especies peninsulares del Género Viola*: 39-40. Imprenta clásica Española. Madrid.  
 MERINO, B. (1917).—*Adiciones a la Flora de Galicia*: 133 (9). Braga.  
 MEUSEL, H. & A. KASTNER (1974).—*Zur Wuchsform einiger Veilchenarter*, **16, 1-4**: 127-135. *Phyton*. Austria.  
 MOORE, D. M. & M. J. HARVEY (1960).—Cytogenetic relationships of *Viola lactea* Sm. and other west european arosulata violets: 85-95. *Dep. Bot. Univ. of California*. Los Angeles.  
 SEIJAS VÁZQUEZ, E. (1952).—Contribución al catálogo de la Flora de Lugo: 40. *Trab. del Jardín Botánico G. Santiago de Compostela. La Coruña*.  
 TUTIN, T. G. & cols. (1968).—*Flora Europaea*. Vol. II: 270-282. Cambridge at the Univesity Press. Inglaterra.  
 WILLKOMM, M. & J. LANGE (1880).—*Prodromus Florae Hispaniae*. Vol. III: 694-699. Stuttgartiae.

## *Empetrum nigrum* L. ssp. *nigrum* EN LA CORDILLERA CANTÁBRICA

Por  
M. L. VERA DE LA PUENTE  
Departamento de Botánica.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se cita el *Empetrum nigrum* L. ssp. *nigrum* en el Puerto de San Isidro (Asturias-León), en altitudes alrededor de 2.000 m.s.n.m., sobre cuarcitas. Siendo preferentemente su estado, en pequeñas comunidades pulvulares, donde la especie predominante con que se asocia es la *Cladonia ciliata* Stirton var. *tenuis* (Flörke) Ahti.

### SUMMARY

*Empetrum nigrum* L. ssp. *nigrum* is quoted in the San Isidro Pass (Asturias-León), about 2.000 m of altitude, on quartzites. Your stage is preferably in little cushioned community, where the predominant species with which it is associated is the *Cladonia ciliata* Stirton var. *tenuis* (Flörke) Ahti.

En septiembre de 1979 recolectamos por primera vez el *Empetrum nigrum* L., en la Cordillera Cantábrica, en el pico Toneo, situado en el Puerto de San Isidro.

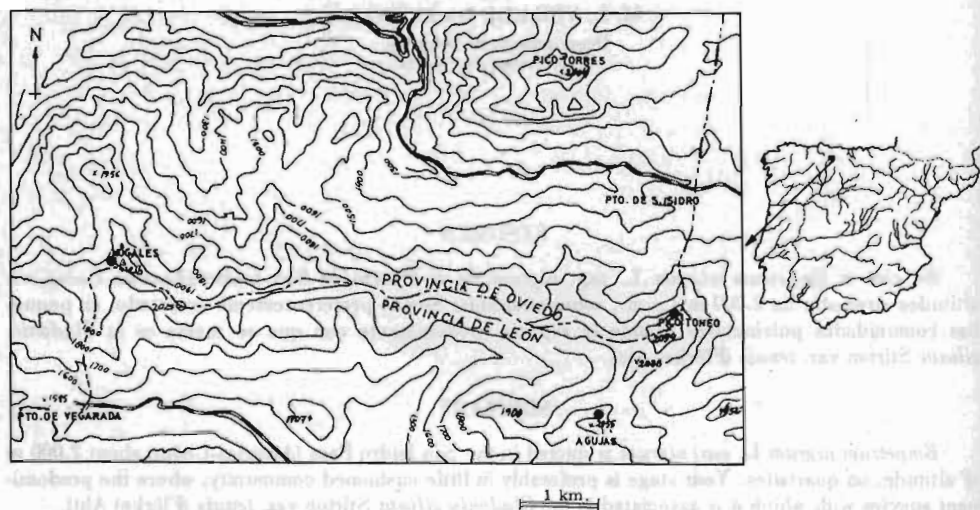
Dado que en esa época el *E. nigrum* L. se encontraba en fruto, nos hacía dudar un poco en cuanto a su rango subespecífico; más tarde confirmado como *Empetrum nigrum* L. ssp. *nigrum*, al coleccionar de nuevo al año siguiente, en el mes de julio, ejemplares con flor, pudiendo comprobar que era una planta dioica. Además de la caracterización sistemática de la subespecie *E. nigrum* L. ssp. *nigrum* por ser las flores unisexuales, se hicieron medidas de las hojas, cuya longitud comprendida normalmente entre 4,5-5 mm y anchura 1-1,5 mm, nos confirmó este taxon, según HESS, LANDOLT & HIRZEL, en la «Flora de Schweiz».

Este taxon se distribuye en Europa, por Escandinavia como límite Norte y hacia el Sur llega al Jura y Selva Negra, no teniendo referencias muy confirmadas

de que alcance latitudes menores<sup>1</sup>; a diferencia del *Empetrum nigrum* L. ssp. *hermaphroditum* (Hagerup) Böcher que penetra hasta los Alpes y Pirineos.

Existen unas condiciones ecológicas muy determinadas en los lugares que hemos encontrado el *E. nigrum* L. ssp. *nigrum*; instalándose así en laderas Norte, en altitudes alrededor de los 2.000 metros y generalmente sobre repisas de cuarcita, con suelos cuyo pH oscila entre 3,2 y 3,9.

Su distribución en la Cordillera Cantábrica es muy limitada, pues después de haber visitado varios de sus picos que reuniesen más o menos estas características, sólo lo localizamos, en Asturias; en el pico Toneo y pico Nogales; y en León: en el pico Agujas, todos pertenecientes a un mismo cordal entre el Puerto de San Isidro y Puerto de Vegarada (véase mapa).



● Citas propias del *Empetrum nigrum* L. ssp. *nigrum*

En cuanto a la cita de BUCH de los Picos de Europa, copiamos textualmente lo que dice M. Laínz». Su mención para los alrededores de Peña Vieja (cf. Soc. Scient. Fenn., Comment. Bio. 10,17) no viene respaldada en Helsinki por materiales ninguno (T. Ahti ad F. Molina in litt., 24-II-1968) y, según toda evidencia, sería un lapsus descriptivo de BUCH.

Por otra parte hemos visitado la zona y no lo hemos hallado. Lo que confirma la duda sobre su presencia y además los medios ecológicos aludidos donde lo hemos encontrado, no se reproducen en esa zona del macizo de los Picos de Europa.

<sup>1</sup> RIVAS GODAY y MAYOR (1965), lo comentan como visto en la excursión X.<sup>a</sup> de la I.P.E. del año 1953, en la zona de la Laguna de las Yeguas (Sierra Nevada).

Hemos hecho un esquema en el que tratamos de reflejar de una forma gráfica, la disposición de las comunidades en que está presente el *E. nigrum* L. ssp. *nigrum*, en función del grado de pendiente y de la profundidad del suelo.

Como se observa en el esquema adjunto, los pulvinulos que corresponden al n.º 2, están esencialmente formados por dos especies dominantes: *E. nigrum* L. ssp. *nigrum* y *Cladonia ciliata* Stirton var. *tenuis* (Flörke) Ahti y otras especies acompañantes, con menor grado de dominancia como son el *Vaccinium uliginosum* L., *Vaccinium myrtillus* L., *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin., *Agrostis vinealis* Schreber, *Juncus trifidus* L., *Calluna vulgaris* (L.) Hull. y *Huperzia selago* (L.) Schrank & Martius.

Esta formación pulvinular muy compacta, facilita que el suelo mantenga un grado de cierta humedad que contrasta con una mayor sequedad de las comunidades vecinas. De todas las formas la situación de la *Calluna vulgaris* (L.) Hull. es sólo en la periferia de los pulvinulos donde se acusa una mayor sequedad (la concentración de mayor humedad está en el centro del pulvinulo que coincide exclusivamente con las dos especies dominantes que hemos indicado).

Respecto a la naturaleza del suelo que tiene como roca madre cuarcitas ordovícicas, es muy poco profundo, en el que el único horizonte existente es el húmico.

Entre los pulvinulos se suele intercalar *Juncus trifidus* L., en las cuarcitas desnudas.

Cuando la pendiente se hace más suave y el suelo más profundo, aparece las landas donde la *Calluna vulgaris* (L.) Hull. comienza a desplazar al *E. nigrum* L. ssp. *nigrum*. Estas landas están integradas fundamentalmente por las siguientes especies: *Calluna vulgaris* (L.) Hull., *Vaccinium myrtillus* L. y a veces *Vaccinium uliginosum* L., *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin. y *Cetraria islandica* (L.) Acharius. Aquí, el *E. nigrum* L. ssp. *nigrum* deja de ser dominante.

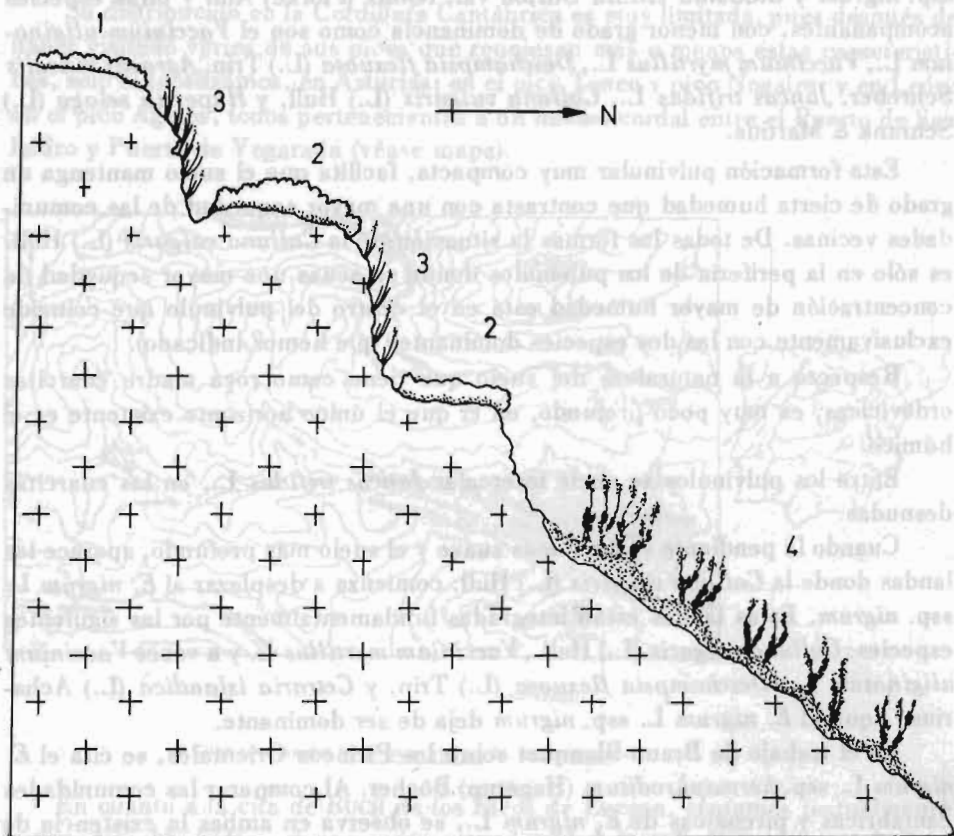
En el trabajo de Braun-Blanquet sobre los Pirineos Orientales, se cita el *E. nigrum* L. ssp. *hermaphroditum* (Hagerup) Bøcher. Al comparar las comunidades cantábricas y pirenaicas de *E. nigrum* L., se observa en ambas la existencia de especies comunes tales como: *Vaccinium myrtillus* L., *Vaccinium uliginosum* L., *Juncus trifidus* L., *Huperzia selago* (L.) Schrank & Martius, *Calluna vulgaris* (L.) Hull. y *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin., pero sin embargo en nuestra zona, no están presentes el *Rhododendron ferrugineum* L. y *Loiseleuria procumbens* (L.) Desv., muy características de estas formaciones pirenaicas.

Aunque disponemos de varias tablas fitosociológicas de la zona estudiada, preferimos de momento no pronunciarnos a que unidad fitosociológica pertenecería este tipo de comunidad.

Como conclusión, estimamos que el *Empetrum nigrum* L. ssp. *nigrum* constituye una reliquia en vías de extinción, y que pudiera ser desplazada por *Calluna vulgaris* (L.) Hull., especies de *Vaccinium* o *Juniperus communis* L. ssp. *nana*



ESQUEMA DE LA DISPOSICION DEL Empetrum nigrum L. ssp. nigrum  
 EN EL PICO TONEO (PUERTO SAN ISIDRO) 2060 m. s. n. m.



1. - Juniperus communis ssp. nana
2. - Pulvinulos de Empetrum nigrum ssp. nigrum y Cladonia ciliata var. tenuis
3. - Juncus trifidus
4. - Landa en la que predomina Calluna vulgaris

Syme, cuando desaparece el estrato líquénico, que debido a su gran higroscopicidad actúa de elemento de retención de la humedad.

### AGRADECIMIENTOS

Al Prof. M. Mayor por las sugerencias dadas en la realización de este trabajo. Así mismo a la Dra. Ana Crespo por la ayuda en la identificación de los líquenes y a Guillermo Rodríguez por los dibujos realizados.

### BIBLIOGRAFIA

- BRAUN-BLANQUET, J. (1948).—*La Végétation alpine des Pyrénées Orientales*. 306 pp. Monografía de la estación de Estudios pirenaicos y del Inst. Españ. de Edafología y Fisiología Vegetal. Barcelona.
- HESS, H. E., E. LANDOLT & R. HIRZEL (1970).—*Flora der Schweiz*. Tomo 2: 898-899. Birkhäuser Verlag Basel.
- LAINZ, M. y col. (1970).—Aportaciones al conocimiento de la Flora Cántabro-Astur, IX. *Boletín Inst. Est. Asturianos*, **15**: 3-45.
- RIVAS GODAY, S. & M. MAYOR (1965).—Aspectos de Vegetación y Flora orófilas del Reino de Granada. *Anal. Real Acad. Farm.*, **6**: 346-400. Madrid.
- TUTIN, T. G. y col. (1972).—*Flora Europaea*. Vol. 3: 14. University Press. Cambridge.

### RESUMEN

Se describen algunas líquenes orófilas para algunas estaciones de alta montaña de Asturias. Se comenta sobre algunos aspectos de su biología.

### SUMMARY

New geophilous lichens from some high mountain stations in Asturias are described. Some aspects of their biology are commented.

### INTRODUCCION

Los estudios sobre la flora de Asturias, si bien datan de épocas lejanas (LAGASCA, 1803; DUNGER, 1835; LEBENSCH y LEWIS, 1878...), han sido continuados por botánicos posteriores, con importantes aportaciones en las últimas décadas, que han permitido un conocimiento actual bastante completo.

Hay interés no solo conocer la presencia de un determinado taxón, sino también el grado de distribución geográfica y su comportamiento ecológico. Este es el objetivo de nuestro trabajo.

*Spergularia n. recens* Navas et Burdet

Elemento mediterráneo que, sorprendentemente, hemos encontrado en nuestra región; en acumulaciones orófilas dentro de Oviedo (ciudad).

Por la bibliografía consultada no conocemos otra cita en el Norte de España.

## DATOS SOBRE LA FLORA CENTRO-ORIENTAL ASTURIANA

Por  
H. S. NAVA

Departamento de Botánica.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se indican nuevas localidades geográficas para algunos endemismos ibero-atlánticos. Así como se citan algunas novedades para Asturias.

### SUMMARY

New geographical localities are show for some ibero-atlantic. Endemis so as some newnesses for Asturias are appointed.

### INTRODUCCION

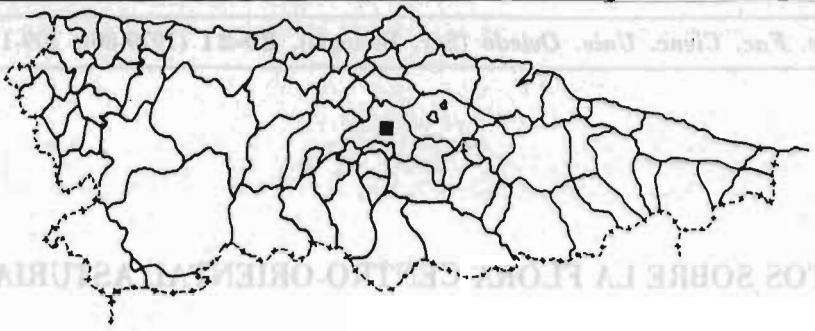
Los estudios sobre la flora de Asturias, si bien datan de épocas lejanas (LAGASCA, 1803; DURIEU, 1835; LERESCHE y LEVIER, 1878...) han sido continuados por botánicos posteriores, con importantes aportaciones en las últimas décadas, que han permitido un conocimiento actual bastante completo.

Hoy interesa no sólo conocer la presencia de un determinado taxon, sino también el grado de distribución geográfica y su comportamiento ecológico. Este es el objetivo de nuestro trabajo.

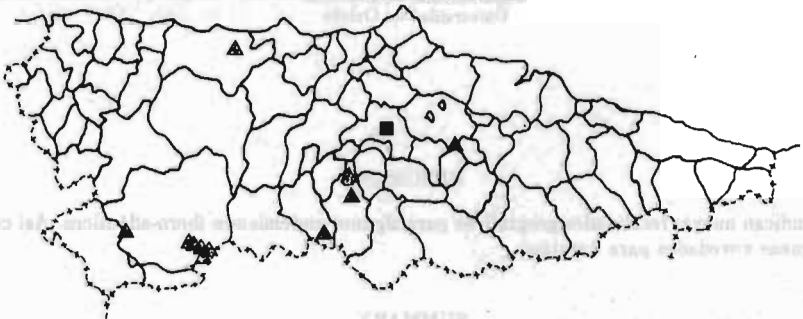
#### *Spergularia nicaeensis* Sarato ex Burnat

Elemento mediterráneo que, sorprendentemente, hemos encontrado en nuestra región; en acúmulos nitrófilos dentro de Oviedo (ciudad).

Por la bibliografía consultada no conocemos otra cita en el Norte de España.



■ Spargularia nicaeensis Burn.

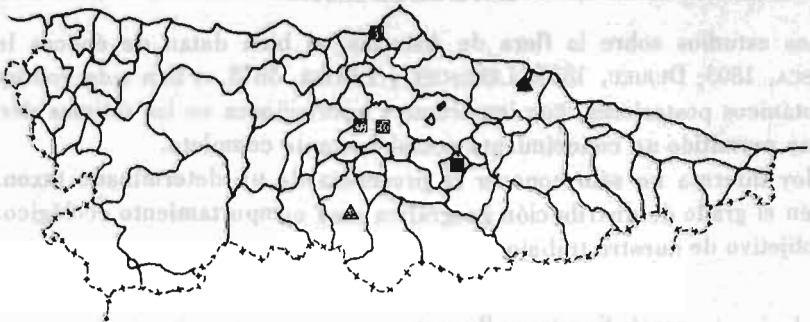


▲ Angelica laevis Ave-Lall

■ Capsella rubella Reut.

■ Citas propias ▲■

▲■ Otros autores ▲■



▲ Trifolium micranthum Viv

■ Euphorbia platyphyllos L.

■ Citas propias ▲■

▲■ Otros autores ▲■

*Capsella rubella* Reuter

Ampliamente distribuida por Galicia (MERINO, 1909, M. LAÍNZ, 1967). Romero la cita en León (Puerto Pirenaico «Bermejo»), M. LAÍNZ en Soto (Oseja de Sajambre). En Santander, GANDOGGER, del Cordel (Campóo).

Se ha herborizado en Oviedo, en los alrededores de la Facultad de Ciencias.

*Trifolium micranthum* Viv. (*T. filiforme* L., nomen ambiguum)

Esta especie, frecuentemente confundida con *T. dubium*, tiene por ello un área de distribución poco precisa en la Península.

En Asturias, LOSA y MONTSERRAT (1951), citan en el inventario del robledal de la Bárcena *T. filiforme*.

La hemos encontrado en la ría de Villaviciosa, en el camino que la bordea, sobre sustrato arenoso.

*Euphorbia platyphyllos* L.

GUINEA (G. B. de Santander) y M. LOSA (1947) en su monografía, recogen para la Provincia únicamente la cita de CHERMEZON (1920) en Avilés. Omitiendo la cita de L. P. MÍNGUEZ en las inmediaciones de Oviedo, recogida en COLMEIRO, LASTRA, 1978; la cita de Grado.

La hemos encontrado en una escombrera de Carrocera (San Martín del Rey Aurelio).

*Euphorbia segetalis* L.

Especie poco frecuente en el Norte de España, conocemos citas gallegas de LANGE y MERINO. Para Asturias se recogen en COLMEIRO citas de L. P. MÍNGUEZ y PASTOR; que LOSA y GUINEA igualmente omiten.

Hemos podido herborizarla en El Entrego, en bordes de camino ruderalizado.

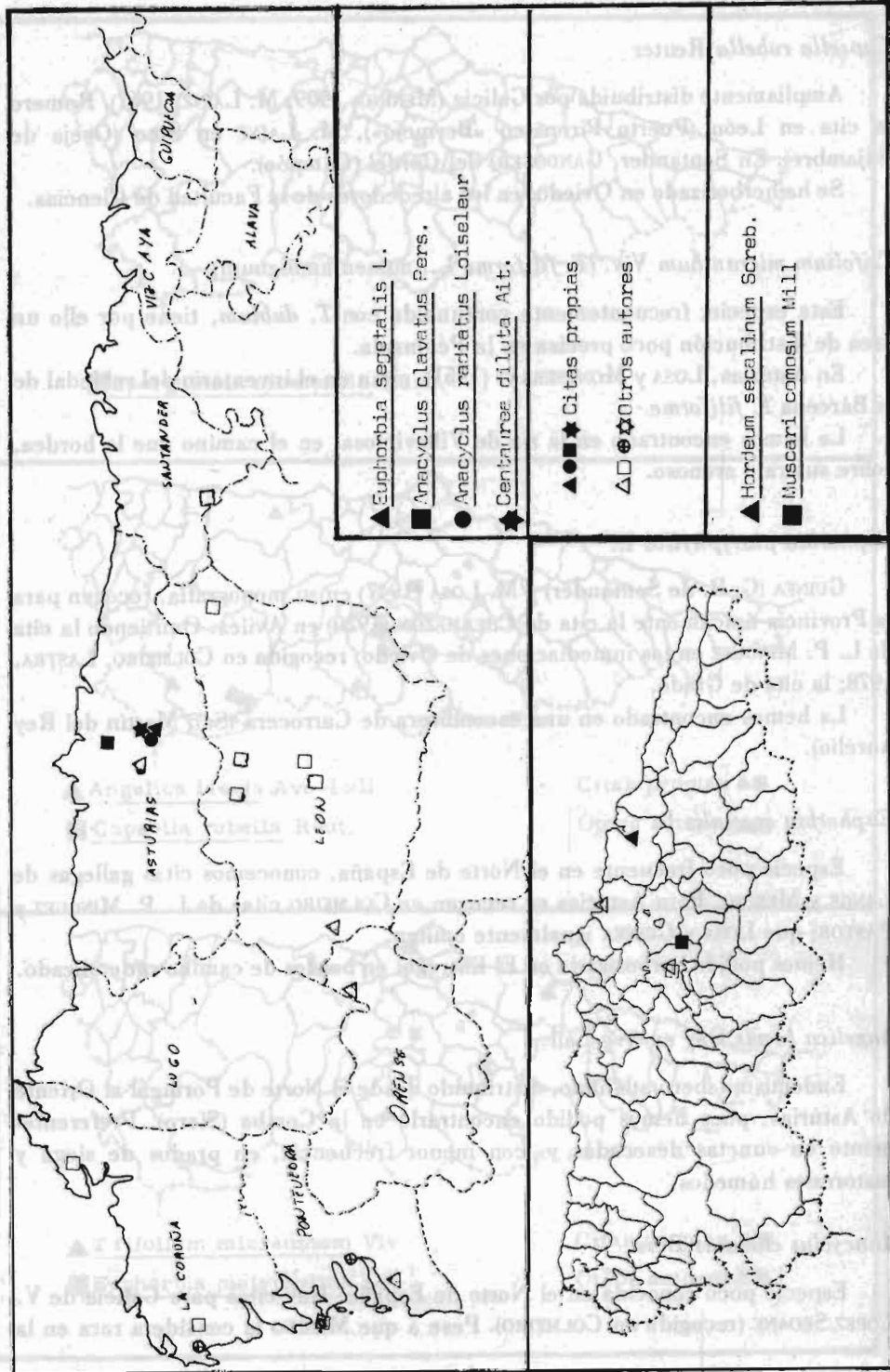
*Angelica laevis* Gay ex Ave-Lall

Endemismo ibero-atlántico, distribuido desde el Norte de Portugal al Oriente de Asturias, pues hemos podido encontrarle en la Comba (Siero). Preferentemente en cunetas desecadas y, con menor frecuencia, en prados de siega y matorrales húmedos.

*Anacyclus clavatus* Bers.

Especie poco conocida en el Norte de España. Hay citas para Galicia de V. LÓPEZ SEOANE (recogida en COLMEIRO). Pese a que MERINO la considera rara en la





región, LAINZ, 1955), y cita su presencia en el herbario de PLANELLAS, recogiendo además la señalización de BACORELL para La Toja.

PEREDA la señala de Reinosa (Santander).

Se ha herborizado en Carbainos (Gijón), al borde de la carretera. También la vimos en cultivos y ruderales de zonas próximas.

#### *Anacyclus radiatus* Loiseleur

De origen mediterráneo, aparece ocasionalmente en el Norte de España, tal y como citan para Galicia MERINO y LAINZ.

La hemos encontrado en los ruderales del borde de la carretera, en Barros (Langreo).

#### *Centaurea diluta* Ait.

Especie del Sur de España, Canarias y Africa del Norte; apareció en una escombrera de Carrocera (San Martín del Rey Aurelio), junto con: *Euphorbia platyphylos*; *Oenothera erythrosepala*; *Reseda luteola*; *Delphinium ajacis*; *Tripleurospermum inodorum*; *Verbascum virgatum*, etc.

Desconocemos cualquier otra cita para el Norte de España.

#### *Hordeum secalinum* Scrieb.

Citado por J. R. OBESO en Ceares (Gijón); la hemos recogido en las afueras de Villaviciosa; siendo frecuente en los prados de siega de la zona costera entre ambas localidades. Rara en las zonas más interiores de la provincia, de donde conocemos la sorprendente mención de TUXEN.

#### *Muscari comosum* Mill.

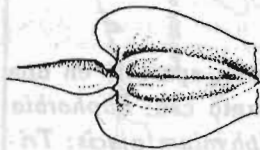
Especie mediterránea frecuente en Cantabria y Galicia, pero prácticamente desconocida en Asturias (COLMEIRO recoge una cita de L. P. MINGUEZ para Oviedo). La hemos herborizado en los pedregales calizos de «Entrepeñas», Tudela de Veguín.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. M. Mayor López por su ayuda y consejos en la realización del trabajo, así como a Guillermo Rodríguez González por sus dibujos.



AQUENIO BRACTEA INVOLUCRAL



AQUENIO



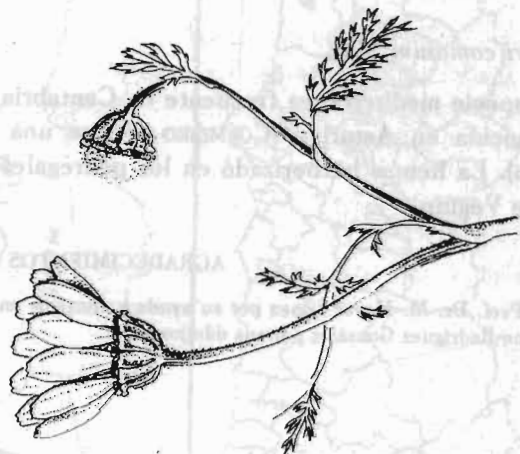
PALEA



BRACTEA INVOLUCRAL



*Anacyclus clavatus* Pers



*Anacyclus radiatus* Lois

## BIBLIOGRAFIA

- CHERMEZON, H. (1920).—Aperçu sur la végétation du litoral asturien. *Bull. Soc. Linn. Normandie*, 7e. ser., **3**: 159-213. Caen.
- COLMEIRO (1885-1889).—*Enumeración y revisión de las plantas de la Península Hispano-Lusitana e Islas Baleares*. 5 vol., Madrid.
- GUINEA, E. (1953).—*Geografía Botánica de Santander*. 1 vol., 420 pp. Santander.
- LAINZ, M. (1955).—Aportaciones al conocimiento de la flora gallega. *Broteria*, Sér. C. N. 24 (51): 116. Coimbra.
- (1967).—Aportaciones al conocimiento de la flora gallega. *V. An. Inst. Forest. Inv. Exp.*, **12**: 1-51, Madrid.
- LASTRA, J. J. y M. MAYOR (1978).—Nota florística sobre Grado y sus contornos. *Rev. Fac. Cienc. Univ. Oviedo*, **17**, **18**, **19**: 309-315. Oviedo.
- LOSA, M. (1947).—Algo sobre especies españolas del género «Euphorbia» L. *Anal. Jard. Bot. Madrid*, **7**: 357-431. Madrid.
- LOSA, M. y P. MONTERRAT (1951).—Aportación al estudio de la flora de los montes cantábricos. *Anal. Inst. Bot. Cavanilles*, **10** (2): 443-510. Madrid.
- MERINO, B. (1905-1909).—*Flora descriptiva e ilustrada de Galicia*. 3 vols. Santiago.
- PEREDA, J. M.<sup>a</sup> (1960).—Complementando el catálogo florístico de la provincia de Santander. *Rv. Altamira*, **1**, **2** y **3**: 287-297. Santander.
- ROMERO, C. M. (1977).—Datos para la flora de la cuenca alta del río Luna. *Bol. Estac. Centr. Ecol.*, **11**: 25-39. Madrid.
- TUXEN, R. y E. OBERDORFER (1958).—Eurosibirische Phanerogamen-Gesellschaften Spanidns. *Veröfftlchg. Inst. Rübel*, **32**: 1-328. Zürich.
- WILLKOMM, M. y J. LANGE (1861).—*Prodromus Florae Hispanicae*, vols. 1, 2 y 3. E. Schweizerbart. Stuttgart.

## INTRODUCCIÓN

La presente nota florística es una continuación de las anteriores que figuran en el presente libro en Grado y sus alrededores.

Siguiendo la pauta de la anterior nota, hacemos un breve comentario de aquellas especies, que resultaron de interés, bien porque no se conocía que existieran representadas en Asturias, bien por su escasa representación o por algún singular carácter ecológico.

*Hexameria bipinnata* H. & A.

Escombros pegados a la pared y al puente que une Pravia con Pechu-llán; 85 m s.n.m. Pilego 750 (4) noviembre-78. Conservada también en herbario de la vía férrea en Avilés, cerca de la ruia. Herbolizada en 1972 por J. Leco en Espiello, cerca de La Felguera-Sama de Langreo, como *nitrophila* varía. En el herbario de la Facultad de Farmacia de Madrid se encuentra un pálego santanderino recogido por Práez Blasparán en 1958 y determinado por S. Rivas (Goya).

(1) El número de pálegos se refiere al número del herbario de la Universidad en asociación de J. J. Lastra y M. J. C. C.

## NOTA FLORISTICA SOBRE GRADO Y SUS CONTORNOS (II)

Por  
J. J. LASTRA MENENDEZ

y  
M. MAYOR LOPEZ  
Departamento de Botánica.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se analizan diversos aspectos de algunas plantas de Grado (Asturias) y sus alrededores.

### SUMMARY

Several aspects of some plants from Grado (Asturias) and environs are analysed.

### INTRODUCCION

La presente nota florística, es una continuación de los estudios que estamos llevando a cabo en Grado y sus alrededores.

Siguiendo la pauta de la anterior nota, hacemos un breve comentario de aquellas especies, que consideradas de interés, bien porque no se conocía que estuviesen representadas en Asturias, bien por su escasa representación o por tener algún singular carácter ecológico.

*Reynoutria japonica* Houtt.

Escombrera próxima a la gasolinera y al puente que une Pravia con Peñau-llán; 35 m s.n.m. Pliego 750 (1). Setiembre-78. Observada también en bordes de la vía férrea en Avilés, cerca de la rula. Herborizada en 1972 por J. IZCO en Frieres, cerca de La Felguera-Sama de Langreo, como nitrófila viaria. En el herbario de la Facultad de Farmacia de Madrid se encuentra un pliego santanderino recogido por PÉREZ BUSTAMANTE en 1958 y determinado por S. RIVAS GODAY.

(1) El número de pliego se refiere al número del herbario de la Tesis Doctoral en preparación de J. J. LASTRA MENENDEZ.

*Sedum caespitosum* (Cav.) DC.

Arcillas sobre caliza formando un microcésped terofítico. En la cantera abandonada de la desviación a Somines de la carretera general entre Trubia y Grado. 130 m s.n.m. Pliego 781. Abril-79. Cerca se encuentra *Asterolinum linum-stellatum* (L.) Duby y *Erophila verna* (L.) Chevall. subsp. *spathulata* (A. F. Lang) Walters, pero en ecología algo diferente. Existe cita en territorio de Lugo.

*Filipendula vulgaris* Moench

Depósitos que se acumulan en las fisuras y oquedades de las rocas calizas. Proximidades de Grullas, Candamo. 130 m s.n.m. Pliego 776. Junio-78.

*Daucus carota* L. subsp. *major* (Vis.) Arcangeli

Llevamos aquí este taxon recogido en cultivos abandonados situados en la desembocadura del río Narcea, Pronga, Pravia, 25 m s.n.m. Pliego 748. Agosto-78. Proseguiremos el esclarecimiento de su rango taxonómico.

*Mentha x maximilianeae* F. W. Schutz.

Márgenes arenoso-nitrófilos del río Nalón. Entre Valduno y la desembocadura del río Andallón (Las Regueras). 60 m s.n.m. Pliego 729. Agosto-78. Aumentamos aquí la dispersión de su areal en Asturias.

*Plantago lanceolata* L. var. *dubia* (L.) Wahl.

Fisuras de roquedos calizos con orientación sur, en las cumbres de Forcadas (proximidades de Cueva Llagar) Proaza. 1.230 m s.n.m. Pliego 752. Agosto-78.

*Euphrasia eduardii* Sen.

Solamente hemos podido encontrarla en pastizales encharcados sobre sustrato ácido y con orientación norte en San Martín de Gurullés, Grado. 200 m s.n.m. Pliego 761. Junio-78.

*Koeleria macrantha* (Ledebn) Schultes in Schultes & Schultes fil.

Roquedos calizos, Cueva Llagar, Proaza. 1.100 m s.n.m. Pliego 786. Agosto-78. Hay en el H.F.C.O. un pliego de G. MARTÍNEZ 4-7-1969 de Villargusán (León) bajo la denominación de *K. pyramidata* (Lam) Beauv. que es idéntica.

*Polypogon monspeliensis* (L.) Desf.

Mala hierba hortense, cercanías del río Nalón. Entre Portalada y Peñafior (Candamo). 50 m s.n.m. Pliego 741. Julio-78.



*Alopecurus myosuroides* Hudson

Mala hierba hortense, cultivos próximos al río Nalón. Entre Portalada y Peñaflor (Candamo). 60 m s.n.m. Pliego 742. Julio-78.

*Dichanthium ischaemum* (L.) Roberty

En los densos pastizales que se instalan sobre los eutrofos suelos aluviales del río Nalón. Pravia. 30 m s.n.m. Pliego 780. Setiembre-78.

*Sorghum halepense* (L.) Pers.

Tenemos un pliego procedente de las riberas del río Lena a la altura de Campomanes, Lena. Pliego 784. Agosto-78.

#### BIBLIOGRAFIA

- DÍAZ GONZALEZ, T. E. (1975).—*Estudio de la Flora y Vegetación del Litoral Occidental Asturiano*. Tesis doctoral (manuscrito). Oviedo.
- GAY, J. (1836).—*Duriei iter asturicum botanicum*, anno 1835 susceptu. *Annal Scien. Natur. Bot. France*.
- LAINZ RIBALAYGUA, J. M. y S. J. M. LAINZ (1957).—Aportaciones al conocimiento de la Flora Gallega. III. *Brot. serv. N.*, **53**: 90-97. Madrid.
- LASTRA, J. J. y M. MAYOR (1978).—Nota Florística sobre Grado y sus contornos. *Rev. Fac. Cienc. Univ. Oviedo*, **17-18-19**: 309-315. Oviedo.
- LOSA, M. (1962).—Los «Plantagos» Españoles. *Anal. Anst. Bot. Cavanilles*, **20**: 7-49. Madrid.
- MARTÍNEZ GARCÍA, G. (1973).—*Estudio de la Flora y Vegetación de las comarcas comprendidas entre Trubia (Asturias) y San Emiliano (León)*. Tesis doctoral (manuscrito). Madrid.
- NAVARRO, F. (1974).—*Estudio de la Flora y Vegetación de la Sierra del Aramo y sus estribaciones*. Tesis doctoral (manuscrito). Oviedo.
- RODRIGUEZ SUAREZ, O.—*Catálogo florístico de la ruta de Durieu (Desde Peñaflor, Grado, hasta el Puerto de Letariegos)*. (Manuscrito inédito).

#### ABSTRACT

The content of 40 newly linked phloric compounds during germination of seeds of *Cicer arietinum* L. has been studied. The presence of the embryo influences the content of free phenols which are higher and greater than in seeds without embryo. Several compounds have been isolated and identified: gallic acid, vanillic acid, syringic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, gallic acid, p-hydroxy benzoic acid and gallic acid. For the unidentified compounds the chromatographic method of analysis is given.

#### INTRODUCTION

Under the heading phenols several naturally different compounds are included; these compounds are widely distributed in the seed components (VAN OOSTEROM, 1966). Although they were considered as germination inhibitors they can promote germination at different concentrations (COMA, 1976), sometimes both effects can be shown in the same solution (EVENARI, 1969). It is clear that phenols play an important role in barley seed germination and it is suggested that amino acid and protein synthesis may be affected by phenols (VAN SINCER et al., 1972). As part of a study on the germination of seeds of *Cicer arietinum* L.

## CHANGES IN PHENOLIC COMPOUNDS DURING THE GERMINATION OF SEEDS OF *Cicer arietinum* L.

Por  
M. I. BATALLAN

y  
R. SANCHEZ TAMES

Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias.  
Universidad de Oviedo. Spain

### RESUMEN

Se estudia el contenido de diferentes tipos de derivados fenólicos a lo largo de la germinación de semillas de *Cicer arietinum* L. La presencia del embrión influye en el contenido de fenoles libres, que al final del experimento alcanza valores más altos en semillas enteras que en semillas desprovistas de embrión. Se aislaron varios compuestos fenólicos de los cuales se dan datos cromatográficos y reacciones coloreadas y se identificaron: ácido p-hidroxi benzóico, ácido vanillico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido gentísico, p-hidroxi acetofenona y garbanzol.

### ABSTRACT

The content of differently linked phenol compounds during germination of seeds of *Cicer arietinum* L. has been studied. The presence of the embryo influences the content of free phenols which at the end is greater than in seeds without embryo. Several compounds have been isolated and p-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, syringic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, gentisic acid, p-hydroxy acetophenone and garbanzol identified. For the unidentified compounds chromatographic data and colour reactions are given.

### INTRODUCTION

Under the heading phenols, several structurally different compounds are included; these compounds are widely distributed in the seed components (VAN OVERBEEK, 1966). Although they were considered as germination inhibitors they can promote germination at different concentrations (CÔME, 1970), sometimes both effects can be shown in the same solution (EVENARI, 1949). It is clear that phenols play an important role in barley seed germination and it is suggested that amino acid and protein synthesis may be affected by phenols (VAN SUMERE *et al*, 1972). As part of a study on the germination of seeds of *Cicer arietinum* L.

changes in concentration of phenol compounds and the isolation and identification of several of such compounds is reported.

## MATERIALS AND METHODS

### *Plant material*

Intact seeds of *Cicer arietinum* L. or only cotyledons and testa were sterilized by immersion for 1 min in 0.1 %  $\text{HgCl}_2$  and afterwards washed for 3 h in sterile distilled water. Germination was carried out in Petri dishes lined with wet towel paper, in a dark room with 80 % relative humidity and  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  from 0 h to 72 h. The seeds used for quantitative evaluation of phenols were dried at  $80^\circ\text{C}$  to constant weight and milled to a fine powder.

### *Extraction and purification*

All solvents were redistilled before use and the ethyl ether freed of peroxides. Weighted quantities of seeds were suspended in 80 % methanol for 24 h at room temperature. After filtration the residue was reextracted three times with 80 % methanol for 12 h at room temperature. The filtrates were combined, the methanol was removed under vacuum at  $34^\circ\text{C}$ , then the aqueous residue was acidified to pH 3.0 with 2N HCl, the free phenols were extracted by partition four times against equal volumes of ethyl ether. The combined ether layers were evaporated to dryness, this was called direct fraction and contained free phenols and those forming salt type combinations. The aqueous residue was hydrolyzed with 2N HCl and heated in reflux for 30 min. The hydrolysate was extracted with ethyl ether as before. This was called the acid fraction and contains phenolic compounds extracted as glycosides.

The aqueous residue left after hydrolysis was adjusted to pH 8 with  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  and refluxed for 2 h, followed by adjustment to pH 3 by 2N HCl and partitioned four times against ethyl ether. The combined ether layers were evaporated to dryness. This was called the alkaline fraction, and contained compounds extracted as esters.

The plant material left after methanol extraction was refluxed with 2N  $\text{OHNa}$  for 4 h, acidified to pH 3 and partitioned four times with ether. The ether fractions were combined and evaporated as before. This was the residual fraction.

Each dry extract was redissolved in 10 ml 80 % MeOH.

Analytical methods: Total phenols were measured by Folin-Denis as described by SWAIN & HILLS (1959) using extract aliquots of 7 ml. Absorbance at 725 nm was compared with a gentisic acid calibration curve, and expressed as  $\mu\text{g}$  of this compound.

The isolation and identification of the phenol compounds was made by paper

chromatography on Whatman N.º 1 & 3 MM and TLC on cellulose and silica gel. The solvents used for developing the chromatograms were: S<sub>1</sub>, isopropanol ammonia-water (10:1:1 v/v); S<sub>2</sub>, benzene-acetic acid-water (6:7:3 v/v); S<sub>3</sub>, chloroform-methanol - 4 % formic acid (10:1:1 v/v); S<sub>4</sub>, 2 % acetic acid.

It was necessary to run several chromatograms in order to achieve a good separation of the compounds. The elution of the isolated products on paper or TLC was done with methanol (ESH DAT and MIRELMAN, 1972).

To identify compounds the following methods were used. The chromatograms were examined in UV -366 and 254 nm- before and after application of ammonia vapour. They were also developed by spraying with one of the following solutions: diazotized p-nitroanyline (C<sub>1</sub>), 2,6 -dibromoquinonechlorimide (C<sub>2</sub>), diazotized sulphanic acid (C<sub>3</sub>) or phosphomolibdic acid (C<sub>4</sub>).

The absorption spectra were run from 250 to 340 nm in methanol, in 5 % KOH in methanol or 5 % AlCl<sub>3</sub> in methanol. The distribution of phenols during germination was determined by bidimensional chromatography of equivalent extracts of seeds from the different periods assayed and the solvents used were S<sub>1</sub> for the first run and S<sub>2</sub> for the second run.

## RESULTS AND DISCUSSION

In a previous work (RODRIGUEZ-BUJÁN *et al.*, 1974) we have evaluated some types of differently linked phenol compounds during germination. Now we compare the phenol content -different fractions- during germination between intact seeds (Fig. 1) and seeds without embryo (Fig. 2).

From these data, it is shown that the content of free phenols changes along germination, increasing in the whole seed while in embryoless seed there is a continuous decrease in phenol content.

The alkaline fraction-containing the ester forming phenols-, keeps a fairly constant level during the 72 h period. There is no significant difference between intact and embryoless seeds.

The acid fraction, that is glycoside forming phenols, keeps fairly constant levels during germination in the intact seeds, while in embryoless seeds there is a greater variation. After 72 h the content has decreased to half that at 6 h.

In conclusion it can be said that, at 72 h there are twice as many physiologically important phenols - free + glycosides + esters - in intact compared to embryoless seeds.

Residual phenols, those liberated after alkaline hydrolysis, and probably less related to the germination process, increase their content in both cases.

It is interesting to notice, that around 18-24 h of germination has been found to be a very important point (RODRIGUEZ-BUJÁN *et al.*, 1975, DE LA FUENTE y NICOLAS, 1974) probably related with the change from anaerobic to aerobic respi-

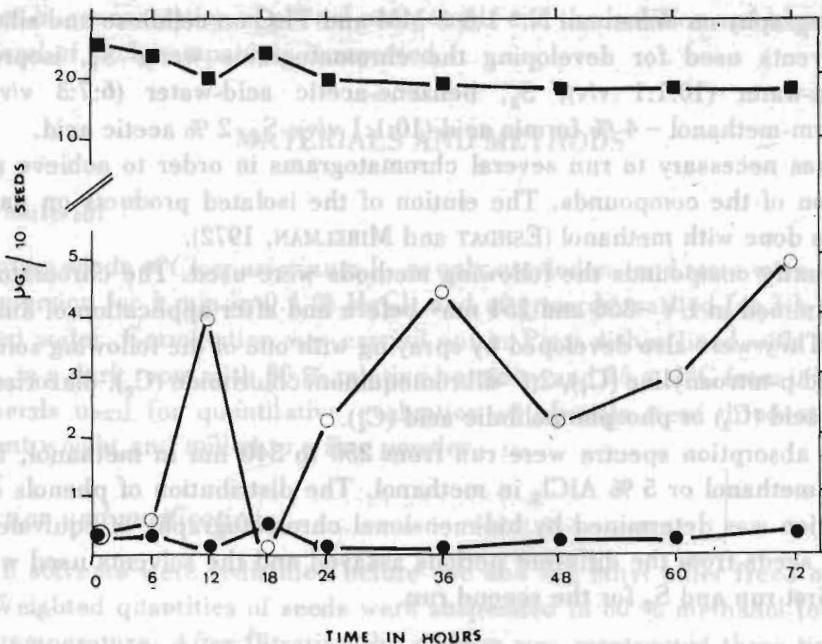


Fig. 1.—Amounts of free (—○—), acid labile (—■—) and alkali labile (—●—) phenols in whole seeds of *C. arietinum* during germination, expressed as g of gentisic acid per ten seeds. Each point is the mean of 3 replications.

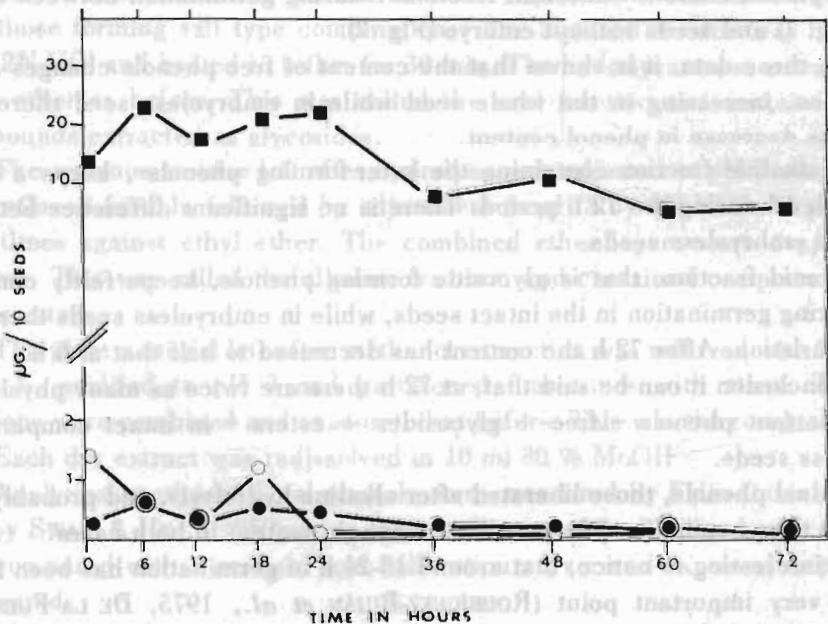


Fig. 2.—As fig. 1 but for embryoless seeds.

ration, due to root protrusion through the envelope and we can see that this is a turning point also for the free phenols, which seem to be mostly related to germination of the seed, probably in the trapping of oxygen (CÔME, 1970). Once the radicle has protruded the phenols are not required to the same extent and the content of free phenols increases as a result.

The identified compounds were: three benzoic acid derivatives (p-hydroxybenzoic acid, vanillic acid and syringic acid), two cinnamic acid derivatives (p-coumaric acid and ferulic acid), gentisic acid, p-hydroxyacetophenone and garbanzol, although the identity of this last compound is based on indirect evidence due to lack of a pure sample. Another eight phenolic compounds have been isolated but not identified (see Table I and II). The semiquantitative analysis

TABLE I

Chromatographic properties of the unidentified compounds (For explanation of symbols see methods)

Compounds	Rf values				Colour reaction						
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	UV <sub>366</sub>	UV <sub>366</sub> + NH <sub>3</sub>	UV <sub>254</sub>	
Unknown 1	0.54	0.70	0.95	0.70	be-o	bl	y-o	-	-	p	
Unknown 2	0.70	0.00	0.30	0.50	vt	-	-	bl	-	-	
Unknown 3	0.30	0.25	0.36	0.55	vt	-	-	bl	-	bl	
Unknown 4	0.12	0.43	-	-	pk	-	-	-	-	p	
Unknown 5	0.80	0.48	-	-	-	-	-	bl	-	-	
Unknown 6	0.70	0.26	0.80	0.89	-	-	-	-	-	p	
Unknown 7	0.60	0.65	0.64	0.11	-	-	-	y	gn	-	
Unknown 8	0.35	0.30	0.95	0.05	be-o	bl	y-o	-	-	p	

Key to colours.-be: beige; bl: blue; gn: greenish; o: orange; p: purple; pk: pink; vt: violet; y: yellow.

TABLE II

Ultraviolet absorption peaks (in methanol) for the unidentified compounds of *C. arietinum* seeds. (For explanation of symbols see methods)

Compounds	max (nm)		
	MeOH	KOH	AlCl <sub>3</sub>
Unknown 1	262	274, 329s	270
Unknown 2	281	279	272
Unknown 3	283	284	278
Unknown 4	253	283, 257s	269, 248s
Unknown 5	285	281	282
Unknown 6	280	281	284
Unknown 7	270, 276, 310s	275, 334	268, 277, 310s
Unknown 8	256, 278s	262, 315s	243

of the isolated compounds has been determined during germination as shown in Table III; p-hydroxybenzoic, vanillic and syringic acid were found in all the



TABLE III  
Presence (+) or absence (-) of the isolated compounds during germination

Compounds	Time in hours																																						
	0 h			6 h			12 h			18 h			24 h			36 h			48 h			60 h			72 h														
	Dr	Ac	Al	Dr	Ac	Al	Dr	Ac	Al	Dr	Ac	Al	Dr	Ac	Al	Dr	Ac	Al	Dr	Ac	Al	Dr	Ac	Al	Dr	Ac	Al												
p-Hydroxybenzoic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+									
Vanillic acid	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-						
Syringic acid	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+						
Genitic acid	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+						
p-Coumaric acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+						
Ferulic acid	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+						
p-Hydroxy Acetophenone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
Garbanzol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
Unknown 1	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-			
Unknown 2	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-			
Unknown 3	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+			
Unknown 4	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+			
Unknown 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Unknown 6	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+			
Unknown 7	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
Unknown 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			

Dr: direct fraction, Ac: acid fraction, Al: alkaline fraction.

fractions studied. These phenolic acids are widely distributed in all plants their presence being related with lignin biosynthesis, although in the early steps of germination it does not seem to be their main role. This could however explain the presence of syringic acid which occurs only after 60 h in the alkaline fraction.

Initially, p-coumaric acid is detected free and in two bound forms, afterwards at 72 h only is detected as ester-linked compound. The behaviour of ferulic acid is different, there is no free or glycoside linked ferulic acid for the first 24 hours, at 36 h there is some free ferulic acid and at 60 h is present as free glycoside or ester linked.

Gentisic acid is not detected in the beginning as a free acid, although later on it shows fluctuations, between 36 and 60 h it constantly appears as free acid.

At 0 h p-hydroxyacetophenone is present as glycoside.

Garbanzol appears as ester forming compound after 36 h of germination.

The isolated compounds must play a role in the regulation of seed germination and early stages of seedling development. The embryo is needed for phenol production or mobilization, as free or glycoside forming compounds are those which experiment greater fluctuations along germination and also greater differences between the content of whole and embryoless seeds.

#### REFERENCES

- CÔME, D. (1970).-*Les obstacles a la germination*. Mason et Cie. Paris, 162 pp.
- DE LA FUENTE BURGUILLO, P. & G. NICOLÁS (1974).-Respiratory activity during germination of seeds of *Cicer arietinum* L. I: Glycolysis and fermentation. *Plant Sci. Lett.*, **3**: 143-148.
- ESH DAT, Y. & D. MIRELMAN (1972).-An improved method for the recovery of compounds from paper chromatograms. *J. Chromatogr.*, **65**: 458-459.
- EVENARI, M. (1949).-Germination inhibitors. *Bot. Rev.*, **15**: 153-194.
- RODRIGUEZ-BUJÁN, M. C., I. BATALLÁN, M. C. BERMÚDEZ, R. SÁNCHEZ TAMÉS & G. NICOLÁS (1974).-Biochemical changes in seeds of *Cicer arietinum* L. during germination. *Rev. Esp. Fisiol.*, **30**: 21-26.
- RODRIGUEZ-BUJÁN, M. C. (1975).-Aspectos fisiológicos de la germinación de semillas de *Cicer arietinum* L. Tesis doctoral. Servicio de Mecanización de la Universidad de Santiago de Compostela, 180 pp.
- SWAIN, T. & V. E. HILLIS (1959).-The phenolic constituents of *Prunus domestica*. *J. Sci. Food Agric.*, **10**: 63-68.
- VAN OVERBEEK, J. (1966).-Plant hormones and regulators. *Science*, **152**: 721-731.
- VAN SUMERE, C. F., J. COTTENIC, J. DE GREEF & J. KINT (1972).-Biochemical studies in relation to the possible germination regulatory role of naturally occurring coumarin and phenolics. in *Recent Advances in Phytochemistry*. Vol. 4, Appleton-Century Croft, New York, 165-211.

#### INTRODUCCION

Numerosos trabajos de investigación<sup>1,2,3</sup> han demostrado que el cultivo, en los mamíferos superiores, es de una gran importancia desde el punto de vista

## EFFECTOS DE LA SUPRESION DE LAS GLANDULAS DEL FLANCO EN EL HAMSTER MACHO *Mesocricetus auratus*, SOBRE LOS PESOS Y EL METABOLISMO OXIDATIVO DE ESTRUCTURAS NERVIOSAS Y GLANDULARES

Por  
A. MENENDEZ PATTERSON, J. A. FLOREZ LOZANO,  
S. FERNANDEZ FERNANDEZ

y  
B. MARIN

Departamento Interfacultativo de Fisiología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Considerando que numerosos autores señalan el papel de las glándulas del flanco como fuente de feromonas de atracción sexual, y que, de hecho, nuestras propias investigaciones han demostrado alteraciones en los parámetros de conducta sexual después de la supresión de estas glándulas, nos propusimos estudiar si la ablación de estas estructuras alteraba el consumo de oxígeno (como índice de actividad de un tejido) de una serie de estructuras glandulares (testículos, glándulas adrenales) y nerviosas (bulbo olfatorio, hipotálamo anterior, ventromedial y posterior, amígdala, área septal, núcleo caudado, cortezas anterior y posterior), que de alguna manera están implicadas en el control de la sexualidad del hamster.

Nuestros resultados indican alteraciones estadísticamente significativas a nivel de testículos, glándulas adrenales, bulbo olfatorio, hipotálamo ventromedial y área septal, lo cual parece probar la relación entre las glándulas del flanco y todas estas estructuras citadas.

### SUMMARY

In view of the fact that many writers point out the role of the flank glands as being a source of feromones sexual attraction and that moreover our own research has shown alterations in the paramethers of sexual behavior after the supression of these glands, we decided to study if the ablation of these structures altered the oxygen consumption (thus being an indicator of tissue activity) of a number of glandular structures (testes, adrenal glands) and nervous (olfatory bulb, anterior, ventromedial and posterior hypothalamus, amygdala, septal area, caudatus nucleus, anterior and posterior cortex) which in some way take part in the control of the sexual behavior of the hamster.

Our results show statistically significant changes where testes, adrenal glands, olfactory bulb, ventromedial hypothalamus and septal area are concerned. This seems to prove the relationship between the flank glands and all these structures.

### INTRODUCCION

Numerosos trabajos de investigación<sup>1,2,3,4</sup>, han demostrado que el olfato, en los mamíferos superiores, es de una gran importancia desde el punto de vista

sexual. Por ejemplo, en los hamsters machos se ha podido comprobar que son poderosamente atraídos por la descarga vaginal de la hembra y por la descarga de las glándulas del flanco<sup>5,6</sup>. Por supuesto, la presencia de estos «olores» debe de ser detectada por alguna estructura neurofisiológica especializada que activará «a posteriori» áreas nerviosas relacionadas específicamente con la sexualidad o con la dinámica hormonal.

El bulbo olfatorio parece ser la estructura nerviosa capacitada para detectar e integrar estos diferentes niveles de comunicación química. Por otra parte, el papel del bulbo olfativo en la conducta sexual ha sido probado ampliamente observando los efectos que se producen sobre esta actividad tras su ablación<sup>4,7,8</sup>. Incluso, en algunos casos, los efectos de la bulbectomía olfativa se han comparado con los hallados tras la castración.

Por otra parte, en los últimos años se ha evidenciado el papel jugado por las áreas del Sistema Nervioso Central en la reproducción y conducta sexual. Son numerosos los trabajos que han dejado establecido el papel del hipotálamo y de la amígdala en el control de la secreción de gonadotrofinas<sup>9,10,11</sup>, así mismo NANCE y col.<sup>12</sup> comprobaron que el área septal es una de las estructuras límbicas estrechamente relacionadas con el control de la conducta sexual y maternal en el hamster. De otro lado, en nuestro Departamento hemos demostrado una posible conexión entre la corteza posterior y el control de la secreción de hormonas sexuales. Por supuesto, el papel que juega el testículo en el control de la sexualidad se conoce desde antiguo. Igualmente se han evidenciado posibles relaciones entre el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal y el eje hipófiso-adreno-cortical, de tal forma que, cuando se producen modificaciones en el primero de estos ejes se captan variaciones a nivel de las glándulas adrenales.

Considerando que en los trabajos anteriores<sup>6</sup> se comprobó que la supresión de las glándulas del flanco en el hamster producía alteraciones en su conducta sexual y, teniendo en cuenta que todas las estructuras anteriormente citadas se encuentran implicadas directa o indirectamente en el control de la sexualidad, nos ha parecido importante estudiar si la supresión de las glándulas del flanco podría inducir alguna alteración en todas ellas. Para ello medimos su consumo de oxígeno como índice de actividad de estas estructuras ya que, en múltiples trabajos, se ha demostrado la efectividad de este método<sup>9,10,11</sup>.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 46 hamsters machos *Mesocricetus auratus*, de la cepa del Departamento Interfacultativo de Fisiología (Medicina y Ciencias) de la Universidad de Oviedo, cuyo peso corporal oscilaba entre 115-117. Los animales fueron mantenidos en condiciones standard de luz (12L-12H), temperatura ( $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) y humedad absoluta. La alimentación era «ad libitum» con libre acceso a comida y bebida.

A un grupo de 24 hamsters se les suprimieron las glándulas del flanco. Los animales fueron anestesiados mediante algodón impregnado en éter. Una vez localizadas estas glándulas en la región dorsal, fácilmente reconocibles por su intensa pigmentación, se suprimieron mediante una simple operación sin hemorragia alguna. Posteriormente la piel fue suturada con hilo de seda. No se manifestó, en ninguno de los animales, infección postoperatoria. Tras un período de recuperación de 30 días, los animales fueron sacrificados por decapitación; posteriormente se disecaron los tejidos a estudiar: bulbo olfatorio, hipotálamo anterior, hipotálamo ventromedial, hipotálamo posterior, amígdala, área septal, núcleo caudado, corteza anterior (latero-frontal), corteza posterior (latero-occipital), glándulas adrenales y testículos, de acuerdo con el Atlas de HOFFMAN<sup>13</sup>. También se recogió una muestra de sangre para la determinación de la glucemia (método de la glucosa-oxidasa) y se registró el peso de las siguientes estructuras: glándulas adrenales (mg), testículos (grs), riñones (grs) y páncreas (grs).

La determinación del consumo de oxígeno de las distintas estructuras nerviosas y glandulares de los dos grupos estudiados (controles y glandectomizados) se realizó mediante el método manométrico de Warburg<sup>14</sup>. Los resultados del consumo de oxígeno se expresaron en microlitros de O<sub>2</sub> consumido por miligramo de tejido fresco y por hora de incubación (QO<sub>2</sub> : ul O<sub>2</sub>/mg tejido fresco/h).

El tratamiento estadístico se efectuó mediante el test «t» de Student según FISHER y YATES<sup>15</sup>.

TABLA I

Efectos de la supresión de las glándulas del flanco sobre el consumo de oxígeno de estructuras cerebrales en hamster macho *Mesocricetus auratus*

Tejidos estudiados	QO <sub>2</sub> :ul O <sub>2</sub> /mg tej. fresco/hora			
	Control	Glandectomizados	«t»	p
Bulbo olfatorio	*1,03 ± 0,08 (17)	1,32 ± 0,07 (14)	2,60	0,05
Hipotálamo anterior	1,35 ± 0,15 (11)	1,19 ± 0,09 (10)	0,85	NS
Hipotálamo posterior	1,53 ± 0,17 (11)	1,22 ± 0,08 (12)	0,58	NS
Hipotálamo ventromedial	1,31 ± 0,16 (11)	0,84 ± 0,09 (11)	2,45	0,05
Amígdala	1,25 ± 0,06 (13)	1,32 ± 0,07 (10)	0,74	NS
Área septal	1,19 ± 0,009 (10)	0,93 ± 0,06 (10)	2,26	0,05
Núcleo caudado	0,98 ± 0,06 (13)	1,06 ± 0,07 (12)	0,86	NS
Corteza anterior	1,05 ± 0,17 (9)	1,31 ± 0,11 (11)	1,30	NS
Corteza posterior	1,45 ± 0,13 (10)	1,34 ± 0,10 (13)	0,68	NS

\* Media ± Error Standar. Entre paréntesis figura el n.º de datos.

NS = Estadísticamente No Significativo.

## RESULTADOS

En la Tabla I se registran los resultados del metabolismo oxidativo en hamsters machos intactos y glandectomizados bilateralmente, de las siguientes



estructuras: bulbo olfatorio, hipotálamo anterior, hipotálamo posterior, hipotálamo ventromedial, amígdala, área septal, núcleo caudado, corteza anterior y corteza posterior. En líneas generales, los efectos de la supresión de las glándulas del flanco parecen ser diferentes según las estructuras, puesto que, mientras a nivel de las regiones hipotalámicas del área septal y de la corteza posterior se produce un descenso en el consumo de O<sub>2</sub>, a nivel del bulbo olfatorio, amígdala, núcleo caudado y corteza anterior se produce un aumento. Las diferencias son estadísticamente significativas a nivel del bulbo olfatorio, del hipotálamo ventromedial y del área septal.

En lo que respecta al consumo de oxígeno de las glándulas adrenales y testículos, en los hamsters machos glandectomizados se observa un incremento estadísticamente significativo a nivel de las glándulas adrenales y un decremento, también estadísticamente significativo, en los testículos.

Por último, en la Tabla III, se exhiben los valores correspondientes al peso corporal. No existe diferencia estadísticamente significativa con relación a este parámetro y los pesos de glándulas adrenales, testículos, riñones y páncreas. Con respecto a estas estructuras la glandectomía del flanco produce un descenso en el

TABLA II  
Efectos de la supresión de las glándulas del flanco sobre el consumo de oxígeno de estructuras glandulares en el hamster macho *Mesocricetus auratus*

Tejidos estudiados	QO <sub>2</sub> :ul O <sub>2</sub> /mg tej. fresco/hora			«t»	p
	Controles	Glandectomizados			
Glándulas adrenales	*0,42 ± 0,05 (12)	0,67 ± 0,06 (10)	3,01	0,01	
Testículos	0,84 ± 0,09 (11)	0,53 ± 0,08 (12)	2,52	0,05	

\* Media ± Error Standar. Entre paréntesis figura el número de datos.

TABLA III  
Efectos de la supresión de las glándulas del flanco en el hamster macho *Mesocricetus auratus* sobre el peso: corporal, de glándulas adrenales, testículos, riñones, páncreas y glucemias

Pesos	Controles	Glandectomizados	«t»	p
Corporal (grs)	*115,45 ± 2,60 (22)	117,58 ± 2,44 (24)	0,59	NS
Gl. adrenales (mgrs)	31,77 ± 2,01 (22)	26,50 ± 1,32 (24)	2,20	0,05
Testículos (grs)	3,16 ± 0,13 (19)	2,95 ± 0,07 (24)	2,92	0,01
Riñones (grs)	1,16 ± 0,03 (21)	0,94 ± 0,02 (24)	5,02	0,001
Páncreas (grs)	0,35 ± 0,02 (21)	0,33 ± 0,01 (22)	0,81	NS
Glucemia (mgrs %)	55,64 ± 2,16 (17)	49,07 ± 3,29 (23)	1,53	NS

\* Media ± Error Standar. Entre paréntesis figura el número de datos.

NS × Estadísticamente No Significativo.



peso de todas las glándulas, estadísticamente significativo a nivel de las glándulas adrenales, testículos y riñones.

También se reflejan en esta tabla los valores de la glucemia, no encontrándose variaciones estadísticas.

## DISCUSION

Los datos obtenidos en el presente trabajo indican que la supresión de las glándulas del flanco, en el hamster macho, modifica de una manera significativa el consumo de oxígeno de estructuras nerviosas y glandulares comprometidas en la dinámica hormonal y/o comportamental (bulbo olfatorio, hipotálamo ventromedial, área septal, glándulas adrenales y testículos).

De gran importancia son los resultados obtenidos con relación al área septal (Tabla I), en la que se puede apreciar un descenso significativo en su actividad metabólica oxidativa. Teniendo en cuenta que varios autores<sup>12</sup>, han puesto de manifiesto que esta estructura juega un relevante papel en el comportamiento sexual sin que las lesiones septales alteren el modelo de secreción de gonadotrofinas, estos datos podrían dar alguna luz a las alteraciones de conducta encontradas por nosotros<sup>6</sup> en hamsters glandectomizados.

Por otra parte, el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal (Tablas I, II) muestra una disminución significativa en su consumo de oxígeno, ya que tanto el hipotálamo ventromedial como los testículos exhiben un descenso en su actividad metabólica oxidativa tras la supresión de las glándulas del flanco. A nivel testicular aún se pueden comprobar más estos efectos, puesto que incluso se producen alteraciones en cuanto a su peso. Estos resultados son bastante similares a los que se observan tras la pancreatectomía<sup>16</sup> en los que también la conducta sexual y el consumo de oxígeno de ciertas estructuras nerviosas y glandulares se encuentran disminuidos.

En cuanto al bulbo olfatorio y su papel en la conducta sexual, como estructura nerviosa capacitada para detectar e integrar diferentes niveles de comunicación química, ya hemos señalado que varios autores<sup>4,7,8</sup>, han probado los efectos de su supresión sobre la conducta. Nosotros, hemos analizado el proceso a la inversa, sabiendo el papel de las glándulas del flanco en la conducta, quisimos ver que ocurría en esta estructura tras su supresión. Como podemos observar (Tabla I), se produce una actividad metabólica oxidativa aumentada, que parece señalar un mayor funcionamiento, tal vez, en un intento de localizar otras fuentes «olorosas» que palien, de alguna manera, la que hemos suprimido.

Las estructuras corticales analizadas (corteza anterior latero-frontal y corteza posterior latero-occipital) no han experimentado ninguna alteración tras la glandectomía, además, como ya hemos señalado, en otros trabajos<sup>16</sup>, estas zonas no parecen estar implicadas en el control de la conducta sexual. Lo mismo podemos añadir para el núcleo caudado.

Existen en este trabajo una serie de resultados un tanto difíciles de aclarar y, de encontrar el por qué a sus alteraciones, puesto que en la bibliografía actual no aparece ningún dato al respecto. Entre ellos nos encontramos el descenso altamente significativo que se produce a nivel del peso de los riñones, órganos que, aparentemente, no parecen tener ninguna relación con unas glándulas de naturaleza sebácea y fuente de unas feromonas de atracción sexual, como son las glándulas del flanco del hamster.

Creemos que es necesario seguir trabajando en esta línea de investigación para intentar aclarar algunas de las incógnitas que han surgido.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) DARBY, E. M. M. DEVOR y S. L. CHOROVER (1975).—Presumptive sex pheromones in the hamster some behavioral effects. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **88**: 496-502.
- 2) DEVOR, M. y M. R. MURPHY (1973).—The effect of peripheral olfactory blockade on the social behavior of the male golden hamster. *Behav. Biology*, **9**: 31-42.
- 3) JOHNSTON, R. E. (1971).—Scent marking olfactory communication and social behavior in the golden hamster *Mesocricetus auratus*. Dissertation New York Rockefeller Univ.
- 4) MURPHY, M. R. y G. R. SCHNEIDER (1970).—Olfactory bulb removal eliminates mating behavior in the male golden hamster. *Science*, **167**: 302-304.
- 5) JOHNSTON, R. E. (1974).—Scent marking sexual attraction function of hamster vaginal secretion. *Behav. Biology*, **12**: 111-117.
- 6) FLÓREZ LOZANO, J. A., A. MENÉNDEZ PATTERSON y B. MARÍN (1980).—Effect of flank glandectomy of the female hamster (*Mesocricetus auratus*) upon the sexual behavior of the male hamster. *Behav. Neural Biol.*, **29**: 399-404.
- 7) RIEDER, C. A. y A. R. LUMIA (1973).—Effects of olfactory bulb ablation on dominance related behavior of male mongolian gerbils. *Physiol. Behav.*, **11**: 365-369.
- 8) HULL, E. M., K. L. HAMILTON, D. B. ENGNALL y L. ROSELLI (1974).—Effects of olfactory bulbectomy and peripheral deafferentation on reaction to crowding in gerbils. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **86**: 267-274.
- 9) SCHIAFFINI, O., B. MARÍN y A. GALLEGO (1969).—Oxidative activity of limbic structures during sexual cycle in rats. *Experientia*, **23**: 1.255-1.256.
- 10) SCHIAFFINI, O. y B. MARÍN (1971).—Effect of ovariectomy on the oxidative activity of the hypothalamus and the limbic system of the rat. *Neuroendocrinol.*, **7**: 302-306.
- 11) SCHIAFFINI, O., A. MENÉNDEZ PATTERSON y B. MARÍN (1974).—Sexual cycle and metabolisms of the Hypophysiotropic and septal areas, caudal nucleus, adenohypophysis and cerebral cortex. *Reproducción*, **1**, 4: 361-366.
- 12) NANCE, D. M., J. SHRYNE y R. A. GORSKI (1974).—Septal lesions: effects on lordosis behavior and pattern of gonadotrophins release. *Horm. Behav.*, **5**: 73-81.
- 13) HOFFMAN, R. A. y P. F. ROBINSON (1966).—*The golden hamster; its biology and use in medical research*. Ed. Hoffman, R. A. y Robinson, P. F. y Magalhães, A. Iowa State University Press, Iowa.
- 14) UMBREIT, M. N., R. H. BURRIS y J. F. STAUFFER (1959).—*Manometric Techniques*. Ed. Burgess, Minneapolis.
- 15) FISHER, R. A. y F. YATES (1957).—*Statistical tables for Biological, Agricultural and Medical research*. Ed. Hafner, New York.
- 16) MENÉNDEZ PATTERSON, A., J. A. FLÓREZ LOZANO y B. MARÍN (1978).—Metabolismo oxidativo de distintas estructuras del sistema nervioso central, glándulas adrenales y testículos en hamster macho (*Mesocricetus auratus*) pancreatectomizados (95 %). *Rev. Fac. Cienc. Univ. Oviedo*, **17**, **19**: 343-348.

## ANATOMIA DEL OJO NAUPLIAL DE *Artemia* sp. (CRUSTACEA: ANOSTRACA) ADULTA

Por

ARACELI ANADON

Departamento de Zoología y Ecología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

El ojo naupliar de *Artemia* está constituido por 2 grandes células pigmentarias centrales y por células retinianas. Tiene 3 ocelos, 2 laterales (OL) y uno medio anterior (OM). Las células retinianas se disponen en cada ocelo en una capa simple, aunque alguna puede no ser adyacente a la copa pigmentaria; su morfología es muy irregular y su volumen variable. Su número es de 8-11 en el OM y 17-29 en cada OL. El ojo naupliar es muy variable en sus características morfológicas y en su situación respecto a otros órganos.

### ABSTRACT

The nauplius eye of *Artemia* consists of 2 big central pigment cells and of retinula cells. It has 3 ocelli, 2 lateral (OL) and one anterior in the middle (OM). The retinula cells of each ocellus are disposed in a simple layer, though certain ones may not be adjacent to the pigment cup; their morphology is very irregular, and variable their volume. Their number is 8-11 at the OM and 17-29 at each OL. In its morphological characteristics and in its situation respect other organs the nauplius eye is very variable.

### INTRODUCCION

El concepto de ojo naupliar que todavía permanece hoy fue expresado ya en el siglo pasado por CLAUS en un trabajo (1891) recopilación, esencialmente de Crustáceos no Malacostráceos. La denominación de ojo naupliar fue dada por HANSTRÖM en 1928, siendo ahora generalmente aceptada. Se trata de un ojo mediano, frontal, impar, formado por 3 ó 4 ojos simples u ocelos, exclusivo de los Crustáceos. KAESTNER (1970) prefiere hablar en un sentido más amplio de ojos medianos o frontales simples en los Crustáceos, semejantes a los de los otros artrópodos, y que en la larva nauplius se reúnen para formar el único órgano

óptico de la larva, por lo que en ese caso se denomina ojo naupliar. PAULUS (1979) considera a cada uno de los componentes como ojo naupliar, por lo que *Artemia* tendría 3 ojos naupliales. RASMUSSEN (1971) prefiere llamar «Mittelauge» (ojo medio) al ojo naupliar.

La revisión en todos los Crustáceos y el estudio de la estructura de los ojos naupliales la realizó ELOFSSON en la década de los 60 (1963, 1965, 1966), aunque trabajos más recientes aportan nuevos datos sobre su presencia en grupos considerados carentes de ojo naupliar, y sobre su ultraestructura. De todas formas los trabajos realizados con ME no son muy numerosos, ya que la mayoría de las publicaciones aparecidas estudian los ojos compuestos. *Artemia* es un Crustáceo Anostráceo, orden que suele incluirse en los Branquiópodos junto con los Notostráceos, Concostráceos y Cladóceros. ELOFSSON, sin embargo, considera no homóloga la estructura del ojo naupliar y órganos frontales de Anostráceos y la del resto de Branquiópodos, a los que denomina Filópodos. Estos últimos tienen un ojo naupliar constituido por 4 copas ocelares, 2 laterales y 2 en posición media, y por sólo 2 tipos de células: pigmentarias y retinianas. Las primeras se presentan en Notostráceos y Concostráceos en número variable y constituyendo un tejido. Por el contrario, los Anostráceos poseen sólo 3 copas ocelares y 2 células pigmentarias gigantes.

La primera referencia al ojo naupliar de *Artemia salina*, que es a su vez la primera de Crustáceos, fue dada por LEYDIG en 1851. Más tarde CLAUS (1873 y 1885), HESSE (1901), SPENCER (1902), ZOGRAF (1904), NOWIKOFF (1905 y 1906), MOROFF (1912), HANSTRÖM (1924), DEBAISIEUX (1944), DAHL (1959), ELOFSSON (1966), VAISSIÈRE (1956), BENESCH (1969), RASMUSSEN (1971), y HIROKI y KOSHIDA (1976) realizan diversos trabajos en los que se trata sobre el ojo naupliar de Anostráceos, algunos centrándose en el desarrollo, otros en la estructura de la larva, otros en el adulto, y por fin otros en su funcionalidad. Los únicos en los que se utiliza ME de transmisión son el de VAISSIÈRE (1961) que presenta una única fotografía del «corps interne» de *Artemia* hoy conocido como rabdoma, y el de RASMUSSEN, también sobre *Artemia*.

Con el presente trabajo pretendemos un estudio anatómico completo de un ojo naupliar relativamente sencillo.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ejemplares adultos de *Artemia* obtenidos a partir de un cultivo de los nauplius eclosionados de huevos durables de *Artemia* de la casa Tetrakrafwerk y de la casa SeRa (Heinsberg, Germany) que se mantenía sin dificultades. El cultivo se inició con las directrices recogidas por IVLEVA (1973). Se realizó en un acuario con poca profundidad, de agua de mar a la que se añadieron 15 gr/l de NaCl (sal de cocina). La alimentación fue inicialmente de levadura, y posteriormente sólo a base de cultivos de *Chlorella*.

## *Microscopía óptica*

Se utilizó tinción en bloque con carmín borácico (ROMEIS 1936) para proceder a un recuento nuclear. La inclusión se hizo por el método de celoidina-parafina de Péterfi. Otras técnicas no proporcionaron resultados satisfactorios para este estudio.

## *Microscopía electrónica*

Los trozos fijados eran cabezas, a las que se seccionaron los ojos compuestos para favorecer la penetración. La fijación que proporcionó mejores resultados es la descrita por HOOTMAN y CONTE (1975) con glutaraldehído y  $\text{OsO}_4$ , de la que nosotros sustituimos el tampón original por tampón fosfato; posteriormente se tiñeron las cabezas con acetato de uranilo 2 % en agua. Las inclusiones con mejores resultados fueron las realizadas en Durcupán ACM, por los métodos habituales recogidos por SANTANDER (1968). Los bloques fueron tallados con un Piramitome LKB y cortados con un Ultramicrotomo LKB. Los cortes se recogieron en rejillas con formvar, de malla amplia, y posteriormente se contrastaron con citrato de plomo (REYNOLDS, 1963). La observación de las rejillas se realizó en un microscopio Philips EM-300.

## *Tratamiento de los cortes*

Se realizaron fotografías seriadas con las que se compusieron mapas de secciones de ojo naupliar a diferentes niveles; con ellos se hicieron reconstrucciones espaciales atendiendo a los perfiles de las células.

# RESULTADOS

## *Situación: Relaciones con el cerebro y otros órganos*

En los individuos jóvenes el ojo naupliar de *Artemia* se encuentra en el extremo más anterior de la cabeza, en una zona convexa. En los adultos está situado parcialmente en una prominencia con posición dorsal respecto a la base de antenas y anténulas. En los machos las antenas están enormemente desarrolladas y se unen en su base hacia el plano sagital del animal, haciendo que el ojo esté retrasado respecto al punto más anterior de la cabeza.

El ojo naupliar de las larvas tiene una coloración rojiza anaranjada, mientras que el del adulto tiene las células pigmentarias de color negro y fácilmente reconocibles a simple vista como una masa generalmente trapezoidal o cuadrada. En una población estabilizada, con individuos viejos, es relativamente frecuente observar algunos ejemplares en los que a simple vista no se distingue el ojo, lo que revela una degeneración de las células pigmentarias y, presumiblemente, de



todo el ojo. De hecho, en cortes seriados con microscopía óptica nos hemos encontrado con animales que carecen de ojo naupliar.

El ojo naupliar es contiguo al tegumento en la parte superior de la prominencia que parcialmente lo aloja (Fig. 1). Lateralmente y hacia abajo está inmerso en

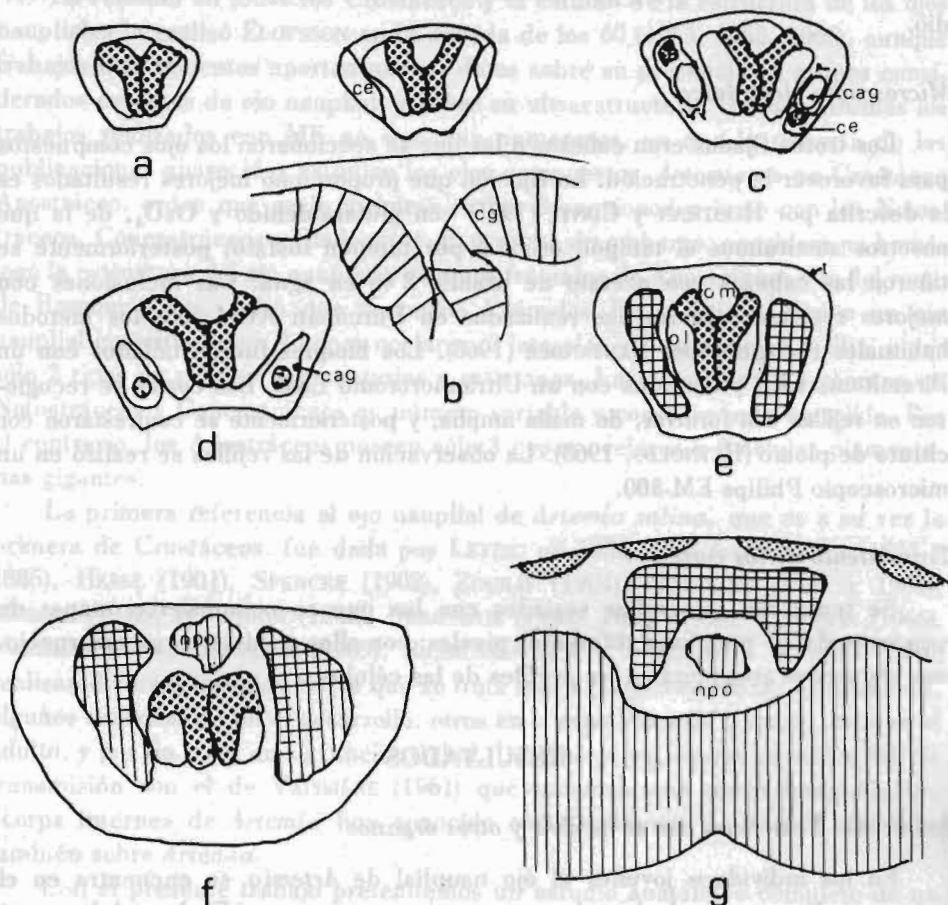


Fig. 1.—Diagrama de secciones frontales sucesivas (a-g) de la región del ojo naupliar. Células pigmentarias en puntos gruesos; órgano frontal ventral en puntos finos; zonas de neuropilo (npo, neuropilo del ojo naupliar) en rayado vertical y zonas ganglionares en cuadrícula; órgano receptor en cavidad: cag, célula acompañante gigante; ce, célula epidérmica; cg, ciegos gástricos; om, ocelo medio; ol, ocelo lateral; t, tegumento.

el hemocele o en contacto con otros órganos. El órgano más estrechamente adosado es el «órgano receptor en cavidad» descrito por ELOFSSON y LAKE (1971) exactamente, ya que nuestras observaciones corroboran las suyas, primeras realizadas con ME. Su parte más dorsal es adyacente a las partes más dorsales de los ocelos laterales. La relación espacial del ojo y otros elementos parece ser menos constante. En posición posterior y algo dorsal se encuentran siempre, inmersos en



el hemocele, un par de ciegos gástricos. La incurvación del tegumento que bordea dorsalmente al ojo naupliar, separa parcialmente los ciegos gástricos de dicho ojo. En zonas más ventrales existen algunos músculos aislados cercanos a los ciegos.

El cerebro se halla estrechamente relacionado con el ojo, ya que éste está allí innervado. Sin embargo existe variabilidad en las relaciones entre los dos órganos. El ojo está frecuentemente en contacto directo con el cerebro, ventral y lateralmente, aunque en algunos ejemplares no llegan a tocarse. En casi toda su superficie el cerebro está limitado por capas ganglionares, en muchas ocasiones claramente individualizadas; interiormente está constituido por neuropilo y por tractos de fibras. Sin embargo algún ejemplar tiene ventralmente al ojo naupliar un neuropilo abierto directamente al hemocele. El neuropilo correspondiente al ojo naupliar se ha localizado siguiendo el curso de los nervios ópticos en los ejemplares examinados con microscopía electrónica. En preparaciones para microscopía óptica se aprecia en algunas secciones sagitales la presencia bajo el ojo naupliar de una región de neuropilo de unas 40  $\mu\text{m}$  de diámetro, separada o enmarcada por algún cuerpo neuronal. Es muy probable que sea allí donde van a parar los nervios del ojo naupliar, si lo comparamos con los resultados obtenidos con microscopía electrónica. El cerebro se extiende siempre por debajo del ojo naupliar a zonas más anteriores, siguiendo con ello la forma del tegumento. En estas zonas, además del neuropilo donde se inerva el ojo, existen masas ganglionares extendidas como dos brazos anteriores y laterales al ojo, con forma de tenaza, como si fueran a rodearlo.

Existe también un órgano sensitivo, el órgano frontal ventral, presumiblemente visual ya que tiene células con rabdómeros, que en ocasiones está muy próximo al ojo naupliar. Se sitúa pegado al tegumento en la parte ventral a dicho ojo.

### Composición del ojo naupliar

El ojo naupliar de *Artemia* está compuesto exclusivamente por dos tipos celulares: células retinianas y células pigmentarias. Cada célula pigmentaria delimita lateralmente una copa ocelar, y entre las dos la copa media. El número de células retinianas es variable de unos ejemplares a otros. La Tabla I muestra

TABLA I

Número de células retinianas del OL derecho (OLD), OL izquierdo (OLI) y OM de diversos ejemplares de *Artemia* de sexo conocido.

	♀	♀	♀	♂	♂	?
OLD	21	22	23	20	17	29
OLI	26	24	23	22	19	25
OM	8	-	11	10	8	11

el número de células observadas en distintos ejemplares. Se puede ver que en los ocelos laterales (OL) hay 17-29 células retinianas, no coincidiendo para cada ejemplar el n.º en ambos ocelos, mientras que en el ocelo medio (OM) hay siempre un número menor: 8-11.

La morfología global del ojo naupliar de *Artemia* adulta es variable, a simple vista notable por las distintas formas que presentan las células pigmentarias. Debido a ello el espacio que ocupan las células retinianas es variable, así como también varía la orientación de las copas. Los ocelos pares pueden ser simplemente laterales o bien, si existe expansión ventral lateral de las células pigmentarias, pueden ser uno o los dos dorsolaterales. En cuanto al ocelo medio su posición es anterior, ligeramente ventral algunas veces. Los diámetros máximos, expresados en micras, del ojo de 6 especímenes seccionados en diferentes orientaciones son:

	♀	♀	♀	♂	♂	?
Diámetro anteroposterior	85	-	70	60	85	120
Diámetro transversal	-	120	110	-	90	120
Diámetro dorsoventral	85	50	-	80	-	-

Con frecuencia el diámetro mayor es el transversal, en posición anterior en el ojo, concretamente al nivel de los brazos de las células pigmentarias.

#### *Las células pigmentarias*

Constituyen el elemento que permite la separación óptica y el alojamiento de las células retinianas de los tres ocelos. Sin ellas sería imposible la percepción de la dirección de la luz. Estas células siempre forman un tabique sagital entre los dos ocelos laterales. En otras características la variación es grande entre ejemplares. Normalmente en su parte anterior las células pigmentarias tienen expansiones o brazos laterales constituyendo en conjunto una T, una Y, o una flecha, y se adelgazan en los extremos; en su parte anterior y central se engrosan y forman un cuenco que aloja al ocelo medio (OM). El desarrollo de estos brazos es con frecuencia desigual. Puede existir además una expansión lateral ventral a lo largo de todo el ojo, e igualmente, aunque más raro, aparecen expansiones laterales en el extremo posterior de las células pigmentarias. Estas particularidades pueden aparecer a un sólo lado, originando una gran asimetría del conjunto.

#### *Las células retinianas*

Se encuentran todas situadas sobre las copas pigmentarias. Con microscopía óptica aparecen claramente los núcleos dentro de una masa general: son elipsoi-

deos y poco alargados; sin embargo no se observa la distribución celular. En general los núcleos se sitúan periféricamente en los ocelos. Algunos se agrupan, indicando una distribución no uniforme de las células.

La disposición de las células retinianas se estudió en detalle con ME, con el que aparecían visibles los límites celulares. Las células retinianas están dispuestas apretadamente en cada copa ocelar (Fig. 2). Forman una capa simple en contacto con las células pigmentarias por un extremo y por el otro directamente

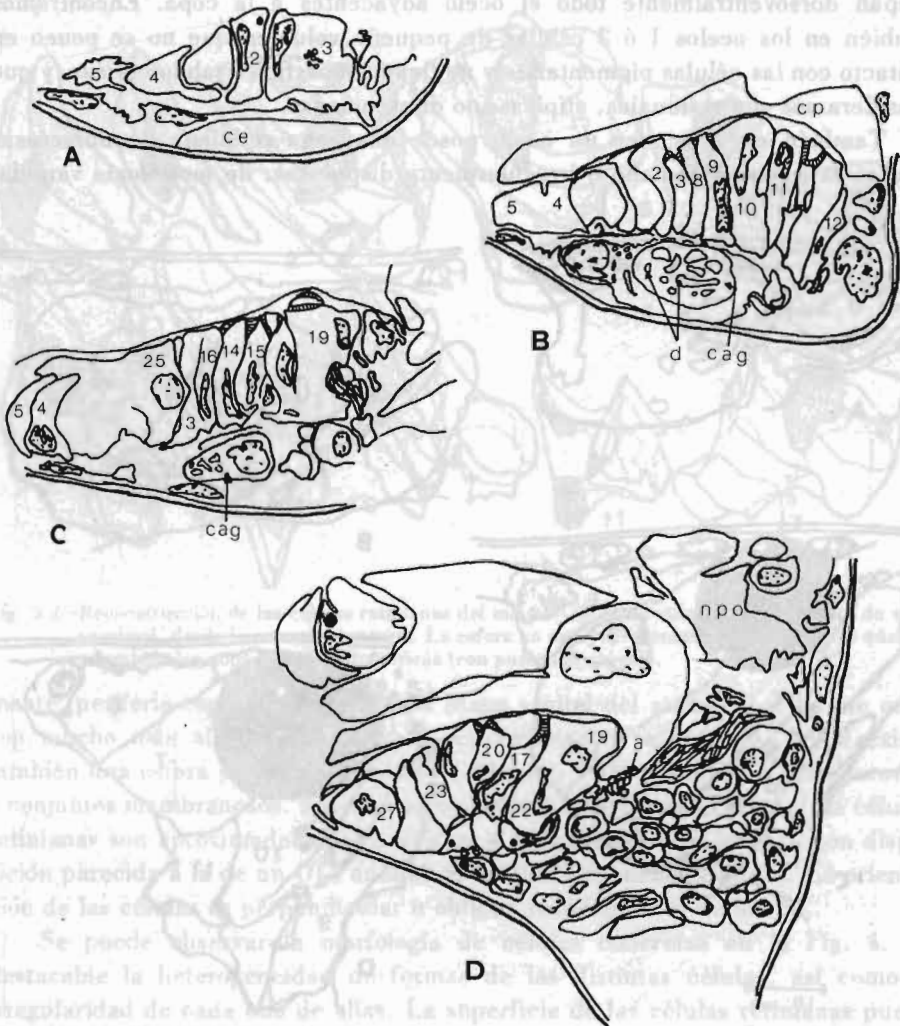


Fig. 2.—Perfiles celulares de secciones frontales sucesivas (A-D) de un OL y regiones adyacentes. Los números corresponden a diferentes células retinianas identificadas. npo, cag y ce, como en Fig. 1. cp, célula pigmentaria; d, dentritas de neurona bipolar; a, axones de las células retinianas.

con el hemocele. Esta disposición determina una polaridad de las células; las situadas en posición central en los ocelos en gran parte se alargan en la dirección copa-hemocele. Las consideramos como «células tipo». En conjunto se disponen radialmente respecto a la copa, adquiriendo forma troncopiramidal alargada con su base menor en la copa. Sus núcleos se colocan en posición periférica o media, nunca internamente. Pero otras células no son así, sino redondeadas y de gran volumen, ampliamente en contacto con la copa pigmentaria, y periféricas. Por ejemplo, en la parte posterior de los OL de uno de los ejemplares (E1) 1-3 células ocupan dorsoventralmente todo el ocelo adyacentes a la copa. Encontramos también en los ocelos 1 ó 2 células de pequeño volumen que no se ponen en contacto con las células pigmentarias y no tienen superficies rabdoméricas, y que consideramos son residuales, atípicas, no diferenciadas.

También en ocasiones un ocelo posee una zona retiniana de numerosas células de pequeño tamaño e irregularmente dispuestas, de morfología variada,

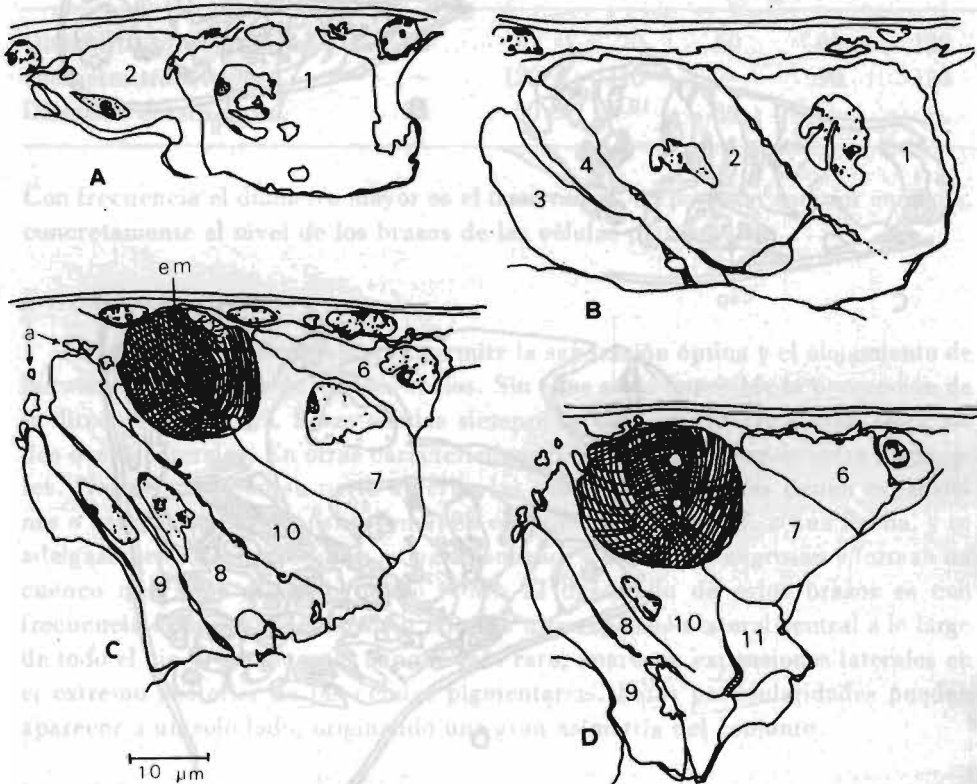


Fig. 3.1.—Perfiles celulares de secciones frontales sucesivas (A-D) de un OM. En C y D existe una esfera de microvilli aparentemente huecos (em), de dimensiones diferentes a las del rabdoma, y de origen incierto. a, axones retinianos.

angulosas y con salientes notables; se sitúan en la porción anterior de los OL. ELOFSSON (1966) consideraba que existían dos tipos de células retinianas, lo que podría explicarse por esta particularidad descrita, que parece ser aleatoria. Al tener los ojos copas pigmentarias de formas diferentes, allí donde éstas son más abiertas, hay más espacio y la disposición celular es más uniforme. Donde son más cóncavas la retina es más complicada, por la escasez de superficie, y existen células más variadas que se deforman para alcanzar los polos oclares.

En el OM de E1 (Fig. 3) las células se disponen inclinadas anteroposterior-

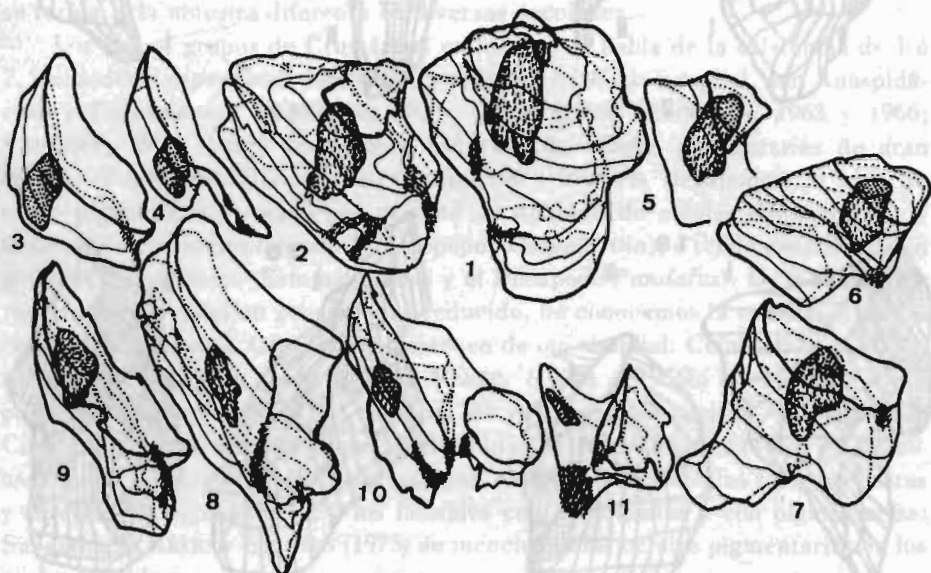


Fig. 3.2.-Reconstrucción de las células retinianas del mismo OM observadas desde un punto de vista proximal, desde la copa pigmentaria. La esfera no está representada. Se señalan los núcleos y también las superficies rabdoméricas (con punteado grueso).

mente (periferia-copa) con respecto al plano sagital del animal, por lo que unas son mucho más alargadas que otras; el conjunto es asimétrico. En él existe también una esfera periférica (ANADÓN y ANADÓN, 1980) compuesta por microvilli y conjuntos membranosos. En otros ejemplares la esfera está ausente y las células retinianas son aproximadamente paralelas al plano sagital del animal, con disposición parecida a la de un OL, aunque el conjunto es menos extenso. La orientación de las células es perpendicular u oblicua respecto a las de los OL.

Se puede observar la morfología de células concretas en la Fig. 4. Es destacable la heterogeneidad de formas de las distintas células, así como la irregularidad de cada una de ellas. La superficie de las células retinianas puede formar ángulos, ser cóncava en algunos puntos, y a veces tiene profundas hendiduras o prolongaciones o salientes de tipo diverso. La significación de estos accidentes es problemática. Aparentemente la forma es caprichosa.



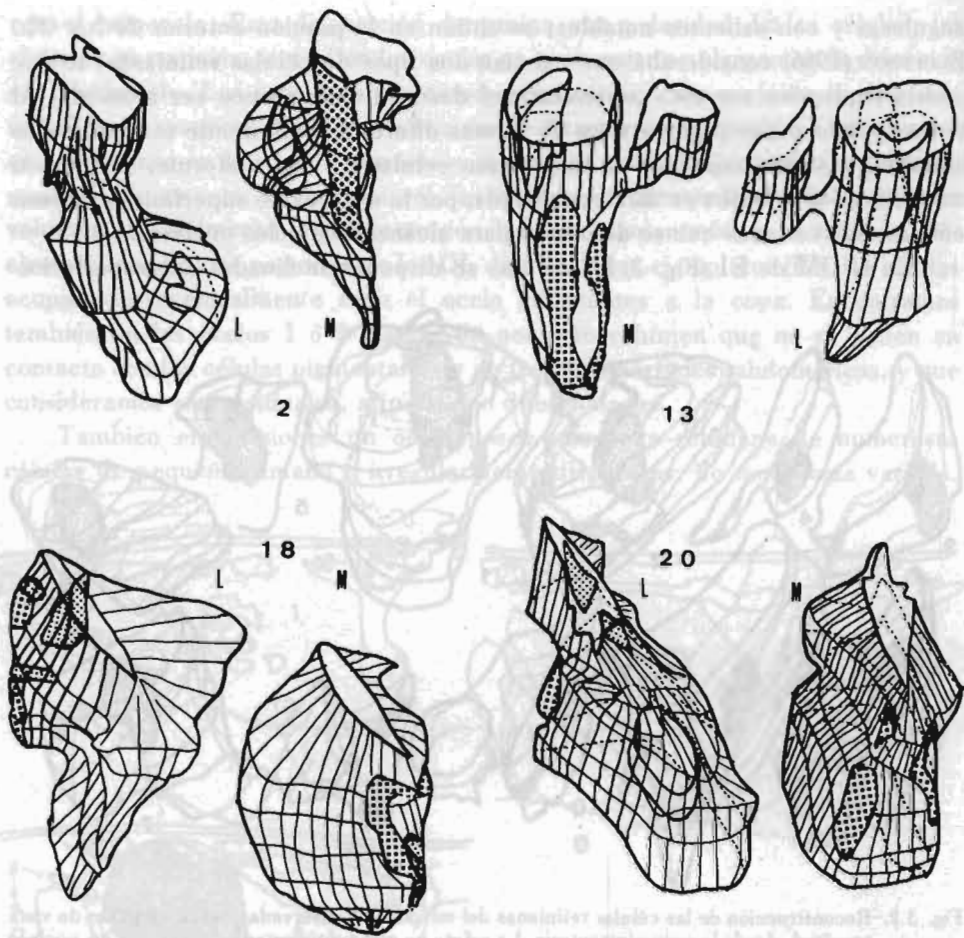


Fig. 4.—Reconstrucción de las células 2, 13, 18 y 20 de un OL, vistas desde un punto de vista lateral (L) o medial (M). Las superficies rabdómicas están en punteado, grueso si se ven directamente, y fino si se ven por transparencia.

Exceptuando algún caso ya mencionado, todas las células presentan superficies rabdómicas. Las denominamos así por no existir una estructura de rabdómeros diferenciados homogéneos y distinguibles unos de otros, por lo que recurrimos a llamarlas «superficies», y «rabdómicas» por ser portadoras de microvilli. En casi todas las células se puede observar que las superficies rabdómicas son reducidas y además discontinuas. El modelo más regular es el de la célula 12, en la que dicha superficie se cierra ventralmente, faltando dorsalmente una franja. La superficie forma así un anillo alrededor de la célula. Se puede decir que en la mayoría de las células se tiende a una estructura rabdómica continua constituyendo anillos en las superficies próximas a la copa pigmentaria. En las



células periféricas las superficies rabdoméricas suelen estar sólo del lado hacia el centro del ocelo.

## DISCUSION

La presencia de 2 células pigmentarias en el ojo naupliar fue reconocida en *Artemia* y en otros Anostráceos por todos los autores que los estudiaron, exceptuando a VAISSIÈRE (1956). MOROFF (1912) es el que más precisamente se refiere a su forma, y la muestra diferente en diversas secciones.

Los únicos grupos de Crustáceos en los que se habla de la existencia de 1 ó 2, sin poderlo especificar, células pigmentarias en el ojo naupliar, son Anaspidáceos y Eufausiáceos (ELOFSSON, 1965). Otros grupos (ELOFSSON, 1963 y 1966; VAISSIÈRE, 1961) tienen un número reducido de células pigmentarias de gran tamaño (Copépodos, Branquiuros, Ostrácodos y muchos Decápodos), o bien un tejido pigmentario formado por número no definido de células (Notostráceos y Concostráceos, ocelos laterales del Copépodo *Sapphirina*), o tejido conjuntivo con gránulos de pigmento (Estomatópodos y el Decápodo *Pandalus*). De los Cladóceros, con ojo naupliar en general muy reducido, no conocemos la estructura de las células pigmentarias. Otros grupos carecen de ojo naupliar: Cefalocáridos, Misticocáridos, Filocáridos y Misidáceos. MARTIN (1976a y 1976b) encuentra en Isópodos ocelos muy reducidos carentes de células pigmentarias. En cuanto a Cirrípedos no hay muchos datos; en Balánidos adultos GWILLIAM (1963) y FAHRENBACH (1965) encuentran 3 ocelos separados, el medio con 7 células fotorreceptoras y carentes de pigmentarias, y los laterales con 3 retinianas y con pigmentarias. Sin embargo KREBS y SCHATEN (1975) no mencionan las células pigmentarias en los ocelos laterales.

Todos los autores que han estudiado el ojo naupliar de Anostráceos coinciden en señalar como 3 el número de copas ocelares. Sin embargo la disposición no parece ser igual en todos ellos. De las descripciones y dibujos de CLAUS (1886), NOWIKOFF (1905) y MOROFF (1912), que no concuerdan exactamente, se desprende que en el género *Branchipus* el ocelo medio tiene posición ventral o posterior en el ojo naupliar. El segundo autor llega a decir que este ocelo está formado por 2 masas visuales diferentes y considera este ojo como de transición entre el de los otros Branquiópodos, de 2 ocelos medianos, y los demás Anostráceos, con sólo 1. Esta observación parece ser errónea, quizá por confundir una parte de un ocelo lateral como una de las 2 masas del OM.

ELOFSSON (1966) estudia el ojo naupliar de otro Anostráceo, *Branchinecta paludosa*, y describe y dibuja el OM en posición francamente posterior, y supone la misma posición para el de *Artemia*.

La posición del OM de *Artemia* según lo observado por nosotros es anterior y ligeramente ventral, lo que coincide con las observaciones de NOWIKOFF (1906).

HANSTRÖM creemos se equivoca, ya que para él el ojo de *Branchipus* es semejante al de *Artemia*, Branquiuros, Cirrípedos, la mayoría de los Copépodos, Ostrácodos y las larvas de Malacostráceos, con una copa impar anterior y 2 pares posteriores, cada una con un nervio independiente, sin hacer otras matizaciones. VAISSIÈRE (1956 y 1961) habla de ocelo medio, y DAHL (1959), BENESCH (1969) y RASMUSSEN (1971) de ocelo ventral. Sin embargo del esquema de DAHL, de una sección frontal en la que aparecen el tegumento, el ojo y los ciegos gástricos, se deduce que la posición es anterior.

El número de células de cada ocelo de *Artemia* coincide aproximadamente con el dado por RASMUSSEN de alrededor de 20 en OL y 9-19 en el OM, variable como se ve. Sólo a través de un dibujo de NOWIKOFF (1905) era posible contar 17 células en un OL de *Artemia*. Considera ELOFSSON que los OL de *Branchinecta* tienen de 25 a 75 células y que cada especie puede tener un margen diferente a las demás. Respecto a la disposición de las células retinianas sólo ELOFSSON expresa, para la especie anterior, la existencia de 2 grupos diferentes en los OL, unas grandes concentradas en la parte dorsal y de forma parecida a una pera, y otras estrechas y más pequeñas concentradas en la porción ventral y exterior, sobresaliendo sobre la copa y llegando lateralmente hasta la epidermis, disposición que nosotros no encontramos en *Artemia*. Nosotros encontramos en ella de forma aleatoria grupos de células más pequeñas y entremezcladas. Las diferencias en volúmenes y extensión celulares son las que confieren a cada ocelo un carácter peculiar.

Respecto al número de ocelos, los ojos naupliales de Anostráceos difieren de los de otros Branquiópodos y se parecen a los del resto de Crustáceos. Es importante señalar que en el ojo de Anostráceos, como en otros Crustáceos (como Notostráceos, Ostrácodos, Concostráceos y Branquiuros), el número de células retinianas es variable, mientras que en otros grupos es fijo. Así ocurre en Cladóceros, aunque varía en las diferentes especies; en los ojos de Cirrípedos conocidos es fijo, al igual que en Malacostráceos, en los que siempre es de 3 en cada copa; en Copépodos el número inicial debió de ser (ELOFSSON, 1966) 10 en el OM y 9 en los OL, aunque está reducido en diferentes especies.

También en algunos grupos los ojos naupliales ven incrementados sus elementos constituyentes con células del tapete, adyacentes a la copa pigmentaria, y con lentes o cristalinos, o bien con células conjuntivas (FAHRENBACH, 1964) en la periferia. Esto ocurre en los Ordenes reunidos como Maxilipoda, y en los Ostrácodos, a cuyo conjunto considera ELOFSSON como unidad filogenética. Un autor como VAISSIÈRE que estudió extensamente los ojos naupliales de Copépodos denomina al tapete «couche lamellaire» (1961) y la describe también en *Artemia*. Se debe de considerar una observación errónea, ya que hemos comprobado que *Artemia* carece de capa reflectante.

La separación de los 3 ocelos del ojo naupliar que se encuentra a veces en

Ostrácodos, Copépodos y Cirrípedos no existe nunca en Anostráceos ni en el resto de Crustáceos.

#### BIBLIOGRAFIA

- ANADÓN, A. y E. ANADÓN (1980).—Nauplius eye and adjacent organs of adult *Artemia*. In: *The Brine shrimp Artemia. Vol. 1, Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology*. G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels y E. Jaspers (Eds.) Universa Press, Wetteren, Belgique.
- BENESCH, R. (1969).—Zur Ontogenie und Morphologie von *Artemia salina* L. *Zool. Jb. Anat. Bd.*, **86**: 307-458.
- CLAUS, C. (1873).—Zur Kenntnis des Baues und der Entwicklung von *Branchipus stagnalis* und *Apus cancriformis*. *Abh. Ges. Wiss. Göttingen*, **18**: 93-136.
- (1885).—Neue Beiträge zur Morphologie der Crustaceen. *Arch. zool. Inst. Univ. Wien*, **6**: 1-108.
- (1886).—Untersuchungen über die Organisation und Entwicklung von *Branchipus* und *Artemia* nebst vergleichenden Bemerkungen über andere Phyllopoden. *Ibid.*, **6**: 267-358.
- (1891).—Das Medianauge der Crustaceen. *Ibid.*, **9**: 225-266.
- DAHL, E. (1959).—The ontogeny and comparative anatomy of some protocerebral sense organs in Notostracan phyllopod. *Q. Jl. microsc. Sci.*, **100** (3): 445-462.
- ELOFSSON, R. (1963).—The nauplius eye and frontal organs in Decapoda (Crustacea). *Sarsia*, **12**: 1-68.
- (1965).—The nauplius eye and frontal organs in Malacostraca (Crustacea). *Sarsia*, **19**: 1-54.
- (1966).—The nauplius eye and frontal organs of the non-Malacostraca (Crustacea). *Sarsia*, **25**: 1-128.
- ELOFSSON, R. y P. LAKE (1971).—Cavity receptor organ (X-organ or organ of Bellonci) of *Artemia salina* (Crustacea: Anostraca). *Z. Zell. Mikr.*, **121**: 319-326.
- FAHRENBACH, W. H. (1964).—The fine structure of a nauplius eye. *Z. Zellforsch.*, **62**: 182-197.
- GWILLIAM, G. F. (1963).—The mechanism of the shadow reflex in Cirripedia. 1. Electrical activity in the supraesophageal ganglion and ocellar nerve. *Biol. Bull.*, **125** (3): 470-485.
- HANSTRÖM, B. (1924).—Beitrag zur Kenntnis des zentralen Nervensystems der Ostracoden und Copepoden. *Zool. Anz.*, **61**: 31-38.
- (1928).—*Vergleichende Anatomie des Nervensystems der Wirbellosen Tiere unter Berücksichtigung seiner Funktion*. Springer, Berlin.
- HESSE, R. (1901).—Untersuchungen über die Organe der Lichtempfindung bei niederen Tieren. 7. Von den Arthropoden-Augen. *Z. wiss. Zool.*, **70**: 347-473.
- HIROKI, M. y Y. KOSHIDA (1976).—Nauplian eye and its role in the phototactic behavior of *Artemia salina*. *Zoological Magazine*, **85** (1): 78-83.
- HOOTMAN, A. R. y F. P. CONTE (1975).—Functional morphology of the neck organ in *Artemia salina* nauplii. *J. Morphol.*, **145** (3): 371-386.
- IVLEVA, I. V. (1973).—*Mass cultivation of Invertebrates. Biology and Methods*. Keter Press, Jerusalem.
- KAESTNER, A. (1970).—*Invertebrate Zoology. Vol. 3*. Interscience Publishers. J. Wiley and Sons, Inc.
- LEYDIG, F. (1851).—Ueber *Artemia salina* und *Branchipus stagnalis*. Beitrag zur anatomischen Kenntniss dieser Thiere. *Z. wiss. Zool.*, **3**: 280-307.
- MARTIN, G. (1976a).—Mise en évidence et étude ultrastructurale des ocelles médians chez les Crustacés Isopodes. *Ann. Sc. Nat.*, **12<sup>e</sup> série**, **18**: 405-436.
- (1976b).—Nouvelles données ultrastructurales sur les yeux et les ocelles médians de deux espèces d'Epicarides (Crustacés Isopodes). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **101** (3): 457-464.
- MOROFF, T. (1912).—Entwicklung und phylogenetische Bedeutung des Medianauges bei Crustaceen. *Zool. Anz.*, **40**: 11-25.
- NOWIKOFF, M. (1905).—Über die Augen und die Frontalorgane der Branchiopoden. *Z. wiss. Zool.*, **79**: 432-464.
- (1906).—Einige Bemerkungen über das Medianauge und die Frontalorgane von *Artemia salina*. *Ibid.*, **81**: 691-698.
- PAULUS, H. F. (1979).—Eye Structure and the Monophyly of the Arthropoda. In: *Arthropod Phylogeny*. A. P. Gupta Ed. Van Nostrand Reinhold Company, N. York, pp. 299-383.
- RASMUSSEN, S. (1971).—Die Feinstruktur des Mittelauges und des ventralen Frontalorgans von *Artemia salina* L. (Crustacea: Anostraca). *Z. Zellforsch.*, **117**: 576-596.
- REYNOLDS, E. S. (1963).—The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **17**: 208-212.
- ROMEIS, B. (1936).—*Guía formulario de técnica histológica*. Ed. Labor, Barcelona.
- SANTANDER, R. G. (1968).—*Técnicas de microscopía electrónica en Biología*. Aguilar, Madrid.

- SPENCER, K. W. (1902).—Zur Morphologie des Centralnervensystems der Phyllopoden, nebst Bemerkungen über deren Frontalorgane. *Z. wiss. Zool.*, **71**: 508-524.
- VAISSIÈRE, R. (1956).—Evolution de l'œil médian d'*Artemia salina* Leach (Crustacé Branchiopode phyllopode) au cours de ses stades post-embryonnaires. *C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci. Paris*, **242**: 2.051-2.054.
- (1961).—Morphologie et histologie comparées des yeux des Crustacés Copépodes. *Archs. Zool. exp. gén.*, **100** (1): 1-126.
- ZAHID, Z. R. y M. T. AL-HAIDARY (1977).—A light microscopical study on the eyes of *Artemia salina* L. (Crustacea: Anostraca). *Bull. Biol. Res. Cent. Publ. (Baghdad)*, **9**: 51-62.
- ZOGRAF, N. V. (1904).—Das umpaare Auge, die Frontalorgane und das Nackeorgan einiger Branchiopoden. *Friedländer and So. Berlin*, 44 pp.

## INERVACION DEL OJO NAUPLIAL DE *Artemia* sp. (CRUSTACEA: ANOSTRACA) ADULTA

Por  
ARACELI ANADON  
Departamento de Zoología y Ecología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

El ojo naupliar de *Artemia* está inervado por 3 nervios correspondientes a los 3 ocelos. Los nervios están constituidos exclusivamente por los axones de las células retinianas que se reúnen dorsoventralmente a lo largo de un eje sobre la superficie externa de cada ocelo. Ya constituidos, los nervios se dirigen hacia un neuropilo situado en una zona anterior al ojo naupliar, ligeramente ventral a éste.

### SUMMARY

The nauplius eye of *Artemia* is innervated by 3 nerves, one for each ocellus. The nerves are composed exclusively by the axons of the retinula cells which gather dorsoventrally along an axis over the exterior surface of each ocellus. The 3 nerves run towards a neuropile situated in front and ventral to the nauplius eye.

### INTRODUCCION

Existe una discordancia bibliográfica apreciable relativa al ojo naupliar de diversas especies de Anostráceos. Respecto a la inervación de las copas ocelares existe una especial confusión. En particular BENESCH (1969) y VAISSIÈRE (1961) mencionan la inervación en los primeros estadios larvarios de *Artemia*, pero del adulto existen menciones contradictorias. Pretendemos en esta comunicación esclarecer la inervación del ojo naupliar de *Artemia* adulta, ya que la reconstrucción espacial del mismo nos ha permitido determinar claramente el origen de sus nervios.

### MATERIAL Y METODOS

Se realizaron cortes seriados ultrafinos del ojo naupliar de *Artemia*. Con ellos se reconstruyó, con la ayuda de mapas de fotografías, la trayectoria y el origen de los nervios. Los métodos de inclusión están descritos en ANADÓN (1980).



## RESULTADOS

El ojo naupliar de *Artemia* tiene 3 nervios ópticos. Dichos nervios están constituidos exclusivamente por las prolongaciones axónicas correspondientes a las células retinianas, fibras eferentes del ojo por tanto, sin que hasta la fecha se hayan descrito fibras aferentes a los ocelos del ojo naupliar. No existen elementos nerviosos auxiliares.

### *Prolongaciones axónicas*

La observación del cono axónico de todas las células retinianas es extremadamente difícil. A pesar de que el lugar de partida del nervio puede identificarse bien, no siempre es posible determinar con seguridad el origen del axon de cada célula, pues se confunde con otras protuberancias celulares. En los ocelos laterales se puede observar una línea dorsoventral, periférica, en la zona anterior, a lo largo de la cual se van reuniendo los axones de todas las células retinianas (Fig. 1). Las secciones de estos axones tienen la misma apariencia que el citoplasma

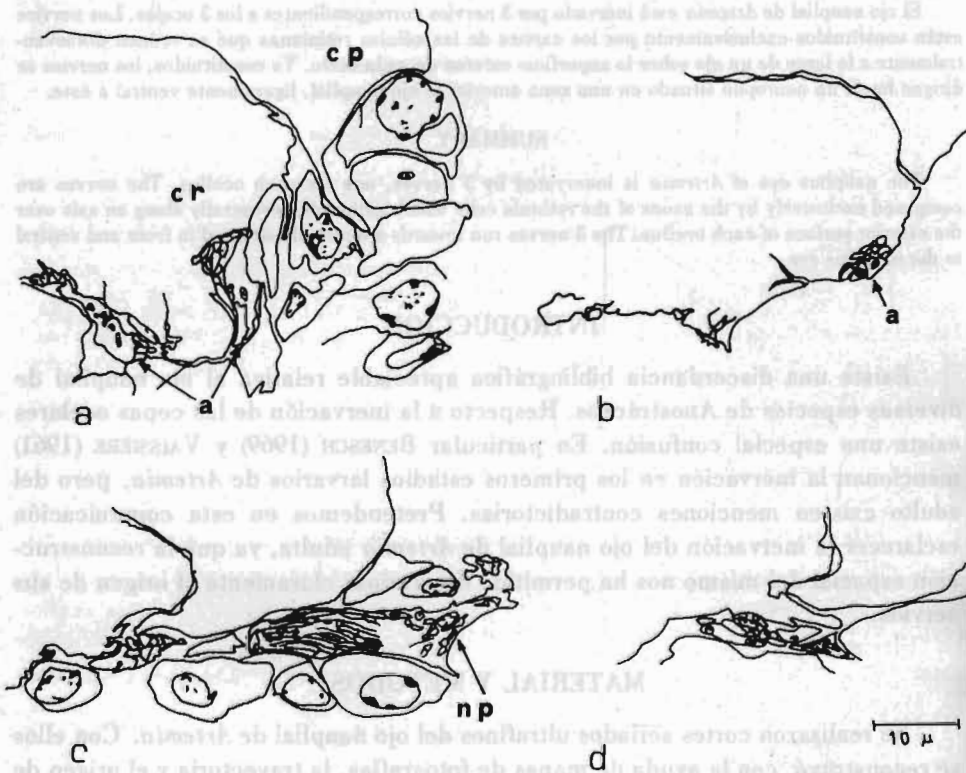


Fig. 1.1



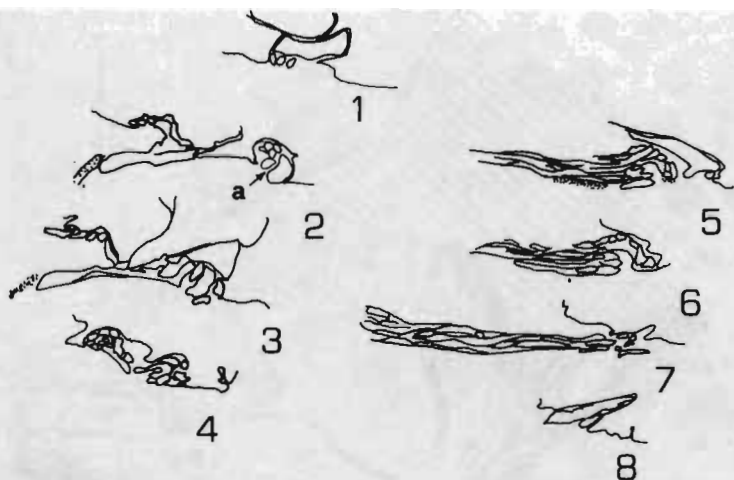


Fig. 1.1 y 1.2.—Secciones sucesivas a-d y 1-8 de los ocelos laterales de un ojo naupliar en la zona de reunión de los axones y de formación de los nervios ópticos. a, axones; cp, célula pigmentaria; np, neuropilo próximo al origen de un nervio, antes de alcanzar el neuropilo correspondiente a todo el ojo.

contiguo de las células subyacentes, siendo muchas veces difíciles de distinguir, por parecer zonas citoplásmicas envueltas en RE. En el ocelo medio la línea de reunión también es dorsoventral, y puede tener distintas posiciones respecto al plano sagital.

Los axones de cada ocelo pueden constituir el correspondiente nervio óptico reuniéndose todos a un mismo nivel para dirigirse al centro óptico, o por el contrario pueden formar 2 grupos separados iniciales que finalmente se unen (Fig. 2). Los dos tipos están a veces presentes en dos ocelos laterales gemelos, lo que corrobora la asimetría general del ojo naupliar.

Los axones se originan en la superficie periférica de las células retinianas excéntricamente, hacia el lado más próximo a la línea de reunión de los mismos, y situados en posición media, ventral o dorsal, según sea la posición de la célula correspondiente.

En el ocelo medio de algún ejemplar los axones, en lugar de discurrir contiguos unos a otros y a las células subyacentes, lo hacen separados y aislados, aunque a lo largo de un eje exterior al ocelo, también dorsoventral. Existe por tanto una diversidad también en esto en los ocelos, incluso los de un mismo ojo.

### Los nervios ópticos

Una vez reunidos, los axones sufren una modificación en su ultraestructura y constituyen el nervio óptico perfectamente diferenciado. Cada ocelo tiene un nervio independiente. Si bien los ejes de reunión son dorsoventrales, los nervios ópticos tienen un curso perpendicular a ellos, dirigiéndose a regiones anteriores al

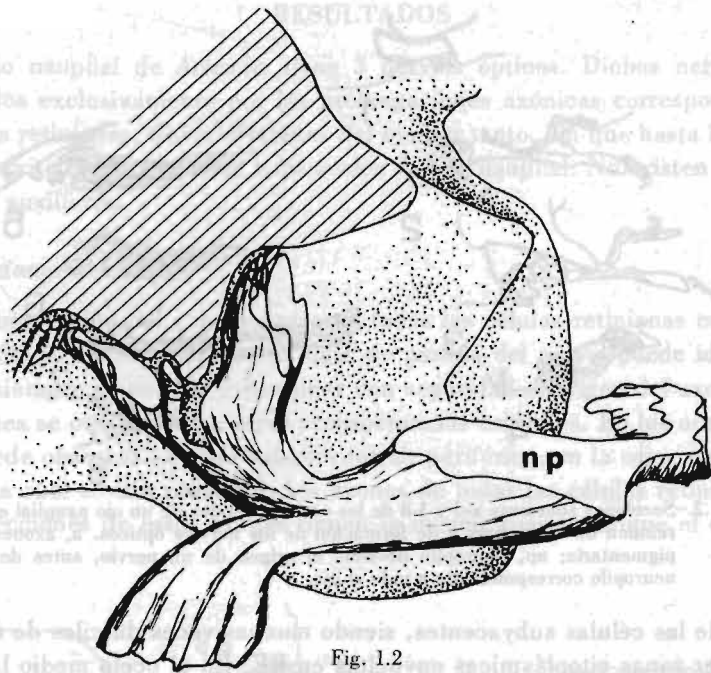


Fig. 1.2

Fig. 2.—Reconstrucción espacial del origen de un nervio en la que se aprecia la reunión de los grupos de axones dorsales y ventrales. Corresponde a la Fig. 1.1. La superficie rayada es correspondiente a una sección del conjunto de las células retinianas. La célula pigmentaria aparece con un sombreado. np, neuropilo.

ojo naupliar. En los distintos ejemplares el curso de los nervios difiere. En la mayoría de ellos los de los ocelos laterales se reúnen sobre las células retinianas, próximos a los brazos anteriores de las células pigmentarias (Fig. 3). En el caso de que las raíces formen dos haces, unos axones pertenecen a células en situación dorsal, y otros a células en situación ventral, uniéndose ambos oblicuamente para formar el nervio único. Dicho nervio se puede dirigir hacia adelante por fuera del brazo de la célula pigmentaria correspondiente. Sin embargo en otros ejemplares el inicio del nervio discurre como si estuviera incluido de forma periférica en la célula pigmentaria. En el ocelo medio, dependiendo de la posición del neuropilo más anterior o más ventral, el nervio sigue un curso horizontal más o menos inclinado.

En algunos casos los nervios de los ocelos laterales penetran en un neuropilo ya a la altura de los brazos anteriores de las células pigmentarias. El curso de los 3 nervios en todo caso se dirige hacia una zona de neuropilo situada en posición anterior al ojo. Las relaciones de este neuropilo y el resto del cerebro no las hemos determinado.

La posición del ojo naupliar con respecto al cerebro es variable. En algún

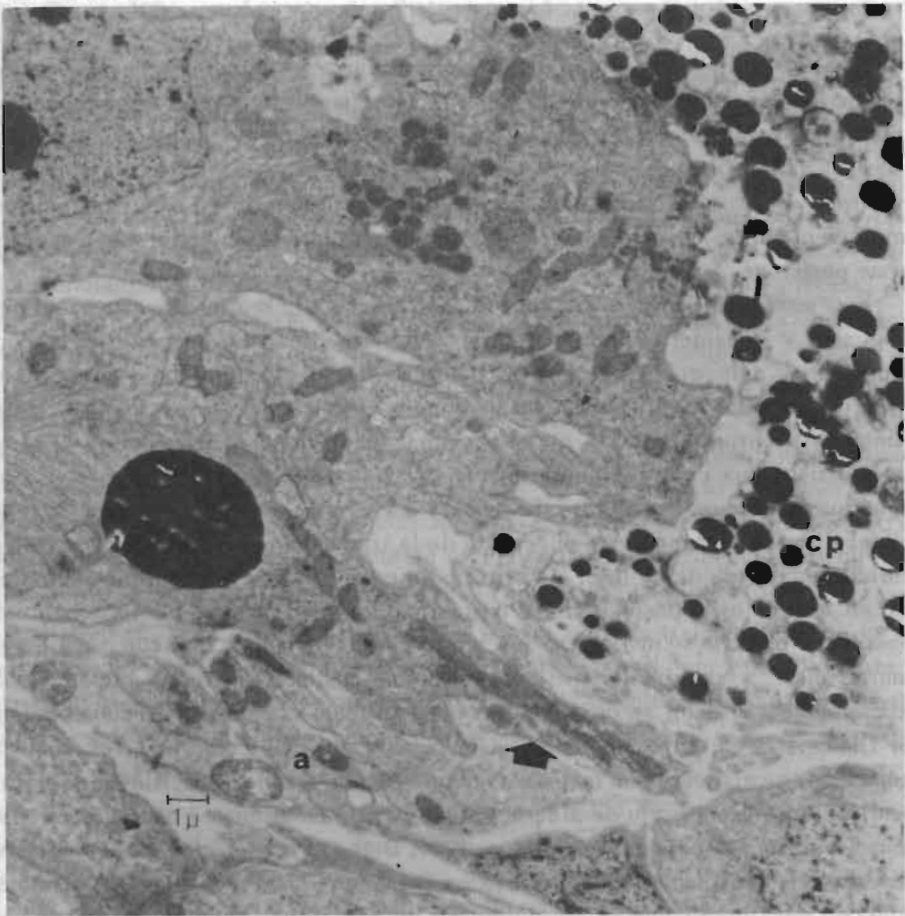


Fig. 3.-Fotografía correspondiente a una zona de reunión de axones. Se puede ver la zona de origen del axon (flecha) de la célula que tiene un gran gránulo denso a los electrones. a, axones; cp, célula pigmentaria.

ejemplar el neuropilo se encuentra dorsal y lateralmente inmerso directamente en el hemocele y a cierta distancia del ojo, pero en otros parece estar casi tocando con él. Está en posición ligeramente ventral respecto al ocelo medio, pero casi siempre alcanzando los niveles más ventrales del mismo. Es difícil determinar si efectivamente se trata de un neuropilo único. Es posible que los 3 nervios realicen inicialmente contactos específicos en 3 zonas de neuropilo que pueden estar más o menos separadas entre sí. Estarían reunidas quizá en la base, pero con cierta independencia. Frecuentemente el neuropilo se encuentra centrado respecto al ocelo medio, pero otras está claramente desplazado lateralmente, obligando al nervio del ocelo lateral opuesto a describir una amplia curva hacia él por delante del ojo.

## DISCUSION

NOWIKOFF (1905) es quien hace un estudio más detallado de las células retinianas de un Branquiópodo, el Concostráceo *Limnadia*, y en él describe perfectamente el lugar de origen de los axones en el extremo distal de la célula. VAISSIÈRE (1956) expone correctamente dónde «llegan» las fibras nerviosas en *Artemia*, y RASMUSSEN (1971) no hace mención del origen de los axones, y expresa simplemente que las células visuales tienen eje óptico alargado y colocado en varias posiciones.

ELOFSSON es quien más amplia referencia hace a la morfología gruesa en ojos naupliales y considera fundamental el comienzo del axon respecto a la copa pigmentaria, a lo que se refiere al calificar siempre a los ojos como eversos (directos) o como inversos. En los primeros el origen del axon de las células retinianas se produce por la parte proximal de la copa ocular, donde generalmente existe una capa pigmentaria que es atravesada por estos axones. En los segundos la reunión o el punto de partida de los axones se hace por el extremo celular distal, siendo opuesto el sentido de la transmisión del impulso nervioso al sentido de entrada de la luz. Este criterio no es aplicado a otros grupos animales. Así, en Arácnidos la posición distal o proximal del rabdoma es la determinante de considerar directo o inverso a un ojo, ya que en ellos el axon puede originarse distal y proximalmente y además en posición media ELOFSSON (1965, de Copépodos el axon se originaba en posición algo intermedia (hecho constado por DUDLEY, 1968), aunque siguió considerando a los ojos como inversos. FAHREN-BACH (1964) no coincide con las observaciones de ELOFSSON y describe además una dendrita aferente al ocelo de *Macrocyclops*, lo que en sí mismo es una contradicción. En ciertos Copépodos (VAISSIÈRE, 1961, DUDLEY, 1968) los axones se internan entre las células del tapete e incluso en las pigmentarias en lugar de tener un recorrido periférico como es normal en los ojos inversos. También en Copépodos ELOFSSON (1966) y VAISSIÈRE (1961) encuentran que la posición y el camino recorrido por los axones eran fijos. Esto contrasta con la aleatoriedad de la disposición, y por tanto del origen de los axones de las células retinianas de *Artemia*, que además tienen número variable. No obstante ELOFSSON ya había descrito en el Anostráceo *Branchinecta* células retinianas cuyos axones se van reuniendo en un área amplia.

La orientación celular descrita en los resultados concuerda tanto en el criterio del origen del axon como en la posición del rabdoma (que son opuestos) en ser ocelos inversos.

La inervación del ojo naupliar fue descrita por unos autores y omitida por otros. CLAUS (1886) y HANSTROM (1931) observan en *Branchipus* la formación de 3 nervios independientes, mientras que NOWIKOFF (1905) sólo cita 2 nervios que están unidos a los nervios del órgano frontal dorsal («órgano receptor en cavidad»). Se trata por tanto de observaciones diferentes.

CLAUS (1886) no describe detalladamente el ojo naupliar de *Artemia*. En los esquemas de NOWIKOFF (1906) se observa el nervio del ocelo impar entrando en un neuropilo ventral al ojo, pero no describe los nervios. Además, en un trabajo anterior (1905) señalaba en *Branchipus* la existencia de sólo 2 nervios para inervar el ojo naupliar, y que unos centrales que podían observarse inervaban al órgano frontal ventral, pero nunca al ocelo medio. MOROFF (1912) no trata de la inervación. VAISSIÈRE (1956) dice que el ojo adulto está unido a un ganglio impar por 3 fascículos de fibras nerviosas, pero sin especificar más. En una sección sagital del metanauplius señala en la parte posterior del ojo 2 zonas no muy precisas a las que denomina fibras nerviosas, que están dirigidas hacia atrás. Esta observación puede no ser errónea ya que en las larvas el ojo naupliar ocupa la posición más anterior en el cuerpo, mientras que en los adultos no es así, y los nervios se dirigen hacia delante. ELOFSSON (1966) supone el ojo de *Artemia* semejante al de *Branchinecta*, pero con los 3 nervios más cortos por presentar menor espacio hemocélico. Sin embargo, ni la posición del ocelo medio es posterior, ni los nervios se dirigen hacia atrás. BENESCH (1969) estudia los estadios larvarios y no describe los nervios, pero representa a lo que considera 3 neuropilos distintos del ojo naupliar, que nosotros no hemos encontrado claramente constituidos.

RASMUSSEN (1971) observa en *Artemia* unas secciones transversales de un haz nervioso entre el ocelo medio y el órgano frontal ventral, pero no encuentra su origen ni describe los nervios del ojo. PAULUS (1979) citando a esta autora dice que el ojo es everso, condición que no se desprende de este trabajo, sino la contraria.

Hasta el presente trabajo no se describe correctamente ni se detalla el trayecto ni la formación de los nervios del ojo naupliar de *Artemia*. La presencia de 3 nervios independientes parece ser el medio de discernimiento de la distinta intensidad de luz captada por cada copa que así es comunicada al cerebro y hace posible la orientación fototáctica del animal. Esto contrasta con lo descrito en algunos Copépodos, en los que todos los axones de cada ocelo no se reúnen en un nervio único: a los del ocelo ventral se unen algunos de los ocelos dorsales y el resto de los axones de cada ocelo dorsal constituye un sólo nervio (ELOFSSON, 1966) o bien se distribuyen en 2 grupos, existiendo en ese caso en conjunto 5 ramas nerviosas (DUDLEY, 1968). La función del ojo naupliar en el adulto, en el que hay un par de ojos compuestos de estructura compleja, y que permiten mucha mayor precisión, es problemática. HIROKI y KOSHIDA (1976) demuestran que una respuesta fototáctica negativa de la larva, presente también en el adulto, desaparece en este último al quitarle los ojos compuestos. Por tanto el ojo naupliar del adulto ha perdido facultades que tenía el ojo naupliar de la larva. Es muy probable que el ojo naupliar del adulto sea una estructura degenerada. De hecho algunos ejemplares carecen de él.



## BIBLIOGRAFIA

- ANADÓN, A. (1980).—Anatomía del ojo naupliar de *Artemia* sp. (Crustacea: Anostraca) adulta. *Rev. Fac. Cienc. Univ. Oviedo (Ser. Biol.)*, **20-21**: 135-148.
- BENESCH, R. (1969).—Zur Ontogenie und Morphologie von *Artemia salina* L. *Zool. Jb. Anat. Bd.*, **86**: 307-458.
- CLAUS, C. (1886).—Untersuchungen über die Organisation und Entwicklung von *Branchipus* und *Artemia* nebst vergleichenden Bemerkungen über andere Phyllopoden. *Arb. zool. Inst. Univ. Wien*, **6**: 267-358.
- DUDLEY, P. L. (1968).—The fine structure and development of the nauplius eye of the Copepod *Doropygus seclusus* Illg. *La Cellule*, **68**: 7-42.
- ELOFSSON, R. (1965).—The nauplius eye and frontal organs in Malacostraca (Crustacea). *Sarsia*, **19**: 1-54.
- (1966).—The nauplius eye and frontal organs of the non-Malacostraca (Crustacea). *Sarsia*, **25**: 1-128.
- FAHRENBACH, W. H. (1964).—The fine structure of a nauplius eye. *Z. Zellforsch.*, **62**: 182-197.
- HANSTRÖM, B. (1931).—Neue Untersuchungen über Sinnesorgane und Nervensystem der Crustaceen, 1. *Z. Morph. Okol. Tiere*, **23**: 80-236.
- HIROKI, M. y Y. KOSHIDA (1976).—Nauplian eye and its role in the phototactic behavior of *Artemia salina*. *Zoological Magazine*, **85** (1): 78-83.
- MOROFF, T. (1912).—Entwicklung und phylogenetische Bedeutung des Medianauges bei Crustaceen. *Zool. Anz.*, **40**: 11-25.
- NOWIKOFF, M. (1905).—Über die Augen und die Frontalorgane der Branchiopoden. *Z. wiss. Zool.*, **79**: 432-464.
- (1906).—Einige Bemerkungen über das Medianauge und die Frontalorgane von *Artemia salina*. *Ibid.*, **81**: 691-698.
- PAULUS, H. F. (1979).—Eye structure and the Monophyly of the Arthropoda. In: *Arthropod Phylogeny*, pp. 299-383. A. P. Gupta Ed., Van Nostrand Reinhold Company, N. York.
- RASMUSSEN, S. (1971).—Die Feinstruktur des Mittelauges und des ventralen Frontalorgans von *Artemia salina* L. (Crustacea: Anostraca). *Z. Zellforsch.*, **117**: 576-596.
- VAISSIÈRE, R. (1956).—Evolution de l'œil médian d'*Artemia salina* Leach (Crustacé branchiopode phyllopode) au cours de ses stades post-embryonnaires. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris*, **242**: 2.051-2.054.
- (1961).—Morphologie et histologie comparées des yeux des Crustacés Copépods. *Archs. Zool. exp. gén.*, **100** (1): 1-126.



## EL GENERO *Clausocalanus* Giesbrecht, 1888 (COPEPODA, CALANOIDA) EN EL PLANCTON COSTERO DEL CANTABRICO ASTURIANO

Por  
FLORENTINA ALVAREZ-MARQUES  
Departamento de Zoología y Ecología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

De las trece especies de *Clausocalanus* conocidas actualmente, seis han sido encontradas en el plancton costero del Cantábrico asturiano durante los años 1974-75. Estas especies son *C. mastigophorus*, *C. lividus*, *C. arcuicornis*, *C. jobei*, *C. pergens* y *C. furcatus*. Todas ellas, a excepción de *C. furcatus* habían sido citadas en áreas oceánicas del Golfo de Vizcaya.

La especie más importante es *C. lividus* (representa el 71,22 % del total de ejemplares del género *Clausocalanus*), seguida de *C. arcuicornis* (22,60 % del total de ejemplares). Las otras cuatro especies forman tan sólo el 6 % restante.

Se analizan las variaciones estacionales de las especies en este área costera y se comparan con las encontradas en otras áreas.

### SUMMARY

Six species of the genus *Clausocalanus* have been found in the plankton samples from the coastal waters of Asturias (Northern Spain) during 1974-75. These species are: *C. mastigophorus*, *C. lividus*, *C. arcuicornis*, *C. jobei*, *C. pergens* and *C. furcatus*.

All the species but one, *C. furcatus*, were recorded previously in open waters from the Bay of Biscay.

*C. lividus* was the most numerous of the genus *Clausocalanus* (71,22 % of the total numbers found) and *C. arcuicornis* was the second species in quantitative importance (22,60 % of the total numbers), while the remaining species were the 6,18 % of the total numbers of the genus in these samples.

The seasonal cycles have been analysed and compared with those of other different areas.

### INTRODUCCION

El género *Clausocalanus* Giesbrecht, 1888 ha sido objeto de una completa revisión por parte de FROST y FLEMINGER (1968), ya que hasta ese momento existía una gran confusión con respecto a las especies que comprendía y sus sinonimias.

Estos autores reorganizan el género utilizando caracteres morfológicos y merísticos (usados tradicionalmente en la taxonomía de Copépodos) y caracteres sexuales primarios y secundarios, obteniendo como resultado la creación de cinco nuevas especies y una nueva ordenación de las sinonimias. En la actualidad existen trece especies descritas del género *Clausocalanus* para las que FROST y FLEMINGER (*op. cit.*) establecen su distribución geográfica global.

La bibliografía existente sobre las especies de este género y su biología es todavía escasa. En el Mediterráneo existen algunos trabajos, en el Mar de Liguria (CARLI y CRISAFI, 1969), Golfo de Nápoles y sur del Adriático (HURE y SCOTTO DI CARLO, 1970) y en el Adriático central (REGNER, 1975). En el Atlántico Norte por encima del paralelo 40, WILLIAMS y WALLACE (1975) estudian la distribución de las especies de *Clausocalanus* y sus variaciones estacionales a lo largo de un año, en zonas fundamentalmente oceánicas.

Para áreas costeras del Atlántico europeo no conocemos ningún estudio sobre este género, por ello, hemos juzgado interesante el contribuir al conocimiento de las especies de *Clausocalanus* y su variación estacional en una zona muy costera, donde en ocasiones, el conjunto de las especies de *Clausocalanus* forman una fracción muy importante del total de los copépodos planctónicos costeros.

## MATERIAL Y METODOS

La zona de muestreo está situada sobre la plataforma costera asturiana, frente a Gijón, entre los 43°35' N y los 5°36' W, con una profundidad media de 55 m aproximadamente.

Los muestreos han sido realizados durante los años 1974-75, mediante arrastres oblicuos de 10 a 0 m, con mangas de tipo Juday-Bogorov de 250 y 475 micras de luz de malla y 50 cm de diámetro de boca (Tabla I).

Los ejemplares para la identificación y recuento de especies han sido tomados de alícuotas, o del total de las muestras si las especies del género estaban escasamente representadas en las mismas.

La abundancia de cada una de las especies se expresa en n.º de individuos por metro cúbico, normalizados utilizando el  $\lg(\text{inds}/\text{m}^3 + 1)$ .

La identificación de las especies de *Clausocalanus* se ha realizado siguiendo las claves de FROST y FLEMINGER (1968).

Los ejemplares eran observados al microscopio inmersos en glicerina y agua destilada al 50 %, y a continuación se procedía a su medida con un ocular micrométrico. Los tamaños de los ejemplares (longitud máxima y mínima) vienen expresados en la Tabla II.

Para clarificar los detalles del sistema reproductor, los ejemplares han sido tratados en algunos casos con ácido láctico de 4 a 6 horas. Los ejemplares disecados han sido dibujados en cámara clara.

Mallas	1974				1975			
	Mes	Día	250µ	475µ	Día	250µ	475µ	
Enero	4	+	+	13	+	+		
	21	+	+					
Febrero	22	+	+	22	+	+		
Marzo	23	+	+					
Abril	2	+	+					
Mayo	30	+	+	13	+	+		
				24	-	-		
Junio	11	-	-	25	+	+		
Julio	4	-	+	11	+	+		
Agosto	22		+	14		+		
Setiembre				23	+	+		
Octubre				22	+	+		
Noviembre								
Diciembre				24	+	+		

**TABLA I**  
 Presencia del género *Clausocalanus* en las diferentes fechas de muestreo durante los años 1974-75 y en los dos tipos de mallas utilizadas. (+, presencia; -, ausencia; los huecos en blanco indican la ausencia de muestreo).

**TABLA II**

Intervalos de tamaño encontrados para los adultos de *Clausocalanus* en el Cantábrico, A. Comparación con los datos por FROST y FLEMINGER (1968) para distintas áreas geográficas, B, y WILLIAMS y WALLACE (1975) para el Atlántico Norte, C. (Los tamaños vienen expresados en mm)

	A		B		C	
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
<i>C. mastigophorus</i>	1,28-1,55	-	1,23-1,84	1,05-1,45	1,23-1,84	1,05-1,45
<i>C. lividus</i>	1,22-1,76	1,09-1,30	1,26-1,77	1,13-1,45	1,26-2,00	1,13-1,52
<i>C. arcuicornis</i>	1,08-1,54	0,90-1,02	1,15-1,62	0,97-1,17	1,10-1,66	0,97-1,28
<i>C. jobei</i>	1,17-1,53	-	1,01-1,56	0,87-1,07	1,01-1,56	0,87-1,18
<i>C. pergens</i>	0,81-0,98	0,55-0,58	0,70-1,10	0,52-0,67	0,70-1,18	0,52-0,72
<i>C. furcatus</i>	0,95-1,11	-	0,94-1,31	0,70-0,92	0,94-1,31	0,70-0,92

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se han identificado seis especies de *Clausocalanus* en las muestras recogidas: *Clausocalanus mastigophorus* (Claus, 1863), *Clausocalanus lividus* Frost y Fleming, 1968, *Clausocalanus arcuicornis* (Dana, 1849), *Clausocalanus jobei* Frost y Fleming, 1968, *Clausocalanus pergens* Farran, 1926 y *Clausocalanus furcatus* (Brady, 1883).

### **Clausocalanus mastigophorus** (Lámina I, 1 y 2)

Es una especie muy poco frecuente y escasa en las muestras. Es la menos abundante del género, representa al 0,52 % del total de *Clausocalanus*. Aparece solamente en los meses de invierno y primavera del año 74 (Fig. 1a). Sólo se han recogido hembras cuyas longitudes se dan en la Tabla II.

*C. mastigophorus* es señalada en todas las áreas donde ha sido encontrada como la especie más escasa del género.

En el Golfo de Vizcaya, WILLIAMS y WALLACE (1975) la encuentran restringida a la segunda mitad del año, con los máximos de abundancia (a 10 m de profundidad) en agosto-setiembre y noviembre, épocas que consideran como el período reproductivo principal. En la zona estudiada, aunque los datos son fragmentarios, se observa un aumento del número de individuos desde enero hasta la primavera, lo que podría significar según los citados autores, que el período reproductivo principal en esta zona costera coincidiera con los meses primaverales. HURE y SCOTTO DI CARLO (1970), en una estación costera del sur del Adriático encuentran el máximo anual para la especie en los meses de invierno-primavera, lo que coincide con nuestros datos. Parece por tanto, que en áreas costeras los máximos anuales para la especie están adelantados respecto a las áreas oceánicas.

### **Clausocalanus lividus** (Lámina I, 3, 4 y 5)

*C. lividus* es la especie más importante de todos los *Clausocalanus* en esta zona costera del Cantábrico. Aparece prácticamente en todas las fechas de muestreo y constituye el 71,22 % del total de ejemplares del género encontrados.

Los límites de tallas de los ejemplares se dan en la Tabla II.

Considerando los dos años de muestreo en conjunto, el ciclo de la especie en esta zona se puede resumir de la siguiente manera: la especie presenta dos máximos anuales de abundancia, uno en los meses primaverales (mayo) y un segundo máximo secundario en el otoño (setiembre) (Fig. 1b). No obstante, analizando los dos años por separado, se observan diferencias en los ciclos. El máximo primaveral coincide en los dos años, pero no así el segundo período reproductivo importante, ya que en el 74 (aún a falta de datos en los meses de setiembre a diciembre) parece estar adelantado a los meses estivales (julio).

WILLIAMS y WALLACE (1975), en el Golfo de Vizcaya durante el año 1965 encuentran dos máximos anuales para la especie, uno primaveral (mayo) y el segundo estival (agosto). En el Golfo de Nápoles y sur del Adriático, HURE y SCOTTO DI CARLO (1970) encuentran solamente un máximo anual para *C. lividus* en los meses de invierno y comienzos de primavera.

*C. lividus* parece tener su período reproductivo principal en estas latitudes muy claramente restringido a los meses primaverales, no obstante en el resto de

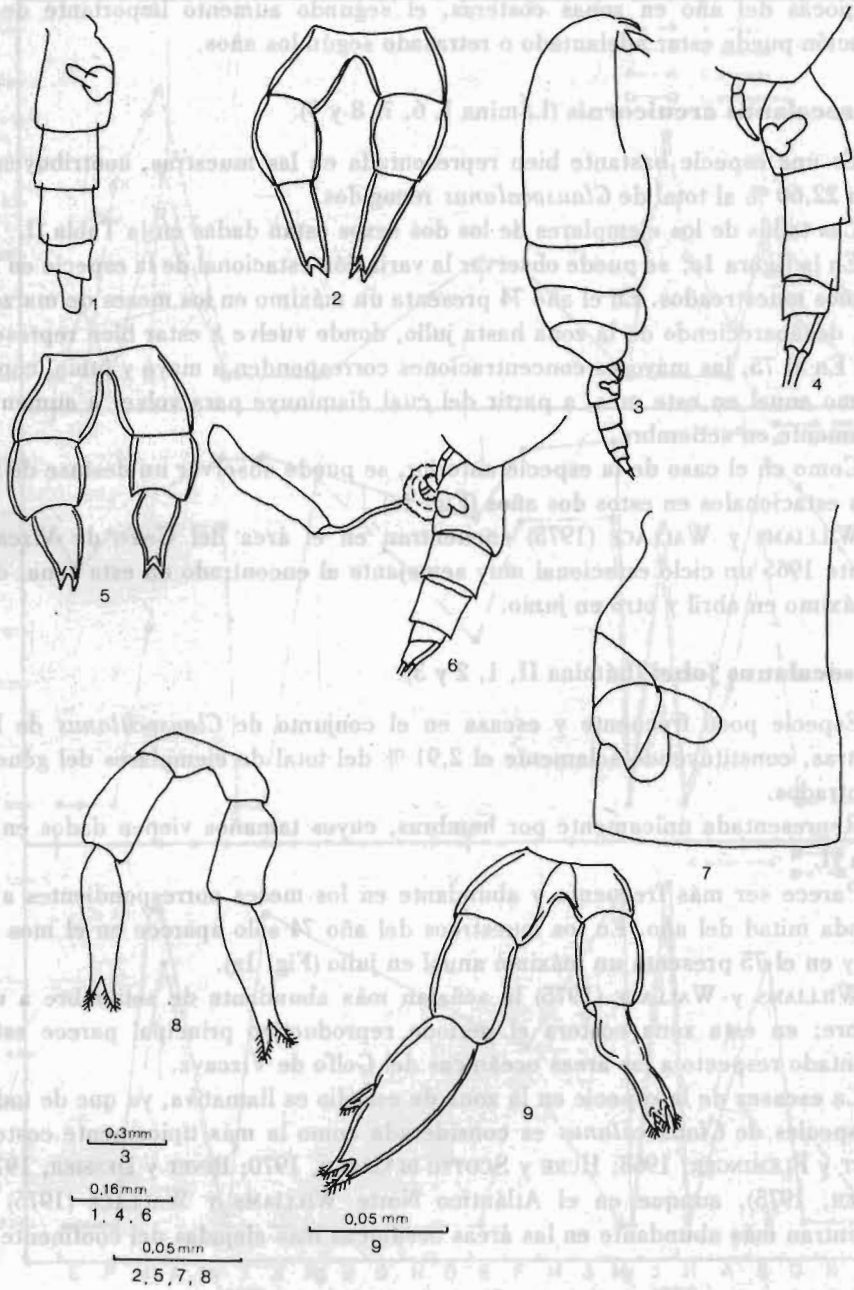


Lámina I.-*C. mastigophorus*, hembra: 1, U con espermateca, vista lateral; 2,  $P_5$ ; *C. lividus*, hembra: 3, vista lateral; 4, U con espermateca, lateral; 5,  $P_5$ ; *C. arcuicornis*, hembra: 6, U con espermateca y espermatóforo adherido; 7, UI; 8,  $P_5$ ; 9,  $P_5$  anómalo. (U: urosoma; UI: segmento genital;  $P_5$ : quinto par de patas torácicas).



las épocas del año en zonas costeras, el segundo aumento importante de la población puede estar adelantado o retrasado según los años.

### ***Clausocalanus arcuicornis*** (Lámina I, 6, 7, 8 y 9)

Es una especie bastante bien representada en las muestras, contribuyendo en un 22,60 % al total de *Clausocalanus* recogidos.

Las tallas de los ejemplares de los dos sexos están dadas en la Tabla II.

En la figura 1c, se puede observar la variación estacional de la especie en los dos años muestreados. En el año 74 presenta un máximo en los meses de marzo y abril, desapareciendo de la zona hasta julio, donde vuelve a estar bien representada. En el 75, las mayores concentraciones corresponden a mayo y junio, con el máximo anual en este mes, a partir del cual disminuye para volver a aumentar ligeramente en setiembre.

Como en el caso de la especie anterior, se puede observar un desfase de los ciclos estacionales en estos dos años (Fig. 1c).

WILLIAMS y WALLACE (1975) encuentran en el área del Golfo de Vizcaya durante 1965 un ciclo estacional muy semejante al encontrado en esta zona, con un máximo en abril y otro en junio.

### ***Clausocalanus jobei*** (Lámina II, 1, 2 y 3)

Especie poco frecuente y escasa en el conjunto de *Clausocalanus* de las muestras, constituyendo solamente el 2,91 % del total de ejemplares del género encontrados.

Representada únicamente por hembras, cuyos tamaños vienen dados en la Tabla II.

Parece ser más frecuente y abundante en los meses correspondientes a la segunda mitad del año. En los muestreos del año 74 sólo aparece en el mes de abril y en el 75 presenta un máximo anual en julio (Fig. 1a).

WILLIAMS y WALLACE (1975) la señalan más abundante de setiembre a noviembre; en esta zona costera el período reproductivo principal parece estar adelantado respecto a las áreas oceánicas del Golfo de Vizcaya.

La escasez de la especie en la zona de estudio es llamativa, ya que de todas las especies de *Clausocalanus* es considerada como la más típicamente costera (FROST y FLEMINGER, 1968; HURE y SCOTTO DI CARLO, 1970; BINET y DESSIER, 1971; REGNER, 1975), aunque en el Atlántico Norte WILLIAMS y WALLACE (1975) la encuentran más abundante en las áreas oceánicas más alejadas del continente.

### ***Clausocalanus pergens*** (Lámina II, 4, 5, 6 y 7)

Es la de menor tamaño de todas las especies del género encontradas en la zona de estudio. Los tamaños de los ejemplares vienen dados en la Tabla II.



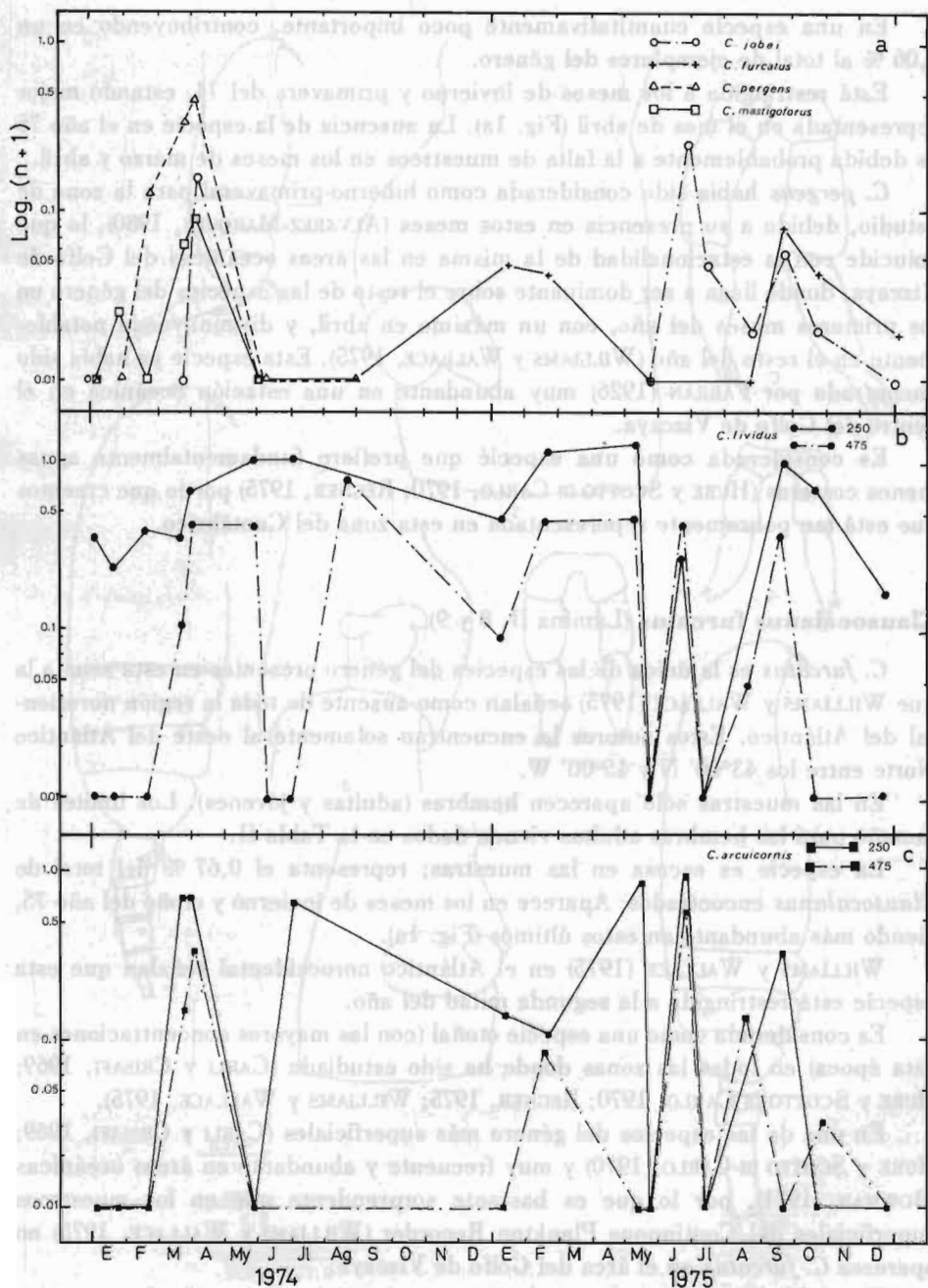


Fig. 1.—Variación del número de ejemplares de las especies de *Clausocalanus* durante 1974-75 en el Cantábrico: a, *C. mastigophorus*, *C. jobei*, *C. pergens* y *C. furcatus*; b, *C. lividus*; c, *C. arcuicornis*.

En una especie cuantitativamente poco importante, contribuyendo en un 2,06 % al total de ejemplares del género.

Está restringida a los meses de invierno y primavera del 74, estando mejor representada en el mes de abril (Fig. 1a). La ausencia de la especie en el año 75 es debida probablemente a la falta de muestreos en los meses de marzo y abril.

*C. pergens* había sido considerada como hiberno-primaveral para la zona de estudio, debido a su presencia en estos meses (ALVAREZ-MARQUÉS, 1980), lo que coincide con la estacionalidad de la misma en las áreas oceánicas del Golfo de Vizcaya, donde llega a ser dominante sobre el resto de las especies del género en los primeros meses del año, con un máximo en abril, y disminuyendo notablemente en el resto del año (WILLIAMS y WALLACE, 1975). Esta especie ya había sido encontrada por FARRAN (1926) muy abundante en una estación oceánica en el centro del Golfo de Vizcaya.

Es considerada como una especie que prefiere fundamentalmente aguas menos costeras (HURE y SCOTTO DI CARLO, 1970; REGNER, 1975) por lo que creemos que está tan pobremente representada en esta zona del Cantábrico.

### ***Clausocalanus furcatus* (Lámina II, 8 y 9)**

*C. furcatus* es la única de las especies del género presentes en esta zona a la que WILLIAMS y WALLACE (1975) señalan como ausente de toda la región nororiental del Atlántico. Estos autores la encuentran solamente al oeste del Atlántico Norte entre los 43°00' N y 45°00' W.

En las muestras sólo aparecen hembras (adultas y jóvenes). Los límites de tamaño para las hembras adultas vienen dados en la Tabla II.

La especie es escasa en las muestras; representa el 0,67 % del total de *Clausocalanus* encontrados. Aparece en los meses de invierno y otoño del año 75, siendo más abundante en estos últimos (Fig. 1a).

WILLIAMS y WALLACE (1975) en el Atlántico noroccidental señalan que esta especie está restringida a la segunda mitad del año.

Es considerada como una especie otoñal (con las mayores concentraciones en esta época) en todas las zonas donde ha sido estudiada (CARLI y CRISAFI, 1969; HURE y SCOTTO DI CARLO, 1970; REGNER, 1975; WILLIAMS y WALLACE, 1975).

En una de las especies del género más superficiales (CARLI y CRISAFI, 1969; HURE y SCOTTO DI CARLO, 1970) y muy frecuente y abundante en áreas oceánicas (BOWMAN, 1971), por lo que es bastante sorprendente que en los muestreos superficiales del Continuous Plankton Recorder (WILLIAMS y WALLACE, 1975) no aparezca *C. furcatus* en el área del Golfo de Vizcaya.

En el Mediterráneo, es una de las especies del género más frecuentes y abundantes, tanto en áreas costeras como oceánicas, llegando a ser dominante sobre el resto de las especies de *Clausocalanus* en algunas zonas.

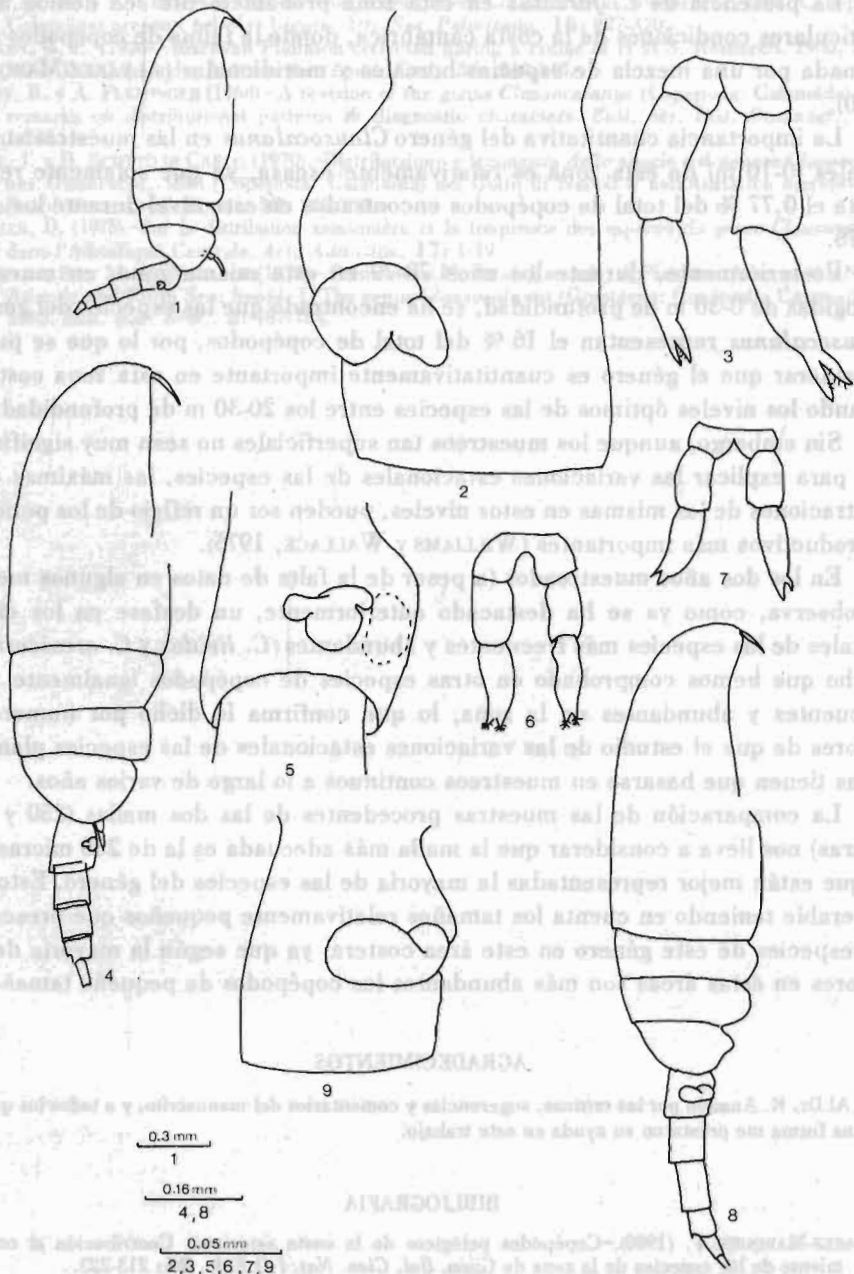


Lámina II.-*C. jobei*, hembra: 1, vista lateral; 2, UI y espermateca, lateral; 3, P<sub>5</sub>; *C. pergens*, hembra: 4, vista lateral; 5, UI y espermateca, lateral; 6 y 7, P<sub>5</sub>; *C. furcatus*, hembra: 8, vista lateral; 9, UI y espermateca, lateral. (U, UI y P<sub>5</sub> igual que en la Lámina I).

La presencia de *C. furcatus* en esta zona probablemente sea debida a las particulares condiciones de la costa cantábrica, donde la fauna de copépodos está formada por una mezcla de especies boreales y meridionales (ALVAREZ-MARQUÉS, 1980).

La importancia cuantitativa del género *Clausocalanus* en las muestras superficiales (0-10 m) de esta zona es relativamente escasa, ya que solamente representa el 0,77 % del total de copépodos encontrados en este nivel durante los años 74-75.

Posteriormente, durante los años 78-79 en esta misma zona, en muestras recogidas de 0-30 m de profundidad, se ha encontrado que las especies del género *Clausocalanus* representan el 16 % del total de copépodos, por lo que se puede considerar que el género es cuantitativamente importante en esta zona costera, estando los niveles óptimos de las especies entre los 20-30 m de profundidad.

Sin embargo, aunque los muestreos tan superficiales no sean muy significativos para explicar las variaciones estacionales de las especies, las máximas concentraciones de las mismas en estos niveles, pueden ser un reflejo de los períodos reproductivos más importantes (WILLIAMS y WALLACE, 1975).

En los dos años muestreados (a pesar de la falta de datos en algunos meses) se observa, como ya se ha destacado anteriormente, un desfase en los ciclos anuales de las especies más frecuentes y abundantes (*C. lividus* y *C. arcuicornis*), hecho que hemos comprobado en otras especies de copépodos igualmente muy frecuentes y abundantes en la zona, lo que confirma lo dicho por numerosos autores de que el estudio de las variaciones estacionales de las especies planctónicas tienen que basarse en muestreos continuos a lo largo de varios años.

La comparación de las muestras procedentes de las dos mallas (250 y 475 micras) nos lleva a considerar que la malla más adecuada es la de 250 micras, en la que están mejor representadas la mayoría de las especies del género. Esto era esperable teniendo en cuenta los tamaños relativamente pequeños que presentan las especies de este género en este área costera, ya que según la mayoría de los autores en estas áreas son más abundantes los copépodos de pequeño tamaño.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Dr. R. Anadón por las críticas, sugerencias y comentarios del manuscrito, y a todos los que de alguna forma me prestaron su ayuda en este trabajo.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALVAREZ-MARQUÉS, F. (1980).—Copépodos pelágicos de la costa asturiana: Contribución al conocimiento de las especies de la zona de Gijón. *Bol. Cien. Nat. I.D.E.A.*, **25**: 213-223.
- BINET, D. y A. DESSIER (1971).—Premières données sur les Copépodes pélagiques de la région cogolaise. I. Liste des espèces et notes écologiques. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Oceanogr.*, **9** (4): 411-457.
- BOWMAN, T. E. (1971).—The distribution of Calanoid Copepods off Southeastern United States between Cape Hatteras and Southern Florida. *Smith. Contrib. Zool.*, **96**: 1-58.

- CARLI, A. M. y P. CRISAFI (1969).—Le specie del genere *Clausocalanus* Giesbrecht, 1888 (Copepoda: Calanoida) presenti nel Mar Ligure. *Atti. Soc. Peloritana*, **15**: 227-320.
- FARRAN, G. P. (1926).—Biscayan Plankton collected during a cruise of H.M.S. Research. 1900. Part. XIV: The Copepoda. *J. Linn. Soc. Lond. Zool.*, **36**: 219-310.
- FROST, B. y A. FLEMING (1968).—A revision of the genus *Clausocalanus* (Copepoda: Calanoida) with remarks on distributional patterns in diagnostic characters. *Bull. Scr. Inst. Oceanogr.*, **12**: 1-235.
- HURE, J. y B. SCOTTO DI CARLO (1970).—Distribuzione e frequenza delle specie del genere *Clausocalanus* Giesbrecht, 1888 (Copepoda: Calanoida) nel Golfo di Napoli e nell'Adriatico meridionale. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, **38**: 289-304.
- REGNER, D. (1975).—Sur la distribution saisonnière et la fréquence des espèces du genre *Clausocalanus* dans l'Adriatique Centrale. *Acta Adriatica*, **17**: 1-19.
- WILLIAMS, R. y M. A. WALLACE (1975).—Continuous Plankton Records: A Plankton Atlas of the North Atlantic and North Sea: Suppl. 1. The genus *Clausocalanus* (Crustacea: Copepoda, Calanoida) in 1965. *Bull. mar. Ecol.*, **8**: 167-184.

Por  
JESÚS DELLEA

Departamento de Zoología y Botánica  
Universidad de La Laguna

### RESUMEN

Descripción de la morfología externa, estructura y función de una nueva especie de Eubranchius (Copepoda: Calanoida), seguida de una relación de las especies Atlánticas del género.

### SUMMARY

Description of the morphology, external anatomy and type exemplar of a new species of Eubranchius found in Tenerife, Canary Islands, followed by an account of the Atlantic species of the genus.

### INTRODUCCIÓN

Los Eubranchius son Acutidiscos de pequeña talla, 10-15 micras, con el par redondeado por delante, zóoforma libre, vestigios poco numerosos, rádula triacrista y mandíbula con el borde masticador curvo y unidentado, como bien representado en el Atlántico, donde viven el 40% de las especies copepodas, de las cuales el 25% son atlánticas y el 65% pueden ser encontradas en las costas de Europa.

Ninguna especie del género era conocida con anterioridad de las costas de África, consecuencia probable de lo poco estudiado que está aún la fauna de los Océanos Atlántico y Índico.

En una campaña realizada en Tenerife durante los meses de julio y agosto de 1960, bajo el patrocinio de la Junta de Canarias y dentro de un Plan General de Estudios del Benthos Circumcaribeo que realiza el Departamento de Zoología de la Universidad de La Laguna, capturamos cinco ejemplares de un pequeño Eubranchius, que ya en el momento de su captura suponíamos que era una especie nueva para la ciencia, por existir en nuestra colección de estudio la totalidad de las

## UNA NUEVA ESPECIE DE *Eubbranchus* (MOLLUSCA: OPISTHOBANCHIA) DE TENERIFE, ISLAS CANARIAS

Por

JESUS ORTEA

Departamento de Zoología y Ecología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Descripción de la morfología externa, anatomía y puesta, de una nueva especie de *Eubbranchus* recolectada en Tenerife, Islas Canarias, seguida de una relación de las especies Atlánticas del género.

### SUMMARY

Description of the morphology, internal anatomy and eggs capsule of a new specie of *Eubbranchus* found in Tenerife, Canary Island, followed by an account of the Atlantic species of the genera.

### INTRODUCCION

Los *Eubbranchus* son Aeolidaceos de pequeña talla, 10-15 mm, con el pie redondeado por delante, rinóforos lisos, ceratas poco numerosos, rádula triseriada y mandíbula con el borde masticador corto y denticulado. Están bien representados en el Atlántico, donde viven el 40 % de las especies conocidas, de las cuales el 25 % son anfiatlánticas y el 65 % pueden ser recolectadas en las costas de Europa.

Ninguna especie del género era conocida con anterioridad de las costas de Africa, consecuencia probable de lo poco estudiada que está aún la fauna de los Opisthobranquios en general.

En una campaña realizada en Tenerife durante los meses de julio y agosto de 1980, bajo el patrocinio de la Junta de Canarias y dentro de un Plan General de Estudio del Bentos Circuncanario que realiza el Departamento de Zoología de la Universidad de La Laguna, capturamos cinco ejemplares de un pequeño *Eubbranchus*, que ya en el momento de su captura supusimos que era una especie nueva para la ciencia, por existir en nuestra colección de estudio la totalidad de las



especies del género que viven en el Atlántico Este. Esta nueva especie la describimos aquí.

### **Eubbranchus arci** n. sp.

#### *Material*

Punta Hidalgo, Tenerife, Islas Canarias (28°35' N; 16°10' W), 16 de julio de 1980, dos ejemplares de 5 mm y 4,5 mm recolectados sobre Hidrarios Campanularidos fijados a un *Sargassum* dentro de un pequeño charco de marea; puesta presente. Misma localidad, 29 de julio de 1980, tres ejemplares de 4 mm, 2,5 mm y 1,5 mm encontrados bajo piedra con Hidrarios a medio metro de profundidad en bajamar.

Designado como Holotipo el ejemplar de mayor talla. Los animales fijados en alcohol, junto con las puestas depositadas sobre un trozo de *Sargassum*, se volvieron totalmente pardos. Los conservados en formol, sin algas, se hicieron totalmente blancos.

#### *Morfología externa* (Fig. 1)

El animal de mayor tamaño midió en extensión 5 mm, sus rinóforos 1,5 mm y el mayor de los cerata 1 mm.

Color del cuerpo blanquecino, con pequeñas manchas pardo-verdosas en el dorso, bastante espaciadas. En la zona media de los flancos, justo entre cada dos grupos de ceratas, hay dos manchas verde oscuro cuya disposición tiende a formar un arco, lo que a veces sucede al unirse por su extremo superior (Fig. 1, B). En la parte más baja de los flancos, justo debajo de las grandes manchas oscuras, hay abundantes manchitas, algo más claras que las del dorso y de tamaño similar, manchitas que abundan también en los bordes del pie. En el dorso, entre el área cardíaca y los rinóforos, hay una gran mancha, también de color verde oscuro, que en uno de los ejemplares estaba partida en dos; a ese mismo nivel, pero en los flancos, presentan igualmente una gran mancha oscura que puede llegar a superar la vertical de los ojos.

La cabeza tiene también manchitas pardo-verdosas, cuyo número y dimensiones varían en los distintos ejemplares. Los palpos presentan un anillo verdoso cerca del extremo y manchitas puntiformes de color blanco opaco; esas manchitas blancas, poco numerosas y espaciadas, se encuentran también en la cabeza, área cardíaca, zonas decoloradas de los rinóforos y parte alta de los ceratas.

Rinóforos lisos, pigmentados de pardo-verdoso muy oscuro a excepción de dos zonas decoloradas: el ápice, y un anillo a la altura del tercio superior; este anillo divide al rinóforo en dos zonas cromáticas de proporciones desiguales, duplicando la inferior en longitud a la superior. La pigmentación rinofórica se repitió en todos los animales recogidos.

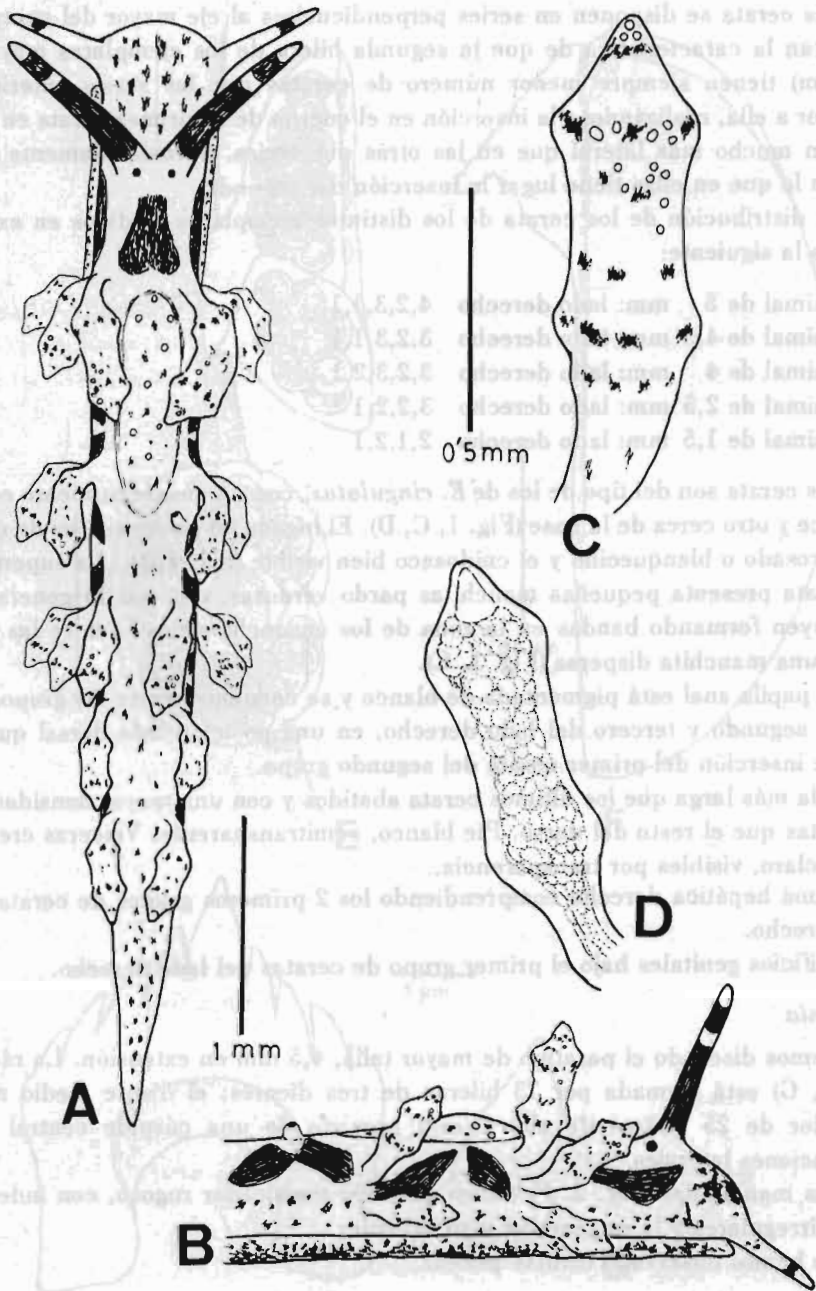


Fig. 1.-A = vista dorsal de un animal vivo. B = vista lateral anterior. C = aspecto externo de un cerata. D = aspecto interno del ctenid sac y de la glándula digestiva en un cerata.

Los cerata se disponen en series perpendiculares al eje mayor del cuerpo y presentan la característica de que la segunda hilera de los ejemplares mayores (4-5 mm) tienen siempre menor número de ceratas que las series anterior y posterior a ella, realizándose la inserción en el cuerpo de su primer cerata en una posición mucho más lateral que en las otras dos series, aproximadamente a la altura a la que en ellas tiene lugar la inserción del segundo.

La distribución de los cerata de los distintos ejemplares medidos en extensión, es la siguiente:

Animal de 5 mm: lado derecho	4,2,3,1,1
Animal de 4,5 mm: lado derecho	3,2,3,1,1
Animal de 4 mm: lado derecho	3,2,3,2,1
Animal de 2,5 mm: lado derecho	3,2,2,1
Animal de 1,5 mm: lado derecho	2,1,2,1

Los cerata son del tipo de los de *E. cingulatus*, con un ensanchamiento cerca del ápice y otro cerca de la base (Fig. 1, C, D). El hígado en su interior es de color crema rosado o blanquecino y el cnidosaco bien visible (Fig. 1, D). La superficie del cerata presenta pequeñas manchitas pardo verdosas, que por lo general se distribuyen formando bandas en la zona de los ensanchamientos, entre las que hay alguna manchita dispersa (Fig. 1, C).

La papila anal está pigmentada de blanco y se encuentra entre los grupos de ceratas segundo y tercero del lado derecho, en una posición más dorsal que la zona de inserción del primer cerata del segundo grupo.

Cola más larga que los últimos cerata abatidos y con una mayor densidad de manchitas que el resto del dorso. Pie blanco, semitransparente. Vísceras cremarrosado claro, visibles por transparencia.

Rama hepática derecha comprendiendo los 2 primeros grupos de cerata del lado derecho.

Orificios genitales bajo el primer grupo de ceratas del lado derecho.

### Anatomía

Hemos disecado el paratipo de mayor talla, 4,5 mm en extensión. La rádula (Fig. 2, G) está formada por 73 hileras de tres dientes; el diente medio mide alrededor de 25 micras de alto y está provisto de una cúspide central con indentaciones laterales.

Las mandíbulas (Fig. 2, F) tienen el borde masticador rugoso, con indentaciones irregulares y la extremidad algo saliente.

No hemos observado estilete peneal.

### Biología

*E. arci* vive sobre hidrozooes Campanularidos de los que se alimenta y en cuyas proximidades desova. La puerta (Fig. 2, E) es una copa abierta de 1 mm de

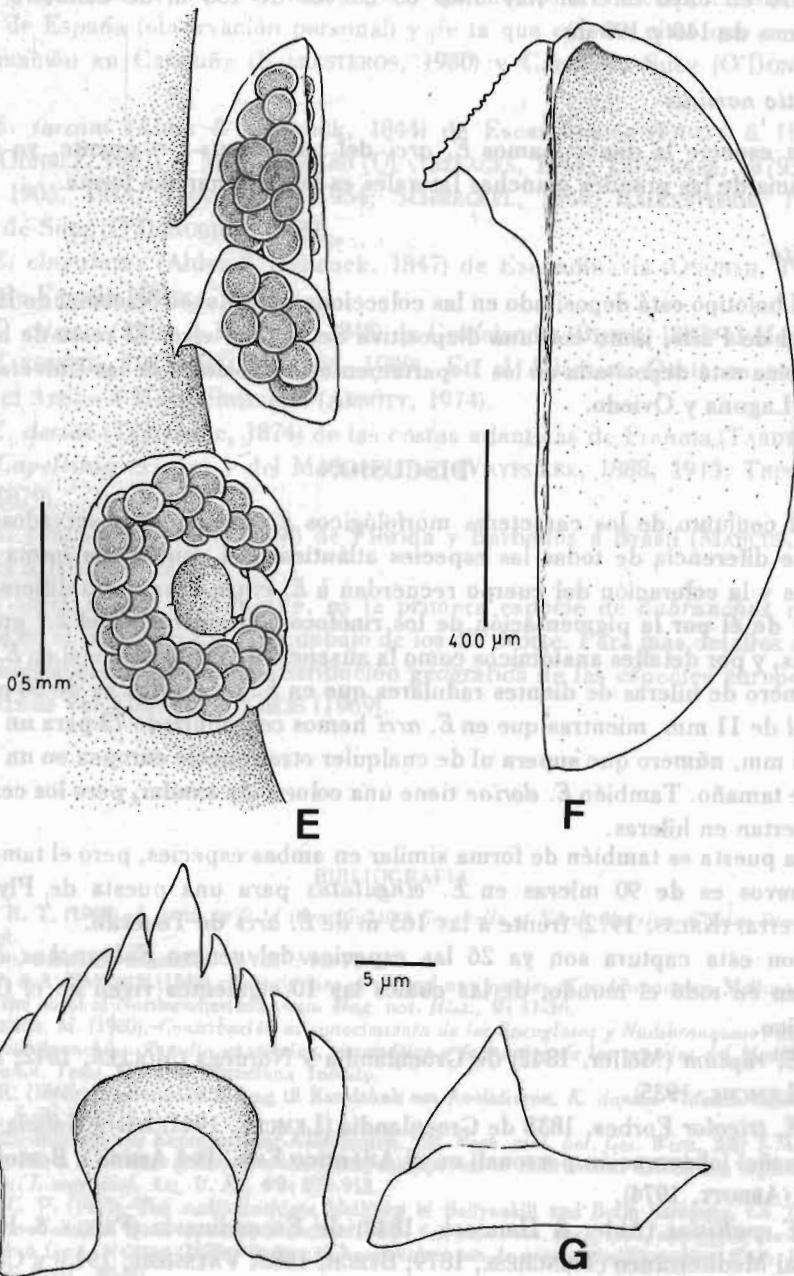


Fig. 2.-E = detalle de la puesta. F = mandíbula. G = aspecto del diente radular medio y de uno de los laterales.

diámetro en cuyo interior hay unos 65 huevos de 165  $\mu$ m de diámetro medio (extremos de 140 y 190  $\mu$ m).

#### *Derivatio nominis*

La especie la denominamos *E. arci* del latín arcus-i = puente, ya que la tendencia de las grandes manchas laterales es la de tomar esa forma.

#### *Depósito*

El holotipo está depositado en las colecciones del Museo Nacional de Historia Natural de París, junto con una diapositiva del animal vivo. El resto de la serie paratípica está depositada en los Departamentos de Zoología de las Universidades de La Laguna y Oviedo.

### DISCUSION

El conjunto de los caracteres morfológicos y anatómicos observados en *E. arci*, le diferencia de todas las especies atlánticas del género. La forma de los ceratas y la coloración del cuerpo recuerdan a *E. cingulatus*, pero difiere claramente de él por la pigmentación de los rinóforos, la inserción del 2.º grupo de ceratas, y por detalles anatómicos como la ausencia de estilete peneal en *E. arci* y el número de hileras de dientes radulares que en *E. cingulatus* es de 50 para un animal de 11 mm, mientras que en *E. arci* hemos contabilizado 73 para un animal de 4,5 mm, número que supera al de cualquier otra especie europea en un animal de ese tamaño. También *E. doriae* tiene una coloración similar, pero los cerata no se insertan en hileras.

La puesta es también de forma similar en ambas especies, pero el tamaño de los huevos es de 90 micras en *E. cingulatus* para una puesta de Plymouth (Inglaterra) (KRESS, 1972) frente a las 165  $\mu$ m de *E. arci* de Tenerife.

Con esta captura son ya 26 las especies del género *Eubranchus* que se conocen en todo el mundo, de las cuales las 10 siguientes viven en el Océano Atlántico.

-*E. rupium* (Möller, 1842) de Groenlandia y Noruega (MÖLLER, 1842; BERGH, 1868; LEMCHE, 1935).

-*E. tricolor* Forbes, 1838 de Groenlandia (LEMCHE, 1941) hasta Galicia (Norte de España) (observación personal) en el Atlántico Este. Del Artico a Boston en el Oeste (ABBOTT, 1974).

-*E. pallidus* (Alder & Hancock, 1842) de Escandinavia (FRIELE & HANSEN, 1876) al Mediterráneo (TRINCHESE, 1879; BERGH, 1882; VAYSSIÈRE, 1913) y Canal de Suez (O'DONOGHUE, 1929) en el Atlántico Este. Desde el Artico a Massachussets en el Oeste (ABBOTT, 1968), Maine (RIVES y HARRIS, 1976).

-*E. vittatus* (Alder & Hancock, 1842) de las Islas Británicas (ALDER & HAN-

COCK, 1842; FARRAN, 1901). Es una especie que hemos recolectado también en el Norte de España (observación personal) y de la que existen citas que necesitan confirmación en Cataluña (BALLESTEROS, 1980) y Canal de Suez (O'DONOGHUE, 1929).

-*E. farrani* (Alder & Hancock, 1844) de Escandinavia (FRIELE & HANSEN, 1876; ODHNER, 1907) al Mediterráneo (QUATREFAGES, 1844; TRINCHESE, 1879; VAYSSIÈRE, 1903, 1913; PRUVOT-FOL, 1954; SCHMECKEL, 1968; BALLESTEROS, 1980) y Canal de Suez (O'DONOGHUE, 1929).

-*E. cingulatus* (Alder & Hancock, 1847) de Escandinavia (ODHNER, 1907) al Norte de España (ORTEA, 1978).

-*E. exiguus* (Alder & Hancock, 1848) de Groenlandia (BERGH, 1882) al Mediterráneo (VAYSSIÈRE, 1913; BALLESTEROS, 1980). En el Atlántico Oeste es conocido desde el Artico a Massachussets (ABBOTT, 1974).

-*E. doriae* (Trinchese, 1874) de las costas atlánticas de Francia (TARDY, 1962 como *Capellinia exigua*) y del Mediterráneo (VAYSSIÈRE, 1888, 1913; TRINCHESE, 1874, 1879).

-*E. coniclus* (Marcus, 1958) de Florida y Barbados a Brasil (MARCUS, 1958; MARCUS & HUGHES, 1974).

-*E. arci* n. sp. de Tenerife, es la primera especie de *Eubbranchus* que se captura en el Atlántico Este por debajo de los 30° Norte. Para mas detalles acerca de la morfología, anatomía y distribución geográfica de las especies europeas de *Eubbranchus* ver EDMUNDS y KRESS (1969).

#### BIBLIOGRAFIA

- ABBOTT, R. T. (1968).-A guide to field identification Seashells of North America. Golden Press. New York.
- (1974).-American Seashells. V.N.R. New York.
- ALDER, J. & A. HANCOCK (1842).-Descriptions of several new species of nudibranchous Mollusca found on the coast of Northumberland. *Ann. Mag. nat. Hist.*, **9**: 31-36.
- BALLESTEROS, M. (1980).-Contribución al conocimiento de los Sacoglossos y Nudibranchios (Mollusca: Opisthobranchia). Estudio anatómico, sistemático y faunístico de las especies del Mediterráneo español. Tesis. Univ. de Barcelona. Inédito.
- BERGH, R. (1868).-Anatomiske Bidrag til Kundskab om Aeolidierne. *K. danske Vidensk. Selsk. Skr.*, Ser. 5, **7**: 139-316.
- (1882).-Beiträge zur Kenntniss der Aeolidiaden. VII. *Verh. zool. bot. Ges. Wien*, **32**: 7-74.
- EDMUNDS, M. & A. KRESS (1969).-On the European species of *Eubbranchus* (Mollusca, Opisthobranchia). *J. mar. biol. Ass. U. K.*, **49**: 879-912.
- FARRAN, G. P. (1901).-The nudibranchiate Mollusca of Ballynakill and Bofin harbours, Co. Galway, Marine fauna of the west coast of Ireland. *Rep. Sea Inld Fish. Ire.*, 1901, appendix, **8**: 1-10.
- FRIELE, H. & G. A. HANSEN (1876).-Bidrag til kundskaben om de norske nudibranchier. *Forh. Vidensk. Selsk. Krist.*, 69-80.
- KRESS, A. (1972).-Veränderungen der Eikapselvolumina während der Entwicklung verschiedener Opisthobranchier-Arten (Mollusca Gastropoda). *Mar. Biol.*, **16**: 236-252.
- LEMICHE, H. (1935).-On some nudibranchiate gastropods from the northern Atlantic. *Videnskab. Meddr dansk naturh. Foren.*, **99**: 131-148.



- (1941).—Gastropoda Opisthobranchiata. *Meddr Gronland*, **121** (7): 1-50.
- MARCUS, E. (1958).—On western Atlantic opisthobranchiate gastropods. *American Museum Novitates*, 1906: 1-81.
- MARCUS, E. & H. P. I. HUGHES (1974).—Opisthobranchs from Barbados. *Bull. mar. Sci.*, **24**: 498-532.
- MÖLLER, H. P. C. (1842).—Index Molluscorum Groenlandiae. *Naturh. Tidsskr.* Vol. **4**: 76-97.
- O'DONOGHUE, C. J. (1929).—Report on the Opisthobranchiata. Results of the Cambridge Expedition to the Suez Canal. *Trans. zool. Soc. Lond.* Vol. **22**: 713-841.
- ORTEA, J. (1978).—Cinco Opistobranquios nuevos para la fauna ibérica colectados en Asturias. *Bol. Inst. Est. Asturianos, supl. cien.*, **23**: 107-120.
- PRUVOT-FOL, A. (1954).—*Mollusques Opisthobranches. Fauna France, n.º 58*. Lechevalier. Paris.
- QUATREFAGES, A. (1844).—Memoire sur les gastéropodes phlébentérés (Phlebenterata Nob.), ordre nouveau de la classe des gastéropodes, proposé d'après l'examen anatomique et physiologique des genres Zephyrine (*Zephyrina* Nob.), Actéon (*Acteon* Oken), Actéonie (*Actaonia* Nob.), Amphorine (*Amphorina* Nob.), Pavois (*Pelta* Nob.), Chalide (*Chalidis* Nob.). *Annls. Sci. nat.*, **1**: 129-183.
- RIVES, B. R. y L. G. HARRIS (1976).—*Eubrauchus tricolor* FORBES in the western Atlantic. *Nautilus*. Vol. **90** (4): 145-147.
- SCHMEKEL, L. (1968).—Ascoglossa, Notaspidea und Nudibranchia im Litoral des Golfes von Neapel. *Revue Suisse Zool.*, **75**: 103-155.
- TRINCHESE, S. (1874).—Descrizione di alcuni nuovi eolididei del porto di Genova. *Atti Accad. Sci. Ist. Bologna*, **4**: 197-203.
- (1879).—Aeolididae e famiglie affini del Porto di Genova (Anatomia, fisiologia, embryologia delle Phyllobranchidae, Hermaeidae, Aeolididae, Proctonoctidae, Dotonidae del porto di Genova). *Rendic. Sess. Com. Nom. Accad. Sci. Istit. Bologna*: 47-52.
- VAYSSIÈRE, A. (1888).—Recherches zoologiques et anatomiques sur les mollusques opisthobranches du Golfe de Marseille. 2. Nudibranches (Cirrobranches) et Ascoglosses. *Annls. Mus. Hist. nat. Marseille*, **3**: 1-160.
- (1903).—Recherches zoologiques et anatomiques sur les mollusques opisthobranches su Golfe de Marseille. 4. Supplément. *Annls Mus. Hist. nat. Marseille*, **8**: 73-108.
- (1913).—*Mollusques de la France et des régions voisines*. Octave Doin et fils. Paris.

## LARVAS Y POSTLARVAS DE SARDINA Y ANCHOA DEL MAR CANTABRICO

Por  
M.<sup>a</sup> LUISA VILLEGAS  
Departamento de Zoología y Ecología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se estudia la abundancia de las larvas y postlarvas de sardina y anchoa en la costa Cantábrica durante tres años. Así mismo se aportan caracteres merísticos de los ejemplares recogidos.

### SUMMARY

The abundance of Pilchard and Anchovy was investigated in the coast of the northern Spain for a period of three years. The meristic characters are also given.

Muchos son los autores que han estudiado algunos aspectos de la biología de la sardina y anchoa en diferentes áreas del Atlántico y del Mediterráneo, si bien las referencias sobre la época de freza y características de la misma en el Mar Cantábrico son escasas, siendo ALVARINO (1957), ARBAULT y BOUTIN-LACROIX (1968-69), DICENTA y CENDRERO (1977), SUAU y VIVES (1979) y VILLEGAS (1979) los autores que han hecho alguna referencia sobre la presencia o abundancia de estas postlarvas en el mismo.

### MATERIAL Y METODOS

*El material utilizado proviene de dos fuentes:*

-Material I.-Recogido en la zona costera de Gijón (Asturias) durante los años 1973-75 en varias estaciones cercanas a la costa (Fig. 1). Se utilizaron mangas biconicas de 475 y 250 micras de luz de malla.

-Material II.-Recogido durante la campaña *Itxaso II* realizada por el Instituto Español de Oceanografía en junio-77 en aguas del Mar Cantábrico, y de las

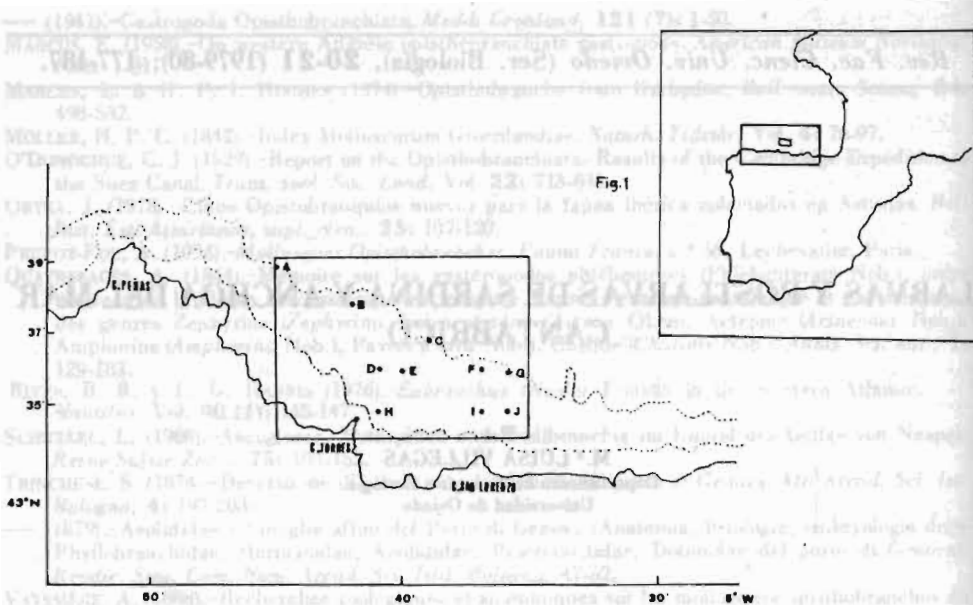


Fig. 1.-Estaciones del material I.

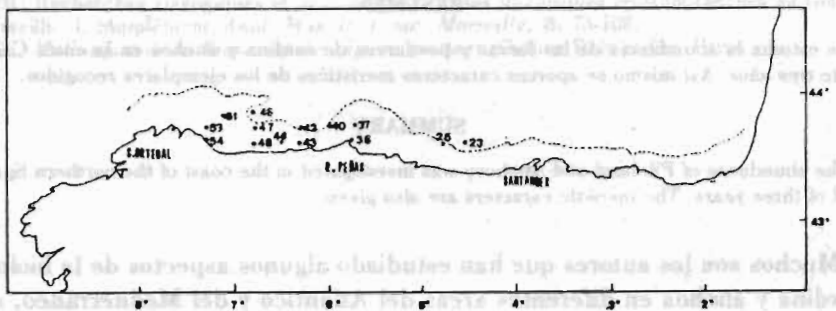


Fig. 2.-Estaciones del material II.

que nos fueron amablemente cedidas 14 muestras para su estudio, correspondientes a 14 estaciones de las 54 visitadas (Fig. 2). Se utilizó en este caso una manga Bongo de 20 cm de diámetro y 500 micras de luz de malla. La profundidad a la que descendía la red fue de 18-50 m y la profundidad del fondo era de 33-731 metros.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)

En el material I hemos encontrado ejemplares desde enero a diciembre y en el material II en todas las estaciones muestreadas.

El Cuadro I nos muestra el número de larvas recogidas en los distintos meses

# CUADRO I

## Abundancia de larvas y postlarvas de *S. pilchardus*

EST	FECHA	MALLA	PROF.	N°EJ.	N°EJ. 100m <sup>3</sup>	% MUESTRAL	TALLA (mm)
B	27-3-73	250	5-10	9	20	18,35	4-7
A	27-3-73	"	"	1	2	25,50	5
A	22-6-73	"	"	1	2	1,29	-
A	22-6-73	"	"	1	2	3,64	8
C	4-1-74	"	"	1	2	100,00	5
C	4-1-74	475	"	61	61	98,38	4,50-13,75
E	22-2-74	475	"	1	1	10,00	4
I	23-3-74	250	"	5	11	57,89	5-8,7
I	23-3-74	475	"	7	7	25,00	3,50-5
F	2-4-74	250	"	9	24	17,02	5-11
F	2-4-74	475	"	88	117	51,67	4-11
J	11-6-74	475	"	3	3	6,98	4,50-5
I	4-7-74	250	"	21	55	45,45	6-12
I	4-7-74	475	"	10	13	16,05	5-12,5
F	13-1-75	250	"	1	1	100,00	8
F	13-1-75	475	"	4	4	100,00	5-7
J	22-2-75	475	"	1	1	20,00	5
-	12-3-75	333	60	4	5	5,79	4-7
-	12-3-75	505	60	5	7	9,09	4-6
G	13-5-75	250	5-10	1	2	1,32	12
G	13-5-75	475	"	14	14	7,82	7-17
I	24-5-75	250	"	4	8	18,18	4-15
I	24-5-75	475	"	16	16	80,00	4-16
I	25-6-75	250	"	1	3	62,86	6
I	25-6-75	475	"	22	37	24,83	3-11
I	11-7-75	475	"	9	15	4,67	3-7
I	14-8-75	475	"	1	1	11,11	4
I	22-10-75	475	"	20	27	90,00	3-10
I	24-12-75	475	"	1	1	100,00	7
23	7-6-77	505	47	26	61	20,30	4-16
25	7-6-77	"	50	6	16	6,78	5,50-10
37	8-6-77	"	38	76	101	32,17	3,20-17
38	8-6-77	"	18	35	86	33,33	4,50-28
40	8-6-77	"	37	15	23	25,00	5-17
42	8-6-77	"	42	11	21	23,08	4-8
43	8-6-77	"	47	15	26	30,59	6-20
44	9-6-77	"	34	13	25	24,51	Ecl.-8
46	9-6-77	"	34	38	75	54,35	4-11
47	9-6-77	"	34	39	49	47,57	4-20
48	9-6-77	"	47	20	28	44,44	5-22
51	9-6-77	"	47	16	36	43,90	4,50-12
53	9-6-77	"	40	9	16	26,67	6-20
54	9-6-77	"	27	7	25	60,98	3,50-7

y estaciones, número de las mismas referidas a 100 m<sup>3</sup> de agua filtrada, porcentajes en cada muestra así como las tallas de los ejemplares.

Las larvas recién eclosionadas de 2,50 mm tienen aún la boca sin abrir y los ojos carecen de pigmentación. El saco vitelino está segmentado y la gota de grasa está situada en la parte posterior del vitelo. El tubo digestivo acaba en la aleta primordial, cerca del pedúnculo caudal, formando en su parte final un ángulo recto. Dorsalmente se ven una serie de pequeños melanóforos que van desde la cabeza a la cola y que más tarde desaparecen y, ventralmente, un melanóforo caudal que se mantiene en estados sucesivos. EHRENBAUM (1905-09) da como talla de eclosión 3,5 mm y de reabsorción del vitelo de 3-4 mm, lo que en parte es una contradicción.

En los ejemplares de 4 mm ya no se observa el saco vitelino mientras otros autores sitúan la reabsorción del mismo en los 5 mm, y el ojo ya está pigmentado (Fig. 3a). El ejemplar tiene el aspecto típico de los clupeiformes, alargado y comprimido, la boca es ligeramente puntiaguda. Presenta sólo el esbozo de las aletas escapulares; la pigmentación sobre la cavidad abdominal consiste en 5-6 cromatóforos ventrales y de 12-14 situados lateralmente. En la zona caudal ventral se puede ver un melanóforo en la parte central y otro en el final de la cola.

Los ejemplares de 7 mm no presentan variación en cuanto a la pigmentación, tan sólo se aprecia un esbozo de la aleta dorsal, apareciendo el esbozo de la aleta anal en tallas ligeramente superiores (Fig. 3b).

Entre los 11-12 mm se comienza a observar la elevación del urostilo, siendo

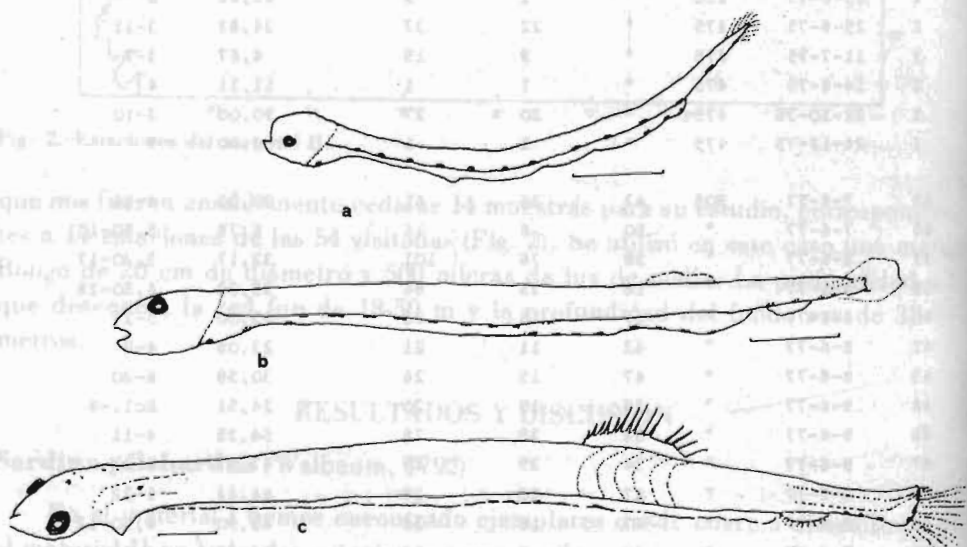


Fig. 3.-*Sardina pilchardus*. a) 5,5 mm; b) 8,25 mm; c) 16 mm.

las aletas dorsal y anal mucho más patentes, y en la aleta caudal comienzan a distinguirse los radios (Fig. 3c).

Los caracteres merísticos de algunas de las postlarvas son:

LT =	18,50	17,75	15,50	8,50	4,60
L.S. =	17,25	16,45	14,50	8,20	-
L. prA =	14,45	14,00	12,50	7,00	3,75
L. prO =	0,70	0,62	0,52	0,17	0,10
D.O. =	0,56	0,57	0,52	0,25	0,17
L.C. =	2,50	2,65	2,00	1,07	0,71
A.C. =	1,03	1,03	0,95	0,65	0,51
LprA/LT =	0,78	0,79	0,81	0,82	0,82
LC/LT =	0,14	0,15	0,13	0,13	0,15
AC/LT =	0,06	0,06	0,06	0,08	0,11
DO/AC =	0,54	0,55	0,55	0,38	0,33

La longitud preanal representa un 82 %, en las más pequeñas, y un 78 %, en la más grande, de la longitud total; parece haber, pues, un mayor aumento de la zona caudal que de la precaudal según crece. La longitud de la cabeza representa del 13-15 % de la longitud total y su altura del 11 %, en la más pequeña, al 6 % en las mayores, habiendo pues una disminución neta de esta proporción con el aumento de la talla. Por otro lado el diámetro del ojo con respecto a la altura de la cabeza es el 33 % en las de tallas más pequeñas y aumenta esta razón al 54 % en las más grandes, debido a una menor velocidad de crecimiento de la altura de la cabeza.

Si comparamos nuestras medidas con las que LOZANO (1947) da para los adultos encontramos:

1) La altura máxima, situada en adultos a nivel de la dorsal, está contenida unas 4,5 veces en la longitud precaudal y en las postlarvas menores de 8 mm, localizada en la cabeza, está contenida unas 9 veces en la longitud precaudal; en las mayores de 8 mm, en las que la altura de la cabeza se va igualando a la del tronco, lo está entre 11-13 veces en la longitud precaudal.

2) La longitud de la cabeza, que en adultos está contenida unas 4 veces en la longitud total, en las postlarvas lo está unas 7 veces.

3) El diámetro del ojo, que en adultos está contenido de 3,5-4 veces en la longitud de la cabeza, en las postlarvas lo está unas 4,5 veces en la misma.

4) La longitud preocular de las postlarvas, lo mismo que en los adultos, es algo menor que el diámetro ocular.

La Figura 4 nos muestra el número de ejemplares de *S. pilchardus* referidos a 100 m<sup>3</sup> recogidos con malla de 475 micras en los distintos meses. En enero de 1974 aparecieron 61 ejemplares, en febrero ninguno; abril muestra un máximo, suponemos que por coincidir con el momento máximo de freza, dismi-



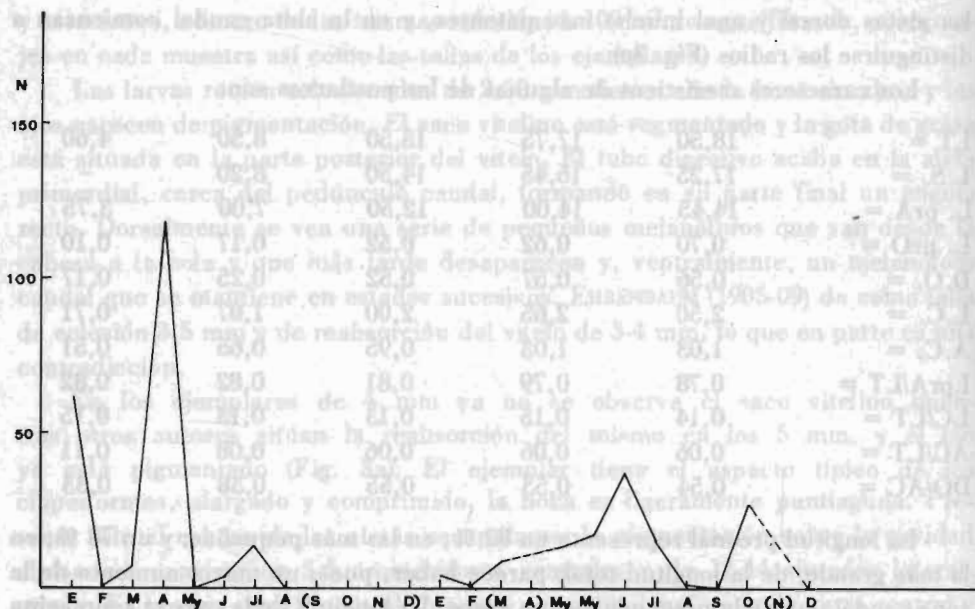


Fig. 4.-Abundancia de *S. pilchardus* recogidos con malla de 475 micras en los años 1974-75.

nuyendo en mayo y en junio aumenta ligeramente. En 1975 el mes de máxima presencia es julio, con presencia similar en octubre; en este año no obtuvimos muestras de marzo y abril, que suponemos que como en 1974 serían los meses de máxima freza. Así pues la sardina freza durante casi todo el año, siendo nula o casi nula en el mes de febrero y septiembre y máxima en abril.

La Figura 5 nos muestra la variación de *S. pilchardus* en las distintas estaciones de junio del 77; la máxima presencia de esta especie se sitúa en las estaciones 37, 38, 46, no pareciendo existir una correlación entre zonas ni profundidades en las que las muestras han sido tomadas, si bien se observa una mayor abundancia hacia el Este de la zona mencionada.

Hemos observado que la talla de eclosión en nuestros ejemplares es algo inferior a la descrita por otros autores, de 2,5 mm en las nuestras a 3,5 mm en las de EHRENBAUM (1905-09), RAFFAELE (1888), CUNNINGHAM (1889) y otros. La reabsorción del vitelo también ocurre en tamaños más pequeños, 4 mm, frente a los dados por otros autores, si bien RUSSELL (1976) afirma que es ésta la talla a la que ocurre la reabsorción del vitelo.

La freza se extiende prácticamente a lo largo de todo el año, comenzando en invierno en nuestras latitudes y alcanzando su máximo en primavera. En febrero, agosto y septiembre las recogidas son prácticamente nulas. La ausencia de postlarvas en agosto se explica por la elevada temperatura, 18-20°C. La ausencia de ejemplares en febrero, en que la temperatura es óptima, 13°, y habiendo una cierta abundancia de los mismos en el mes anterior, sólo puede ser explicada

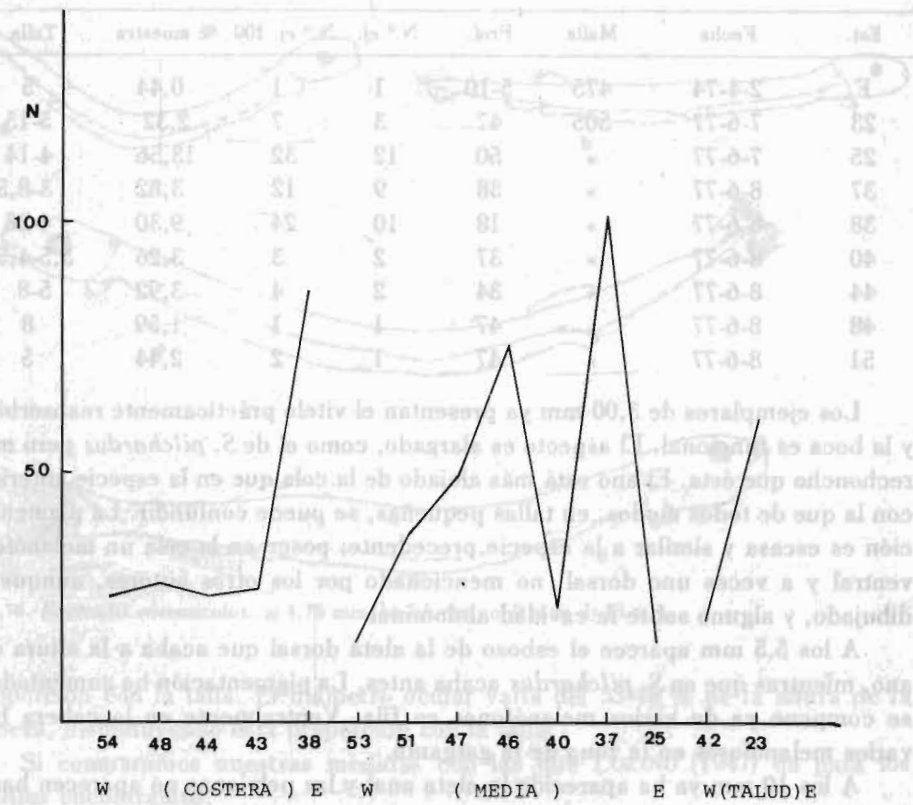


Fig. 5.-Abundancia de *S. pilchardus* en las estaciones del material II (junio-77).

porque en el inicio de la freza ésta es esporádica y homogénea, frente a la freza abundante pero en áreas más reducidas de la primavera, KARLOVAC (1974), GAMULIN (1960), DEMIR y SOUTHWARD (1974), FAGE (1920) y FURNESTIN y FURNESTIN (1970). Según ARBAULT y BOUTIN (1968) la freza en el sur del Golfo de Vizcaya comienza en invierno donde la temperatura es más elevada prolongándose hacia el norte y alcanza su máximo en primavera; la repartición en otoño es similar a la de febrero, estando en general las larvas más dispersas que los huevos, siendo menor la posibilidad de captura de las mismas, si bien la freza de otoño es más rica que la de febrero, lo que coincide en parte con nuestras observaciones.

**Engraulis encrasicolus** (Linnaeus, 1758)

En el material I hemos encontrado una postlarva en el mes de abril-74, mientras que en el material II lo ha sido en ocho estaciones.

Est.	Fecha	Malla	Prof.	N.º ej.	N.º ej. 100	% muestra	Talla
F	2-4-74	475	5-10	1	1	0,44	5
23	7-6-77	505	47	3	7	2,32	5-15
25	7-6-77	»	50	12	32	13,56	4-14
37	8-6-77	»	38	9	12	3,82	3-8,5
38	8-6-77	»	18	10	24	9,30	4-28
40	8-6-77	»	37	2	3	3,26	3,5-4,5
44	8-6-77	»	34	2	4	3,92	5-8
48	8-6-77	»	47	1	1	1,59	8
51	8-6-77	»	47	1	2	2,44	5

Los ejemplares de 3,00 mm ya presentan el vitelo prácticamente reabsorbido y la boca es funcional. El aspecto es alargado, como el de *S. pilchardus* pero más rechoncho que ésta. El ano está más alejado de la cola que en la especie anterior, con la que de todos modos, en tallas pequeñas, se puede confundir. La pigmentación es escasa y similar a la especie precedente: posee en la cola un melanóforo ventral y a veces uno dorsal, no mencionado por los otros autores, aunque sí dibujado, y alguno sobre la cavidad abdominal.

A los 5,5 mm aparece el esbozo de la aleta dorsal que acaba a la altura del ano, mientras que en *S. pilchardus* acaba antes. La pigmentación ha aumentado y se compone ya de varios melanófonos en fila. Ventralmente en la cabeza hay varios melanóforos en la zona de la garganta.

A los 10 mm ya ha aparecido la aleta anal y las pelvianas no aparecen hasta los 15 mm (Fig. 6, a, b, c, d).

Los caracteres merísticos de algunos de los ejemplares son:

L.T.	3,60	3,90	9,00	14,25	18,25
L.S.	—	—	8,20	13,50	16,75
L.prA.	2,60	3,00	7,40	10,37	14,25
L.prO	0,08	—	—	0,51	0,55
D.O.	0,20	—	—	0,45	0,58
L.C.	0,67	0,65	1,27	1,75	2,00
A.C.	0,38	0,36	0,69	0,89	1,21
LprA/LT	0,72	0,77	0,82	0,80	0,78
LC/LT	0,19	0,17	0,14	0,12	0,11
AC/LT	0,11	0,09	0,08	0,06	0,07
DO/AC	0,53	—	—	0,51	0,48

La longitud preanal representa del 72 al 82 % de la longitud total; la longitud de la cabeza varía del 19 %, en los más pequeños, al 11 % en los más grandes, disminuyendo por tanto esta proporción con el aumento de la talla. La altura de la cabeza es del 0,11-0,07 % de la altura de la cabeza disminuyendo también esta

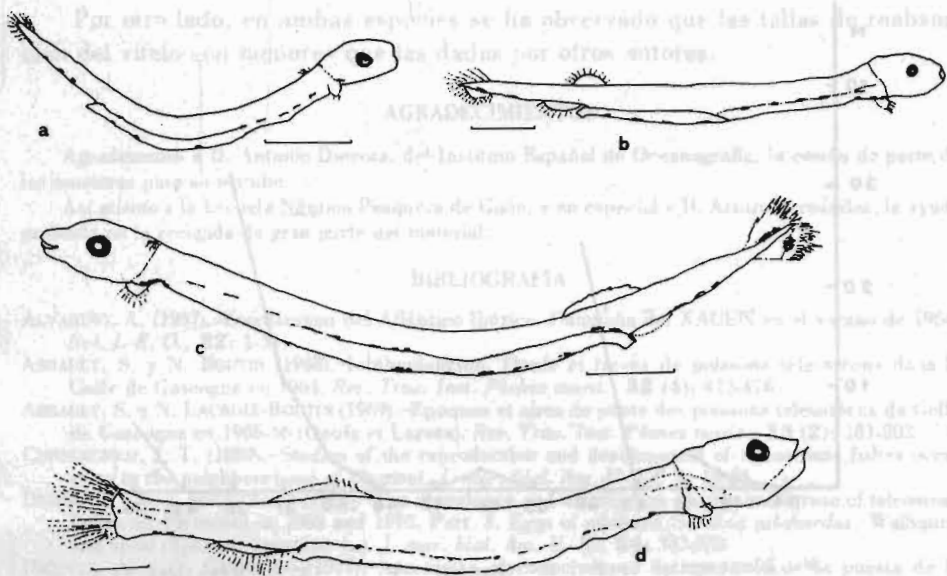


Fig. 6.—*Engraulis encrasicolus*. a) 4,75 mm; b) 7,5 mm; c) 9 mm; d) 13 mm.

proporción con la talla. El diámetro ocular varía del 53-48 % de la altura de la cabeza, disminuyendo esta proporción con la talla.

Si comparamos nuestras medidas con las que LOZANO (1947) da para los adultos encontramos:

1) La altura máxima del cuerpo es unas 6 a 6,5 veces la longitud precaudal, mientras que en las postlarvas, cuya altura máxima está en la cabeza, lo es unas 8 veces en las menores de 4 mm, 11 en la de 9 mm y unas 14 en las mayores de 14 mm; se ve pues que la altura de la cabeza pierde importancia con el aumento de la talla. A partir de la talla de 14 mm la altura de la cabeza es similar a la del tronco a nivel de la aleta dorsal.

2) La longitud de la cabeza, que en adultos está contenida algo más y algo menos de 4 veces en la longitud precaudal, en las postlarvas menores de 4 mm lo está unas 6 veces y de 7,5-8 en las de tamaños superiores a 8 mm.

3) El diámetro ocular en adultos es igual o algo mayor que la longitud precaudal, mientras que en las postlarvas menores de 4 mm es el doble y solo un poco mayor en las mayores de 14 mm.

4) El diámetro del ojo, en adultos está contenido unas cuatro veces en la longitud cefálica, mientras que en las de 4 mm lo está sólo tres veces y cuatro en las mayores de 14 mm.

La Figura 7 nos muestra la variación de *E. encrasicolus* en las distintas estaciones, referidos a 100 m<sup>3</sup>. Esta especie, no muy abundante, aparece en 8

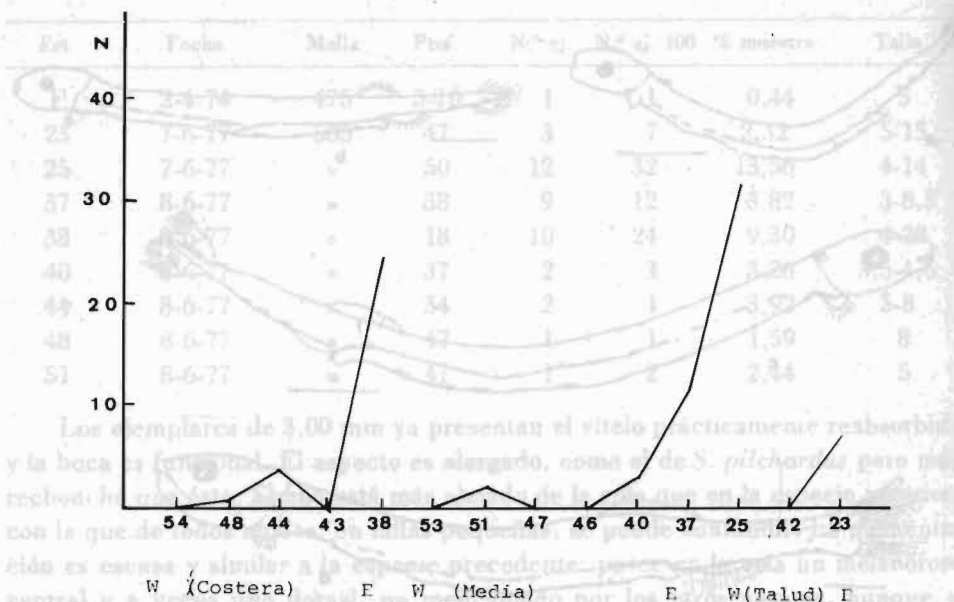


Fig. 7.-Abundancia de *E. encrasicolus* en junio-77.

estaciones, mostrando un cierto aumento en las estaciones situadas entre los 4.<sup>o</sup> y 6.<sup>o</sup> de longitud Oeste.

### CONCLUSIONES

La sardina freza en nuestras costas a lo largo de todo el año, con máximo en primavera; en invierno, si la temperatura es adecuada, se observa otro pequeño máximo, siendo nulas en agosto y septiembre. El intervalo de temperatura del agua a 10 m es de 10,9°C-18°C con una temperatura óptima de 13-17°C.

Comparando las postlarvas recogidas por nosotros en el material I con las de otros autores resultan de menor tamaño, probablemente debido a la migración de las larvas de mayor tamaño a aguas más profundas, lo que queda avalado por comparación entre las longitudes de los ejemplares recogidos en el material I y II, siendo de mayor tamaño los recogidos en el material II, que lo fue a mayor profundidad.

La anchoa necesita para la freza una temperatura más elevada que la sardina, como han apuntado diversos autores. La escasez de recogidas coincide con las observaciones de DICENTA y CENDRERO (1977) que consideran que esta especie es escasa en el Cantábrico oriental en este estadio.

Si bien SUAU y VIVES (1979) encontraron postlarvas a lo largo de la primavera y el verano, nosotros sólo las obtuvimos en junio, observando que la mayor abundancia se encuentra en las estaciones situadas al Este del Cabo Peñas.

Por otro lado, en ambas especies se ha observado que las tallas de reabsorción del vitelo son menores que las dadas por otros autores.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a D. Antonio Dicenta, del Instituto Español de Oceanografía, la cesión de parte de las muestras para su estudio.

Así mismo a la Escuela Náutico Pesquera de Gijón, y en especial a D. Arturo Fernández, la ayuda prestada en la recogida de gran parte del material.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALVARIÑO, A. (1957).—Zooplankton del Atlántico Ibérico. Campaña del XAUEN en el verano de 1954. *Bol. I. E. O.*, **82**: 1-51.
- ARBAULT, S. y N. BOUTIN (1968).—Ichthyoplancton. Oeufs et larves de poissons téléostéens dans le Golfe de Gascogne en 1964. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **32** (4): 413-476.
- ARBAULT, S. y N. LACROIX-BOUTIN (1969).—Époques et aires de ponte des poissons téléostéens du Golfe de Gascogne en 1965-66 (Oeufs et Larves). *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **33** (2): 181-202.
- CUNNINGHAM, J. T. (1889).—Studies of the reproduction and development of teleostean fishes occurring in the neighbourhood of Plymouth. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, **1**: 10-54.
- DEMIR, N. y A. J. SOUTHWARD (1974).—The abundance and distribution of eggs and larvae of teleostean fishes off Plymouth in 1969 and 1970. Part. 3. Eggs of pilchard (*Sardina pilchardus*, Walbaum) and sprat (*Sprattus sprattus*, L.). *J. mar. biol. Ass. U. K.*, **54**: 333-353.
- DICENTA, A. y O. CENDRERO (1977).—Aportación al conocimiento de las zonas de la puesta de la sardina, *Sardina pilchardus* (Walbaum) y de la anchoa, *Engraulis encasicolus* (L.) en la costa cantábrica oriental. *Anuario «Juan de la Costa»*, (vol. 1): 277-287.
- EHRENBAUM, E. (1905-09).—Eier und Larven von Fischen. *Nordisches Plankton*, **1**: 413 pp.
- FAGE, L. (1920).—Engraulidae, Clupeidae. *Rep. Danish Oceanogr. Exped. 1908-10. Médit. adjac Seas*, **2**, *Biology*, **A. 9**: 140 pp.
- GAMULIN, T. (1960).—Les problèmes de la ponte de la Sardine. *FAO*. Rome, 1960.
- KARLOVAC J. (1974).—L'abondance des oeufs de la Sardine (*Sardina pilchardus* Walb.) en l'Adriatique moyenne pendant dix saisons de ponte (1960/61 a 1969/70). *Rapp. Comm. int. Mer. Médit.*, **22**, **7**: 43-44.
- LOZANO, L. (1947).—Peces Ganoideos y Fisostomos. *Mem. R. Acad. Cienc. exac. fis. nat. Madrid, Cienc. natur.*, **Tomo IV**.
- RAFFAELLE (1888).—Le uova galleggianti e le larve dei Teleostei nel golfo di Napoli. *Mitt. zool. Stn. Neapel*, **8**: 1-85.
- RUSSELL, F. S. (1976).—*The eggs and planktonic stages of British marine Fishes*. Academic Press. London. 524 pp.
- SUAU, P. y F. VIVES (1979).—Ictioplancton de las aguas del Cantábrico, frente a Punta Endata (N. de España). *Inv. Pesq.*, **43** (3): 723-736.
- VILLEGAS, M. L. (1979).—*Aportaciones al conocimiento del Ictioplancton del Cantábrico con especial referencia a la zona costera asturiana*. Tesis doctoral. Oviedo.

#### INTRODUCCION

El 28 de abril de 1980 fue localizada una pareja de barbos criando en una nave industrial (un lavadero de mineral cerca de la desembocadura del río Espinal, a poca distancia de la localidad de La Balsa (Colunga), donde se recogió



## COMPARACION DEL REGIMEN ALIMENTICIO DE *Strix aluco* Y *Tyto alba* EN LA COSTA ORIENTAL ASTURIANA

Por

CARLOS NORES

Departamento de Zoología y Ecología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Se ha estudiado la dieta de *S. aluco* en una zona de campiña donde esta especie parece sustituir a *T. alba*, no sólo en el territorio de caza, sino también en los posaderos y nidos, asociados a las habitaciones humanas. Se ha comparado la muestra de egagrópilas recogidas con otros tres lotes pertenecientes a lechuzas de otras tantas localidades próximas, comprobándose el alto grado de competencia que supone la convivencia de ambas especies y la mayor diversificación de la dieta del cárabo.

Las relaciones de carácter trófico de ambas especies, al igual que los valores absolutos de los espectros alimenticios, incluyen a ambas especies en las comunidades de estrigiformes centroeuropeas, diferenciándose notablemente de la comunidad mediterránea.

Por último se comprobó que la variación local de la dieta de lechuza puede llegar a ser superior que la diferencia observable entre ambas especies en territorios de caza equivalentes.

### SUMMARY

The diet of *S. aluco* in an open field, where this species seems substitute to *T. alba*, was studied. We have compared the pellets sample collected with three other ones of barn owl in three near localities, verifying the high degree of competence that involves both species living together, as well as the higher diversification in the Tawny owl diet.

The trophic relationships between these species and the absolute values of their food make these species belong to the european owl community, and differentiate them of the mediterranean one.

Lastly, the variation of the diet of the barn owl at different localities is greater than the difference between the diet of two mentioned species which would hunt at the same hunting field.

### INTRODUCCION

El 28 de abril de 1980 fue localizada una pareja de cárabos criando en una nave industrial (un lavadero de mineral cerca de la desembocadura del río Espasa), a poca distancia de la localidad de La Isla (Colunga), donde se recogió

un lote de egagrópilas. En el mes de septiembre se llevó a cabo una nueva recogida de material menos reciente, ya que, según nos informaron, las aves habían abandonado el lugar poco tiempo después de nuestra primera visita, al ponerse de nuevo en funcionamiento la citada planta industrial.

El paisaje circundante es el típico de la llanura costera asturiana; una franja de anchura variable y de escaso relieve, sobre la que se asienta un complejo sistema de cultivos, prados, setos de linde y pequeños bosquetes, en su mayor parte de Eucalipto; lo que constituye una unidad paisajística que en la terminología francesa recibe el nombre de *bocage* atlántico.

Tras buscar en los alrededores algún posadero que nos suministrara egagrópilas de lechuza, las únicas estrigiformes de tamaño medio cuya presencia pudo ser constatada con seguridad en tres lugares próximos (La Isla, Coceneña y La Poledura) fueron de nuevo cárabos, asociados a las habitaciones humanas y en un paisaje de caza característico de la lechuza común en Asturias.

A fin de comparar los resultados de los análisis de las egagrópilas recogidas (Tabla I), con los de *Tyto alba*, tuvimos que recurrir a tres lotes obtenidos en Villaviciosa (17 Km al Oeste), Ribadesella (13 Km al Este) e Infiesto (18 Km al Sur); lo que nos permitió comparar, con un margen de seguridad mayor, la posible especialización trófica de cada especie, aceptando *a priori* la influencia del territorio de caza y la disponibilidad de las presas en la dieta de estas estrigiformes, fenómeno ya constatado en diversas ocasiones (GLUE, 1967; SAINT GIRONS y MARTIN, 1973; FAST y AMBROISE, 1976; LOVARI *et al.* 1976).

## MÉTODOS

Para el estudio comparativo de los regímenes alimenticios hemos calculado la amplitud de la componente trófica del nicho en cada una de las muestras mediante la fórmula  $W = e^H$ , donde H es la función de Shanon-Weaver (en BLONDEL y BOURLIÈRE, 1979).

También hemos calculado el solapamiento del nicho trófico entre las muestras obtenidas, no agrupadas por especies, sino considerando cada una como independiente de las demás, mediante las siguientes ecuaciones de coeficientes de competencia:

$$\{1\} \quad \alpha_{jk} = \alpha_{kj} = \frac{\sum_i^n p_{ij} \cdot p_{ik}}{\sqrt{\sum_i^n p_{ij}^2 \cdot \sum_i^n p_{ik}^2}}$$

$$\{2\} \quad \alpha_{jk} = \frac{\sum_i^n p_{ij} \cdot p_{ik}}{\sum_i^n p_{ij}^2}$$

El índice [1] (MACARTHUR y LEVINS, 1967) nos da una medida simétrica del solapamiento del nicho entre especies, mientras que el [2] (en LEVINS, 1968) expresa el solapamiento de forma asimétrica, indicando la importancia relativa que tiene para cada especie. Hemos utilizado el índice simétrico [1] por ser más conveniente (MAY, 1973), sirviéndonos del asimétrico solamente para comparar nuestros datos con los de HERRERA e HIRALDO (1976).

TABLA I  
Relación completa de las presas encontradas en egagrópilas de *Strix aluco*

Presas	N.º	%
<i>Crocidura russula</i>	25	9,5
<i>Crocidura suaveolens</i>	8	3
<i>Sorex minutus</i>	3	1
<i>Sorex coronatus</i>	42	16
<i>Talpa aff. caeca</i>	2	0,8
<i>Rhinolophus cf. euryale</i>	1	0,4
<i>Pitymys lusitanicus</i>	40	15,2
<i>Microtus agrestis</i>	20	7,5
<i>Micromys minutus</i>	2	0,8
<i>Apodemus sp.</i>	51	19,5
<i>Rattus norvegicus</i>	1	0,4
<i>Turdus sp.</i>	2	0,8
Pequeños Paseriformes	2	0,8
<i>Lacerta cf. schreiberi</i>	1	0,4
<i>Podarcis muralis</i>	1	0,4
Anuros	8	3
<i>Grillus campestris</i>	35	13,3
<i>Lucanus cervus</i>	4	1,5
<i>Typhoeus typhoeus</i>	10	4
Melolontinos	1	0,4
<i>Steropus madidus</i>	3	1
<i>Silpha sp.</i>	1	0,4

## RESULTADOS Y DISCUSION

La alimentación más diversificada, según los valores obtenidos de W, corresponden a *Strix aluco*, a causa, sobre todo, de la elevada composición de insectos en su dieta (Fig. 1).

El solapamiento de la muestra de La Isla con las otras tres es bastante alto (Tabla II), con un valor medio del 87,6 %, alcanzándose el máximo coeficiente con respecto a la muestra de Infiesto, lo que sin duda es debido a la estructura similar de la fracción de mamíferos, a pesar de la reducción que presentan los sorícidos en la muestra de cábaro. Menor solapamiento presenta con respecto a

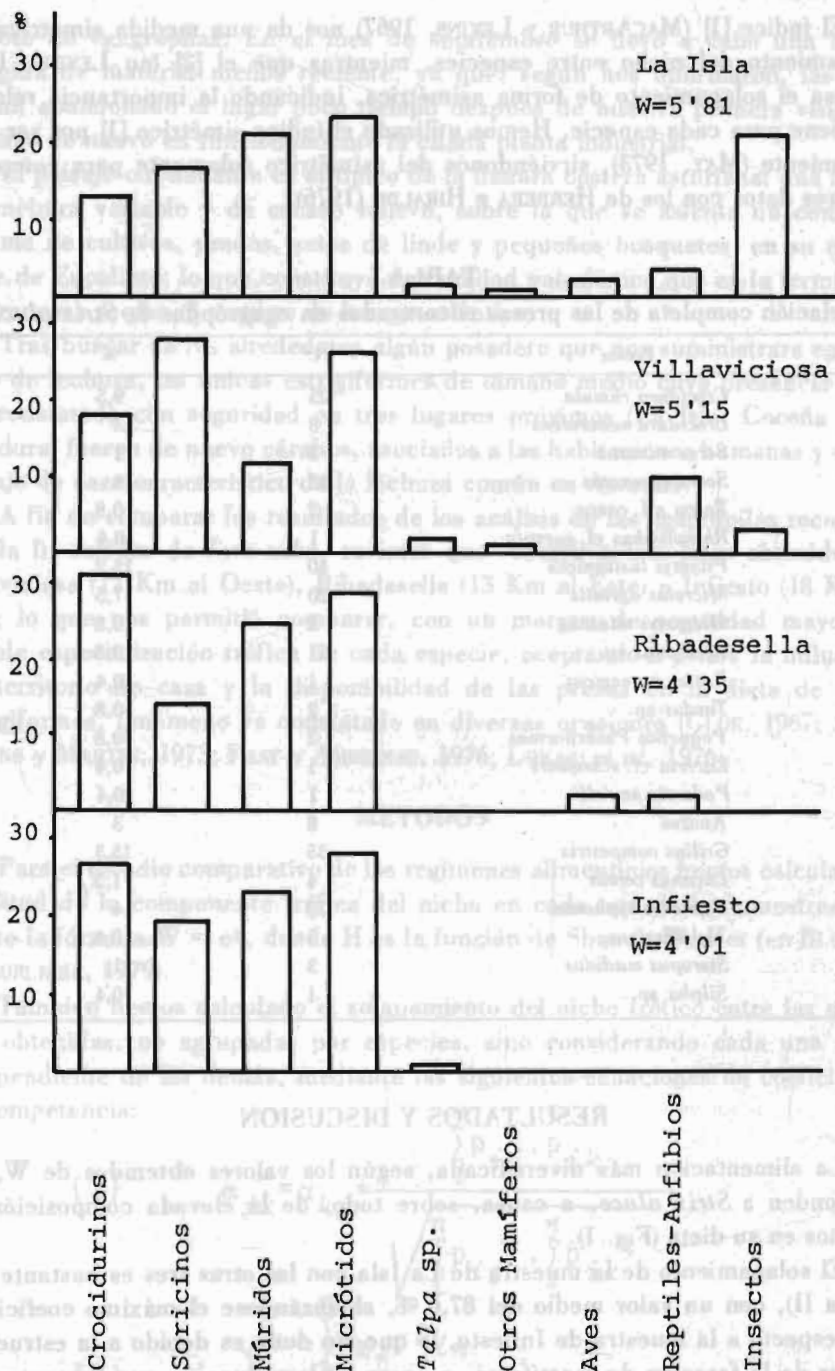


Fig. 1.-Histograma de frecuencias de las distintas presas de *Strix aluco* (La Isla) y *Tyto alba* (Villaviciosa, Ribadesella e Infiesto).

Villaviciosa, a pesar de ser una muestra cualitativamente muy similar en cuanto a las clases de alimento consideradas.

Las muestras pertenecientes a *T. alba* presentan entre sí, lógicamente, un mayor índice de solapamiento simétrico (valor medio 92,5 %), aunque es importante señalar que la comparación de muestras de Ribadesella y Villaviciosa arrojan un índice inferior al obtenido con las muestras de La Isla e Infiesto. La relación de valores expuestos en la Tabla II nos lleva a dos conclusiones parcial-

TABLA II

Solapamiento simétrico del nicho alimenticio entre las cuatro muestras analizadas mediante el índice de MacArthur y Levins

Villaviciosa	Ribadesella	Infiesto	
0,872	0,861	0,886	La Isla
	0,879	0,908	Villaviciosa
		0,988	Ribadesella

mente equivalentes: La variación del alimento de la lechuza según las localidades es tan grande que puede llegar a ser mayor que entre dos especies tróficamente próximas (lechuza y cárabo), o bien, expresado de otra manera; una lechuza que compartiera de forma absoluta su territorio de caza con un cárabo, tendría su nicho trófico incluido en el de éste. La fuerte competencia entre ambas especies podría explicar, en virtud del principio de exclusión, que en los 6 Km<sup>2</sup> estudiados de un biotipo representativo del paisaje de caza de la lechuza, hayamos comprobado la existencia de al menos dos parejas de cárabo en cría y no hayamos podido demostrar la presencia de ningún ejemplar de *T. alba*.

Con respecto a la alimentación de la lechuza común en Asturias (datos propios no publicados), en las muestras representadas en la Figura 1 se aprecian algunas características cuyo comentario puede ser de interés. En primer lugar, en toda Asturias los topos forman parte, de forma constante aunque escasa, del régimen alimenticio de esta especie; lo que sólo puede explicarse por la mayor permanencia de las formas occidentales del género *Talpa* en la superficie del suelo o cerca de ella, al alcance del predador, ya que dada la edad de las presas, así como la aparición en las egagrópilas a lo largo de todo el año, no limitan su capturabilidad a la expansión postgenerativa, como había comprobado SOUTHERN (1954) en Inglaterra. Las aves, anfibios e insectos no desempeñan un papel de importancia; así por ejemplo, las primeras sólo alcanzan proporciones de una cierta importancia en ausencia de los mamíferos que constituyen sus presas habituales (zonas urbanas o cubiertas por la nieve); los anuros, que componen la casi totalidad de la clase 8 de la figura, son presas raras, excepto para las lechuzas que cazan en zonas muy higrófilas o en rías costeras, como sucede en Villaviciosa y Ribadesella; y los insectos, más representativos de la dieta de *T.*

*alba* en la región mediterránea (LOVARI *et al.*, 1976), apenas tienen significación alguna en cuanto a biomasa en el Norte de España.

No sólo los datos de alimentación de la lechuza en Asturias difieren notablemente de los de la España mediterránea, asemejándose a los de Europa Central (a excepción de la casi duplicación del porcentaje de insectívoros, posiblemente relacionada con la suavidad de los inviernos del clima atlántico en esta latitud), sino que, tanto los datos de amplitud de nicho como los de solapamiento relativo de ambas especies están mucho más próximos a los valores dados por HERRERA e HIRALDO (1976) para las comunidades de estrigiformes de Centroeuropa que a los del área mediterránea (Tabla III).

TABLA III

Valores comparativos de los diversos parámetros relativos al nicho alimenticio citados en el texto, de las tres comunidades que se señalan. Los subíndices C y L se refieren respectivamente a *S. aluco* y *T. alba*

	Wc	Wl	$\alpha'c-l$	$\alpha'l-c$
Centro Europa	5,84	4,60	0,764	0,057
Asturias	5,81	4,50	0,783	0,928
Area Mediterránea	4,30	5,88	0,166	0,246

#### AGRADECIMIENTOS

Deseo hacer constar mi agradecimiento a mi compañero F. Braña por sus ideas y comentarios acerca de la presente nota, así como a las doctoras C. F. Bernaldo de Quirós y G. G. Baschwitz por la determinación de los restos de insectos.

#### BIBLIOGRAFIA

- BLONDEL, J. y F. BOURLIER (1979).—La niche écologique, myte et réalité. *Terre Vie*, **33**: 345-374.
- FAST, S. J. y H. W. AMBROSE (1976).—Prey Preference and hunting habitat selection in the Barn Owl. *Am. Mid. Nat.*, **96** (22): 503-507.
- GLUE, D. E. (1967).—Prey taken by the Barn owl in England and Wales. *Bird Study*, **14**: 169-183.
- HERRERA, C. M. y F. HIRALDO (1976).—Food-niche and trophic relationships among European Owls. *Ornis Scand.*, **7**: 29-41.
- LEVINS, R. (1968).—*Evolution in changing environments*. Princeton Univ. Press. Princeton N. J.
- LOVARI, S., A. RENZONI y R. FONDI (1976).—The predatory habits of the Barn owl (*Tyto alba*) in relation to vegetation cover. *Boll. Zool.*, **43**: 173-191.
- MACARTHUR, R. H. y R. LEVINS (1967).—The limiting similarity, convergence and divergence of coexisting species. *Amer. Natur.*, **101**: 377-385.
- MAY, R. H. (1973).—*Stability and complexity in model ecosystems*. Princeton Univ. Press. Princeton, N. J.
- SAINT GIRONS, M. C. y C. MARTIN (1973).—Adaptation du regime de quelques Rapaces nocturnes au paysage rural. Les proies de l'Effraie et du Moyen-duc dans le département de la Somme. *Bull. Ecol.*, **4** (2): 95-120.
- SOUTHERN, H. N. (1954).—Tawny owls and their prey. *Ibis.*, **96**: 384-410.



## ANÁLISIS DE LOS TIPOS DE FÓRMULA BÁSICA INDIVIDUAL Y DACTILOGLÍFICA MANUAL EN VARIAS POBLACIONES DE LA CORNISA CANTÁBRICA

Por  
J. E. EGOICHEAGA  
Departamento de Antropología.  
Universidad de Oviedo

### RÉSUMÉ

Dans ce travail on applique une méthode basée dans l'analyse des types de la Formule Basique Individuelle (FBI) et de la Formule Dactyloglyphique Manuelle (FDM) pour l'étude de cinq séries d'hommes provenant des échantillons représentatifs de la population générale asturienne, des asturiens du Sud-est, des asturiens de Parres et Piloña, des leoneses de la vallée de l'Esla et des leoneses de la vallée du Cea. On a constaté que les types 0.10.0 pour la FBI et LLLLL pour la FDM, caractérisent les cinq séries considérées, ce qui montre la ressemblance basique qui existe parmi ces populations par rapport à la configuration dactyloglyphique des mêmes.

### SUMMARY

In this paper, we apply the method that is based on the analysis of the Individual Fundamental Formula (FBI) and the Manual Dactyloglyphic Formula (FDM), to study five male series that come from representative samples from the asturian general population, south-east asturians, Parres and Piloña asturians, leoneses from the Esla valley and leoneses from the Cea valley. It has been found out that the 0.10.0 FBI type and the LLLLL FDM type, characterize the five series above mentioned which shows the basic likeness between them, as far as their dactyloglyphic configuration is concerned.

### INTRODUCCION

Los estudios sobre las líneas dermopapilares de manos y pies se han revelado como del mayor interés en diferentes campos de la Biología Humana, pero en Antropología tienen, como es sabido, particular importancia dada su variabilidad tipológica individual y poblacional. La notable variabilidad individual de las figuras dactiloglíficas de la mano presenta dificultades para ser expresada mediante una forma sencilla, por eso hemos propuesto (EGOICHEAGA, 1978a) la utilización de lo que hemos denominado Fórmula Básica Individual (FBI) y Fórmula Dactiloglífica Manual (FDM). La primera, permite la caracterización dactiloglífica

de un individuo al expresar en forma compendiada su combinación de figuras en los diez dedos de las manos, mediante una fórmula numérica constituida por tres grupos de uno o dos dígitos cada uno, separados por un punto; expresando el primer grupo de la izquierda el número de arcos presentes, el grupo central indica el número de presillas y el grupo de la derecha refleja el número de torbellinos presentes en los diez dedos. De esta forma, una FBI tal como 1.8.1, indicará la presencia de un arco, ocho presillas y un torbellino en el conjunto de los diez dedos. Esta fórmula resulta de utilidad, particularmente, en el análisis de la herencia familiar de los dermatoglifos y en la caracterización de las poblaciones humanas.

Ahora bien, la FBI no expresa de que forma se encuentran distribuidas las diferentes figuras dactilológicas, por ello, se ha propuesto la utilización, con este fin, de la Fórmula Dactilológica Manual, la cual está constituida por cinco letras mayúsculas de forma que cada una de ellas representa, de izquierda a derecha, la figura dactilológica presente en el dedo pulgar, índice, medio, anular y meñique, respectivamente. Por la letra A se designa a los arcos, por la L a las presillas y la W representa a los torbellinos. Como es obvio, un individuo estará caracterizado por una FDM para cada mano, es decir, una fórmula combinada de dos FDM separadas por una barra transversal, de manera que a la izquierda de dicha barra se sitúa la FDM que expresa la combinación de figuras de la mano izquierda y, a su derecha, la correspondiente a la de la mano derecha. Tal fórmula combinada constituirá la Fórmula Dactilológica Individual (FDI). De esta manera, una FDI tal como la siguiente: LLLLL/WLLAL indicará en el portador la presencia de presillas en los cinco dedos de su mano izquierda, un torbellino en el dedo pulgar de la derecha, un arco en el dedo anular y presillas en los dedos índice, medio y meñique de la mano derecha. La FBI que corresponderá a un individuo con tal FDI será: 1.8.1 y, como es evidente, esta misma composición podría obtenerse de muy diferente combinación de un arco, ocho presillas y un torbellino, pero resulta muy útil para abreviar la expresión dactilológica y poder agrupar individuos en los análisis familiares y de poblaciones. Por otra parte, dado que algunos individuos presentan el mismo tipo de FDM en ambas manos, se distingue entre portadores de FDM-asimétrica (FDMa) y portadores de FDM-simétrica (FDMs). Finalmente indicaremos que cuando interese mayor detalle en los análisis de los dactiloglifos, se pueden utilizar los superíndices acostumbrados, acompañando a las letras de la FDM, expresándose así si la presilla es ulnar o radial, o si el torbellino es concéntrico, espiralado, etc., aunque es evidente que esta concreción introducirá cierta complicación a la hora de formar grupos en los análisis de poblaciones.

## MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se han utilizado cinco series de varones, procedentes de una muestra estudiada por EGOICHEAGA (1972) representativa de la población

general asturiana y formada por 261 varones; una segunda serie de 114 varones procedentes de los valles del Sella y Cares, estudiada por GÓMEZ (1978) y a la que denominaremos «asturianos del sureste»; una tercera procedente de los concejos de Parres y Piloña, formada por 194 varones (VILLADANGOS, 1980), y otras dos series de leoneses, estudiados por GÓMEZ (1976), procedentes, una, del valle del Esla y constituida por 159 varones y, la otra, del valle del Cea y formada por 100 varones.

En todos los casos las impresiones dactilares se han obtenido mediante los procedimientos habituales para este tipo de estudios y a partir de individuos de ascendencia asturiana o leonesa y no emparentados entre sí.

Para el registro de las Fórmulas Básica Individual y Dactilográfica Manual, se han considerado como arcos todas las figuras adeltas, como presillas todas las figuras monodeltas y como torbellinos todas las figuras de más de dos deltas. Dada la intencionalidad que nos hemos propuesto en la utilización de las fórmulas, no se distinguen entre los diferentes tipos dentro de cada clase de figuras.

El cálculo de las frecuencias de los distintos tipos de figuras de FDM requiere de ciertas precisiones según la finalidad con la que se haga. Así, cuando interesa expresar las frecuencias para cada mano por separado con objeto de calcular posteriormente las diferencias bimanuales para cada tipo de FDM, se hará el recuento de la frecuencia con la que una determinada FDM aparece en cada una de las manos; pero cuando lo que interesa es expresar las frecuencias con las que cada tipo de FDM se presenta, en una determinada población, en cada uno de los sexos, se deberá proceder de la forma siguiente:

a) Cuando una determinada fórmula aparece sólo en una de las manos de cada individuo considerado, es claro que la suma de las veces que dicha fórmula aparece en la mano derecha más el de las que lo hace en la izquierda, será igual al número de individuos muestreados que presenten dicho tipo de FDM, ya que cada individuo no fue considerado más que una sola vez en el recuento de frecuencias.

b) En aquellos casos en los que la FDM sea simétrica, su presencia será anotada dos veces: en la mano derecha y en la izquierda. Pero la frecuencia de portadores de estas fórmulas en la muestra no será ahora igual al número de veces que dicha fórmula fue computada ya que fue anotada dos veces para el mismo individuo. En estos casos la determinación de la frecuencia de portadores en la muestra deberá tener presente el número de individuos que presentan FDMs.

#### *Análisis de la frecuencia de los tipos de FBI*

En el Cuadro I se consignan las frecuencias de aquellos tipos de FBI que presentan, al menos en alguna de las muestras analizadas, una frecuencia superior al cinco por ciento. Solamente para los tipos de FBI siguientes: 0.7.3, 0.8.2,

0.9.1 y 0.10.0, las cinco poblaciones consideradas coinciden en presentar frecuencias iguales o superiores al cinco por ciento, de forma que para los nueve tipos restantes solamente algunas de ellas alcanzan frecuencias que igualen este porcentaje.

**CUADRO Nº 1.- TIPOS DE FORMULA BASICA INDIVIDUAL (F.B.I.) CON FRECUENCIA PORCENTUAL SUPERIOR AL CINCO POR CIENTO EN VARIAS SERIES MASCULINAS DE LA REGION CANTABRICA.**

TIPOS DE F. B. I.	ASTURIANOS (Pobl. General) N = 261 ♂	ASTURIANOS (S. E.) N = 114 ♂	ASTURIANOS (Parres y Piloña) N = 194 ♂	LEONESES (Valle del Esla) N = 159 ♂	LEONESES (Valle del Cea) N = 100 ♂	M
0.0.10	1,91 ± 0,85	1,75 ± 1,23	4,21 ± 1,45	3,15 ± 1,38	5,00 ± 2,18	3,62 ± 0,65
0.2.8	4,96 ± 1,34	3,51 ± 1,72	4,21 ± 1,45	8,18 ± 2,17	5,00 ± 2,18	5,19 ± 0,77
0.3.7	4,58 ± 1,29	6,14 ± 2,25	7,36 ± 1,89	6,29 ± 1,92	6,00 ± 2,37	5,92 ± 0,82
0.4.6	4,58 ± 1,29	5,26 ± 2,09	4,73 ± 1,54	3,15 ± 1,51	8,00 ± 2,71	4,83 ± 0,70
0.5.5	5,34 ± 1,39	9,65 ± 2,77	4,73 ± 1,54	5,03 ± 1,73	4,00 ± 1,96	5,56 ± 0,80
0.6.4	9,92 ± 1,85	2,63 ± 1,50	5,26 ± 1,61	5,66 ± 1,83	8,00 ± 2,71	6,76 ± 0,87
0.7.3	9,92 ± 1,85	6,14 ± 2,25	7,36 ± 1,89	7,55 ± 2,09	8,00 ± 2,71	8,09 ± 0,95
0.8.2	7,25 ± 1,61	10,53 ± 2,87	6,84 ± 1,83	10,06 ± 3,07	8,00 ± 2,71	8,21 ± 0,95
0.9.1	9,92 ± 1,85	5,26 ± 2,09	6,31 ± 1,76	8,81 ± 2,25	5,00 ± 2,18	7,61 ± 0,92
0.10.0	13,74 ± 2,13	8,77 ± 2,65	8,94 ± 2,07	8,81 ± 2,25	10,00 ± 3,00	10,51 ± 1,07
1.8.1	0,38 ± 0,38	3,51 ± 1,72	2,63 ± 1,16	3,15 ± 1,38	7,00 ± 2,55	2,66 ± 0,56
1.9.0	5,73 ± 1,44	5,26 ± 2,09	8,42 ± 2,01	7,55 ± 2,09	3,00 ± 1,71	6,28 ± 0,84
2.8.0	2,67 ± 1,00	4,39 ± 1,92	2,10 ± 1,04	2,52 ± 1,24	7,00 ± 2,55	3,26 ± 0,62

La población general asturiana, lo mismo que los asturianos de Parres y Piloña y los leoneses del valle del Cea, presentan como FBI más frecuente el tipo 0.10.0, mientras que entre los asturianos del sureste y los leoneses del valle del Esla se ha encontrado el tipo 0.8.2. No obstante, solamente para la población general asturiana existen diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias de los tipos 0.10.0 y 0.8.2 ( $t = 243$ ;  $gl = 520$ ;  $0.01 < P < 0.02$ ).

La presencia de arcos es muy rara entre los varones de las series consideradas y solamente entre los asturianos de Parres y Piloña y los leoneses del valle del Esla se ha encontrado la fórmula del tipo 10.0.0, aunque con frecuencias muy

bajas que no alcanzan el uno por ciento en ninguno de los dos casos. El tipo 0.10.0 se presenta, en cambio, con frecuencias altas o muy altas en las cinco muestras consideradas, aunque no sea la fórmula más frecuente para todas ellas, pero las presillas son el tipo de figura dactilar que alcanza las frecuencias más elevadas en todas las poblaciones españolas estudiadas hasta la fecha (ECO-CHEAGA, 1972). Los torbellinos, aunque más frecuentes que los arcos, especialmente entre los varones, presentan frecuencias notablemente más bajas que las de las presillas y en las poblaciones estudiadas aquí el tipo de FBI 0.0.10 alcanza la frecuencia del cinco por ciento solamente en los leoneses del valle del Cea, estando las frecuencias de las otras cuatro poblaciones comprendidas entre el uno y el cinco por ciento, tal como se muestra en el Cuadro II.

## CUADRO II

Frecuencias porcentuales de los tipos de FBI 10.0.0, 0.10.0 y 0.0.10 en varias series de varones de la Cornisa Cantábrica

Tipos de F.B.I.	Asturianos (Pop. Gen.)	Asturianos (S. E.)	Asturianos (Parres y Piloña)	Leoneses (Valle del Esla)	Leoneses Valle del Cea)
10.0.0	-	-	0,52 ± 0,52	0,63 ± 0,63	-
0.10.0	13,74 ± 2,13	8,77 ± 2,65	8,94 ± 2,07	8,81 ± 2,25	10,00 ± 3,00
0.0.10	1,91 ± 0,85	1,75 ± 1,23	4,21 ± 1,45	3,15 ± 1,38	5,00 ± 2,18

Cuando a partir de los datos consignados en el Cuadro I se procede al análisis de las frecuencias que existen para un determinado tipo de FBI en las cinco series aquí consideradas, se encuentra lo siguiente:

1) El tipo que presenta un valor medio más alto en la frecuencia es el 0.10.0, aún cuando no sea para todas las poblaciones estudiadas el tipo más frecuente.

2) El tipo que presenta un valor medio más bajo en la frecuencia es el 1.8.1, no obstante, supera el cinco por ciento entre los leoneses del valle del Cea.

3) Para el tipo 0.6.4, se presenta significación estadística para la diferencia entre las frecuencias halladas en la población general asturiana y los asturianos del sureste ( $t = 3,06$ ;  $gl = 373$ ;  $0,001 < P < 0,01$ ).

4) Para el tipo 1.8.1, existe significación estadística en la diferencia entre las frecuencias que presentan la población general asturiana y los leoneses del valle del Cea ( $t = 2,57$ ;  $gl = 359$ ;  $0,01 < P < 0,02$ ).

5) No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas para las frecuencias de ningún otro tipo de FBI de las consignadas en el Cuadro I.

Resumiendo, pues, se puede indicar que las series masculinas aquí comparadas presentan grandes semejanzas respecto a sus características dactilográficas, aún cuando pueden constatarpe pequeñas diferencias que solamente un análisis más detallado de los dermatoglifos permite concretar (ECO-CHEAGA, 1978b).



En el Cuadro III se recogen aquellos tipos de FDM cuyas frecuencias igualan o superan el cinco por ciento, al menos en alguna de las series de varones estudiadas en el presente trabajo. Se puede observar que el tipo de FDM que presenta la frecuencia más elevada en las cinco series es el LLLLL, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ninguna de ellas. Las frecuencias más bajas se dan para el tipo WLLWL en el caso de la población general asturiana, y para el tipo WWLWW en el de las demás poblaciones consideradas.

Solamente los tipos LLLLL, LALLL, LWLWL, WWWWW, WWWWL y WLLLL igualan o superan la frecuencia del cinco por ciento en todas las poblaciones aquí consideradas, mientras que el resto de los tipos de FDM recogidos en el Cuadro III alcanzan este valor sólo para algunas de ellas.

En la muestra representativa de la población general asturiana, las frecuencias de los tipos LLLLL, LLLWL, LWLLL, WWLLL, WWLWL, WWLWW y WLLLL superan los valores de las respectivas frecuencias medias.

Para los asturianos del sureste, son los tipos LALLL, LWLLL, WWWWW, WWWWL, WWLWL y WLLWL los que superan las respectivas frecuencias medias de las cinco series de varones.

En el caso de los asturianos de los concejos de Parres y Piloña, las frecuencias medias son superadas por los tipos LALLL, WWWWW, WWLLL y WWLWL.

Los leoneses del valle del Esla superan las frecuencias medias para los tipos LLLLL, LLLWL, LWLLL, LWLWL y WWWWL.

Finalmente, los leoneses del valle del Cea presentan frecuencias superiores a las de las respectivas medias para los tipos LALLL, LWLWL, WWWWW, WWLLL, WWLWW y WLLLL.

Cuando se considera cual es el tipo de FDM más frecuente en la mano derecha, encontramos que para todas las series aquí consideradas, el tipo que presenta la frecuencia más alta es el LLLLL, excepto para los leoneses del valle del Cea, en los que el tipo más frecuente es el WLLLL. Las diferencias de frecuencias para el tipo LLLLL en las distintas poblaciones a las que se refiere el presente trabajo, no presentan significación estadística.

Con respecto a la mano izquierda, el tipo LLLLL es el más frecuente en todas las series de varones aquí consideradas, sin que se puedan señalar diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

En el Cuadro IV, se recogen las frecuencias porcentuales para los diferentes tipos de FDM-simétricas que alcanzan, al menos en alguna de las cinco series de varones, frecuencias iguales o superiores al cinco por ciento.

Se puede observar que el tipo de FDM que más frecuentemente se ha encontrado en ambas manos simultáneamente en el mismo individuo, en las cinco series de varones aquí consignadas, es el tipo LLLLL. Otro tipo de FDMs



CUADRO Nº 3. — TIPOS DE FORMULA DACTILOGRAFICA MANUAL (F.D.M.) CON FRECUENCIA PORCENTUAL SUPERIOR AL 5 POR CIENTO EN VARIAS SERIES MASCULINAS DE LA REGION CANTABRICA.

TIPO DE F.D.M.	ASTURIANOS (N=2610 <sup>o</sup> ) (Pobl. General)			ASTURIANOS (N=1140 <sup>o</sup> ) (S.E.)			ASTURIANOS (N=1940 <sup>o</sup> ) (Parres y Piloña)			LEONESES (N=1590 <sup>o</sup> ) (Valle del Estia)			LEONESES (N=1000 <sup>o</sup> ) (Valle del Ceo)		
	Manos			Manos			Manos			Manos			Manos		
	D	I	Una o ambas	D	I	Una o ambas	D	I	Una o ambas	D	I	Una o ambas	D	I	Una o ambas
L L L L L	21,46 ± 2,54	24,52 ± 2,66	32,57 ± 2,90	17,54 ± 3,56	21,05 ± 3,82	28,95 ± 4,25	17,01 ± 2,69	22,68 ± 3,00	30,41 ± 3,30	17,61 ± 3,02	24,53 ± 3,41	33,33 ± 3,74	14,00 ± 3,47	22,00 ± 4,14	26,00 ± 4,39
L L L W L	5,75 ± 1,44	4,60 ± 1,30	9,20 ± 1,79	2,63 ± 1,50	1,75 ± 1,23	4,39 ± 1,92	2,57 ± 1,13	2,57 ± 1,13	4,12 ± 1,42	5,16 ± 1,83	5,03 ± 1,73	10,06 ± 2,39	3,00 ± 1,71	3,00 ± 1,71	5,00 ± 2,18
L A L L L	3,83 ± 1,19	5,36 ± 1,39	7,66 ± 1,65	7,89 ± 2,82	4,39 ± 1,92	11,40 ± 2,98	8,24 ± 1,97	7,21 ± 1,85	13,40 ± 2,44	3,77 ± 1,51	3,14 ± 1,38	6,92 ± 2,01	8,00 ± 2,71	5,00 ± 2,18	5,32 ± 3,25
L W L L L	3,07 ± 1,07	4,60 ± 1,30	6,51 ± 1,53	6,14 ± 2,25	2,63 ± 1,50	7,02 ± 2,39	2,06 ± 1,02	3,09 ± 1,24	5,15 ± 1,58	3,77 ± 1,51	5,03 ± 1,73	6,92 ± 2,01	1,00 ± 0,99	3,00 ± 1,71	4,00 ± 1,96
L W L W L	4,21 ± 1,24	3,83 ± 1,19	6,90 ± 1,57	2,63 ± 1,50	3,61 ± 1,72	6,14 ± 2,25	4,12 ± 1,42	4,12 ± 1,42	7,21 ± 1,85	5,03 ± 1,73	3,14 ± 1,38	8,18 ± 2,17	6,00 ± 2,37	4,00 ± 1,96	8,00 ± 2,71
W W W W W	5,75 ± 1,44	3,83 ± 1,19	7,66 ± 1,65	5,26 ± 2,09	2,63 ± 1,50	10,53 ± 2,87	7,21 ± 1,85	10,30 ± 2,18	8,18 ± 2,17	8,18 ± 2,02	3,14 ± 1,38	8,18 ± 2,17	10,00 ± 3,00	7,00 ± 2,85	12,00 ± 3,25
W W W W L	6,51 ± 1,53	5,36 ± 1,39	9,20 ± 1,79	4,39 ± 1,92	7,89 ± 2,52	11,40 ± 2,98	6,18 ± 1,72	6,18 ± 1,72	10,30 ± 2,18	8,00 ± 2,25	9,43 ± 2,32	13,84 ± 2,74	4,00 ± 1,96	4,00 ± 1,96	7,00 ± 2,55
W W L L L	4,60 ± 1,30	3,45 ± 1,13	7,28 ± 1,61	2,63 ± 1,50	3,61 ± 1,72	6,14 ± 2,25	2,57 ± 1,13	4,63 ± 1,51	7,21 ± 1,85	2,52 ± 1,24	2,52 ± 1,24	5,03 ± 1,73	3,00 ± 1,71	9,00 ± 2,86	1,00 ± 3,13
W W L W L	4,98 ± 1,35	3,83 ± 1,19	8,05 ± 1,68	4,39 ± 1,92	3,51 ± 1,72	7,02 ± 2,39	6,15 ± 1,58	3,09 ± 1,24	7,73 ± 1,91	2,52 ± 1,24	3,14 ± 1,38	5,66 ± 1,83	3,00 ± 1,71	2,00 ± 1,40	4,00 ± 1,96
W W L W W	5,36 ± 1,39	1,92 ± 0,85	6,13 ± 1,48	1,75 ± 1,23	—	1,75 ± 1,23	2,06 ± 1,02	1,03 ± 0,72	3,09 ± 1,24	2,52 ± 1,24	1,26 ± 0,88	3,14 ± 1,38	8,00 ± 2,71	2,00 ± 1,40	10,00 ± 3,00
W L L L L	9,20 ± 1,79	10,73 ± 1,92	16,86 ± 2,32	7,02 ± 2,39	7,02 ± 2,39	11,40 ± 2,98	7,21 ± 1,85	6,71 ± 1,79	12,88 ± 2,40	7,55 ± 2,09	8,18 ± 2,17	13,21 ± 2,69	15,00 ± 3,57	8,00 ± 2,71	18,00 ± 3,84
W L L W L	4,60 ± 1,30	1,92 ± 0,85	6,36 ± 1,39	6,14 ± 2,25	6,14 ± 2,25	11,40 ± 2,98	4,12 ± 1,42	1,54 ± 0,88	5,15 ± 1,58	4,40 ± 1,63	2,52 ± 1,24	5,66 ± 1,83	4,00 ± 1,96	—	4,00 ± 1,96

## CUADRO IV

Frecuencias porcentuales de los tipos de FDM simétrica en varias poblaciones de españoles varones de la Cornisa Cantábrica

Tipos de F.D.M.	Asturianos (Pob. Gen.)	Asturianos (S. E.)	Asturianos (Parres y Piloña)	Leoneses (Valle del Esla)	Leoneses (Valle del Cea)
LLLLL	13,41 ± 2,11	9,65 ± 2,77	9,27 ± 2,08	8,80 ± 2,25	10,00 ± 3,00
WWWWW	1,92 ± 0,85	1,75 ± 1,21	4,12 ± 1,42	3,14 ± 1,38	5,00 ± 2,18
WLLLL	3,07 ± 1,07	2,63 ± 1,50	1,03 ± 0,72	2,52 ± 1,24	5,00 ± 2,18

igualan la frecuencia del cinco por ciento únicamente entre los leoneses del valle del Cea (WWWWW y WLLLL). Las diferencias entre las frecuencias que presentan las distintas poblaciones consideradas para el tipo LLLLL no son estadísticamente significativas.

Se puede concluir, pues, que el análisis de los tipos de FDM nos presenta un conjunto de poblaciones cuyas características dactilográficas son muy similares, lo que concuerda también con lo encontrado para otros rasgos antropológicos. No obstante, es posible poner de manifiesto el hecho de que la distinta biodinámica poblacional ha introducido pequeñas diferencias aún cuando se trata de un rasgo que permanece tan fijo a lo largo de las generaciones como es el caso de los dermatoglifos.

### RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudia en el presente trabajo la utilidad del empleo de las Fórmulas Básica Individual y Dermatográfica Manual en el análisis dactilográfico de poblaciones. Para ello, se comparan cinco series de varones, tres de ellas pertenecientes a la población asturiana y las otras dos a la leonesa y localizadas a lo largo de la Cordillera Cantábrica.

La utilización de la metodología aquí expuesta, permite definir dactilográficamente a las poblaciones ya que la FBI resume muy bien cuáles son los tipos de figuras predominantes en una determinada población y cuál es la frecuencia de las diferentes combinaciones de arcos, presillas y torbellinos; mientras que los tipos de FDM concretan la combinación de figuras que predomina en cada mano por separado, así como cuáles son las combinaciones que tienden a presentarse simétricamente, es decir, en ambas manos de un mismo individuo.

El análisis de los tipos de FBI y FDM en las cinco series consideradas pone de manifiesto lo que un análisis dactilográfico más detallado nos habría señalado (EGOCHEAGA, 1978b), es decir, que las series analizadas forman parte de un mismo conjunto racial aún cuando presentan ciertas diferencias dactilográficas debidas a la diferente biodinámica a la que han estado sujetas.

Tanto la serie representativa de la población general asturiana, como las

correspondientes a los asturianos de los concejos de Parres y Piloña y los leoneses del valle del Cea, presentan como tipo de FBI más frecuente el 0.10.0, mientras que los asturianos del sureste y los leoneses del valle del Esla muestran más frecuentemente el tipo 0.8.2.

Al considerar cuál es el tipo de FDM más frecuente se ha encontrado para las cinco series masculinas el tipo LLLLL. No obstante, el análisis bimanual muestra que mientras que para la mano izquierda de todas las series consideradas aquí persiste el tipo LLLLL, para la derecha, en cambio, en los leoneses del valle del Cea lo es el tipo WLLLL, manteniéndose para las otras cuatro series el mismo tipo de FDM que en la izquierda aunque con frecuencias diferentes.

El único tipo de FDM-simétrica que alcanza en todas las series consideradas frecuencias superiores al cinco por ciento es el LLLLL. Otros dos tipos (WWWWW y WLLLL) alcanzan la frecuencia del cinco por ciento en alguna de las series solamente.

Se puede concluir, en consecuencia, que respecto a la FBI el tipo 0.10.0 y el tipo LLLLL para la FDM caracterizan a las cinco series de varones aquí analizadas.

Será de gran interés la aplicación de esta metodología a la caracterización dactiloglífica de otras poblaciones, ya que ello permitirá expresar en forma sencilla las diferencias o semejanzas existentes entre ellas mediante un rápido análisis de sus dermatoglifos.

#### BIBLIOGRAFIA

- EGOCHEAGA, J. E. (1972).—*Análisis de los dermatoglifos en asturianos y su relación con otras poblaciones*. Tesis doctoral, Biblioteca de la Facultad de Ciencias, Universidad de Oviedo.
- (1978a).—Nuevas aportaciones al conocimiento de los dermatoglifos dactilares de los asturianos. En «I Simposio de Antropología Biológica de España». Madrid, pp. 259-269.
- (1978b).—La variabilidad tipológica de los torbellinos dactilares en asturianos. *Rev. Fac. Cienc. Univ. Oviedo*, **17**, **18** y **19**: 433-455.
- GÓMEZ, P. (1976).—*Estudio antropológico de cuatro altos valles de la Cordillera Cantábrica (Esla, Cea, Valdeón, Sajambre)*. Tesis doctoral, Biblioteca de la Facultad de Ciencias, Universidad de Oviedo.
- (1978).—Estudio dermopapilar de una población aislada de Asturias. *Bol. I.D.E.A. (supl. Cienc.)*, **23**: 3953.
- VILLADANGOS, J. M. (1980).—Estudio dermatoglífico de los asturianos de Parres y Piloña. *Bol. Cienc. Natur. (IDEA)*, **25**: 3-40.

Es patente la gran importancia que dentro de la actual antropología biológica ha alcanzado el estudio de los sistemas y grupos sanguíneos, tanto en el campo de la

## ESTUDIO DE LAS FRECUENCIAS DEL SISTEMA SANGUINEO Rh Y SU DISTRIBUCION EN EL ORIENTE DE ASTURIAS

Por  
PEDRO GOMEZ GOMEZ  
Departamento de Antropología.  
Universidad de Oviedo

### RESUMEN

Del estudio del sistema sanguíneo Rh en una muestra de 2.101 individuos procedentes del Oriente asturiano se deduce la existencia de cierta heterogeneidad zonal en la distribución de frecuencias, no obstante en el conjunto regional la distribución es más homogénea que para el ABO. Las frecuencias de «cde» y «CDe» son equiparables a las de otras poblaciones cántabras incluidos los vascos y exceptuados los gallegos. Las frecuencias de «cDE» y «CDe» son superiores a las de la mayoría de las series vascas estudiadas, no obstante los valores de la serie vizcaína de Iturrioz, para ambos haplotipos, y la de vascos franceses de Levine, para «cDe», caen dentro del campo de variabilidad de las poblaciones de Asturias y Cantabria y son inferiores a los de los gallegos, sobre todo los de «cDE». Del análisis de frecuencias del sistema estudiado con los datos que ahora poseemos se puede concluir que las características de estas poblaciones se hallan más próximas a los vascos que a los gallegos y que algunas de dichas características que se creían exclusivas de las poblaciones vascas, hay que extenderlas al Norte Cantábrico exceptuada Galicia.

### SUMMARY

The existence of a certain heterogeneity in the distribution of frequency has been confirmed in the study of the Rh System of 2,101 individuals native to East Asturias, however Asturias is more homogenous in the distribution of frequency than the ABO group. The frequency of «cde» and «CDe» are similar to other cantabric populations including the Basques but with the exception of the Galician. The «cDE» and «CDe» frequencies are higher than the basque series which had already been studied. Nevertheless the Biscayan frequency of both «cDE» and «CDe» studied by Iturrioz and that of the French Basques by Levine of the «cDe» group fall into the statistical field of variability in the populations in Asturias and Cantabria. These frequencies, above all the «cDE» group, are inferior in the Galician. Therefore, taking into account the genetic frequencies according to the data we have, these populations are more similar to the Basques than the Galician, because some of these characteristics believed to be exclusively basque have to be extended to the Cantabric Region excluding Galicia.

Es patente la importancia que dentro de la actual antropología biológica ha alcanzado el estudio de los sistemas y grupos sanguíneos, tanto en el campo de la

genética de poblaciones como de la moderna raciólogía. En este sentido el sistema Rh tiene un destacado interés en ambos campos por la abundancia de información que a ellos puede aportar. Las conocidas y singulares características del Rh de las poblaciones del Oriente Cantábrico (vascos) y el casi total desconocimiento de las mismas en las poblaciones vecinas de la Región Centro-Cantábrica nos ha llevado a una serie de estudios e investigaciones en este área peninsular, algunos de cuyos resultados se hallan publicados y otros se exponen en este trabajo dedicado al Oriente de Asturias (Fig. 1).



Fig.1 - SITUACION, GEOGRAFICA

## MATERIAL Y METODOS

El conjunto de la muestra consta de una serie total de 2.101 individuos procedentes todos ellos del Oriente de Asturias y con sus cuatro abuelos asturianos. Esta serie total ha sido dividida en seis series parciales que corresponden a otras tantas poblaciones zonales; para la constitución de zonas hemos tenido en cuenta el concejo de origen de cada individuo. El concejo, por tanto, se tomó como unidad básica de partida. Las zonas o series zonales están formadas por las correspondientes series o zonas de los concejos geográficamente próximos y entre cuyas frecuencias fenotípicas empíricas no encontramos diferencias estadísticamente significativas. Los individuos de las zonas I y II (Fig. 1) fueron seleccionados entre los alumnos de los centros de enseñanza de dichas zonas, los de las zonas III, IV, V, VI son miembros de la Hermandad de Donantes de Sangre de la Residencia de la Seguridad Social de Oviedo; en la selección de los individuos sólo se han tenido presentes las condiciones dichas sobre su origen no influyendo en la selección ningún tipo de condicionamiento grupal. Las determinaciones fenotípicas, realizadas en el laboratorio de Hematología de dicha Residencia, se



efectuaron sobre porta empleando los cinco sueros habituales: anti-C, anti-E, anti-D, anti-c y anti-e de las casas ORTHO, DADE, KNIKERBONER de uso corriente en los laboratorios para estas determinaciones. En los cálculos se han seguido las indicaciones de MOURANT (1976).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores de las frecuencias y su distribución dentro de la zona se ofrecen en las tablas y cuadros adjuntos.

### *Frecuencias fenotípicas*

Las diferencias entre las frecuencias fenotípicas teóricas y empíricas tienen significación estadística (Tabla I) lo que puede ser debido a la existencia de poblaciones más o menos aisladas dentro de la región de estudio; esta consideración nos ha llevado a desglosar la serie general en seis series parciales según se ha dicho, conservando aquella como serie de referencia. La heterogeneidad tipológica-racial de base de los asturianos del Sur-Este (GÓMEZ, 1978) puede, presumiblemente, extenderse a otras zonas de la región oriental y por otro lado la existencia, en otras, de una persistente inmigración de todos los puntos de la Región y Península a lo largo este siglo pueden ser las causas directas de los desequilibrios genéticos hallados en las zonas. El estudio fraccionario en poblaciones zonales nos permite, por tanto, el análisis de la distribución diferencial de sus frecuencias entre las zonas.

### *Frecuencias cromosómicas*

Entre las frecuencias de los haplotipos, como en otras poblaciones europeas, encontramos un amplio predominio de valores de «CDe» y «cde» seguidos con diferencias notables de los de «cDE» y, a mayor distancia, de los de «cDe». Así mismo, como en otras poblaciones del Centro y Oeste cantábrico, los valores correspondientes a «cde» son superiores a los de «CDe» con diferencias estadísticamente significativas ( $t = 4,05$ ;  $P < 0,001$ ) entre las frecuencias de estos dentro de la serie general. La distribución de frecuencias zonales (Fig. 2) en el área de estudio pone de manifiesto una disminución de valores de aquellas de Oriente a Occidente, lo cual no es extensible al conjunto de la Región, ya que las frecuencias halladas en el Occidente (Gómez, Vigil, Lausin) son algo más elevadas que las correspondientes de la serie oriental, y muy superiores a las de los gallegos estudiadas por Guasch; por otra parte su valor no aumenta hacia Santander.

Los valores hallados en la zona caen dentro del campo de variabilidad de frecuencias atribuidas por MARQUER (1963) a los vascos, y son superiores a los de otras poblaciones europeas como es sabido.

La distribución de valores de frecuencias de «CDe» (Fig. 3) manifiesta



TABLA 1: FRECUENCIAS DELRh EN EL ORIENTE DE ASTURIAS

	EMPERICAS	FRECUENCIAS		TEORICAS
	ABS	RELATIVAS	ABSOLUTAS	RELATIVAS
CCDEE	3	0,00143	0,07	0,00003
CCDEe	8	0,00381	10,12	0,00481
CCDee	282	0,13422	356,59	0,16972
CCddEE	0	0,00000	0,00	0,00000
CCddEe	0	0,00000	0,00	0,00000
CCddee	1	0,00048	0,14	0,00007
CcDEE	7	0,00333	2,25	0,00107
CcDEe	187	0,08901	170,83	0,08131
CcDee	959	0,45645	832,85	0,39641
CddEE	0	0,00000	0,00	0,00000
CddEe	1	0,00048	0,03	0,00001
Cdddee	14	0,00666	16,21	0,00772
ccDEE	31	0,01475	17,68	0,00841
ccDEe	130	0,06188	187,45	0,08922
ccDee	47	0,022373	49,88	0,02374
ccddEE	0	0,000000	0,00	0,00000
ccddEe	2	0,00095	1,56	0,00074
ccddee	429	0,20419	455,33	0,21672
TOTAL.	2101	1,0000	2100,99	0,99998

cde	0,46553 ± 0,01088	CDE	0,00584 ± 0,00166
cDe	0,02484 ± 0,00340	CdE	-
Cde	0,00829 ± 0,00198	C	0,41968 ± 0,01077
cdE	0,00080 ± 0,00062	E	0,09799 ± 0,00649
CDe	0,40377 ± 0,01070	D	0,53875 ± 0,01088
cDE	0,09093 ± 0,00627		

TABLA 2: FRECUENCIAS FENOTÍPICAS SEGUN ZONAS.

ZONAS	I		II		III		IV		V		VI	
	ABSOL.	RELAT.	ABSOL.	RELAT.	ABSOL.	RELAT.	ABSOL.	RELAT.	ABSOL.	RELAT.	ABSOL.	RELAT.
CCDEE	-	-	-	-	1	0,00281	1	0,00192	1	0,00156	-	-
CCDEe	1	0,0055	-	-	2	0,00562	2	0,00385	2	0,0313	1	0,00510
CCDee	17	0,0939	18	0,08654	60	0,16854	72	0,13846	92	0,14375	23	0,11735
CcddEE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CcddEe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ccdd ee	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,00156	-	-
CcDEE	-	-	-	-	1	0,00281	1	0,00192	3	0,00469	2	0,01020
CcDEe	15	0,0829	28	0,13462	30	0,08427	51	0,09808	44	0,06875	19	0,09694
CcDee	87	0,4807	91	0,43750	173	0,48596	232	0,44615	285	0,44531	91	0,46429
CcddEE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CcddEe	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,00156	-	-
Ccdd ee	1	0,0055	2	0,00962	3	0,00843	1	0,00192	5	0,00781	2	0,01020
ccDEE	1	0,0055	2	0,00962	2	0,00562	11	0,02115	12	0,01875	3	0,01351
ccDEe	12	0,0667	11	0,05288	20	0,05618	31	0,05962	47	0,07344	9	0,04592
ccDee	4	0,0221	8	0,03846	6	0,01685	8	0,01538	17	0,02656	4	0,02041
ccddEE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ccddEe	-	-	-	-	-	-	1	0,00192	-	-	1	0,00510
ccdd ee	43	0,2376	48	0,23077	58	0,16242	109	0,20962	130	0,20313	41	0,20918
TOTALES	181	1,0000	208	1,00000	356	1,00000	520	1,00000	640	1,00000	196	1,00000

TABLA 3: FRECUENCIAS CROMOSÓMICAS Y ALELICAS SEGUN LAS ZONAS.

ZONAS	I	II	III	IV	V	VI
CDE	0,0111±0,0078	-	0,01508±0,00646	0,00573±0,00331	0,00412±0,00253	0,00881±0,00667
CDe	0,3705±0,0359	0,36457±0,03337	0,44122±0,02632	0,41021±0,02157	0,37057±0,01909	0,38598±0,03477
CdE	-	-	-	-	-	0,0000
Cde	0,0069±0,0062	0,01283±0,0078	0,01151±0,00565	0,00232±0,00211	0,00867±0,00366	0,01299±0,00809
cDE	0,0729±0,0193	0,10337±0,0211	0,06919±0,01345	0,10004±0,01316	0,13693±0,01359	0,0963±0,02108
cdE	-	-	-	-	-	0,0000
cDe	0,0235±0,0113	0,01049±0,0070	0,02224±0,00782	0,01676±0,00563	0,02856±0,00658	0,02255±0,01060
cde	0,5152±0,0371	0,50874±0,0346	0,44087±0,02631	0,46493±0,02187	0,45069±0,45069	0,47334±0,03762
C	0,3885±0,0362	0,3774±0,03361	0,46770±0,02644	0,41827±0,02163	0,45177±0,01948	0,40777±0,03510
E	0,0819±0,0206	0,10337±0,02111	0,08427±0,01472	0,10577±0,01349	0,09885±0,01180	0,10515±0,02191
D	0,5069±0,0372	0,50971±0,03466	0,58606±0,02610	0,53798±0,02186	0,53733±0,01971	0,52620±0,03567

tendencias en los valores de dirección opuesta a las del anterior haplotipo, lo que va de acuerdo, según los datos que poseemos, con lo observado en la Región, ya que las frecuencias en el Occidente asturiano son superiores a las halladas en el Oriente así mismo las de Asturias a las de Cantabria y las de ésta a las de los vizcaínos estudiados por Iturriz.

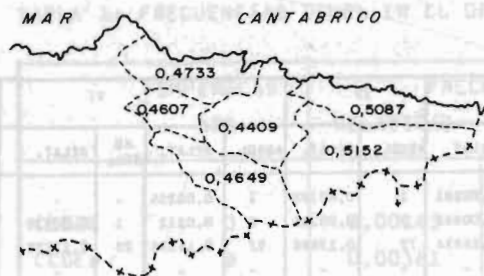


Fig. 2 - Distribución de "cde"

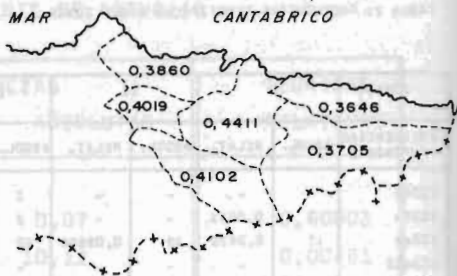


Fig. 3 - Distribución de "CDe"

Dichos valores se hallan algo por debajo de la media europea (VALLS, 1980), lo cual también es válido, como norma general, respecto a la población gallega y a las peninsulares al Sur de la Cordillera Cantábrica, e igualmente se hallan dentro del campo de variabilidad de los vascos.

En la distribución de frecuencias de «cDE» (Fig. 4) se aprecia una tendencia al aumento de Este a Oeste, aunque las mínimas frecuencias se encuentran en el área III. lo dicho es válido sólo para el área objeto de estudio ya que las frecuencias del Occidente asturiano son inferiores a las del Oriente. Las series de vascos franceses y algunas de las españolas estudiadas tienen frecuencias sumamente bajas, sus valores aumentan en la serie de vascos estudiada por Guasch y en la de vizcaínos de Iturrioz, especialmente esta última tiene valores equiparables y, en casos, superiores a los de las poblaciones centro-cantábricas. Aunque es precisa una cartografía más detallada, tanto en el País Vasco como en Galicia, los datos que tenemos parecen apuntar un aumento de valores de Este a Oeste con un máximo en Cantabria, descienden ligeramente en Asturias y alcanzan cotas máximas en Galicia.

El haplotipo «cDe» tiene como se ha dicho unos niveles de valores de frecuencias bajos y con un campo de variabilidad estrecho dentro de las zonas (Fig. 5). Nuevamente en el Oriente cantábrico, en las poblaciones vascas, encontramos frecuencias muy bajas, no obstante, prescindiendo de la serie de Guasch que tiene valores excepcionalmente altos, las frecuencias de los vizcaínos, ya

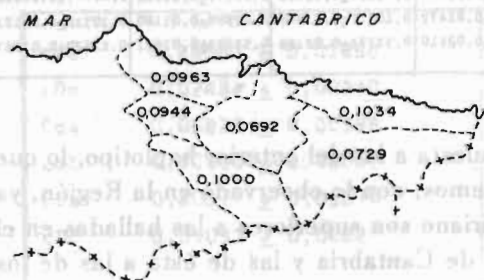


Fig. 4 - Distribución de "cDE"

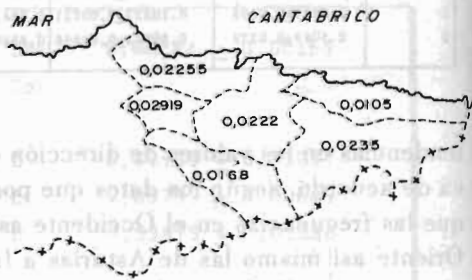


Fig. 5 - Distribución de "cDe"

citados, y de la serie de vascos franceses de LEVINE (1974) están dentro del campo de variabilidad de frecuencias de las poblaciones centro-cantábricas.

Las frecuencias de los haplotipos «Cde» y «CDE» dentro del área de estudio superan ligeramente la media europea, no obstante los valores son absolutamente bajos y oscilatorios. Los dos restantes «cdE» y «CdE», tienen frecuencias muy bajas, nulas o casi nulas como es corriente.

### Frecuencias alélicas

La distribución de frecuencias del alelo C (Fig. 6) tiene su máximo zonal en la zona III, los valores disminuyen de Este a Oeste. Igualmente la distribución de frecuencias del alelo del D (Fig. 7) aumenta sus valores hacia el Oriente. A pesar de lo dicho los niveles de frecuencias de ambos alelos son bastante constantes en Asturias y equiparables a los de otras poblaciones cantábricas, salvo los vizcaínos por una parte, con valores más bajos para el «D» y los gallegos, comparativamente, más altos. El alelo «E» tiene sus mínimos en las zonas I y III y sus frecuencias aumentan hacia el Oeste (Fig. 8), sin embargo en el conjunto de la región dichas frecuencias son menores en el Occidente de Asturias y superiores en Cantabria las de los vizcaínos son similares a las de los asturianos.

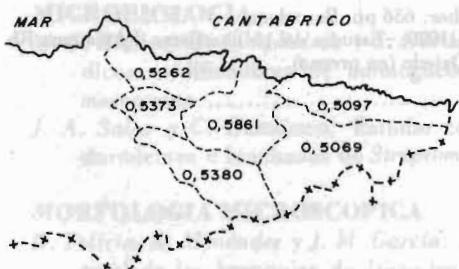


Fig. 6 - Distribución del Alelo D

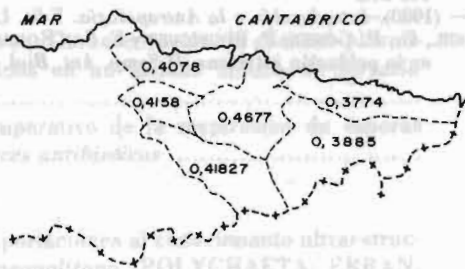


Fig. 7 - Distribución del Alelo C

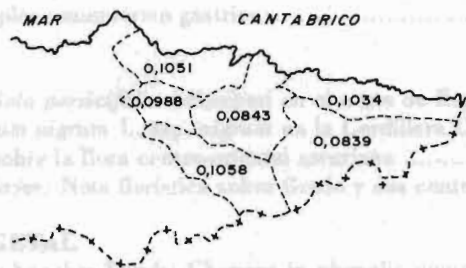


Fig. 8 - Distribución del Alelo E

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar aquí mi agradecimiento a los doctores Vigil Fuente y Lausin G. de Sampedro, directores de los Departamentos de Hematología de las Residencias Sanitarias de la Seguridad Social de Oviedo y Sama respectivamente, así como a la Hermandad de Donantes de Sangre sin cuya colaboración este trabajo no hubiera sido posible.

## BIBLIOGRAFIA

- GÓMEZ, P. (1977).—*Bioantropología e influencia geográfica en el NE. de León*. León Excma. Dip. Prov., 235 pp.
- (1977-78).—Estudio morfotipológico de los asturianos del SE., similitudes y diferencias con los santanderinos de la Liébana. *Publ. Inst. Etnográf. y Folk. «Hoyos Sáinz»*. Santander.
- (1980a).—Distribución zonal de los grupos sanguíneos del ABO en Asturias. *Bol. Cien. Nat. IDEA*, **25**: 42-54.
- (1980b).—Estudio del Rh en una región cantábrica. *Bol. Soc. Esp. Antrop. Biol.*, **1**: 32-40.
- (1980c).—Estudio de la distribución zonal de los sistemas sanguíneos «ABO» y «Rh» en el área centro-cantábrica. Comunicación al *II Sym. Antrop. Biol. de Esp.* Oviedo (en prensa).
- (1980d).—Diversidad tipológica de las poblaciones humanas de la región cantábrica de los Picos de Europa. *Act. I Congr. Esp. de Antrop.* II: 581-592.
- GÓMEZ, P., C. VIGIL y A. LAUSIN (1980).—Estudio del sistema sanguíneo «Rh» en el Occidente asturiano. *Bol. Cien. Nat. IDEA*, **26**: 105-110.
- GUASCH, J. (1950).—El factor Rh en España. *Rev. Esp. de Pediatría*, **6**: 387-390.
- ITURRIOZ, M., M. JUARISTI y J. M. BASABE (1978).—Subgrupos del sistema sanguíneo Rh en población vasca. *I Symp. Antrop. Biol. de España*. Madrid: 303-307.
- LEVINE, M. H. et al. (1974).—Anthropology of a basque village a new hemotypological study. *Cahiers d'Anthropologie et d'Ecologie humaine*, **3-4**: 159-171.
- MARQUER, P. (1963).—Contribution à l'étude anthropologique du peuple Basque et au problème de ses origines raciales. *Bull. Soc. Anthr. Paris*, **4 (XI)**: 1-240.
- VALLS, A. (1975).—Seroantropología de la población española. *Rev. Univ. Computense*, **24**, **97**: 111-140.
- (1980).—*Introducción a la Antropología*. Edit. Labor. 636 pp. Barcelona.
- VIGIL, C., P. GÓMEZ, P. RODRÍGUEZ y F. SAN ROMÁN (1980).—Estudio del polimorfismo del sistema Rh en la población asturiana. *II Symp. Ant. Biol.* Oviedo (en prensa).

## INDICE

	<u>Páginas</u>
<b>GENETICA</b>	
M. A. Comendador: Herencia materna de alteraciones estructurales de las quetas en <i>Drosophila simulans</i> .....	3
E. García-Vázquez y J. Rubio: Selección estabilizadora atendiendo a la localización de las macroquetas en <i>Drosophila</i> .....	15
T. Naranjo y J. R. Lacadena: Husos multipolares en anafase I de híbridos de triticale x centeno diploide .....	29
T. Naranjo: Comportamiento meiótico de un triploide de centeno .....	33
<b>MICROBIOLOGIA</b>	
M. G. Blanco, M. C. Mendoza y C. Hardisson: Caracterización de enzimas plasmídicos modificadores de aminoglicósidos en un aislado clínico de <i>Serratia marcescens</i> .....	43
J. A. Salas y J. R. Hardisson: Estudio comparativo de la respiración de esporas durmientes e hinchadas de <i>Streptomyces antibioticus</i> .....	55
<b>MORFOLOGIA MICROSCOPICA</b>	
D. Tolivia, A. Menéndez y J. M. García: Aportaciones al conocimiento ultraestructural de las branquias de <i>Diopatra neapolitana</i> (POLYCHAETA: ERRANTIA) .....	65
A. Fernández y J. M. García: Ultraestructura de la glía del núcleo dorsal de <i>Salmo irideus</i> .....	77
M. J. Rodríguez, A. Campos y E. Bráñez: Ultraestructura de la periferia somática neuronal en el plexo mientérico gástrico .....	87
<b>BOTANICA</b>	
M. A. Fernández: <i>Viola persicifolia</i> Schreberi en el norte de España .....	93
M. L. Vera: <i>Empetrum nigrum</i> L. ssp. <i>nigrum</i> en la Cordillera Cantábrica .....	103
H. S. Nava: Datos sobre la flora centro-oriental asturiana .....	109
J. J. Lasra y M. Mayor: Nota florística sobre Grado y sus contornos (II) .....	117
<b>FISIOLOGIA VEGETAL</b>	
M. I. Batallán y R. Sánchez-Tamés: Changes in phenolic compounds during the germination of seeds of <i>Cicer arietinum</i> L. ....	121



**FISIOLOGIA ANIMAL**

A. Menéndez-Patterson, J. A. Flórez Lozano, S. Fernández Fernández y B. Marín:  
Efectos de la supresión de las glándulas del flanco en el hámster macho  
*Mesocricetus auratus*, sobre los pesos y el metabolismo oxidativo de estruc-  
turas nerviosas y glandulares ..... 129

**ZOOLOGIA**

A. Anadón: Anatomía del ojo naupliar de *Artemia* sp. (CRUSTACEA: ANOS-  
TRACA) adulta ..... 135

A. Anadón: Inervación del ojo naupliar de *Artemia* sp. (CRUSTACEA: ANOS-  
TRACA) adulta ..... 149

F. Alvarez-Marqués: El género *Clausocalanus* Giesbrecht, 1888 (COPEPODA:  
CALANOIDA) en el plancton costero del Cantábrico asturiano ..... 157

J. Ortea: Una nueva especie de *Eubbranchus* (MOLLUSCA: OPISTHOBRANCHIA)  
de Tenerife, Islas Canarias ..... 169

M.<sup>a</sup> L. Villegas: Larvas y postlarvas de *Sardina* y *Anchoa* del Mar Cantábrico .... 177

C. Nores: Comparación del régimen alimenticio de *Strix aluco* y *Tyto alba* en la  
costa oriental asturiana ..... 189

**ANTROPOLOGIA**

J. E. Egocheaga: Análisis de los tipos de fórmula básica individual y dactilográfica  
manual en varias poblaciones de la Cornisa Cantábrica ..... 195

P. Gómez: Estudio de las frecuencias del sistema sanguíneo Rh y su distribución  
en el oriente de Asturias ..... 205

INDICE ..... 213

REVISTA  
DE LA  
**FACULTAD DE CIENCIAS**

SERIE BIOLOGIA

UNIVERSIDAD DE OVIEDO (ESPAÑA)

REDACCION:

DIRECTOR: Prof. Dr. Carlos Hardisson Rumeu

SECRETARIO: Prof. Carlos Lastra López