Revista Real Academia Galega de Ciencias. Vol. XXVI. Págs. 53-90 (2007)

ANÁLISIS HIDRODINÁMICO DEL ARRASTRE DEL BERBERECHO CERASTODERMA EDULE DE LOS LOMBOS DEL ULLA

J. ANTA ÁLVAREZ*[1], E. PEÑA GONZÁLEZ, J. PUERTAS AGUDO

Grupo de Enxeñaría da Auga e do Medio Ambiente, Universidade da Coruña.
Escola Técnica Superior de Enxeñeiros de Camiños, Canais e Portos,
Campus de Elviña s/n.
15071 A Coruña. España
**janta@udc.es. Telf: (+34) 981 100 700 ext: 1445*

RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados de un estudio hidrodinámico realizado sobre una familia de berberechos de la ría del Ulla, situada en Galicia (España). El análisis de estos parámetros permite determinar las características hidráulicas de los berberechos en el umbral del movimiento así como su comportamiento una vez que éstos son puestos en suspensión.

La metodología experimental ha sido desarrollada con objeto de realizar un análisis dinámico de las fuerzas actuantes sobre los berberechos sumergidos. La técnica láser de velocimetría de partículas (Particle Image Velocimetry) se aplicó con éxito para realizar la determinación exacta del campo de velocidades en el umbral de movimiento de los moluscos.

El proceso de sedimentación de estos moluscos también ha sido analizado, calculado la velocidad de caída y el coeficiente de arrastre de sedimentación. El coeficiente de arrastre de sedimentación se estimó empleando otras formulaciones y metodologías existentes en la literatura internacional. La comparación de los valores obtenidos proporciona

1 Premio Academia Galega de Ciencias-Fundación Caixa Galicia a Jóvenes Investigadores, convocatoria año 2006

resultados similares, validando los procedimientos empleados y reflejando el efecto del factor de forma en el valor del coeficiente de arrastre de sedimentación.

Palabras clave: Umbral de movimiento, Técnicas láser, Moluscos, Cerastoderma edule

ABSTRACT

This paper presents the results of a hydrodynamic study of a cockle family from the Ulla's estuary in Galicia (Spain). An analysis of the parameters has made it possible to determine the hydraulic characteristics of the cockles during their threshold of movement and suspension.

Experimental methodology was designed to conduct a dynamic analysis of the forces exerted on the submerged cockles. The Particle Image Velocimetry (PIV) laser technique was successfully applied to obtain an accurate calculation of the threshold velocity fields.

The process of cockle sedimentation was also monitored, allowing us to ascertain the settling velocity and to calculate the settling drag coefficient. The settling drag coefficient was also computed using other existing formulations and methodologies cited in the literature. A comparison of values exhibited similar results, thus validating both the procedures used and the effect of the shape factor on the settling drag coefficient value.

Key words: Incipient motion, laser techniques, molluscs, Cerastoderma edule

1. INTRODUCCIÓN

Una de las principales características de la costa gallega es la morfología particular que poseen las desembocaduras de los ríos: las rías. La evolución de estos accidentes geográficos tiene una especial relevancia en el desarrollo económico y social de las zonas costeras gallegas.

Galicia es mundialmente conocida por ser una de las regiones con mayor producción de pescados y mariscos. La economía de muchas de las villas costeras depende de la extracción de este tipo de especies.

Figura 1. Foto de satélite de la Ría de Arousa.

En las desembocaduras de los ríos se forman zonas de acumulación de sedimentos, debido a la pérdida de capacidad de transporte del río al confluir con el mar. En la ría de Arousa (Figura 1), que tiene una bocana de 39 km de longitud, las zonas de sedimentación se conocen como "Os Lombos do Ulla". Esta formación natural de arena se sitúa en ambos márgenes de la desembocadura y tiene una especial trascendencia en la villa de Carril (Figura 2), en cuyos bajos y playas se asienta una de las mayores poblaciones de berberechos de la ría. Esta zona cuenta con un extenso banco natural de libre explotación, con un total de 65 ha dedicadas a la producción de este y otros bivalvos (González y Pérez, 1984).

Figura 2. Vista en 3D de los Lombos do Ulla.

En los últimos años, en esta zona se ha producido una importante reducción de las cantidades de mariscos y moluscos recolectados, fundamentalmente de berberechos y almejas. Además, importantes cantidades de moluscos se están recogiendo actualmente en zonas donde nunca antes habían aparecido. Si se atiende a la serie histórica de producción de berberechos en el periodo comprendido entre 1997 y 2006, la cifra es muy baja en el año 2001. Este año se caracterizó por una pluviosidad singular e importante (30/01/2007, La Voz de Galicia). Debido a esta circunstancia, en los Lombos, la Xunta de Galicia puso en marcha en el año 2003 un plan especial para la regeneración del banco marisquero con objeto de mejorar la productividad del mismo y consolidar el nivel productivo del mismo (21/04/2006, La Voz de Galicia).

El fenómeno de desaparición y muerte de los moluscos puede estar relacionado con dos factores fundamentales: 1) Los cambios en la salinidad en algunas zonas del estuario, que repercuten en la mortandad de los moluscos. Estos cambios suelen producirse tras las avenidas asociadas a episodios de precipitaciones importantes, en las que la salinidad del agua se reduce hasta niveles incompatibles con la vida de los moluscos (30/11/2006, La Voz de Galicia); 2) La presencia del aprovechamiento hidroeléctrico de Portodemouros aguas arriba de la zona de estudio. Este aprovechamiento puede ser también el causante de la migración de las zonas tradicionales de marisqueo, ya que, durante las avenidas importantes, los caudales punta vertidos desde la presa pueden provocar el movimiento de los berberechos, con la puesta en suspensión de los mismos y su transporte por las corrientes.

Mariscadores y biólogos de la zona de Carril sostienen que la forma en la que el caudal se desaloja influye en la mortandad de los moluscos. Si la suelta de agua se hace en pleamar, el agua dulce y la salada se mezclan sin mayores problemas para el marisco, pero si coincide con la bajamar, el agua puede arrastrar el marisco, lo desentierra, dejándolo a merced de las corrientes y éste no encuentra fuerza para enterrarse de nuevo (07/04/2006, La Voz de Galicia).

Esta problemática no ha dejado indiferente a la sociedad gallega, muy dependiente de la actividad pesquera. Las quejas de parquistas y mariscadores apuntan directamente a la gestión de los aprovechamientos hidroeléctricos de Portodemouros, en el Ulla, y del Tambre (La Voz de Galicia: 28/03/2006, 27/10/2006). Sin embargo, no se puede ser tajante a la hora de vincular la

elevada mortandad con la apertura de los embalses, ya que no se disponen de todos los datos necesarios para sostener esta afirmación (07/04/2006, La Voz de Galicia).

En la primavera del año 2006 se produjo un episodio importante de descenso de salinidad en las rías gallegas (La Voz de Galicia: 30/03/2006, 29/03/2006, 07/04/2006). Como se ha comentado, este descenso está asociado habitualmente al incremento de caudal de los ríos en épocas de lluvia. Este efecto se amplifica cuando los vientos predominantes son del sur ya que remansan el agua dulce de los ríos evitando la entrada de agua salada a los estuarios y su mezcla con el agua dulce.

Aunque este proceso es importante en la zona de Carril, sobre la que se centra este trabajo, en la desembocadura del río Tambre, en la ría de Muros y Noia, y también en menor medida a las zonas de Moaña y Pontevedra, existen evidencias de reducción y muerte de moluscos (30/03/2006, La Voz de Galicia). Durante la primavera de 2006, las cofadrías cuantificaron las pérdidas económicas derivadas de la muerte de moluscos en el entorno del millón de euros (29/03/2006, La Voz de Galicia). Las zonas más afectas fueron las de Noia, Rianxo, Cabo Cruz, A Pobra y Carril.

Estos problemas de mortandad se han agudizado recientemente por las inundaciones producidas durante el invierno del año 2006. Al efecto de descenso de salinidad producido por la elevada pluviosidad y el aporte de caudal de los cursos fluviales, se añadió el del arrastre de lodos y cenizas originadas tras los incendios forestales acontecidos durante el verano (La Voz de Galicia, 28/10/2006).

Durante estas inundaciones nueve de los bancos marisqueros más importantes de la costa gallega se vieron afectados: los arenales de Beluso y a Torre en Rianxo; Mañóns, Barraña y A Retorta en Boiro; Os Raposiños en A Pobra así como varias playas de Carril, Lourizán y Poio (La Voz de Galicia, 21/12/2006). En algunas zonas se llegaron a retirar hasta capas de medio metro de fangos depositados sobre el sustrato arenoso de la desembocadura de las rías más afectadas (La Voz de Galicia: 12/10/2006, 13/10/2006, 24/10/2006).

Estas riadas de agua y lodo provocaron una importante mortandad en los bivalvos. Las almejas y berberechos cubiertos por la capa de lodos son incapaces de filtrar el agua y, por tanto, de alimentarse. Estos efectos se

notarán a medio plazo ya que el ciclo reproductivo de los moluscos se ha visto trastocado (26/10/2006, La Voz de Galicia).

2. OBJETIVOS Y ALCANCE DEL TRABAJO

En este trabajo se pretende abordar el fenómeno del comienzo del movimiento de los berberechos existentes en la ría de Arousa. En estudios previos centrados en este problema, se ha desarrollado un modelo de flujo para conocer la hidrodinámica existente con distintas condiciones de contorno y caudales (Peña *et al.*, 2004). De forma paralela, este trabajo pretende contribuir con el análisis experimental de las condiciones límite de movimiento de los berberechos.

Para ello, en primer lugar se ha realizado un estudio del coeficiente de arrastre de los berberechos depositados en un fondo de sedimentos, para analizar su comportamiento en el transporte por el fondo.

En segundo lugar, y en la hipótesis de que los berberechos sean removidos del fondo y puestos en suspensión, se desarrolla una metodología experimental para la obtención del coeficiente de arrastre de sedimentación.

La importancia y la influencia del movimiento de las conchas de diversos tipos de moluscos en los procesos de erosión en zonas costeras ha sido objeto de diversos y numerosos trabajos. A continuación se presentan los más importantes así como una pequeña descripción de los mismos.

Olivera y Wood (1997), determinaron las propiedades hidrodinámicas de 11 conchas de distintas familias de moluscos expuestas a una corriente de agua. Hay que indicar en este punto que, al igual como sucede con el trabajo presentado en líneas posteriores (Thompson y Amos, 2002), estos autores estudiaron medio molusco (una concha). Empleando técnicas de visualización de flujo, y a través de la medición de la presión alrededor de la concha, los autores determinaron los coeficientes de arrastre y sustentación de las conchas para las condiciones correspondientes al umbral del movimiento.

Thompson y Amos (2002), determinaron coeficiente de arrastre de conchas de berberechos depositadas en un fondo cohesivo. Para ello emplearon un anillo cilíndrico en el que se provocaba un flujo radial. Estos autores también determinaron el coeficiente de arrastre de sedimentación

de las conchas y la influencia de los procesos de erosión y saltación de las conchas en la erosión de suelos cohesivos.

En esta línea también se puede citar el trabajo de Amos *et al*. (2000), que cuantifica los efectos que provoca la saltación de otro tipo de moluscos, las minchas (o bígaros) (*littorina litorrea*), sobre la erosión de fondos marinos cohesivos. Con este propósito estos autores determinaron el coeficiente de arrastre de sedimentación de este tipo de bivalvos.

En todos estos estudios se presentaron coeficientes de arrastre para el umbral de movimiento de los moluscos depositados en el suelo y para la sedimentación de los mismos. En este trabajo se presentarán los resultados de la investigación realizada sobre una familia de berberechos de la ría del Ulla, divididos en dos partes.

En la primera, se ha realizado un análisis dinámico de las fuerzas que actúan sobre un berberecho entero, aislado y apoyado en un fondo granular. A partir del balance de fuerzas debidas a la acción de la corriente se obtendrá el coeficiente de arrastre para las condiciones de inicio del movimiento. Este estudio teórico está basado en los trabajos precedentes, pero se centra en el empleo de la tecnología Particle Image Velocimetry. Esta tecnología láser de alta definición permite obtener una alta precisión en la evolución de los perfiles de velocidad y, de este modo, conocer con exactitud la velocidad que arrastra los moluscos.

La segunda línea de investigación analiza los parámetros de caída de estos berberechos. De esta forma, se han obtenido también de forma experimental las velocidades de sedimentación y el coeficiente de arrastre de sedimentación. Al igual que en la parte anterior, se ha adaptado la metodología de otros estudios precedentes (Swamee y Ojha, 1991), obteniendo nuevos resultados que permitan avanzar en esta línea de trabajo. En la parte final se relacionan ambas líneas buscando relaciones que permitan comparar los factores involucrados.

3. CARACTERIZACIÓN DE LOS BERBERECHOS ANALIZADOS

3.1. Introducción

El berberecho es un molusco bivalvo perteneciente a la Familia Cardiidae. La familia de berberechos que existen en la Ría de Arousa es la *Cerastoderma edule*. El nombre científico deriva de las palabras griegas

Cerastos que significa cuerno, Dermos que significa piel y Edule que significa comestible. En algunas zonas estuáricas junto con esta especie puede aparecer otra denominada *Cerastoderma glaucum*. En Europa existen además otras especies de berberechos pertenecientes a los géneros *Parvicardium, Acanthocardia*, y *Laevicardium* (Tebble, 1966: citado en Santos, 2001).

El aprovechamiento de esta especie en España fue demostrado ya en el período Neolítico Antiguo (5000-4000 a. de C.) con los hallazgos de cerámica Cardial decorada con este molusco. En Galicia se encontraron depósitos más recientes con conchas de berberechos en numerosos yacimientos castreños.

La mayor producción en Galicia se da en la Ría de Arousa, debido a la amplia superficie que ocupan sus bancos marisqueros (Informe de los Recursos Marisqueros de la Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, 2000). Es necesario distinguir la producción de los bancos naturales de la de los parques de cultivo que son, en esta ría, muy importantes (Pérez Camacho y Román, 1985)

El berberecho *Cerastoderma edule* tiene una concha robusta de valvas iguales e inequilátera; de color blanco o amarillento, con 22-28 costillas radiales y con líneas concéntricas de crecimiento muy finas. La valva derecha presenta dos dientes posteriores. La charnela es heterodonta. Los anillos de la concha son discontinuidades de la calcificación y representan fases prolongadas de detención del crecimiento. El interior de las valvas presenta manchas de color marrón en la zona próxima al músculo aductor posterior y surcos que se prolongan hacia dentro a poca distancia del borde (Santos, 2001).

Vive poco enterrado en sedimentos arenosos de grano fino y blando de la zona intermareal. Las condiciones medioambientales de temperatura del agua de mar apropiadas oscilan entre un mínimo de 10º C y un máximo de 20º C, y las de salinidad entre un mínimo de 2 por mil hasta un máximo de 36 por mil. Puede soportar bruscas variaciones de salinidad y de temperatura con la condición de que duren poco tiempo.

3.2. Caracterización geométrica de los berberechos

Para realizar la caracterización geométrica de los berberechos de la ría del Ulla, se ejecutaron inicialmente unos ensayos previos con un gran

número de moluscos. Después, y tras un proceso de selección, se analizó en profundidad una muestra de 11 berberechos de la zona.

En primer lugar se midieron las longitudes principales en los tres ejes con un calibre de resolución de 0.5 mm. En la figura 3 se representan las longitudes características de los berberechos. Respecto a este parámetro, debemos indicar que la longitud máxima de los berberechos analizados oscila entre los 19 y 22 mm, siendo representativos del tamaño predominante en la zona de estudio.

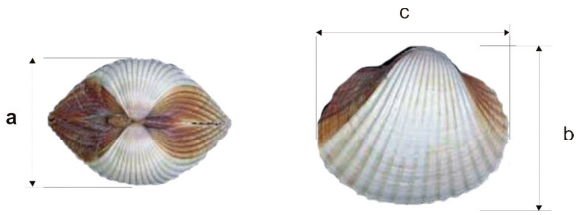

Figura 3. Longitudes características de los berberechos.

En los estudios de transporte de sedimentos, los parámetros fundamentales que caracterizan la movilización de las partículas son el diámetro medio y la densidad de las mismas. Del mismo modo, para determinar la movilidad de los berberechos o caracterizar su sedimentación, es necesario conocer estos parámetros.

3.2.1. Determinación del diámetro medio

Respecto al primer parámetro, hay que indicar que, como resulta obvio, la forma de este tipo de moluscos no es totalmente esférica, por lo que habrá que definir este parámetro. En estos casos, es habitual que el diámetro medio se calcule como el diámetro de la esfera que ocupa el mismo volumen que el cuerpo analizado:

$$D_n = \left(\frac{6 \cdot V_t}{\pi} \right)^{1/3} \qquad (1)$$

siendo D_n el diámetro medio del cuerpo y V_t su volumen.

Otro parámetro muy utilizado en los trabajos de investigación de esta área, es el factor de forma. Este parámetro se define como:

$$SF = \frac{d_{sh}}{\sqrt{d_i \cdot d_{max}}} \qquad (2)$$

donde d_{sh}, d_i y d_{max} son el diámetro menor, intermedio y máximo respectivamente.

En la Tabla 1 se presentan las longitudes características, el diámetro medio y el factor de forma de los berberechos analizados. El resultado más notable es que el factor de forma es aproximadamente constante para toda la familia de berberechos analizados, con un valor medio de 0.77 y una desviación típica de 0.04.

Tabla 1. Longitudes características (a: altura del berberecho, b: longitud en la dirección del flujo, c: anchura del berberecho perpendicular a la dirección del flujo), factor de forma y diámetro medio.

BERBERECHO	a (mm)	b (mm)	c (mm)	SF (-)	D_n (mm)
01	22.75	29.1	32.95	0.73	26.6
02	22.4	26.3	30.45	0.79	25.1
03	21	26.75	30.15	0.74	24.4
04	21	26.1	28.4	0.77	23.6
05	18.4	24.85	27.75	0.70	22.2
06	20.9	24.2	26	0.83	23.0
07	19.95	24.4	26	0.79	22.4
08	17.85	22.95	26.35	0.73	21.9
09	18.6	22.9	25	0.78	21.1
10	18.55	23.7	26	0.75	22.0
11	19.7	23.35	25.8	0.80	21.5

3.2.2. Determinación de la densidad de los berberechos

Para determinar la densidad de los moluscos, se ha empleado la siguiente ecuación:

$$\rho_c = \frac{m_s + m_w}{V_t} = \frac{\rho_s \cdot V_s + \rho_w \cdot V_w}{V_t} \qquad (3)$$

siendo ρ_w y ρ_s la densidad del agua y la concha respectivamente, V_s el volumen desplazado únicamente por la concha y V_t el volumen desplazado por todo el berberecho (cuando se encuentra cerrado).

En esta fórmula se asume implícitamente que la densidad de las viandas (el cuerpo comestible de los berberechos), posee la misma densidad que el agua. De este modo, en la fórmula anterior se expresa que todo el interior del berberecho está lleno de agua.

Para confirmar esta hipótesis, se realizó un ensayo con 15 viandas para determinar su densidad. Para ello, se pesaron tras extraerlas de los berberechos y se midió el volumen desplazado por las mismas. De este ensayo se obtuvo una densidad media para las viandas de 1.05 g/cm^3, muy similar a la del agua por lo que hipótesis anterior se asume como válida.

Para calcular la densidad de los berberechos en primer lugar se determinó el volumen desplazado por cada pareja de conchas y se pesaron. A continuación se estimó el volumen total de cada molusco. Para ello, cada uno de los berberechos se rellenó de arcilla y se cerró para, posteriormente, medir el volumen de agua desplazado. Para la realización de estas determinaciones se empleó una pipeta con una precisión de 0.1 mL.

En último lugar, y a partir de la fórmula siguiente, se calculó la masa del agua existente en el interior de cada berberecho.

$$m_w = (V_t - V_s) \cdot \rho_w \qquad (4)$$

Llegados a este punto hay que señalar que todo este proceso es similar al desarrollado en otros trabajos (p. ej. Amos *et al.*, 2000), y que los experimentos se realizaron con agua dulce.

En la Tabla 2 se presenta el valor de los volúmenes de la concha y de todo el berberecho (V_s y V_t), así como sus densidades (ρ_s y ρ_c). En la misma, se puede observar que las densidades de las conchas y de los berberechos son aproximadamente constantes. Así, se ha determinado un valor de 1.40 g/cm^3 para la densidad de los berberechos, con una desviación típica de 0.04, mientras que para las conchas estos valores son 2.27 g/cm^3 y 0.07 respectivamente. Hay que señalar que este último valor concuerda con lo esperable ya que aunque las conchas están formadas fundamentalmente por calcita (que posee una densidad aproximada de 2.6 g/cm^3), éstas también presentan estructuras orgánicas como colágenos que dan cohesión al material y, por otra parte, proporcionan cierta porosidad a la estructura.

Tabla 2. Masa, volumen y densidad de las conchas y de los berberechos analizados. 4.

BERBERECHO	m_s (gr)	V_s (ml)	ρ_s (g/cm^3)	V_t (ml)	ρ_c (g/cm^3)
01	8.23	3.9	2.14	9.8	1.44
02	5.87	2.9	2.28	8.3	1.36
03	5.63	2.5	2.27	7.6	1.41
04	5.15	2.1	2.34	6.9	1.44
05	3.95	1.9	2.18	5.7	1.36
06	4.69	1.9	2.25	6.4	1.44
07	4.57	1.9	2.41	5.9	1.45
08	3.86	1.8	2.32	5.5	1.37
09	3.39	1.7	2.24	4.9	1.34
10	3.73	1.7	2.26	5.6	1.36
11	4.15	1.9	2.25	5.2	1.43

4. ENSAYOS DE ARRASTRE

4.1. Introducción

En esta primera parte del trabajo, se presenta un estudio hidrodinámico en el que se analiza y calcula el coeficiente de arrastre de un berberecho aislado depositado sobre un lecho granular. Los principios que se emplearán para la estimación de este coeficiente son básicos en la mecánica de fluidos, y se han empleado en otros trabajos para estudiar el movimiento y transporte de conchas de moluscos en entornos naturales (p.ej. Olivera y Wood, 1997).

Una forma de aproximación al problema es analizar la estabilidad de las conchas en un flujo de agua, obteniendo las condiciones relativas al umbral de movimiento. Por otro lado, también puede estudiarse la relación entre la forma de la concha y las fuerzas que actúan sobre ella. Este trabajo de investigación se centra en la primera parte, ya que los berberechos *Cerastoderma edule* que han sido estudiados poseen un factor de forma aproximadamente constante (como se recoge en la Tabla 1). Para abordar el estudio de la relación entra las fuerzas y la forma de las conchas se tendrían que analizar distintos tipos de moluscos o, al menos, una familia con distintos factores de forma.

4.2. Estudio teórico

En este apartado se desarrollará el análisis de fuerzas y los parámetros involucrados con el comienzo del movimiento de los berberechos. Este

análisis se hace partiendo de las siguientes hipótesis: i) El berberecho está colocado sobre un lecho plano de arena; ii) el berberecho está aislado, no existen efectos de acorazamiento o interacción con otros berberechos cercanos; iii) el berberecho se coloca de espaldas al flujo. Esta colocación, se ha seleccionado siguiendo la metodología de otros estudios similares (Olivera y Wood, 1997, Amos *et al.*, 2002).

De este modo, las fuerzas que actúan sobre un berberecho sumergido son las siguientes (ver Figura 4):

El peso sumergido F_W.
La fuerza de arrastre F_D, debida al flujo.
La fuerza de rozamiento entre el berberecho y el fondo de arena, F_F.
La fuerza normal F_N.

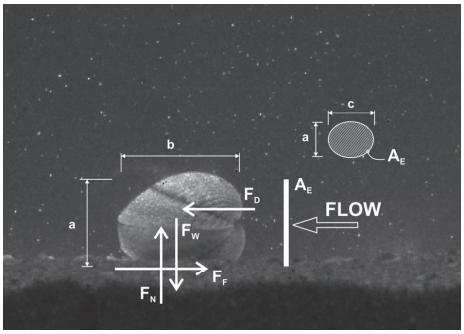

Figura 4. Longitudes características y balance de fuerzas que actúan sobre un berberecho expuesto al flujo.

Peso sumergido

Para estimar el peso sumergido se ha empleado la siguiente expresión, donde la densidad del berberecho y el volumen total del mismo se han obtenido en el apartado 3.2.

$$F_W = (\rho_c - \rho) \cdot V_t \cdot g \qquad (5)$$

Fuerza de fricción

Para calcular la fuerza de rozamiento entre el berberecho y el lecho de arena se realizaron varios ensayos en los que se midió el ángulo de rozamiento entre el berberecho y la arena de la zona de estudio.

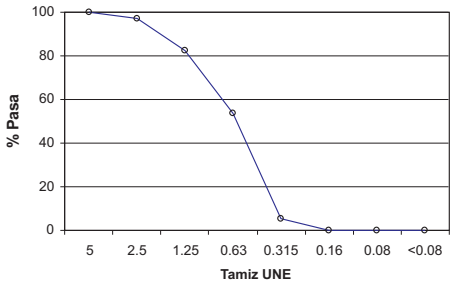

Figura 5. Granulometría de la arena de los Lombos do Ulla

En primer lugar, y siguiendo la metodología de la UNE EN 933:2, se realizó la granulometría de la arena de los Lombos. Del análisis de la granulometría (ver Figura 5), se puede deducir que el sedimento de la zona es graduado, con un diámetro medio de 1.07 mm y un coeficiente de gradación $\left(\sqrt{d_{84} / d_{16}}\right)$ de 2.16.

El ángulo de rozamiento entre los berberechos y el lecho de sedimentos se determinó siguiendo la metodología propuesta por Thompson y Amos (2002). Esta consiste en colocar el berberecho sobre una tabla sumergida a la que se pegó una capa de arena de la zona (ver Figura 5). El ángulo de fricción se define como el ángulo a partir del cual el berberecho comienza a deslizar por la tabla.

Una vez determinado el ángulo de rozamiento, se puede definir la fuerza de fricción como:

$$F_F = F_N \cdot \mu = F_N \cdot tg\phi \qquad (6)$$

siendo ϕ el ángulo de rozamiento entre el berberecho y la arena.

Cuando el berberecho comienza a deslizarse, la ecuación anterior se convierte en:

$$F_F = F_W \cdot tg\phi \qquad (7)$$

Se realizaron dos ensayos de rozamiento en cada berberecho, obteniendo un ángulo de rozamiento medio de 29.1º. Este ángulo se corresponde con coeficiente de rozamiento medio de 0.53 (con una desviación estándar de 0.023). Para asegurar que la arena deslizaba sobre si misma después de que deslizase el berberecho, se realizaron 3 ensayos con arena, obteniendo un ángulo de rozamiento medio de 35.7º.

Tabla 3. Coeficiente de rozamiento de los berberechos con la arena de los Lombos.

BERBERECHO	tg ϕ
01	0.5518
02	0.5127
03	0.4816
04	0.5627
05	0.5127
06	0.5338
07	0.5374
08	0.5232
09	0.5232
10	0.5482
11	0.5022

Es importante destacar que no se ha encontrado ninguna relación entre las conchas y su ángulo de rozamiento, ya que el valor obtenido es razonablemente constante. En el estudio realizado por Thompsom y Amos (2002) sobre conchas de berberechos (medio berberecho), estos autores encontraron una relación entre el tamaño de la concha y el ángulo de rozamiento, pero hay que destacar que el sustrato de análisis era cohesivo y que el trabajo se realizó con berberechos con diferencias apreciables de tamaño entre ellos.

Fuerza de arrastre

La fuerza de arrastre causante del movimiento de los berberechos se ha calculado empleando la siguiente expresión:

$$F_D = \frac{1}{2}\rho \cdot U^2 \cdot A_e \cdot C_D \qquad (8)$$

siendo C_D el coeficiente de arrastre, A_E el área de la sección perpendicular al movimiento del fluido (calculada como el área del elipsoide de ejes a-c, como se puede apreciar en la Figura 3) y U es la velocidad del flujo.

Aunque los esfuerzos de arrastre se dividen en esfuerzos de presión y de fricción es habitual usar una única expresión para calcular la resistencia total de un cuerpo al flujo (Franzini y Finnemore, 2004). Además, la relación entre las fuerzas de fricción y presión decrece a medida que la turbulencia del flujo aumenta. De este modo, a partir de un número de Reynolds aproximadamente igual a 1000, la fuerza de fricción es una componente despreciable del esfuerzo total de arrastre (Olivera y Wood, 1997).

Por otro lado existe una fuerza de sustentación que no se ha contemplado en el balance de fuerzas realizado en este trabajo. Al contrario que en los ensayos de sedimentación de berberechos, que se expondrán en el epígrafe siguiente, en los ensayos de movimiento los esfuerzos de arrastre no son simétricos y por tanto, aparecerán unas fuerzas de sustentación que facilitarán el movimiento de los berberechos (ver Figura 7). Sin embargo, algunos trabajos indican que con secciones de moluscos interpuestas al flujo (A_E) inferiores a los 35 cm^2, como ocurre en nuestro caso, las fuerzas de sustentación son despreciables (Olivera y Word, 1997).

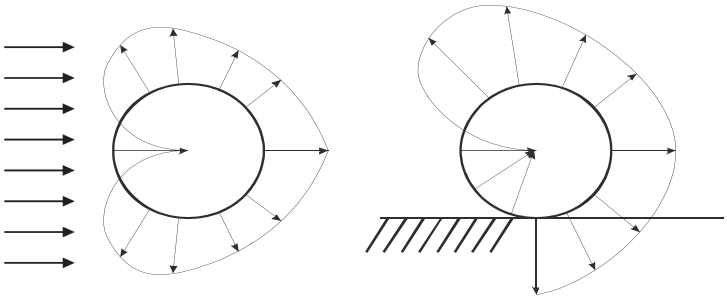

Figura 7. Distribución de esfuerzos de arrastre sobre un cuerpo expuesto a un flujo. A la izquierda no existen efectos de borde y los esfuerzos son simétricos, a la derecha el contorno provoca la aparición de las fuerzas de sustentación (modificado de Sumer y Fredsøe, 1997).

Una vez que se han definido todas las fuerzas, se puede establecer el equilibrio de fuerzas justo en el umbral del movimiento. Igualando las fuerzas de fricción y de arrastre, la única incógnita es el coeficiente de arrastre, siempre que se conozca la velocidad del fluido.

$$C_D = \frac{tg\phi \cdot F_W}{\frac{1}{2}\rho \cdot A_e \cdot U^2} \qquad (9)$$

4.3. Aplicación de la técnica PIV para la determinación del coeficiente de arrastre.

La posibilidad de introducir un haz láser en el medio de un fluido para realizar medidas del campo de velocidades es una técnica conocida sólo desde hace dos décadas y en pleno auge de desarrollo. La aplicación de la técnica PIV (Particle Image Velocimetry) a la medición de los campos

de velocidades en el umbral de movimiento del berberecho es una de las mayores contribuciones de este trabajo.

Esta tecnología presenta dos ventajas fundamentales respecto a otros métodos de hidrométricos. En primer lugar, la aplicación de un haz láser en el medio fluido para realizar dicha medición es una técnica claramente no intrusiva, lo que acaba siendo fundamental en los casos donde el espacio de trabajo es limitado, o cuando la instrumentación es excesivamente grande en proporción al ámbito de estudio. Por otra parte, y quizás más importante aún, es la posibilidad que ofrece el PIV de obtener el mapa de velocidades en uno o varios planos, en cada instante, en tiempo real.

Instalaciones e Instrumentación empleada

Los ensayos fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Hidráulica de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos de la Universidade da Coruña. El circuito hidráulico de este laboratorio está dotado con dos bombas, que pueden aportar hasta un caudal máximo de 70 l/s al canal rectangular de sección 0.5x0.5 metros, y 15 metros de longitud. La pendiente del canal es variable entre 2.5% y –0.5% (pendiente adversa), y el coeficiente de Manning es aproximadamente de 0.011.

El canal de ensayo dispone de una compuerta en su parte final que permite variar la cota de vertido al depósito inferior, desde el cual se recircula el agua gracias a las dos bombas ya comentadas, y de esta forma condicionar los niveles aguas arriba. Los valores del caudal, pendiente y altura de la compuerta son modificados desde un ordenador que centraliza la información, y que permite un cómodo y rápido ajuste de los valores de estas variables.

Figura 8. Canal de ensayos del Laboratorio de Hidráulica de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos

Como puede comprobarse en la fotografía anterior, el canal de este laboratorio contiene elementos metálicos y paneles de cristal en las paredes laterales. Este aspecto es fundamental desde el punto de vista de la instrumentación empleada, ya que para el trabajo con PIV se requiere que los laterales del canal de trabajo sean transparentes.

El montaje experimental de un equipo de Velocimetría de Imágenes de Partículas (PIV) puede verse en la siguiente figura (Fig. 9). La base de la técnica consiste en introducir en el medio fluido un plano de luz láser e iluminar con él las partículas en suspensión del mismo, ya sean éstas introducidas artificialmente o no.

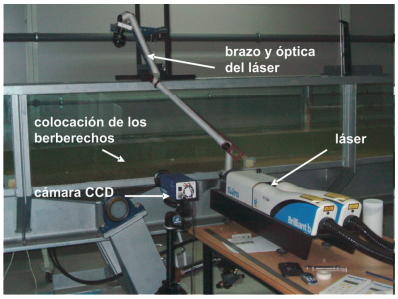

Figura 9. Colocación de la instrumentación para la realización de los ensayos.

El haz láser emite pulsos de duración muy breve (varios nanosegundos) y un equipo de cámaras fotográficas capta dos imágenes muy próximas en el tiempo. La variación de la posición en ese tiempo de las partículas en suspensión entre las dos imágenes aproxima con mucha precisión el campo de velocidades del fluido. El software del sistema utiliza técnicas de correlación estadística para localizar las partículas y seguir su movimiento. El esquema de funcionamiento se presenta en la Figura 10.

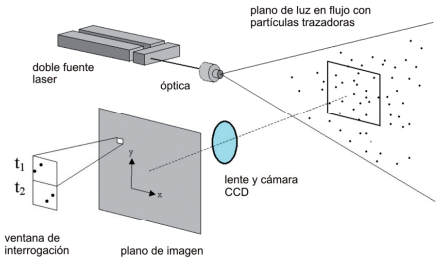

Figura 10. Esquema básico de funcionamiento de las técnicas PIV

El sistema consta por tanto de varias partes que se describen brevemente a continuación:

Fuente Láser

La mayor parte de los equipos de PIV modernos utilizan fuentes láser de Nd:YAG pulsadas, capaces de concentrar su energía en varios nanosegundos y de ese modo 'congelar' las imágenes que obtienen las cámaras. Un tubo articulado con espejos en los codos dirige el haz al punto de medida y una óptica especial transforma el haz láser en un plano para la obtención de todo un campo en dos dimensiones (ver Figura 11). Para separar en el tiempo de manera continua las dos imágenes tomadas se emplean dos fuentes láser gemelas.

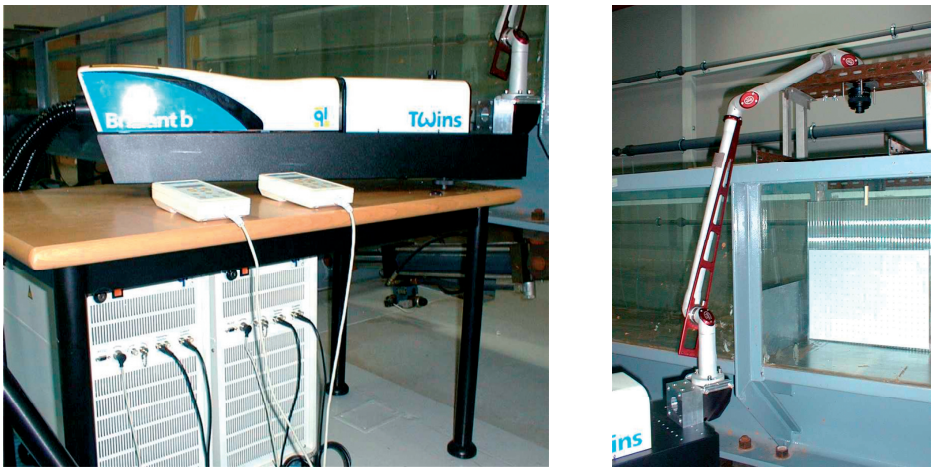

Figura 11. Fuentes láser del equipo PIV

Cámaras CCD

Los equipos modernos de PIV toman sus imágenes con cámaras digitales CCD (*Charged Coupled Devices*) de modo que éstas se almacenan inmediatamente en el ordenador sin necesidad de un revelado y digitalizado posterior. Estas cámaras son capaces de tomar dos imágenes separadas por un intervalo de tiempo muy breve y transferirlas al ordenador que controla el proceso de forma individual o como secuencias para el estudio de un proceso en régimen transitorio.

Figura 12. Cámara CCD del equipo PIV.

Procesado de imágenes

El sistema se completa con un software de procesado de imágenes que separa en pequeñas partes el campo de imagen –ventanas de interrogación- y busca en ellas las partículas para evaluar su desplazamiento en el intervalo de tiempo elegido. Éste puede ajustarse en función de la velocidad media del flujo para que las partículas no salgan de la ventana de interrogación.

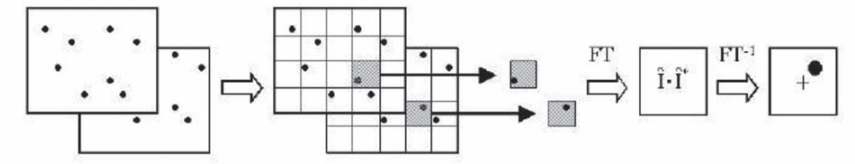

Figura 13. Procedimiento de obtención de las velocidades en las ventanas de interrogación

En este proceso además se corrigen las posibles distorsiones que produce la óptica de la cámara mediante un proceso de calibración con una plantilla introducida en el medio fluido en la que el software reconoce una serie de marcas.

El resultado de este proceso es la obtención de campos vectoriales como los de la Figura 14.

Para la realización de los ensayos se dispuso una capa de arena de unos 10 cm de espesor de los *Lombos*. Los berberechos se colocaron sobre la arena, sin enterrar, con objeto de conocer los parámetros que caracterizan el movimiento una vez los berberechos reposan sobre el fondo. La pendiente del canal fue de 0.1% en todos los ensayos realizados. La influencia que esta pendiente provoca sobre el equilibrio de fuerzas se puede despreciar ya que se introduce un error relativo en la estimación de las fuerzas inferior al 0.5%.

Por último debemos indicar que la frecuencia de adquisición de imágenes fue de 2.5 Hz. De este modo, se pueden analizar hasta 2.5 campos vectoriales de velocidad por segundo y conocer con mucho detalle el comportamiento hidrodinámico del flujo en el instante en que el berberecho comienza a deslizar sobre la arena. El intervalo entre dos disparos consecutivos del láser fue 5500 microsegundos en todos los ensayos realizados.

Determinación de las velocidades del flujo y del coeficiente de arrastre

Como ya se ha comentado, las velocidades del flujo fueron determinadas a partir de los campos de velocidades obtenidos con el PIV en el canal hidráulico del Laboratorio de la E.T.S.C.C.P. Se realizaron un total de 22 ensayos (dos por cada berberecho analizado). La velocidad media correspondiente al umbral de movimiento de los berberechos osciló entre 0.33 y 0.45 m/s (ver Tabla 4).

Los resultados obtenidos permiten representar el campo de velocidades correspondiente al umbral de movimiento de cada berberecho. Además, se puede analizar con detalle el perfil de velocidades en una sección aguas arriba del berberecho o sobre el mismo. En la figura 14 se presenta a la izquierda el campo de velocidades calculado para el berberecho 02, mientras que a la derecha se presenta el perfil de velocidades aguas arriba del mismo.

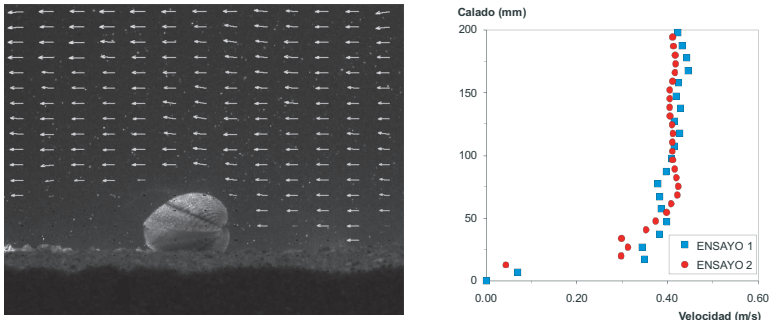

Figura 14. Campo de velocidades y perfil de velocidades para el berberecho 2.

Debido a la gran resolución con la que se obtiene el perfil de velocidades se pueden analizar distintos valores de la velocidad y, por tanto, del coeficiente de arrastre. La obtención de este parámetro se ha realizado con tres valores distintos de la velocidad: la media, obtenida con el perfil completo de velocidades (C_D), la velocidad media obtenida con el perfil de velocidades hasta la altura del berberecho (C_{Dc}), y la velocidad que incide tangencialmente sobre la parte superior del mismo ($C_{D\tau}$). De esta forma, se obtienen tres familias de valores distintos del coeficiente de arrastre con cada velocidad (ver Tabla 4). En esta tabla también se indican el número de Reynolds (Re), tomando como longitud característica el calado, y el número de Reynolds granular de cada berberecho (Re_c). Para calcular este parámetro se toma como altura característica la dimensión *a* del molusco y la velocidad media del flujo.

Tabla 4. Velocidad media, número de Reynolds del flujo y granular, y coeficientes de arrastre

BERBERECHO	U	Re	Re_c	C_D	C_{Dc}	$C_{\Delta\tau}$
01	0.4529	905839	10303.9	0.393	3.289	0.552
02	0.3534	830490	7916.2	0.500	2.165	0.565
03	0.3309	946340	6948.6	0.544	3.617	0.652
04	0.4120	935240	8652.0	0.411	1.445	0.358
05	0.3445	819910	6338.8	0.445	2.662	0.676
06	0.4231	858893	8842.8	0.406	2.89	0.750
07	0.4099	860790	8177.5	0.411	3.879	0.787
08	0.4260	1000983	7603.2	0.334	2.786	0.665
09	0.3551	894852	6604.9	0.414	1.593	0.413
10	0.3750	900000	6956.3	0.421	2.337	0.658
11	0.3378	895170	6654.7	0.498	3.813	0.509
Valor medio				0.434	2.771	0.599
Desviación estándar				0.060	0.838	0.134

El objetivo del análisis que sigue a continuación es estudiar la variabilidad de los resultados obtenidos, identificando los valores que pueden considerarse de mayor relevancia en el comienzo del movimiento. Como puede comprobarse, los resultados muestran variaciones significativas en función de las velocidades analizadas.

Los valores obtenidos con el perfil completo de velocidades son los que reflejan una dispersión menor, con un valor medio de 0.434. La utilización de la técnica PIV permite una medición precisa de dicho perfil y un mejor ajuste del parámetro. Este procedimiento de obtención del coeficiente de arrastre es el utilizado en otros estudios similares (Thompson and Amos, 2002), obteniendo como se ha reflejado un valor constante para esta familia de berberechos, al igual que el factor de forma.

Sin embargo, en el presente estudio también se considera de especial relevancia el resultado obtenido con la velocidad tangencial. Se puede imaginar un caso teórico de régimen laminar, en el cual la velocidad en la parte superior del fluido es significativamente distinta a la que actúa en el fondo. Aunque el régimen existente en nuestro caso sea turbulento, el perfil completo de velocidades tiene relevancia en el empuje sobre los berberechos, pero consideramos que las velocidades en el entorno de los mismos son las que tienen mayor importancia en el comienzo del movimiento. Además, la obtención de este valor puede obtenerse fácilmente con la técnica PIV, aportando un valor añadido en el uso de esta instrumentación en el problema estudiado, ya que el cálculo con la velocidad media puede realizarse con otros procedimientos más sencillos. Dicho de otra forma, la velocidad que incide tangencialmente sobre el berberecho es más intrínseca al fenómeno del comienzo del movimiento de los berberechos. La dispersión de los resultados es mayor, pero el valor medio es considerado válido y coherente en el estudio realizado.

Por último, los valores obtenidos con el perfil de velocidades que incide únicamente hasta la altura del berberecho, y que también pueden considerarse representativos del fenómeno reflejan mayor dispersión, y con valores muy diferentes entre sí. Este resultado puede considerarse lógico en esta familia de berberechos, debido a la dificultad de medir en una altura tan reducida.

En la tabla siguiente se comparan los valores obtenidos en este estudio con los de otros estudios similares y las variaciones respecto a otros cuerpos.

Es importante remarcar que los trabajos desarrollados por Olivera y Wood consistieron en el análisis de 11 conchas sueltas de 11 tipos distintos de moluscos. Para ello realizaron una serie de modelos de material plástico de cada concha y los ensayaron en un canal hidráulico. Los valores que proporciona el trabajo de Thompson y Amos vienen del análisis de una serie de conchas de berberecho con una variación importante en el tamaño de las mismas (desde 11 mm a 37 mm). Las principales diferencias entre los ensayos con berberechos enteros y con conchas sueltas están en la forma del cuerpo expuesto al flujo y en el peso del mismo, ya que las conchas han perdido su volumen interior.

Tabla 5. Coeficientes de arrastre para distintos cuerpos y para los berberechos analizados.

REFERENCIA	CUERPO	LECHO	C_D	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
Este estudio	Berberechos del Ulla	Sedimentos granulares	0.434 [1] – 0.599 [2]	0.06 [1] – 0.13 [2]
Olivera y Wood, 1997	Conchas sueltas de moluscos	Canal hidráulico	0.1 – 1.1	---
Thompson y Amos, 2002	Conchas sueltas de berberechos	Sedimentos cohesivos	0.27	0.15

[1] . Valor obtenido con la velocidad media
[2] . Valor obtenido con la velo cidad tangencial sobre el berberecho

La comparación muestra que los valores obtenidos con esta familia de berberechos son superiores a los obtenidos con conchas sueltas. Además, los resultados permiten afirmar que la metodología empleada es aceptable tanto con los valores obtenidos con el perfil completo de velocidades como con los obtenidos a partir de la velocidad tangencial sobre el berberecho, cuyo valor es considerado más intrínseco al comienzo del movimiento de los berberechos.

5. ENSAYOS DE SEDIMENTACIÓN

5.1. Introducción

El principal objetivo de esta segunda parte de la investigación es realizar una caracterización de los parámetros relacionados en la sedimentación de los berberechos, como continuación del análisis hidrodinámico de los mismos.

Este tipo de ensayos podrían emplearse para caracterizar el movimiento de los berberechos una vez que estos son puestos en suspensión por el flujo. El proceso de puesta en suspensión y posterior descenso de las conchas de varios moluscos posee cierta importancia en la erosión de fondos marinos cohesivos. Este incremento en las tasas de erosión ha sido descrito por Amos *et al*. (1998) y se conoce como *Ballistic Momentum Flux*. Como resultado de la puesta en suspensión de los moluscos, se produce una deformación y posterior erosión del lecho marino. Tras el impacto del molusco contra el suelo, éste rueda por el fondo hasta que nuevamente se pone en suspensión. En la Figura 15 se esquematiza este proceso.

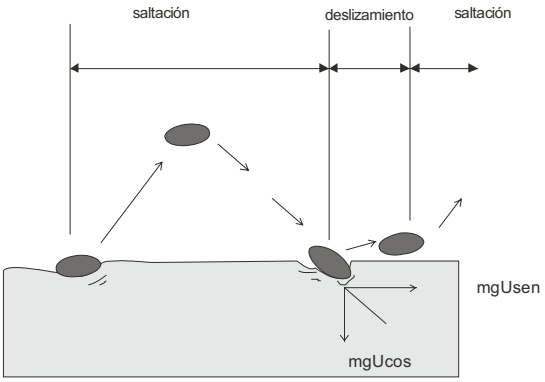

Figura 15. Esquema de la puesta en suspensión e impacto de los moluscos en el fondo marino (Amos et al., 1998)

5.2. Descripción del ensayo

El ensayo de sedimentación se realizó en una columna de sedimentación con 1.8 metros de altura rellena de agua dulce. Cada berberecho se analizó individualmente repitiéndose el ensayo de sedimentación tres veces. Se midieron los tiempos que cada molusco tardaba en recorrer toda la columna de sedimentación y también se grabó un tramo de la columna de sedimentación en video digital.

El tramo de análisis se situó aproximadamente a una altura de 0.7 m del suelo hasta 1.2 m. De este modo se pudo analizar la velocidad terminal de caída sin tener en cuenta la influencia del primer tramo de ensayo, en el

que el berberecho acelera hasta alcanzar dicha velocidad (momento en el cual la aceleración del cuerpo es nula). Como más adelante se detallará, ya en los 15 centímetros iniciales se alcanza la velocidad terminal de caída, que se corresponde con un intervalo de tiempo de medio segundo desde el inicio del ensayo.

En los ensayos de sedimentación de conchas de moluscos realizados por Metha *et al*. (1980) se identifican dos modos de sedimentación. El primer modo, que denominan estable, se caracteriza porque las fuerzas hidrodinámicas de presión y las fuerzas de rozamiento se equilibran y el cuerpo cae siguiendo una trayectoria rectilínea. En el segundo caso el cuerpo sedimenta describiendo trayectorias curvilíneas. En nuestro caso los berberechos descendieron girando alrededor del eje descrito por la trayectoria de sedimentación, y alejándose una pequeña distancia del mismo. Un análisis detallado de las as trayectorias de sedimentación con distintos cuerpos pueden consultarse por ejemplo en Chien y Wan (1999).

En el análisis experimental realizado, las grabaciones de video digital aportan un valor medio de la velocidad de caída (W_s) constante para todos los berberechos, e igual a 0.36 m/s (desviación estándar de 0.03 m/s). Este dato puede considerarse válido, ya que se encuentra en el intervalo de valores que se aporta en el estudio antes mencionado (entre 25.1 cm/s y 41.6 cm/s), y que corresponde a trayectorias de sedimentación como la realizada por los berberechos estudiados. En los estudios realizados con sedimentos con diámetros entre 20 y 25 milímetros, la velocidad de caída tiene un valor aproximado de 0.48 cm/s (Julien, 1995).

Para obtener el tiempo en el que se alcanza la velocidad terminal de caída, se ha aplicado la metodología propuesta en otros estudios anteriores (Allen, 1992, Amos et al. 2000). En primer lugar se realiza el balance de masas que actúan en una esfera que sedimenta a la velocidad terminal. A partir de este análisis, e introduciendo la ley de Stokes, se puede llegar a una relación entre un tiempo de referencia (T_t), relacionado con la forma y la densidad del objeto, y el tiempo en alcanzar la velocidad terminal de sedimentación, igual a 2.64. El tiempo de referencia se define como:

$$T_t = \frac{1}{\sqrt{ab}},\ a = g\left(1 - \frac{\rho}{\rho_c}\right),\ b = \frac{3C_{Ds}}{4D_n}\left(\frac{\rho}{\rho_c}\right) \qquad (10)$$

siendo C_{Ds} es el coeficiente de arrastre de sedimentación y D_n el diámetro equivalente del cuerpo, correspondiente al diámetro de la esfera con el mismo volumen que el berberecho.

Esta metodología necesita introducir los valores de dos parámetros: C_{Ds} y D_n. Utilizando los valores presentados en el apartado siguiente y la densidad de los berberechos (ver Tabla 1), se obtiene el tiempo para alcanzar la velocidad terminal de caída de cada uno de los berberechos.

El tiempo máximo calculado es de 0.35 segundos, correspondiente al berberecho 09, mientras que el tiempo medio de todos los berberechos obtenido es de 0.32 segundos, que representa un 5% del tiempo medio total que tardaron los cuerpos en recorrer toda la columna de sedimentación.

5.3. Cálculo del coeficiente de arrastre de sedimentación

En este apartado se presentan los valores del coeficiente de arrastre de sedimentación. Estos resultados pueden servir para conocer mejor el comportamiento hidrodinámico de esta familia de berberechos una vez que han sido removidos del lecho.

El análisis se ha realizado a través de dos enfoques diferentes, denominados experimental y numérico, y que se han comparado posteriormente para comprobar que la metodología desarrollada ha sido acertada.

Aproximación experimental

En este apartado se ha utilizado el valor de la velocidad de caída obtenido experimentalmente y presentado en el apartado anterior. De esta forma, y siguiendo la metodología descrita por Swamee y Ojha (1991) para sedimentos granulares no esféricos, se puede calcular el coeficiente de arrastre de los berberechos durante la sedimentación.

La utilización de esta metodología, inicialmente definida para sedimentos, ha sido elegida por dos razones. En primer lugar, porque es una herramienta que puede adaptarse fácilmente a otros cuerpos no esféricos como pueden ser esta familia de berberechos. Además, los resultados obtenidos se pueden analizar y comparar con los existentes en sedimentos de tamaños similares.

Esta metodología comienza definiendo el diámetro nominal para una partícula no esférica de volumen V_t a partir de la siguiente expresión:

$$D_n = \left(\frac{6 \cdot V_t}{\pi} \right)^{1/3} \tag{11}$$

Para calcular el número de Reynolds granular y el coeficiente de arrastre se emplean las siguientes expresiones:

$$Re_s = \frac{W_s \cdot D_n}{\upsilon} \tag{12}$$

$$C_{Ds} = \frac{4 \cdot (\rho_c - \rho) \cdot g \cdot D}{3 \cdot \rho \cdot W_s^2} \tag{13}$$

siendo R_{es} el número de Reynolds granular y ν la viscosidad cinemática del agua.

En la tabla 6 se presentan los resultados obtenidos para la familia de berberechos analizada.

Tabla 6. Diámetro equivalente, número de Reynolds y coeficiente de arrastre para la sedimentación de los berberechos analizados.

BERBERECHO	D_n (mm)	R_{es}	C_{Ds}(exp)
01	26.6	8918	1.360
02	25.1	8437	1.042
03	24.4	8193	1.165
04	23.6	7933	1.211
05	22.2	7444	0.924
06	23.0	7737	1.164
07	22.4	7530	1.176
08	21.9	7356	0.951
09	21.1	7078	0.843
10	22.0	7400	0.926
11	21.5	7219	1.078

El coeficiente de arrastre medio obtenido es de 1.08, con una desviación estándar de 0.16. Al igual que en el apartado anterior, este valor es comparado con otros estudios realizados en este campo (ver Tabla 7).

Tabla 7. Coeficiente de arrastre de sedimentación para varios cuerpos.

REFERENCIA	CUERPO	C_D		W_s (m/s)
		Valor medio	Desviación Estándar	
Este estudio	Berberechos del Ulla	1.08	0.16	0.36
Thompson y Amos (2002)	Conchas sueltas de berberechos	0.30	0.11	0.47
Amos et al. (2000)	Bígaros o Minchas	1.5	N/D	0.32
Swamee y Ojha (1991)	Esfera	0.34-0.46	N/D	N/D
Chien y Wan (1999)	Discos circulares	0.48-1.63	N/D	0.42 –0.25

Hay que señalar que los coeficientes de arrastre proporcionados por el trabajo de Swamee y Ojha (1991) hacen referencia a la sedimentación de partículas esféricas en agua dulce. Para los berberechos analizados los resultados obtenidos son aceptables ya que sus trayectorias de sedimentación pueden caracterizarse como de oscilación y rotación. Este tipo de trayectorias son descritas por Chien y Wan (1999), para discos circulares. De esta forma, el rango de resultados de los parámetros de sedimentación (CDs y Ws), es coherente con los resultados en otros cuerpos que también describen estas trayectorias. La mayor diferencia se produce con las minchas o bígaros, que tienen forma helicoidal y cuya trayectoria de sedimentación no está definida (Amos et al, 2000).

Por lo tanto, en el estudio de la sedimentación los resultados muestran mayor similitud con cuerpos asimétricos que con esferas. Las diferencias de valores respecto a este cuerpo simétrico se deben a la propia naturaleza y a la forma distinta de los berberechos. Esta afirmación se ve reforzada al considerar el efecto del factor de forma, analizado en el siguiente apartado.

Influencia del factor de forma. Aproximación numérica.

Para profundizar en el estudio y definición del coeficiente de arrastre de sedimentación se ha realizado un cálculo a partir de las formulaciones existentes en la literatura internacional. En la metodología propuesta de nuevo por Swamee y Ojha (1991), se definen tres fórmulas de cálculo del coeficiente de arrastre, en función del objeto analizado.

Para partículas esféricas se puede calcular el coeficiente de arrastre con la siguiente expresión, válida para números de Reynolds granulares entre 2000 y 20000.

$$C_D = 0.133 \cdot Re_c^{0.125} \qquad (14)$$

La segunda y tercera formulaciones han sido desarrolladas por dichos autores a partir de la información de numerosos ensayos de sedimentación con partículas no esféricas. El coeficiente de arrastre se obtiene en este caso a partir del número de Reynolds granular (para la velocidad de sedimentación) y del factor de forma (*SF*). La primera formulación (ecuación 15) corresponde a sedimentos naturales redondeados (aluviales), y la segunda (ecuación 16) a sedimentos con aristas (como áridos de machaqueo). En ambos casos se asume que los objetos tienen una densidad constante.

$$C_{Ds} = 0.84\left[\frac{33.78}{\left(1+4.5\cdot SF^{0.35}\right)^{0.7} Re_s^{0.56}} + \left(\frac{Re_s}{Re_s+700+1000\cdot SF}\right)^{0.28} \frac{1}{\left(SF^4+20\cdot SF^{20}\right)^{0.175}}\right]^{1.43} \qquad (15)$$

$$C_{Ds} = \left[\frac{48.5}{\left(1+4.5\cdot SF^{0.35}\right)^{0.8} Re_s^{0.64}} + \left(\frac{Re_s}{Re_s+100+1000\cdot SF}\right)^{0.32} \frac{1}{\left(SF^{18}+1.05\cdot SF^{0.8}\right)}\right]^{1.25} \qquad (16)$$

Con las ecuaciones 15 y 16 se obtienen los valores del coeficiente de arrastre incluidos en la tabla 8. En esta tabla también se presentan los valores obtenidos experimentalmente a partir de la velocidad de caída.

Tabla 8. Factor de forma (SF), C_{DS} experimental y numérico (con ecuaciones de sedimentos redondeados y angulosos).

BERBERECHO	SF	C_{Ds}(exp)	C_{Ds} (eq. 15)	C_{Ds} (eq. 16)
1	0.735	1.360	1.13	1.0505
2	0.792	1.042	0.99	0.9590
3	0.739	1.165	1.12	1.0405
4	0.771	1.211	1.04	0.9896
5	0.701	0.924	1.20	1.0993
6	0.833	1.164	0.87	0.8831
7	0.792	1.176	0.98	0.9548
8	0.726	0.951	1.15	1.0583
9	0.777	0.843	1.02	0.9764
10	0.747	0.926	1.10	1.0250
11	0.803	1.078	0.95	0.9360
Valor medio	0.765	1.076	1.049	0.998
Desviación estándar	0.039	0.155	0.098	0.063

La conclusión más relevante de esta comparativa es que los valores obtenidos son muy parecidos con ambas expresiones. Aunque las ecuaciones fueron desarrolladas suponiendo que la superficie de los sedimentos es aproximadamente lisa, existe poca diferencia en objetos como esta familia de berberechos, en el que los anillos existentes en las conchas podrían reflejar un comportamiento diferenciado. También se puede señalar que la dispersión de los valores del C_{Ds} experimental es mayor que la arrojada con las relaciones propuestas por Swamee y Ojha, lo cual puede deberse al mayor número de datos con el que fueron ajustadas estas ecuaciones.

En la figura 16 se ha representado las relaciones teóricas de la ecuación 15 (sedimentos redondeados), con distintos valores del factor de forma, y los valores experimentales obtenidos en el apartado anterior.

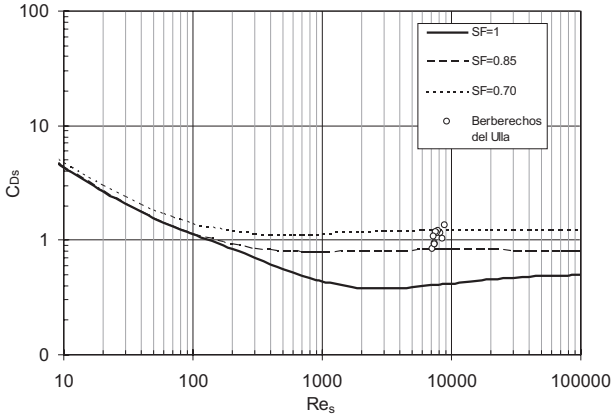

Figura 16. Coeficiente de arrastre para la sedimentación de sedimentos redondeados (Swamee y Ojha, 1991) y para los berberechos analizados.

El análisis de las figura vuelve a confirmar que los valores experimentales quedan bien situados entre las dos curvas correspondientes a factores de forma de 0.70 y 0.85, intervalo que incluye los valores mínimo y máximo de los coeficientes de forma obtenidos (ver Tabla 8). Esta conclusión refuerza la utilización de la metodología descrita al comienzo de este apartado que, aunque planteada originalmente para sedimentos, ha sido aplicada con éxito en los berberechos analizados. Profundizando en el análisis de la figura, también aquí se deduce que el coeficiente de forma influye de forma

significativa en los resultados. Así, se refuerza el análisis comparativo del apartado anterior, reflejando una mayor adecuación del comportamiento hidrodinámico de los berberechos con cuerpos asimétricos.

En la figura 17 se realiza una comparación entre los valores del coeficiente de arrastre obtenido de forma numérica (ecuaciones 15 y 16) y experimental (Tabla 6), reflejando gráficamente la bondad del procedimiento seguido.

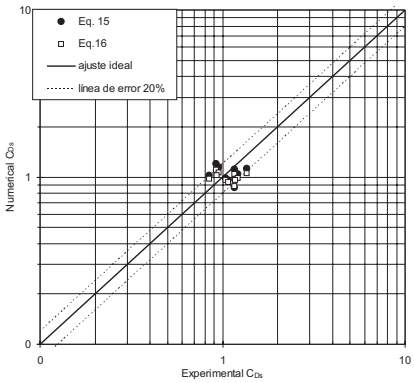

Figura 17. Representación de los pares de valores numérico - experimental de CDs de los berberechos analizados aplicando la ecuación 15 y 16.

Estimación del Archimedes buoyancy index.

En este apartado se presenta el cálculo del *Archimedes buoyancy index* para cada uno de los berberechos. Este parámetro representa la influencia del empuje de Arquímedes del objeto analizado en el proceso de sedimentación, y permite obtener una nueva aproximación al valor del coeficiente de arrastre de sedimentación.

En el estudio desarrollado por Hallermeier (1981), se presenta la siguiente relación para el cálculo de este parámetro, y su relación con el número de Reynolds granular para sedimentación. Esta ecuación refleja el ajuste realizado en ensayos de granos de arena natural de distintas densidades.

$$A = \frac{(\rho_c - \rho) \cdot g \cdot D_n^{\,3}}{\rho \cdot \upsilon} \qquad (17)$$

siendo A es el Archimedes buoyancy index.

La relación entre *A* y el número de Reynolds es la siguiente.

$$Re = 1.05 \cdot A^{0.5} \qquad (18)$$

En la figura 18 se presenta la relación propuesta por Hallermeier y los pares de puntos A-Re_s obtenidos para cada uno de los berberechos analizados. La gráfica muestra que los pares de valores representativos de los berberechos, obtenidos experimentalmente (D_n, Re_s) ajustan con bastante precisión la relación indicada.

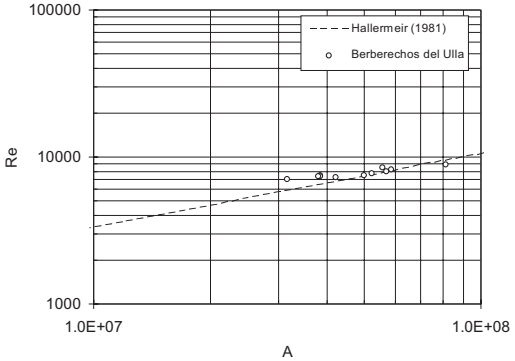

Figura 18. Archimedes buoyancy index y número de Reynolds de los berberechos. Comparación con la relación propuesta por Hallermeier (1981).

Por otro lado, si se relaciona la ecuación 14 relativa al estudio experimental de Swamee y Ojha (1991) sobre el coeficiente de arrastre de partículas esféricas con la ecuación propuesta por Hallermeier (ecuaciones 17 y 18), se puede obtener otra aproximación el valor de C_{Ds}. Siguiendo este procedimiento se obtiene un valor constante para C_{Ds} de 1.21. Este resultado es similar al valor medio experimental obtenido en los experimentos realizados (1.08).

6. ANÁLISIS INTEGRADO DE SEDIMENTACIÓN Y ARRASTRE

En este apartado se presenta un análisis combinado de los resultados obtenidos en los apartados anteriores, en los que se analizaron los coeficientes de arrastre para sedimentación y movimiento de los berberechos analizados. El objetivo de este análisis es encontrar relaciones entre las fuerzas que existen en ambos casos, y relacionar los factores que dominan el movimiento por el fondo (C_D, tgΦ) y la sedimentación de los moluscos (C_{Ds}, W_s).

Thompson y Amos (2002) analizaron la relación existente entre las fuerzas de arrastre y sedimentación para el caso de conchas de berberecho sueltas. Estos autores encontraron que la relación entre la fuerza de arrastre para la sedimentación (F_s) y la fuerza de arrastre para el movimiento de los berberechos (F_D) depende sólo del coeficiente de fricción entre el berberecho y la arena. La relación propuesta es la siguiente:

$$\frac{F_s}{F_D} = \frac{A_s \cdot W_s^2 \cdot C_{DS}}{A_e \cdot U^2 \cdot C_D} = \frac{1}{tg(\phi)} \qquad (19)$$

siendo A_s el área ortogonal a la fuerza de arrastre durante la sedimentación (F_s), definida por las longitudes características b y c del berberecho.

Hay que recordar que estos autores, además de emplear conchas sueltas, trabajaron con berberechos con diferencias de tamaño apreciable y con un suelo cohesivo.

En este estudio se han correlacionado los valores de ambas fuerzas, encontrando una relación de proporcionalidad constante:

$$F_s = 2.39 \cdot F_D \qquad (20)$$

La ecuación anterior se obtuvo de un ajuste lineal por mínimos cuadrados, obteniéndose un coeficiente de correlación bueno (R^2=0.92). En la figura siguiente se representa esta relación así como la relación teórica de la ecuación 19, calculada con el ángulo de fricción obtenido en los estudios experimentales (29.1º). En este caso la relación entre ambas fuerzas es de valor 1.91. También se ha representado la línea de error del 20% de la ecuación (20). Se puede observar que la relación propuesta por Thompson y Amos (2002) se encuentra dentro del dominio del error del 20%.

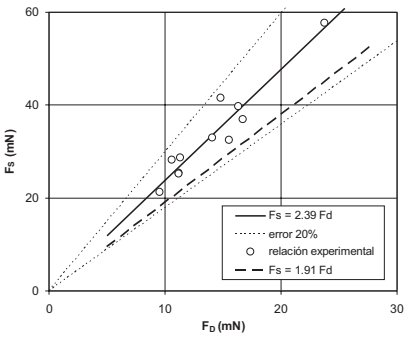

Figura 19. Relación existente entre las fuerzas de arrastre por el fondo y las de sedimentación.

Con este análisis se vuelve a validar el procedimiento experimental desarrollado en todo el trabajo. Además, se puede adoptar la relación expresada en la ecuación 20 como representativa de la relación existente entre las fuerzas de arrastre y sedimentación para la familia de berberechos analizados.

7. CONCLUSIONES Y DESARROLLOS FUTUROS

En este trabajo se ha presentado un estudio hidrodinámico realizado sobre una familia de berberechos procedentes de la ría de Arousa. El comportamiento de estos moluscos en el umbral del movimiento, así como la caracterización de los parámetros relacionados con el mismo puede ser importante para el desarrollo económico y social de la zona próxima a la desembocadura del río Ulla.

Con el objetivo último de obtener el coeficiente de arrastre de los berberechos sumergidos situados sobre un fondo de arena, se ha realizado un análisis de las fuerzas que inciden sobre los mismos. Con el desarrollo de la metodología experimental se han caracterizado un conjunto de 11 berberechos, obteniendo sus dimensiones características y la densidad de su concha y de todo el molusco sumergido. Para la estimación del coeficiente de forma ha sido necesario también estudiar el ángulo de rozamiento existente entre los berberechos y el lecho arenoso del estuario del Ulla, obteniendo un valor constante para este ángulo.

Para la determinación precisa del campo de velocidades existente en las condiciones del umbral de movimiento se ha aplicado satisfactoriamente la tecnología láser de alta definición PIV. El principal resultado de este análisis es la obtención de un coeficiente de arrastre aproxidamente constante de 0.43, empleando la velocidad media del flujo. Gracias al empleo de esta técnica también se ha podido determinar la velocidad que incide tangencialmente sobre el berberecho. Empleando esta velocidad como la representativa del umbral de movimiento el coeficiente de arrastre obtenido, también constante, tiene un valor de 0.59. Tanto esta velocidad como el coeficiente de arrastre así obtenido puede considerarse un parámetro que representa de un modo más intrínseco el movimiento de los moluscos.

También se ha caracterizado el proceso de sedimentación de estos moluscos con objeto de poder evaluar el movimiento de los mismos

una vez que los berberechos entran en suspensión. Se ha obtenido de un modo experimental la velocidad de caída y el coeficiente de arrastre de sedimentación. Ambos parámetros presentan un valor constante para la familia de berberechos analizados, con valores de 0.36 m/s y 1.08 respectivamente. El coeficiente de arrastre se calculó también empleando otras metodologías empíricas recogidas en la literatura. Con ambos métodos se obtienen resultados similares, por lo que puede considerarse que el procedimiento desarrollado en el trabajo es correcto. Por último, se ha analizado la relación existente entre las fuerzas de arrastre para la puesta en suspensión y para la sedimentación de los berberechos encontrando una relación lineal entre ambas.

Algunos trabajos que podrían desarrollarse para mejorar y completar los resultados obtenidos en este estudio son los siguientes:

Estudio de otro tipo de moluscos desarrollando una metodología de análisis similar a la presentada en este trabajo. De este modo se podrían caracterizar los coeficientes de forma de otros moluscos con problemática similar como la almeja.

Análisis de otros estadios de crecimiento de los berberechos. En este trabajo se ha desarrollado una metodología que describe el comportamiento hidrodinámico de berberechos adultos. Sin embargo, para que el molusco llegue a este estadio de crecimiento la larva debe depositarse en el sustrato y permanecer en el mismo el tiempo suficiente sin ser arrastrado. En la línea de otros trabajos de investigación como el de Morales *et al*. (2005) o Hendriks (2004) se podrían analizar las velocidades de sedimentación de las larvas así como la influencia que poseen las velocidades y tensiones tangenciales del fondo marino en los procesos de arrastre de las mismas.

Influencia del grado de enterramiento del molusco en su capacidad de movilización. Se podría analizar escenarios en los que el berberecho se encontrase parcialmente enterrado en el sustrato arenoso, como sucede cuando la salinidad del agua es la adecuada para la vida del molusco.

Además, los datos presentados en este estudio pueden servir de base para elaborar un módulo numérico que analice el arrastre y puesta en suspensión de berberechos en un código hidráulico más complejo. Este código, similar a otros recogidos en la bibliografía como el modelo para mejillones de Morales *et al*. (2005), podría acoplar este módulo a otro módulo hidrodinámico que contemple la variación de salinidad en un

entorno como una ría además de a otros módulos que simulen el ciclo biológico del berberecho (crecimiento, competencia con otras especias por el alimento, predación y recolección, etc).

El desarrollo de esta herramienta podría ser muy útil para comprender y analizar la problemática existente con los berberechos en la ría de Arousa, de la que depende la economía de muchas familias de la zona.

BIBLIOGRAFIA

ALLEN, J.R.L. 1992. Principles of Physical Sedimentology, Chapman & Hall, London, 272 p.

AMOS, C.L., LI, M.Z. y SUTHERLAND, T.F. 1998. The contribution of Ballistic Momemtum Flux to the erosion of cohesive bed by flowin water, Journal of Coastal Research, 14(2),564-569

AMOS, C.L., SUTHERLAND, T.F., CLOUTIER, D. y PATTERSON, S. 2000. Corrosion of a remoulded cohesive bed by saltating littorinid shells, Continental Shelf Research, 20, 1291-1315.

CHIEN N. y WAN, Z. 1999. Mechanics of sediment transport, ASCE PRESS, Reston (Virginia).

CONSELLERÍA DE PESCA, MARISQUEO E ACUICULTURA, 2000, Informe de los Recursos Marisqueros.

FRANZINI, J.B. y FINNEMORE, E.J. 2002. Fluid Mechanics with Engineering Applications, McGraw Hill.

GONZÁLEZ, R., PÉREZ A. 1984 El berberecho Cerastoderma Edule de Carril (Ría de Arousa). I: Reproducción y estado de condición, Actas do IV Simposio de estudos do benthos marinho. Lisboa, 209-222.

HALLERMEIER, R.J. 1981. Terminal settling velocity of commonly occurring sand grains, Sedimentology, 28, 859-866.

HENDRIKS, I.E. 2004. Flow dependent processes in settlement of intertidal bivalve larvae, PhD Dissertation, The Department of Ecosystem Studies, Yerseke, the Netherlands

JULIEN, P.Y. 1995. Erosion and Sedimentation, Cambridge University Press, Cambridge, UK

MEHTA, A. J., LEE, J. y CHRISTENSEN, B.A. 1980. Fall velocity of shells as coastal sediment, Journal of the hydraulics division, ASCE 106, 1727-1744

MORALES, Y., MYNETT, A. y WEBER, L. 2005. Modelling freshwater mussel dynamics. Proc. of XXXI IAHR Congress, Seoul, 1948-1956.

OLIVERA, A. y WOOD, W. 1997. Hydrodynamics of bivalve shell entrainment and transport, Journal of Sedimentary Research, 67, 514-526.

PEÑA, E., LÓPEZ, F. y PUERTAS, J. 2004. Sedimentation and environmental impact in the estuary of river Ulla (Galicia, Spain), Proc. 9th Int. Symposium on River Sedimentation, Yichang, 1949-1956.

PÉREZ CAMACHO, A. y ROMÁN, G. 1985. Crecimiento, reproducción, mortalidad y producción del berberecho Cerastoderma edule (L.) en la Ría de Arousa, Seminario de Estudos Galegos., Cuadernos da Área de Ciencias Mariñas.

SANTOS, I.S. 2001. El berberecho Cerastoderma Edule en la costa gallega, Informe interno de la Consellería de pesca, Xunta de Galicia.

SWAMEE, P.K. y OJHA, C.S.P. 1991. Drag coefficient and fall velocity of nonspherical particles, Journal of Hydraulic Engineering, ASCE. 117, 660-667

THOMPSON, C.E.L. y AMOS, C.L. 2002. The impact of mobile disarticulated shells of Cerastoderma edulis on the abrasion of a cohesive substrate. Estuaries, 25 (2), 204-214.

Revista Real Academia Galega de Ciencias. Vol. XXVI. Págs. 17-28 (2007)

MICROPROPAGACIÓN DE CHLOROPHORA TINCTORIA (L.) GAUDICHAUD Y QUERCUS HUMBOLDTII BONPL.

LILIANA MILLÁN-OROZCO y ANTONIO BALLESTER

Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia, CSIC
Apartado 122, 15080 Santiago de Compostela, España

RESUMEN

Se han definido, por primera vez, unos protocolos que permiten la micropropagación de dos especies forestales de interés para Colombia, *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaudichaud (dinde) y *Quercus humboldtii* Bonpl. (roble colombiano). Se han establecido los cultivos in vitro a partir de las yemas apicales y explantos nodales de plántulas de estas dos especies crecidas en invernadero. El dinde se cultivó en medio MS con elevadas concentraciones de BA (1 mg/L) tanto en la fase de establecimiento como en la etapa de multiplicación, mientras que el roble requiere 1 mg/l BA en el establecimiento pero 0.1 mg/L BA en la etapa de multiplicación. La presencia de AIB en el medio de cultivo no aumenta, de forma significativa, la capacidad de enraizamiento del dinde, pero sí es una auxina necesaria para el enraizamiento del roble, en donde se ha alcanzado un valor del 36% en el caso más favorable.

Palabras clave: Cultivo in vitro, Dinde, Micropropagación, Roble Colombiano.

SUMMARY

The protocols for the micropropagation of the forest tree species *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaudichaud (dinde) and *Quercus humboldtii* Bonpl. (Colombian oak) have been defined for the first time. In vitro cultures were established from both apical and axillary buds taken from seedlings

of the two species grown in greenhouse. The MS medium supplemented with high concentrations of BA (1 mg/L) is used for dinde development, not only for in vitro establishment but also for the multiplication step. The Colombian oak is grown in GD medium supplemented with BA 1 mg/L during the establishment phase but the amount of BA is reduced to 0.1 mg/L during the multiplication stage. The addition of IBA to the rooting medium do not improve the rooting rate of dinde cultures, however it is necessary to induce rooting in Colombian oak cultures.

Key words: Colombian oak, Dinde, In Vitro Tissue Culture, Micropropagation

INTRODUCCIÓN

Colombia cuenta con una superficie de 114.7 millones de hectáreas de las cuales, 78 millones están catalogadas como de aptitud forestal; sin embargo, en realidad sólo 53.1 millones de hectáreas están cubiertas por bosques. La deforestación a la que están sometidas estas tierras alcanza grandes proporciones, estimándose en 600.000 hs/año y ha significado la tala de alrededor de 37 millones de árboles entre los años 1960 y 1984. Las causas de la deforestación de los bosques naturales son, de forma especial, la colonización de nuevos espacios (76.3%), el consumo para fines dendroenergéticos (12.7%) y la obtención de materia prima para la industria, responsable del 11% (PACF, 1997).

Todos los tipos de bosques del Pacífico colombiano poseen gran importancia debido al gran número de endemismos que contienen y, por otra parte, han abastecido cerca del 50% de la demanda de madera y otros productos forestales debido a lo elevado de sus reservas y a la presencia de especies de elevado valor comercial e industrial (Ministerio del Medio Ambiente-INDERENA, 1994). Según datos de 1997, la oferta de madera aserrada fue de 568.588 m^3 y el 85% de la misma provenía de los bosques naturales, el 13% de plantaciones y un 2% de importaciones (Ministerio del Medio Ambiente, 1999). Teniendo en cuenta el aumento exponencial en la demanda mundial de productos forestales y la necesidad de preservar los ecosistemas naturales colombianos de la mejor forma posible, una forma complementaria debería ser la de potenciar las plantaciones forestales mediante la selección de genotipos élite, más productivos, y la propagación clonal de los mismos. La propagación mediante la tecnología del cultivo in vitro (micropropagación) es una alternativa a los sistemas convencionales

de propagación vegetativa, útil para la producción a gran escala de un número muy elevado de ejemplares selectos.

Dos de las especies que crecen en los bosques naturales de Colombia son *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaudichaud (dinde) y *Quercus humboldtii* Bonpl (roble colombiano). El dinde es un árbol que pertenece a la familia *Moraceae* que alcanza unos 20 metros de altura y el tronco posee una corteza lisa de color crema. En Colombia crece entre el nivel del mar y los 1.100 metros de altitud (Bartolomaüs y col., 1995). Se encuentra preferentemente en suelos calizos aunque a veces se halla en los aluviales arenosos. La regeneración natural es escasa, pero en las cercanías de los árboles productores suelen encontrarse algunos brinzales de diferentes edades (Betancourt, 1999). Las bases de datos internacionales consultadas indican que no se ha estudiado la respuesta del dinde al cultivo in vitro, excepto en una referencia (Neto y col., 1997) sobre la inducción de callo a partir de segmentos nodales y la producción de proteínas, aminoácidos y azúcares reductores.

El roble colombiano es un árbol que pertenece a la familia *Fagaceae*, alcanza 30 metros de altura, y se ha observado entre 1.800 y 2.300 metros de altitud. Se desarrolla en suelos arcillosos ácidos y con buen drenaje (Tokura y col., 1996). Los bosques de *Quercus humboldtii* ocuparon en el pasado grandes extensiones en Colombia, conservándose muchos de ellos hasta hace poco pero ahora se han visto amenazados hasta casi su extinción (Pacheco y Pinzón, 1997). A este respecto, Fernández y Sork (2005, 2007) han estudiado, mediante microsatélites, la diversidad genética existente en árboles adultos y plántulas y concluyen que existe una restricción del flujo génico y una reducción en la riqueza alélica en las plántulas de las zonas más fragmentadas donde crece este roble. Por otra parte, no se ha encontrado ninguna referencia bibliográfica sobre el cultivo in vitro de esta especie.

El objetivo del presente trabajo es el desarrollo, por vez primera, de sistemas de micropropagación de dinde y roble colombiano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron semillas comerciales de *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaud. (dinde) y *Quercus humboldtii* Bonpland (roble colombiano) importadas

directamente de Colombia. Entre los meses de Marzo y Septiembre, se sembraron las semillas de las dos especies en macetas (una semilla por maceta) que contenían una mezcla del suelo de la parcela del Instituto (50%) y de arena de cuarzo (50%). Se regaron manualmente con agua corriente dos veces por semana en verano y una vez cada dos semanas en invierno y se fertilizaron cada cuatro semanas con solución Hoagland. Las plántulas que se desarrollaron fueron la fuente de explantos para el establecimiento in vitro de los cultivos, habiéndose usado la yema terminal y las dos yemas axilares siguientes de plántulas de diferentes edades (Millán-Orozco, 2006).

Establecimiento de cultivos iniciales

El material vegetal recogido en el invernadero se esterilizó con alcohol del 70% durante 45-55 segundos en el caso del dinde y 5-7 minutos en el caso del roble seguido por cloro activo 0.5% con 3 gotas de Tween 80® (entre 7 y 20 minutos) seguido de 3 baños de agua estéril, el primero instantáneo, el segundo durante 10 minutos y el tercero ya durante el establecimiento en cultivo. Se eliminan las hojas y exceso de tejido y se inoculan in vitro explantos de 0.5 cm. de longitud.

Los explantos de dinde se establecen en un medio MS (Murashige y Skoog, 1962) adicionado de 100 mg/L de m-inositol y 1 mg/L de benzylaminopurina (BA). Los explantos de roble colombiano se establecen en el medio GD (Gresshoof y Doy, 1972) adicionado con BA 1 mg/L. En ambos casos, la sacarosa al 3% se utilizó como fuente hidrocarbonada, los medios se solidificaron con agar vitro de Pronadisa al 0.6% en el caso del dinde y al 0.65% en el caso del roble, se ajustó el pH a 5.6-5.7 y se esterilizaron durante 20 minutos a 121ºC de presión.

Multiplicación y enraizamiento

Una vez establecidos los cultivos se transfieren al mismo medio cada 4 semanas hasta que alcanzan cierta estabilidad, lo que permite iniciar la etapa de multiplicación. Para ello, se mantiene el mismo medio de cultivo inicial en el caso del dinde con la misma concentración de BA, pero ésta se reduce a 0.1 ó 0.2 mg/L en el caso de roble. En esta etapa de multiplicación se tomaron, para las dos especies, los datos siguientes: número de

brotes por explanto, número de segmentos por explanto y coeficiente de multiplicación, que es un factor que se obtiene de multiplicar el número medio de segmentos por el número medio de brotes viables y dividirlo por 100.

Para la inducción del enraizamiento, brotes elongados de dinde se cultivan en medio MS con los macronutrientes reducidos a la mitad (1/2MS) con 0.5 mg/L de ácido indulbutírico (AIB) como auxina inductora del enraizamiento. En el caso del roble colombiano, los explantos se transfieren a un medio GD con los macronutrientes reducidos un tercio (1/3GD) con 25 mg/L de AIB durante 24 horas y posterior transferencia al mismo medio sin reguladores de crecimiento. En todos los ensayos de enraizamiento se utilizaron 4 jarras de cultivo con 6 explantos cada una, totalizando 24 explantos por ensayo. En cada experimento se determinó el porcentaje de enraizamiento, el número de raíces y la longitud de la raíz primaria.

Condiciones de cultivo y análisis estadístico

Todos los cultivos se mantuvieron en cámara de crecimiento a una temperatura de 25ºC durante 16 horas de luz con una intensidad luminosa de 30 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ y 20ºC durante 8 horas de oscuridad.

Los datos se sometieron al análisis de varianza de uno o dos factores (según el tipo de ensayo) al nivel de confianza del 95% y las diferencias mínimas significativas se estudiaron mediante el test de Tuckey. En los ensayos de enraizamiento, lo porcentajes obtenidos se transformaron, antes del análisis, mediante la función arcoseno $\chi^{1/2}$. Todos los datos se analizaron mediante el paquete estadístico SPSS, versiones 10.0 y 11.5.

RESULTADOS

Establecimiento de cultivos iniciales

Dinde

Independientemente de la edad de la planta madre (4, 6 ó 7 meses) crecida en invernadero, el establecimiento de los cultivos iniciales no es complicado ya que la sobrevivencia supera siempre el 41%. El aspecto de los brotes es vigoroso con buena producción de nuevos brotes y hojas por explanto inicial y sin presentar problemas en las distintas transferencias

cada 4 semanas. El dinde presenta una buena uniformidad en el crecimiento dentro de una población ya que son pocos los ejemplares que sobresalen de los demás; son muy sensibles a la carencia de nutrientes. Después de algunos ensayos con diferentes concentraciones de BA en el medio de cultivo, se concluyó que la concentración adecuada era la de 1 mg/L, ya que al disminuirla a 0.5 mg/L los brotes eran menos vigorosos y cuando se aumentó a 2 mg/L la producción de brotes aumentó pero también lo hizo la cantidad de callo.

Roble

Cuando el cultivo se inicia a partir de plántulas de 2 meses de edad, el porcentaje de sobrevivencia alcanza el 80%. La apariencia del cultivo es buena, los brotes son vigorosos pero se produce la formación de callo en la base de los explantos, inicialmente de color crema que se vuelve verde con el paso del tiempo. Se ha constatado también la liberación de taninos al medio de cultivo. Cuando los cultivos se inician a partir de plántulas de 6 meses de edad, la sobrevivencia disminuye (43.75%) respecto a las plántulas de 2 meses. Fue difícil mantener una población de roble cuando los cultivos se inician de plántulas de 6 meses debido a la elevada liberación de taninos al medio y el ennegrecimiento progresivo de los cultivos, por lo que la población se ha mantenido, en este caso, con un pequeño número de individuos.

Etapa de multiplicación

Dinde

El efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de *Chlorophora tinctoria* puede observarse en la Tabla 1. De forma general puede decirse que, a medida que aumenta la edad de la planta madre, disminuye, de forma no muy notable, la capacidad de proliferación del dinde.

Tabla 1. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación del dinde. Los resultados son medias ± desviación estándar.

Edad del explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Coeficiente de multiplicación
	7	2.70±1.39	2.70±1.39	2.70
4	9	3.25±1.39	3.25±1.39	3.25
	11	2.70±1.62	2.75±1.64	2.75
	7	1.20±0.44	1.20±0.44	1.20
6	9	2.76±1.11	2.76±1.11	2.76
	11	2.75±1.66	2.75±1.66	2.75
	7	2.56±1.51	2.56±1.51	2.56
7	9	2.04±0.72	2.04±0.72	2.04
	11	2.22±1.16	2.22±1.16	2.22

Tanto el número de brotes como el de segmentos tienden a permanecer constante durante los meses de evaluación en los cultivos de las plantas de 4 meses de edad y con valores ligeramente superiores a los de las otras dos procedencias. De nuevo en esta etapa se ha comprobado que la concentración ideal de BA es la de 1 mg/L; a concentraciones mayores, se produce un aumento en la producción de brotes que, sin embargo, son poco vigorosos y la formación de callo es también notable. En casos esporádicos, se ha observado una gran proliferación de brotes pudiéndose aislar hasta 12 nuevos brotes que se individualizan y entran de nuevo en la etapa de multiplicación.

Roble

Durante la etapa de multiplicación de esta especie se observó la presencia en el medio de cultivo de una contaminación bacteriana endógena que se hacía más patente en los meses de Agosto y Septiembre; sin embargo, la presencia de la bacteria no impidió el desarrollo de los cultivos. Una vez alcanzada la estabilización (aproximadamente 4 meses), las plantas muestran buen vigor y buena producción de brotes (Tabla 2). Durante esta etapa de multiplicación se observó necrosis en los cultivos desprovistos de hojas y también en aquellos dispuestos en posición horizontal, un sistema de multiplicación muy útil en cultivos de roble europeo (Viéitez y col., 1993). Se constata también que, al aumentar el número de subcultivos, aumenta

la capacidad de proliferación del roble, de acuerdo con los resultados obtenidos por los coeficientes de multiplicación.

Tabla 2. Efecto del subcultivo sobre la multiplicación de brotes *de roble colombiano* establecidos in vitro a partir de yemas de una planta madre de 2 meses de edad. Los resultados son medias ± desviación estándar.

Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Coeficiente de multiplicación
4	2.41±0.71	2.50±0.72	2.50
5	2.16±0.86	2.25±0.94	2.25
7	1.79±1.50	1.87±1.48	1.87
9	2.25±1.29	3.25±1.45	3.25
13	3.14±1.51	3.14±1.51	3.14
15	3.29±1.42	3.29±1.42	3.29
17	3.83±1.76	3.83±1.76	3.83

Etapa de enraizamiento

Dinde

La capacidad de enraizamiento del dinde no se ve afectada ni por la edad de la planta madre de donde derivan los explantos iniciales ni de la adicción de AIB en el medio de enraizamiento. Cuando se utiliza AIB 0.5 mg/L, se observa un aumento en la tasa de enraizamiento con respecto al control, pero los resultados nunca son significativos (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de la edad de la planta madre y del AIB (0.5 mg/L) en el enraizamiento de brotes de dinde. Se utilizaron 24 explantos por repetición. Los resultados son medias ± desviación estándar.

Edad de la planta madre (meses)	Tratamiento	Porcentaje de enraizamiento	Número de raíces	Longitud de raíz primaria (cm)
	Control	52.64±0.46	1.62±1.79	1.11±1.19
4	AIB	57.49±0.41	1.45±1.43	1.35±1.28
	Control	35.25±0.48	1.04±1.68	1.23±1.68
6	AIB	51.71±0.49	2.21±2.45	2.78±2.70
	Control	45.59±0.49	0.87±1.13	1.35±1.84
7	AIB	49.70±0.49	1.51±1.77	1.88±2.48

Una característica del enraizamiento del dinde es la aparición de necrosis en el ápice de la raíz durante la segunda semana del proceso de enraizamiento, necrosis que se va extendiendo paulatinamente por toda la raíz hasta alcanzar al punto de inserción raíz-tallo. Al objeto de paliar este efecto perjudicial, se hicieron unos ensayos en los que el

Fig. 1. Diferentes aspectos de la micropropagación de dinde y roble colombiano. A. Planta madre de roble colombiano de 5 semanas de edad, de donde se han aislado los ápices y los segmentos nodales para el establecimiento de los cultivos. B. Plántula de dinde enraizada en sustrato. C. Cultivo inicial de roble.

enraizamiento tuvo lugar en un sustrato perlita-vermiculita en vez de agar. Los resultados no fueron totalmente satisfactorios, pues la tasa de enraizamiento descendió hasta valores del 3% aunque la calidad de la planta enraizada es buena. La planta así enraizada tiene la ventaja de que la aclimatación y posterior crecimiento en invernadero es más fácil que en el caso de las plantas enraizadas en agar.

Roble

Debido a la escasa capacidad de proliferación del roble colombiano, sólo se realizaron ensayos de enraizamiento con los brotes procedentes de plántulas de invernadero de dos meses de edad.

Tabla 4. Efecto del AIB (25 mg/L) sobre el enraizamiento de brotes de roble colombiano. Se utilizaron 24 explantos por tratamiento. Los resultados son medias ± desviación estándar.

Tratamiento	Porcentaje de enraizamiento	Número de raíces	Longitud de raíz primaria (cm)
Control	3.00±2.05	0.02±0.14	0.08±0.72
AIB	36.45±5.58	0.79±1.18	1.10±1.64

En total se realizaron 4 repeticiones con 24 brotes por tratamiento. Como puede verse en la Tabla 4, la capacidad de enraizar de los brotes de roble es prácticamente nula y sólo con el tratamiento auxínico se superan los valores del 35% de enraizamiento. Sin este tratamiento la aparición de raíces es esporádica y aleatoria, sin que haya síntomas suficientes para prever qué brotes de los no tratados será capaz de inducir raíces. La raíz está engrosada y suele carecer de raíces secundarias y los brotes muestran un buen aspecto durante las tres primeras semanas del proceso, aunque no desarrollen raíces.

DISCUSIÓN

Por vez primera se han definido unos protocolos de micropropagación de dos especies (*Chlorophora tinctoria* y *Quercus humboldtii*) maderables de interés para la producción forestal en Colombia. Neto y col. (1997) han estudiado el desarrollo del callo de dinde mediante el cultivo de segmentos nodales en presencia de elevadas concentraciones (6 mg/L) del ácido 2,4-diclorofenoxiacético, pero en ningún momento han acometido la micropropagación de la especie. Sin embargo, existen numerosas referencias a otras especies de la familia Moraceae, a la que pertenece el dinde. Pattnaik y Chand (1997) encuentran que la iniciación de los cultivos de tres especies de Morus está condicionada en gran medida por el tipo de explanto utilizado (yema apical o explantos nodales), la edad de la planta madre (utilizan árboles de hasta 5 años de edad) y la época de recogida del explanto. También encuentran, como en nuestro caso, que es necesaria la utilización de una elevada concentración de BA (incluso hasta 2 mg/L) para obtener cultivos viables.

Aunque nosotros sólo hemos utilizado el AIB para la inducción del enraizamiento, otros autores han utilizado combinaciones de esta auxina con otras como ácido naftalen-acético o ácido indol-acético cuando estudian el enraizamiento de diferentes especies de la familia *Moraceae* (Hossain y col., 1992; Pattnaik y Chand, 1997). Con todo, el sistema desarrollado para dinde en este trabajo permite cerrar el ciclo de micropropagación con tasas adecuadas de enraizamiento y sin elevadas pérdidas durante el proceso de aclimatación.

Los problemas asociados al cultivo in vitro del roble colombiano no son muy diferentes a los que presentan otras especies, como el roble

europeo (*Quercus robur*) o el roble americano (*Quercus rubra*) y que quedan reflejados en otras publicaciones de nuestro Departamento (Viéitez y col., 1993, 1994; Sánchez y col., 1997). En primer lugar debe señalarse la baja reactividad de los explantos, su lento crecimiento, la facilidad para la exudación de compuestos fenólicos y, normalmente, las bajas tasas de enraizamiento que suelen estar muy condicionadas por el genotipo. Todos estos aspectos se han observado, en mayor o menor grado, en los cultivos del roble colombiano a pesar de que los cultivos se han establecido a partir de material juvenil. No hemos encontrado ninguna referencia bibliográfica sobre la posibilidad de multiplicar esta especie a nivel comercial mediante la tecnología del cultivo in vitro. Sin embargo, los resultados aportados en el presente trabajo, que deberían mejorarse en el futuro, permiten vislumbrar la propagación de genotipos élite para su utilización en programas de reforestación.

AGRADECIMIENTOS

Liliana Millán-Orozco agradece a COLCIENCIAS (Instituto Colombiano para el desarrollo de la Ciencia y la Tecnología, Colombia) la concesión de una beca para estudios de Doctorado en el Extranjero (IIAG, CSIC, Santiago de Compostela, España). El trabajo ha sido parcialmente financiado por el MEC, España, a través del proyecto AGL2005-00709.

BIBLIOGRAFÍA

BARTHOLOMÄUS, A., De la ROSA, A., SANTOS, J.O., ACERO, L.E., WERNER, M. 1995. El manto de la tierra. Flora de los Andes. CAR, GTZ y KFW. Editorial Lerner Ltda..

BETANCOURT, A.B. 1999. Silvicultura especial de árboles maderables tropicales. Instituto cubano del libro. Editorial Científico-Técnica. La Habana. Cuba.

FERNÁNDEZ, J.F., SORK, V.L. 2007. Genetic variation in fragmented forest stands of the Andean oak *Quercus humboldtii* Bonpl., Fagaceae. Biotropica, 39: 72-78.

FERNÁNDEZ, J.F., SORK, V.L. 2005. Mating patterns of a subdivided population of the Andean oak (*Quercus humboldtii* Bonpl., Fagaceae). J. Hederity, 96: 635-643.

GRESSHOFF, P.M., DOY, C.H. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum*. Planta, 107: 167-170.

HOSSAIN, M., RAHMAN, S.M., ZAMAN, A., JOARDER, O.I., ISLAM, R. 1992. Micropropagation of *Morus laevigata* Wall. from mature trees. Plant Cell Rep., 11: 522 524.

MILLÁN-OROZCO, L. 2006. Micropropagación de cuatro especies maderables tropicales de interés para Colombia, mediante técnicas de cultivo in vitro. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, España.

MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE e INDERENA. 1994. Lineamientos y estrategias de política para el desarrollo forestal sustentable. Con apoyo financiero de la Organización Internacional de Maderas Tropicales (OIMT). Bogotá.

MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. 1999. Evaluación de la oferta y la demanda nacional de productos forestales maderables y no maderables. Informe final. Resumen ejecutivo. Bogotá, Colombia. P. 89.

MURASHIGE, T., SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant., 15: 473-497.

NETO, V.B.D., PAIVA, R., GOMES, G.A.C., POVOA, J.S.R. 1997. In vitro behaviour of moreira (*Chlorophora tinctoria (L.)* Gaudichaud) nodal segments. Arq. Biol. Tecn., 40: 135-141.

PACHECO, R.A., PINZÓN, C.A. 1997. El roble (*Quercus humboldtii* Bondpland), notas divulgativas. Jardín Botánico de Bogotá, José Celestino Mutis. Bogotá, Colombia.

PAFC. 1997. Plan de Acción Forestal para Colombia. República de Colombia. Departamento Nacional de Planeación y Ministerio de Agricultura. Bogotá, Colombia.

PATTNAIK, S.K., CHAND, P.K. 1997. Rapid clonal propagation of three mulberries, *Morus cathayana* Hemsl., *M. Ihou* Koiz. and *M. serrata* Roxb., through in vitro culture of apical shoot buds and nodal explants from mature trees. Plant Cell Rep., 16: 503-508.

SÁNCHEZ, M.C., SAN-JOSÉ, M.C., BALLESTER, A., VIEITEZ, A.M. 1997. Requeriments for in vitro rooting of *Quercus robur* and *Q. rubra* shoots derived from mature trees. Tree Physiol., 16: 673-680.

TOKURA, Y., RONDÓN, M.A., VILLANUEVA, G., BOTERO, L.F. 1996. Especies forestales del Valle del Cauca. JICA y CVC. Editorial Lenner. Cali, Colombia.

VIEITEZ, A.M., PINTOS, F., SAN-JOSÉ, M.C., BALLESTER, A. 1993. In vitro shoot proliferation determined by explant orientation of juvenile and mature *Quercus rubra* L. Tree Physiol., 12: 107-117.

VIEITEZ, A.M., SÁNCHEZ, M.C., AMO-MARCO, J.B., BALLESTER, A. 1994. Force flushing of branch segments as a method for obtaining reactive explants of mature *Quercus robur* trees for micropropagation. Plant Cell Tissue Organ Cult., 37: 287-295.

Revista Real Academia Galega de Ciencias. Vol. XXVI. Págs. 5-16 (2007)

MODELADO DE LA COMPETICIÓN LINGÜÍSTICA GALLEGO-CASTELLANO: DEFINICIÓN Y OBTENCIÓN DE DISTANCIA INTERLINGÜÍSTICA Y EXTRAPOLACIÓN A FUTURO

JORGE MIRA[1] Y ÁNGEL PAREDES [2]

[1]Área de Electromagnetismo, Departamento de Física Aplicada
Facultade de Física, Universidade de Santiago de Compostela
15782 Santiago de Compostela
e-mail: fajmirap@usc.es
[2]Centre de Physique Théorique, École Polytechnique,
91128 Palaiseau, Francia

RESUMEN

Se analiza la evolución histórica de la situación lingüística de Galicia en el marco de un modelo de competencia entre gallego y castellano. El modelo, pese a ser la simplificación matemática de una compleja situación sociolingüística, ajusta con notable precisión su evolución desde finales del siglo XIX. Además, como generalización del resultado, se observa la posibilidad de establecimiento de una situación bilingüe estable, sin que ello implique la segregación de dos comunidades monolingües coexistentes sobre un mismo territorio, en contra de predicciones teóricas previas. Proponemos que la clave determinante para la estabilidad del bilingüismo es un factor que define la distancia interlingüística entre las lenguas en competición, y que aquí es calculada para el binomio gallego-castellano. Por último, se realizan proyecciones de futuro de la situación sociolingüística de Galicia, que arrojan un crecimiento sostenido del grupo de monolingües en castellano en detrimento del grupo de monolingües en gallego e incluso de bilingües, que ya no sería un subgrupo estable en el tiempo, de no alcanzarse ciertos valores mínimos en parámetros decisivos del modelo.

Palabras clave: sociofísica, sociolingüística, sistemas complejos autoadaptativos, distancia interlingüística, ecuaciones diferenciales.

ABSTRACT

We analyze the historic evolution of the sociolinguistic situation of Galicia, in the framework of a competition model between Galician and Castillian Spanish. Despite being the mathematical simplification of a complex sociolinguistic situation, the model fits successfully this evolution since the end of the XIX century. We also detect the possible existence of a stable bilingual point, without segregation of two coexisting monolingual communities on the same territory, in contrast to some previous theoretical predictions. We propose that the key point for the stability of bilingualism is a factor that defines the interlinguistic distance between the languages in competition, which here is calculated for the system Galician-Spanish. Finally, we discuss some projections of the future sociolinguistic situation of Galicia, that yield a monotonous increase of the group of Castillian monolinguals to the detriment of the groups of Galician monolinguals and bilinguals. It is worth mentioning that these groups would not be stable in time unless some minimum parameters of the model were achieved.

Keywords: social physics, sociolinguistics, autoadaptative systems, interlinguistic distance, differential equations.

INTRODUCCIÓN

El estudio de sistemas complejos autoadaptativos es un área de investigación en el cual convergen dominios clásicos del conocimiento como economía, física, matemática, biología o sociología. Un ejemplo de tales sistemas son las lenguas (Hawkings y Gell-Mann, 1972).

En un mundo tendente a la globalización existe una competición creciente entre ellas que, al igual que la competición entre estructuras económicas locales, fuerza la modificación de las lenguas en competición o incluso la extinción de las minoritarias frente a la hegemónica. De hecho, la mayoría de las lenguas del mundo están desapareciendo a una velocidad preocupante, que va en paralelo con el incremento de la interconexión entre

las diferentes zonas del planeta. Se estima que, de las alrededor de 6000 lenguas habladas en el mundo, posiblemente desaparezca el 90% en la presente generación (Krauss, 1992).

Esa circunstancia ha generado un incremento sustancial de actividad en esa línea de investigación. Los modelos de simulación usados clásicamente en sociofísica parten de teorías estadísticas del aprendizaje (Nowak, Komarova y Niyogi, 2002). En los trabajos más recientes de este tipo, las simulaciones se fundamentan en modelos de cadenas de bits (Kosmidis, Halley y Argyrakis, 2007), que guardan cierta analogía con los usados en economía o biología. El enfoque es, en cierto modo, de carácter local.

En el presente trabajo se aborda el problema desde el punto de vista contrario. Se adopta un enfoque extensivo y se describen los estados del sistema y la competición entre sus partes estableciendo promedios que dan lugar a un sistema de ecuaciones diferenciales, cuya resolución sólo es posible con herramientas informáticas.

Esta perspectiva considera a las lenguas como entidades en competición por los hablantes y ha tenido éxito recientemente en el estudio de Abrams y Strogatz (2003) de algunos casos específicos. En este trabajo, que está ya considerado como referencia inexcusable, dichos autores ajustaron notablemente la evolución histórica del número de hablantes de 42 territorios del planeta con dos lenguas, tales como Perú, Escocia, Gales, Bolivia, Irlanda o Alsacia-Lorena. Especialmente llamativas fueron las buenas descripciones de las compeciones Galés frente a Inglés en Gales, Quechua frente a Castellano en Perú o Gaélico frente a Inglés en Escocia.

Sin embargo, uno de sus principales resultados es que las sociedades bilingües existentes son inestables, por ser el resultado de la reciente mezcla de comunidades con diferentes lenguas que anteriormente estaban separadas. En este trabajo se argumentará que el bilingüismo es posible y que el factor determinante para su existencia es un parámetro que definiremos como distancia interlingüística. Contamos además con la ventaja de conocer la situación de Galicia, que proporciona en este sentido un laboratorio sociológico de primer orden y que permite comprobar los resultados, cuya extrapolación al futuro es, además, posible.

MODELO

En la perspectiva de Abrams y Strogatz, el bilingüismo es estrictamente societal: dos grupos monolingües coexisten sin existir individuos bilingües, simplemente dos comunidades segregadas ocupan el mismo territorio. De este modo un hablante tendrá como primera lengua clara sólo una de las dos. Esto, que a priori parece extraño, es realmente posible, como lo demuestra el hecho de que en algunas zonas de Perú con competencia quechua-castellano se encuentran casos de niños que son incapaces de comunicarse con sus abuelos. El hablante no es capaz de hacer suyas ambas lenguas y acaba por priorizar a una sobre la otra, con el consiguiente robo de hablantes entre ellas.

Ahora bien, este modelo falla en la descripción de situaciones como la de Galicia o Cataluña, donde el resultado de la competición de dos lenguas romances (con una de ellas, el castellano, que goza de alto estatus históricamente) ha sido el establecimiento de grandes grupos bilingües.

¿Dónde está, pues, el problema? En su trabajo, Abrams y Strogatz sólo han considerado competiciones entre lenguas muy diferentes entre sí: es imposible la comunicación entre hablantes monolingües de quechua y castellano, o galés e inglés o gaélico e inglés. Como ejemplo ideal podríamos citar la situación de mezcla de una hipotética comunidad gallego-hablante con otra chino-hablante (comunicación imposible entre ambas). Con tal punto de partida no es de extrañar que, en ese marco, el bilingüismo no tenga posibilidad de establecerse.

Desde nuestro punto de vista esto limita su modelo, que no es directamente aplicable a casos análogos al de Galicia. La raíz latina de gallego y castellano hace perfectamente posible la conversación entre sus hablantes monolingües. Más aún, la similitud de vocabulario y gramática hacen que el aprendizaje de una de ellas sea fácil si se conoce la otra, como todo gallego sabe.

Esta circunstancia (extraña en principio para una persona monolingüe y absolutamente evidente para alguien que, como los gallegos, vive en una sociedad bilingüe) nos ha hecho pensar que podría ser posible que la emergencia y supervivencia de un grupo socialmente significativo de carácter bilingüe dependa del grado de similitud entre las lenguas en conflicto.

Por ello hemos generalizado el modelo Abrams-Strogatz para incorporar esta noción del modo siguiente:

- sean **X, Y, B** los conjuntos de población que son monolingües en las lenguas X, Y y bilingües, respectivamente. x, y, b las fracciones de población que pertenencen a esos grupos (por lo tanto x + y + b =1)
- sea Pxy la probabilidad, por unidad de tiempo, de conversión de un hablante de la lengua X a la lengua Y, notación que se extiende de modo análogo a las migraciones entre el resto de los grupos.

De ese modo, el cambio de x por unidad de tiempo vendrá dado por

$$\frac{dx}{dt} = yP_{YX} + bP_{BX} - x\left(P_{XY} + P_{XB}\right) \quad (1)$$

con ecuaciones análogas para dy/dt, db/dt.

Debemos definir ahora esas probabilidades. Al igual que en el modelo de Abrams-Strogatz consideramos que la probabilidad de que un hablante de la lengua X cambie a la lengua Y aumenta con su número de hablantes b+y, pero también a la percepción de estatus asociado a ella, es decir, de las oportunidades sociales y económicas que el individuo percibe como asociadas a los hablantes de una determinada lengua. Llamando S_Y a ese parámetro (estatus de la lengua Y, notación análoga para la lengua X), esa probabilidad en el caso de existencia solamente de hablantes monolingües debería ser, en principio, de la forma

$$P_{XY} = cS_Y(1-x)^a \quad (2)$$

donde c, a son constantes y el parámetro de estatus se considera definido entre 0 y 1 (máximo estatus) y complementario al estatus de la otra lengua, es decir,

$$S_X = 1 - S_Y \quad (3)$$

Ahora bien, una vez que asumimos el bilingüismo como situación posible esta probabilidad de cambio debe repartirse entre la probabilidad de convertirse en bilingüe y la probabilidad de usar sólo la lengua Y; es decir, las fugas de hablantes de la lengua X a la lengua Y y a la situación bilingüe vendrán dadas por

$$P_{XB} = ckS_Y(1-x)^a \quad (4)$$

y

$$P_{XY} = c(1-k)S_Y(1-x)^a \quad (5)$$

donde introducimos por primera vez un parámetro, k, que refleja la tendencia al bilingüismo y por lo tanto, de acuerdo con nuestra hipótesis, la similitud entre las dos lenguas. Como se puede comprobar, k=0 representa situaciones con existencia de hablantes monolingües, es decir, donde la conversación entre hablantes monolingües de ambas lenguas es imposible (como en los casos estudiados por Abrams y Strogatz) y k=1 implica simplemente que las lenguas X e Y son la misma.

Es digno de mención que la similitud o distancia entre lenguas ha sido hasta ahora un concepto descrito desde un punto de vista teórico (Nowak, Komarova y Niyogi, 2002), pero hasta el momento su cálculo en casos prácticos ha sido prácticamente imposible.

Del mismo modo, para la fuga de hablantes desde la lengua Y

$$P_{YB} = ckS_X(1-y)^a \tag{6}$$

y

$$P_{YX} = c(1-k)S_X(1-y)^a \tag{7}$$

Para las transferencias de hablantes desde la situación bilingüe a X consideramos $P_{BX}=P_{YX}$ (puesto que los cambios desde B a X y de Y a X implican la pérdida del lenguaje Y). Equivalentemente, $P_{BY}=P_{XY}$.

De este modo llegamos a un par de ecuaciones diferenciales acopladas para x e y:

$$\frac{dx}{dt} = c\left[(1-x)(1-k)S_X(1-y)^a - x(1-S_X)(1-x)^a\right] \tag{8}$$

y

$$\frac{dy}{dt} = c\left[(1-y)(1-k)(1-S_X)(1-x)^a - yS_X(1-y)^a\right] \tag{9}$$

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Se ha encontrado que el modelo ajusta con éxito la evolución histórica del número de hablantes bilingües y monolingües en gallego y castellano en Galicia desde el año 1877, fecha del primer registro encontrado en datos de la Real Academia Galega (1995) y además permite obtener, por primera

vez, una medida de la distancia interlingüística entre gallego y castellano (Mira y Paredes, 2005), que con un valor de k= 0.80 cuantifica de un modo que parece razonable (o sea, un 80% de similitud) el gran tronco común de ambas lenguas.

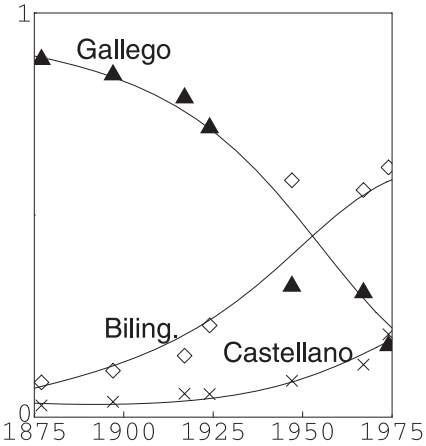

Figura 1: Fracción de hablantes versus año en el período 1877–1975 en Galicia (datos de la Real Academia Galega). En esta época el gallego sufre un bajo estatus, que comienza a recuperarse luego de la restauración democrática. El dato correspondiente a 1945 es claramente anómalo, posiblemente por la situación política de posguerra. Las líneas demuestran el éxito del ajuste a nuestro modelo, que reproduce la evolución histórica con los parámetros a = 1.50, Sgallego = 0.26, c = 0.1 y k = 0.80.

En la Figura 1 se muestra el resultado del ajuste. Se obtienen valores para las constantes de c = 0.1 y a= 1.50. Es de reseñar que para este exponente a Abrams y Strogatz habían encontrado una constancia sorprendente: es invariable para todas las culturas estudiadas dentro de un margen a= 1.31 ± 0.25. Aquí encontramos que para la situación gallego-castellano se sigue manteniendo esa universalidad, un resultado importante: nótese que hay cuatro parámetros en el modelo, pero sólo dos (s, k) tienen significado real, lo cual es una limitación, ya que sociedades con lenguas de similares estatus y distancia interlingüística podrían evolucionar de modo diferente.

Mención aparte merece el resultado del parámetro de estatus: 0.26 para el gallego (por lo tanto 0.74 para el castellano), muy bajo, y que simplemente constata la realidad histórica de esa lengua en el período considerado. Además

se ha comprobado, tras observaciones empíricas de estudios numéricos, que, dados unos valores para a y el parámetro de distancia interlingüística, k, existe un valor crítico para el estatus S_{min} de modo que, para todo $S < S_{min}$ la lengua de bajo estatus acaba desapareciendo, mientras que si $S > S_{min}$ tanto la lengua de bajo estatus como la situación bilingüe sobreviven. El valor S_{min} es aquél para el que comienzan a existir soluciones no triviales para dx/dt=dy/dt=0 (véanse ecuaciones 8 y 9). Con los valores a= 1.50, k= 0.80, se obtiene $S_{min} \approx 0.335$.

Esto tiene un interés práctico evidente porque abre la posibilidad de realizar prospectivas sobre comportamientos futuros. En este artículo presentamos nuestro análisis hasta el año 2100. En primer lugar es pertinente hacer la proyección con los mismos parámetros del ajuste obtenido a partir de los datos históricos (Figura 2).

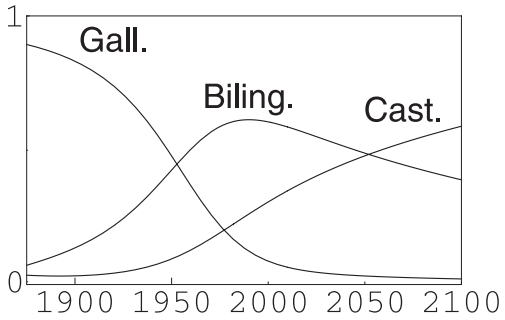

Figura 2: Proyección de la fracción de hablantes de gallego, castellano y bilingües hasta el año 2100, a partir del ajuste realizado en la Figura 1. Con los parámetros de dicho ajuste se observa cómo el grupo de monolingües en castellano crece monotónicamente y el de bilingües, que había experimentado una fuerte subida a lo largo del siglo XX, alcanza un máximo en torno al año 2000 y a partir de ese momento comienza a experimentar también una reducción monotónica.

Se observa cómo, en primer lugar, la rama monolingüe del castellano presenta un ascenso constante mientras que la fracción de monolingües en gallego retrocede notablemente hasta tener una presencia residual cerca del año 2050. Para el año 2100 puede darse como desaparecido este grupo

en esta simulación. Debe insistirse que la desaparición es la del grupo monolingüe y no de la lengua gallega como tal, que seguiría subsistiendo en el grupo bilingüe.

Consideración aparte merece el comportamiento del grupo bilingüe: en las etapas finales del siglo XX e iniciales del XXI es el grupo mayoritario, situación fácilmente comprobable porque responde a la realidad actual de Galicia (la mayoría de su población declara, a día de hoy, su condición bilingüe).

No obstante, y pese a la subida inicial del grupo bilingüe, que en principio parecería indicar una progresiva hegemonía de este grupo, la dinámica del sistema da un giro inesperado a principio del siglo XXI: tras alcanzar un máximo el grupo bilingüe comienza a decrecer, lenta pero monotónicamente. Con el estatus para el gallego de 0.26 la situación bilingüe no es, pues, estable.

Una evidencia clara de las simulaciones es el progreso del grupo de monolingües en castellano, un tema que suele generar fuerte polémica en su análisis, pero que analizado fríamente parece confirmarse: al margen de interpretaciones, el hecho científico es que los estudios llevados a cabo en los últimos años constatan una pérdida progresiva y alarmante del uso del gallego y un incremento de la opción monolingüe en castellano en las generaciones más jóvenes. La pirámide poblacional invertida de monolingües en gallego es, de hecho, un clásico en el análisis social de Galicia: en ella se observa claramente cómo a medida que decrece la edad del sujeto decrece el uso del gallego opción monolingüe en una línea que coincide con el análisis derivado de nuestro sistema de ecuaciones.

Por ejemplo según se desprende de los últimos datos a nuestra disposición (Consello da Cultura Galega, 2005) el porcentaje de monolingües en gallego cae del 65.7% en la franja de mayores de 65 años al 27% para la franja de 16 a 25 años. Al mismo tiempo, para los hablantes monolingües en castellano la tendencia es la inversa: pasa del 10.4% entre los mayores de 65 años al 33.1 % en los menores de 16 años.

Teniendo en cuenta que los jóvenes de hoy serán los hablantes del mañana, la situación sociolingüística que describe nuestro modelo parece correcta.

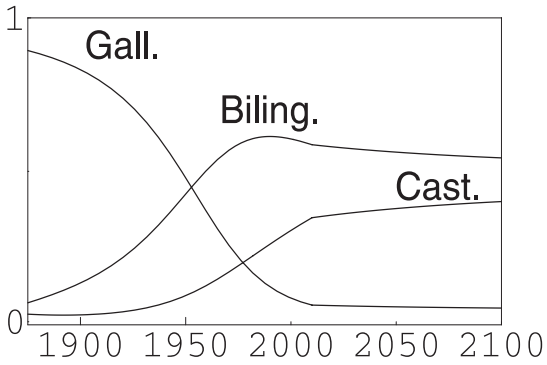

Figura 3: Proyección de futuro de la situación sociolinguística de Galicia hasta el año 2100 en un escenario con distancia interlingüística k= 0.80 y un estatus del gallego $S_{gallego} = 0.36 > S_{min}$). Se observa cómo, unha vez superado el estatus mínimo, se garantiza la supervivencia en el tiempo de los tres grupos de hablantes.

Ahora bien, el estatus obtenido de nuestro ajuste procede del análisis hasta 1975. Es obvio que la restauración democrática conllevó un aumento de ese estatus debido al apoyo político a la lengua gallega y sobre todo a su consideración de cooficialidad con el castellano (Art. 3 de la Constitución Española de 1978).

Por lo tanto hemos permitido variaciones del parámetro de estatus en la simulación de las curvas en las últimas etapas del siglo XX hasta encontrar un posible punto de estabilidad.

Tal situación se produce para el ya mencionado estatus mínimo del gallego de 0.335 (0.665 para el castellano). Un valor por encima de ese mínimo, junto a la ya calculada distancia interlingüística de k= 0.80, conducen al resultado de la Figura 3 (realizada con $S_{gallego} = 0.36$). En esta simulación se aprecia que las ramas del gallego, castellano y bilingüe muestran un comportamiento asintótico, por lo tanto con una situación bilingüe estable. Señalar que el porcentaje de gallegos monolingües es muy pequeño ya entrados en el siglo XXI, lo que indica que será difícil encontrar gallegos monolingües que desconozcan el castellano, una situación más que esperable.

CONCLUSIONES

Se ha presentado un modelo que reproduce la evolución histórica de la situación lingüística de Galicia, incluyendo la descripción del grupo bilingüe. El modelo es una extrema simplificación de la realidad, ya que una complicada situación sociolingüística es resumida en unos pocos parámetros en las ecuaciones. A pesar de ello, los datos de que disponemos son descritos con notable precisión y creemos que, en conjunto, los resultados están cualitativamente de acuerdo con la evolución lingüística en Galicia.

Asimismo, en contra de la predicción del modelo de Abrams y Strogatz, se observa la posibilidad de mantenimiento de una situación bilingüe estable, sin que ello implique la segregación de dos comunidades monolingües coexistentes sobre un mismo territorio e incluso que una situación de competición de dos lenguas en el mismo territorio no tiene por qué llevar inexorablemente a la extinción de una de ellas, en contra nuevamente de modelos teóricos previos.

La clave que permite la estabilidad del bilingüismo parece ser un factor introducido en nuestro modelo como distancia interlingüística, que suaviza el efecto de las diferencias de estatus entre las lenguas en competición. A ese factor, postulado idealmente en diferentes modelos, puede dársele ahora un valor cuantitativo a partir de nuestros ajustes: 0.80 para el binomio gallego-castellano (80% de coincidencia entre ambas lenguas).

Por último, se realizan proyecciones de futuro de la situación sociolingüística de Galicia que indican que, de no alcanzarse un estatus para la lengua gallega de 0.335, la situación sería de crecimiento sostenido del grupo de monolingües en castellano, en detrimento del grupo de monolingües en gallego e incluso de bilingües, que ya no sería un subgrupo estable en el tiempo. La supervivencia del gallego estaría, pues, en peligro.

BIBLIOGRAFÍA

ABRAMS, D. M. y STROGATZ, S. H., 2003. Nature 424, 900

CONSELLO DA CULTURA GALEGA, 2005. A Sociedade galega e o idioma. A evolución sociolingüística de Galicia (1992-2003).

EUROMOSAIC, 1996. Production and reproduction of the minority linguistic groups of the European Union, Comisión Europea.

HAWKINGS, J. A. y GELL-MANN, M., 1972. The Evolution of Human Languages, Addison-Wesley (Reading, Mass.).

K. KOSMIDIS, K. HALLEY, J. M. y ARGYRAKIS, P., 2007. Physica A (en prensa);

KRAUSS, M., 1992. Language 68, 4.

MIRA, J. y PAREDES, Á., 2005. Europhysics Letters 69, 1031

NOWAK, M. A., KOMAROVA, N. L. y NIYOGI, P., 2002. Nature 417, 611.

REAL ACADEMIA GALEGA 1994. Usos lingüísticos en Galicia, Real Academia Galega (Santiago de Compostela)

Revista Real Academia Galega de Ciencias. Vol. XXVI. Págs. 29-41 (2007)

RESPUESTA DE PLANTAS DE ÁLAMO A ELEVADAS CONCENTRACIONES DE PLOMO

JOSÉ LUIS COUSELO y ELENA CORREDOIRA

Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia, CSIC
Apartado 122 15080, Santiago de Compostela, España
e-mail: jlcb@iiag.cesga.es

RESUMEN

Se estudió la respuesta de plantas de *Populus tremula x tremuloides* cv. Etrepole (producción de biomasa, absorción, transporte), tanto en sustratos artificiales suplementados con concentraciones crecientes de plomo (cultivos hidropónicos) como en suelo contaminado. Se determinó una reducción en la biomasa, más pronunciada en la parte aérea que en las raíces. En la parte aérea, se observó un balance neto positivo en la acumulación de Pb hasta concentraciones en el medio hidropónico de 1.5 mM de Pb. Con una concentración mayor de Pb en el medio hidropónico el contenido total de Pb en la parte aérea disminuyó, pese a registrase valores de concentración mayores. Los factores de acumulación del metal en la raíz y en la parte aérea sólo descendieron cuando las plantas crecieron con soluciones 3 mM de Pb y la reducción en la producción de biomasa alcanzó el 60% en la parte aérea y el 39% en la raíces. Cuando las plantas se expusieron a 1.8 mM de Pb, se determinó una acumulación de Pb media de 6.5 mg por planta aunque el Pb se acumuló, de forma mayoritaria, en las raíces. La distribución de Pb que se registró en la parte aérea fue homogénea sin acumularse preferentemente en ningún órgano. Cuando las plantas crecieron en un suelo contaminado con Pb, la absorción y el transporte fueron menores que en los ensayos con cultivos hidropónicos, aunque el factor de acumulación de la raíz registró valores mayores que 1.

Palabras clave: absorción, acumulación, álamo, biomasa, distribución, plomo, *Populus,* transporte

ABSTRACT

The response of *Populus tremula x tremuloides* cv. Etrepole plants (biomass production, absorption, transport) to increasing concentrations of Pb was studied in both artificial substrates (hydroponic cultures) and contaminated soil. A reduction in biomass production, more pronounced in the aerial part than in the roots, has been recorded. The evolution of total uptake of Pb in aspen plants relating to increasing concentrations of the metal showed a positive net balance in Pb accumulation up to 1.5 mM. When plants were grown with 3 mM of Pb, root concentration factor and bioconcetration factor values only decreased when biomass reduction reached 60% in the aerial part and 39% in the roots. When the aspen plants were exposed to 1.8 mM of Pb, a mean accumulation of 6.5 mg of Pb was recorded. The Pb accumulates mainly in the roots and the transport of the Pb was homogenous throughout the aerial part. When aspen plants were grown in a contaminated soil, uptake and Pb transport values were lower than those obtained with hydroponic cultures, although the accumulation factor of the root reached values higher than 1.

Key words: accumulation, allocation, aspen, biomass, distribution, lead, Populus, uptake.

INTRODUCCIÓN

Muchos ecosistemas están afectados por la presencia de elevadas concentraciones de metales que pueden encontrase por causas naturales o por fuentes antropogénicas, como la industria o la minería (MacFarlane y Burchett, 2001). El estudio de la toxicidad y la tolerancia de las plantas a los metales han suscitado un enorme interés, habiendo sido objeto de diferentes revisiones (Clemens, 2001, 2006). Metales como Ag, Hg, Cd, Pb y Sb no tienen funciones conocidas como nutrientes de las plantas y, sin embargo, tienen un potencial tóxico elevado debido a su reactividad con los grupos de las cadenas laterales de algunos aminoácidos. Las plantas disponen de diferentes mecanismos para intentar regular la concentración de los iones metálicos y/o para paliar los efectos negativos provocados por los mismos.

Una planta está sometida a estrés por metales cuando los mecanismos de autorregulación resultan insuficientes para evitar sus efectos (Van Assche y Clijster, 1990). Para mantener la concentración de los metales esenciales dentro de parámetros fisiológicos y minimizar su efecto dañino, las plantas han desarrollado una compleja red de mecanismos homeostáticos que sirven para controlar la absorción, acumulación, transporte y detoxificación de los metales (Clemens, 2001).

El estudio de esta red de mecanismos homeostáticos ha tenido un apoyo notable en un grupo de plantas denominadas hiperacumuladoras, entendiéndose como tales las plantas que, de manera natural, acumulan altas concentraciones de uno o varios metales en su parte aérea en ausencia de síntomas de toxicidad (clorosis, reducción de la producción de la biomasa aérea, etc.) (Baker y Brooks, 1989) y se han descrito al menos 400 especies vegetales hiperacumuladoras, aunque la más estudiada sin duda es *Thlaspi caerulescens* que es capaz de acumular elevadas concentraciones de Cd y Zn (Baker y col., 1994). Desgraciadamente, la mayoría de estas especies tienen una baja producción de biomasa y un débil sistema radical, por lo que su capacidad fitorremediadora (eliminación de contaminantes por medio de las plantas) es limitada. Más interesantes parecen ser especies arbóreas de crecimiento rápido, tales como *Salix* y *Populus* (Meers y col., 2007; Dos Santos Utmazian y col., 2007). Sin embargo, un conocimiento mayor de la toma de metales, su transporte y distribución y las interacciones suelo-árbol es necesario para determinar el potencial de fitorremediación de los árboles.

El plomo es un metal pesado altamente tóxico, aunque su biodisponibilidad suele ser baja en suelos. Se han estudiado las respuestas de especies de *Populus* a elevadas concentraciones de Cd y Zn pero no hay estudios específicos con respecto a la respuesta de otros metales pesados como el Pb en esta especie.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la respuesta del álamo *Populus tremula x tremuloides* cv. Etrepole a diferentes sustratos contaminados con plomo para i) establecer el nivel de tolerancia del Pb; ii) investigar la absorción, transporte y distribución de Pb dentro de la planta bajo condiciones tóxicas; iii) comparar los perfiles de absorción, transporte y distribución del Pb entre experimentos con cultivos hidropónicos y con los llevados a cabo con suelos contaminados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron plantas de *Populus tremula x tremuloides* cv. Etrepole regeneradas in vitro de acuerdo con la metodología descrita por Couselo y Corredoira (2004). En todos los ensayos se utilizaron plantas enraizadas y aclimatadas en invernadero en un substrato turba-perlita 3:1 v/v, de 9 semanas de edad, con un tamaño uniforme (altura del brote aproximadamente 15.0±2.0 cm).

Experimento de toxicidad

Las plantas de álamo se individualizaron en contenedores de 350 cm^3 que contenían turba-perlita (3:1) y se expusieron a concentraciones de $(NO_3)_2$ Pb de 0, 0.38, 0.75, 1.5 or 3 mM, suplementadas con 0.8 mM NO_3K, 0.5 mM $(NO_3)_2Ca$, 10 μM $SO_4Mg{\cdot}7H_2O$, 10 μM FeNaEDTA, 10 μM BO_3H_3, 0.5 μM IK, 0.1 μM Cl_2Co, 1.0 μM $SO_4Mn{\cdot}H_2O$, 0.1 μM $SO_4Cu{\cdot}5H_2O$, 1 μM $SO_4Zn{\cdot}7H_2O$ y con 6, 5.25, 4.5, 3 o 0 mM de NO_3 NH_4. El pH de todas las soluciones (que se suministraron semanalmente) se ajustó a 4.5. El sistema de simulación Geochem-PC de Parker y col. (1995) confirmó que, en todas las soluciones, el Pb se encontraba predominantemente como ion libre y soluble. Se utilizaron 5 plantas por tratamiento y el experimento completo se repitió dos veces en diferentes estaciones de crecimiento.

Las plantas expuestas a Pb crecieron en invernadero durante 18 semanas, al cabo de las cuales se dividieron en raíz y parte aérea. La raíz se lavó con agua corriente, luego con Cl_2Ca-ClH (pH 3.8) durante 15 min y finalmente con agua desionizada. La parte aérea se dividió en tallos y hojas que se lavaron con agua. Todas las partes se secaron inicialmente con papel de filtro y luego en un horno a 70º C hasta peso constante (48 h). Para evaluar la toxicidad, se determinó la longitud del tallo, el número de hojas y la biomasa, ésta como el peso seco total de raíces, tallos y hojas (la biomasa de la parte aérea se calculó como la combinación de la biomasa de tallos y hojas). Se determinó el contenido de Pb (ver más adelante) y se definieron dos factores. El factor de bioacumulación (FCB), calculado como el cociente entre la concentración del metal en la parte aérea (tallos + hojas) y en la disolución contaminante; el factor de concentración de raíz (FCR) como el cociente entre la concentración del metal en la raíz y en la disolución contaminante.

Experimento de absorción, transporte y distribución de Pb en condiciones tóxicas

En este ensayo, las plantas de álamo se dispusieron en macetas de plástico de 2.5 litros con turba-perlita 3:1 v/v como sustrato. Las plantas se expusieron a una solución de 0 o 1.8 mM $(NO_3)_2$ Pb y suplementada con 0.8 mM NO_3K, 0.5 mM $(NO_3)_2Ca$, 10 μM $SO_4Mg{\cdot}7H_2O$, 12 μM PO_4H_2K, 10 μM FeNaEDTA, 10 μM BO_3 H_3, 0.5 μM IK, 0.1 μM Cl_2Co, 1.0 μM $SO_4Mn{\cdot}H_2O$, 1.0 μM $SO_4Mg{\cdot}H_2O$, 0.1 μM $SO_4Cu{\cdot}5H_2O$, 1 μM $SO_4Zn{\cdot}7H_2O$. El pH de la solución se ajustó a 4.5 con ClH 1M. Tanto la solución de Pb como la control se aplicaron a las plantas a intervalos semanales. Se utilizaron 5 plantas por tratamiento y el experimento, en su conjunto, se repitió dos veces. Al cabo de 18 semanas de crecimiento en invernadero, se recolectaron las plantas y se aislaron, por separado las raíces, los tallos y las hojas. Los tallos se dividieron en dos secciones (T_1 y T_2, de la base al ápice) y las hojas (H_1 y H_2) correspondientes a cada sección se recolectaron separadamente. Se determinó el contenido de Pb y para definir el transporte relativo del metal a lo largo del eje raíz-tallo-hojas se utilizó el coeficiente de transporte de metales (CTM) como el cociente entre la concentración de Pb en las partes superior e inferior de la planta.

Ensayo con suelo contaminado

En este ensayo, las plantas de álamo se transfirieron a macetas de 2.5 L llenas con suelo contaminado M15 o con una mezcla de turba-perlita (3:1 v/v), que se utilizó como control. El suelo M15 proviene de una zona minera rica en Pb y Zn de Murcia y tiene una elevada concentración de ambos metales (Tabla 1, Gisbert y col., 2006). Las plantas (5 por tratamiento) crecieron durante 22 semanas en invernadero y se regaron con agua, aunque los controles se irrigaron con solución de Hoagland una vez a la semana. El experimento se repitió 2 veces. Las plantas se recolectaron y se procesaron igual a las de los ensayos anteriores y se calcularon los índices FCB, CTM y FCR, este último como la relación entre la concentración del Pb en la raíz y en el suelo.

Tabla 1. Características generales del suelo contaminado M15 (Gisbert y col., 2006).

Características	
pH	7.86
EC (dS m^{-1})	0.15
CO3Ca (%)	15.0
CEC (cmolc·kg^{-1})	n.d.
OM (%)	7.6
C-orgánico (g·kg^{-1})	4.4
N-Total (g·kg^{-1})	0.6
Fe (g·kg^{-1})	n.d.
Mn (g·kg^{-1})	n.d.
Cu (mg·kg^{-1})[a]	35
Pb (mg·kg^{-1})[a]	2345
Zn (mg·kg^{-1})[a]	1826
Ni (mg·kg^{-1})[a]	27
Cd (mg·kg^{-1})[a]	0.3
Cr (mg·kg^{-1})[a]	36

n.d., no determinado
[a] Límites de la UE (mg·kg^{-1}) para suelos agrícolas (pH 6–7): Cu 50–140; Pb 50–300; Zn 150–300; Ni 30–75; Cd 1–3; Cr 100–150.

Determinación del contenido de Pb

Se utilizaron 0.15 gr de planta pulverizada (en mortero de ágata), digerida con 4 ml de NO_3H (Ultrapur®) y 2 mL H_2O_2 (Ultrapur®) utilizando un horno microondas de digestión en reactores de Teflon PFA. La concentración de Pb se determinó mediante un espectrofotómetro de absorción atómica (ICP MS, Varian Spectr AA-250 plus) o un espectroscopio de masas con fuente de plasma acoplada inductivamente (Termo X Series II). Las muestras se analizaron por triplicado y se utilizó un material de referencia (hojas de álamo NCS DC 73350) para calibración del equipo.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA); el test de Levene se ha utilizado para determinar la homogeneidad entre tratamientos; el de Tukey HSD para comparar medias cuando las varianzas son iguales y el de Dunnett T3 cuando las varianzas no son iguales. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el paquete estadístico

SPSS (SPSS 10.0). La separación entre medias se calculó con el ensayo de las diferencias mínimas al nivel 0.05 de significación.

RESULTADOS

Experimento de toxicidad

La longitud del tallo y el número de hojas se vieron afectadas por el Pb, descendiendo significativamente a concentraciones superiores a 0.75 mM de $(NO_3)_2$ Pb, aunque la relación número de hojas/longitud del tallo permaneció constante, independientemente de la concentración de Pb suministrada. Por encima de esta concentración, se observó una marcada clorosis en las hojas de las plantas (datos mostrados).

Tabla 2. Valores de producción de biomasa total (gr, peso seco), concentración de Pb (mg/Kg) y contenido total de Pb (μg) en la parte aérea (tallos+hojas) y en la raíz de plantas de álamo registrados en el ensayo de toxicidad. Nd: no detectado. Los datos se expresan como medias±ES.

$(NO_3)_2$Pb mM	Biomasa (gr, peso seco)			Concentración de Pb (mg/Kg)			Plomo total (µg)		
	Total	Parte aérea	Raíz	Raíz	Tallos	Hojas	Total	Parte aérea	Raíz
0	4.2±0.3 [a]	3.3±0.2 [a]	0.9±0.1 [a]	1.2±0.3	Nd	Nd	1±0.2 [a]	0±0 [a]	1.7±1 [a]
0.38	4.1±0.2 [a]	3.2±0.1 [ab]	0.9±0.2 [a]	252± 42	2± 6.1	8± 2.3	304±29 [b]	53.6±10 [b]	249.9±15 [b]
0.75	3.8±0.2 [a]	2.9±0.1 [b]	0.9±0.2 [a]	573± 42	62± 5.6	15± 4	651±146 [c]	99.5±17 [c]	551±134 [c]
1.5	3.1±0.2 [b]	2.4±0.2 [c]	0.7±0.1 [ab]	1161± 77	122± 15	32± 4	1031±93 [d]	178.1±21 [d]	853.4±51 [d]
3	1.6±0.2 [c]	1.1±0.2 [c]	0.5±0.1 [b]	1730± 78	169± 6	38± 9	1093±92 [d]	115.2±29 [c]	978.1±60 [d]

Dentro de cada columna, valores seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel p=0.05.

La concentración de Pb en las raíces, tallos y hojas aumenta con la concentración de $(NO_3)_2$Pb en el medio hidropónico siendo esta mayor en las raíces que en los tallos o las hojas (Tabla 2). Al aumentar la concentración de Pb en el medio hidropónico, la biomasa total se vio afectada negativamente con concentraciones mayores de 0.75 mM (Tabla 2). Sin embargo, cuando se considera de forma separada la producción de biomasa de la parte aérea y las raíces, se observa que el descenso en la producción de biomasa de la parte aérea comienza con concentraciones de Pb de 0.38 mM, mientras que en la raíz se observa sólo con concentraciones superiores de 1.5 mM. Así, cuando las plantas crecieron en medio hidropónico con 3 mM de Pb

la disminución en la producción de biomasa con respecto al control llegó hasta un 61% en la parte aérea, mientras que en las raíces fue del 45%.

Aunque el contenido total de Pb en la raíz aumentó con la concentración de Pb en el medio hidropónico, el contenido total de Pb en la parte aérea descendió significativamente por encima de 1.5 mM de Pb (Tabla 2) a pesar de que la concentración de Pb registrada en tallos y hojas continuó aumentado. Cuando se calculan los factores de acumulación, se observó (Fig. 1) que la acumulación en la parte aérea (FCB) permaneció constante hasta concentraciones de 1.5 mM de Pb, mientras que la acumulación en la raíz (FCR) aumentó ligeramente. Ambos factores cayeron con 3 mM de Pb en el medio hidropónico.

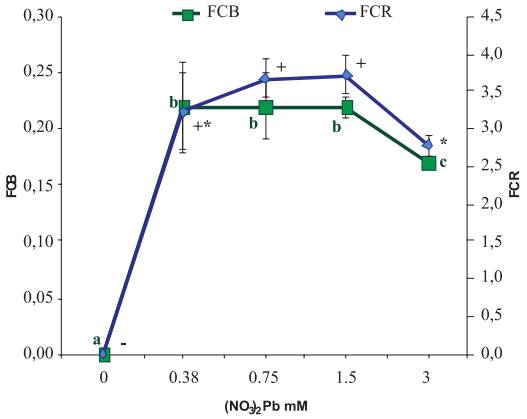

Fig. 1. Evolución de los factores de concentración de la biomasa (FCB) y de la raíz (FCR) con la concentración de $(NO_3)_2Pb$. Valores seguidos por la misma letra o símbolo no son significativamente diferentes a nivel p=0.05.

Experimento de absorción, transporte y distribución de Pb bajo condiciones tóxicas

Al igual que en el ensayo anterior, después de 18 semanas de crecimiento en invernadero bajo una concentración de 1.8 mM de $(NO_3)_2Pb$, las hojas de las plantas mostraron una marcada clorosis respecto a las plantas control. La producción de biomasa (Tabla 3) fue mayor que la obtenida en el experimento de toxicidad, aunque las concentraciones de Pb en raíces,

tallo y hojas alcanzaron valores similares al del caso anterior. Después de 18 semanas de exposición, se registró una media de 6.5 mg de Pb por planta, acumulándose mayoritariariamente en las raíces (88.92%). Aunque el Pb se encontró fuertemente inmovilizado en las raíces (CTM_{R-T1}=0.11 Tabla 3), la movilidad del Pb transportado a la parte aérea fue constante ($CTM_{T2-T1} \approx CTM_{H1-T1} \approx CTM_{H2-T2} \approx 0.28$).

Tabla 3. Producción de biomasa, concentración de Pb en diferentes órganos de la planta y coeficientes de movilidad (CTM), y concentración en biomasa (FCB) y raíz (FCR) en diferentes secciones (1-2 de la base al ápice) de álamo híbrido creciendo con una solución 1.8 mM de $(NO_3)_2Pb$. R: raíz; T: tallo; H: hoja. Los datos son medias ± ES.

Órgano	Peso seco (gr)	Concentración Pb (mg/Kg)	CTM	FCB	FCR
				0.21	3.26
R	3.4±1.9	1224±122	$T_1/R=0.11^b$		
T_1	2.6±2.0	142±17	$T_2/T_1=0.28^a$		
T_2	0.9±0.5	43±5			
H_1	1.3±50.9	47±5	$H_1/T_1=0.31^a$		
H_2	1.3±11.1	11±14	$H_2/T_2=0.26^a$		

Datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes a nivel p=0.05

Ensayo con suelo contaminado

La producción de biomasa en el experimento con suelo fue menor que en el ensayo anterior (Tabla 4).

Tabla 4. Producción de biomasa, concentración y cantidad total de Pb en diferentes órganos de la planta. Coeficientes de movilidad (CTM) entre diferentes partes de la planta (1-2 de la base al ápice). Factores de concentración en biomasa (FCB) y raíz (FCR) de álamo creciendo con el suelo contaminado M15. Los datos son medias ± ES.

Órgano	Peso seco (gr)	Concentración Pb (mg/Kg)	CTM	FCB	FCR
				0.21	3.26
R	3.4±1.9	1224±122	$T_1/R=0.11^b$		
T_1	2.6±2.0	142±17	$T_2/T_1=0.28^a$		
T_2	0.9±0.5	43±5			
H_1	1.3±50.9	47±5	$H_1/T_1=0.31^a$		
H_2	1.3±11.1	11±14	$H_2/T_2=0.26^a$		

Datos seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel p=0.05

En las plantas crecidas sobre el suelo M15 el 95% del Pb se encontró en las raíces, corroborando de esta forma los resultados obtenidos en el ensayo anterior, en el que se utiliza un sustrato artificial. Sin embargo, a pesar del elevado contenido de Pb en el suelo utilizado (2345 mg/Kg), la cantidad acumulada en las raíces fue muy baja (FCR=0.09). Cuando este parámetro se calcula en función del Pb biodisponible en el suelo calculado por Gisbert y col. (2006), el valor obtenido es de 1.23. Por otra parte, la proporción de Pb movilizada al tallo fue la mitad de la obtenida en el ensayo anterior ($CTM_{T1/R}$= 0.05 *versus* 0.11, Tablas 4 y 5), aunque la movilidad del Pb a lo largo del tallo y entre el tallo y las hojas permaneció constante y similar al encontrado en el ensayo anterior.

DISCUSIÓN

No existe mucha información sobre el efecto del plomo en diferentes especies e híbridos del género *Populus*. Se ha demostrado que el Pb tiene un efecto notable sobre la nutrición mineral, el potencial hídrico y la estructura de la membrana celular (Seregin e Ivanov, 2001) y la consecuencia de todo ello es la reducción de la biomasa tanto de la parte aérea como de la raíz. Algunos autores describen la inhibición del crecimiento de la raíz como un síntoma claro del efecto del plomo (Yang y col., 2000; Dos Santos Utmazian y col., 2007); sin embargo, en nuestro sistema experimental, la reducción de la biomasa en la parte aérea tuvo lugar con concentraciones de Pb más bajas que en las raíces, lo que evidencia una elevada tolerancia de las raíces de las plantas de álamo a la acción del Pb. Además, la absorción y el transporte hacia parte aérea de Pb en las plantas de álamo no parecen verse comprometidos significativamente hasta concentraciones de 3 mM Pb, mientras que la reducción en la producción de biomasa en la parte aérea es significativa a partir de 0.75 mM Pb. Aunque se ha sugerido que altas concentraciones de Pb pueden provocar alteraciones en las membranas celulares que reducen la barrera suelo/planta y aumentan la absorción de Pb (Hall 2002), la tendencia observada en los valores del FCR y del FCB indica que la absorción y la translocación de Pb hacia la parte aérea responden de manera proporcional al incremento de Pb en el medio hasta alcanzar 3 mM cuando ambos valores caen.

Si observamos la evolución del contenido total de Pb en la parte aérea de las plantas y lo comparamos con las concentraciones de Pb registradas,

encontramos que la cantidad máxima de Pb extraído y transportado hacia la parte aérea de las plantas de álamo (178 μg de Pb con 1.5 mM de Pb en el medio hidropónico) se alcanza antes de que la concentración de Pb en tallos y hojas alcance su valor máximo (169 y 38 mg/kg con 3 mM Pb en el medio hidropónico) y después de que la reducción de la biomasa de la parte aérea sea ya significativa (a partir de 0.75 mM Pb en el medio hidropónico). Este umbral de tolerancia difiere de los que habitualmente se utilizan para la estimación del potencial fitorremediador de una planta, en los que sólo se tiene en cuenta la reducción en la producción de biomasa o en el crecimiento de la parte aérea o de la raíz (Baker et al. 1994, Dos Santos Utmazian et al. 2007). Al establecer en nuestro sistema experimental el umbral práctico de tolerancia en 1.5 mM de Pb en el medio hidropónico, utilizamos una concentración de 1.8 mM para estudiar el transporte y distribución del Pb en condiciones de elevada toxicidad.

En todos los ensayos, el factor de concentración del Pb en la raíz siempre fue mayor que 1; ya que aunque este mismo factor calculado en el ensayo con suelo contaminado desciende a un valor de 0.09, debido a la baja disponibilidad del Pb en el suelo, si este índice se calcula teniendo en cuenta la fracción del plomo biodisponible (Gisbert y col., 2006), el valor corregido es de 1.23. El transporte del Pb hacia la parte aérea fue bajo (CTM<1) en todos los casos, lo que indica que la capacidad de estas plantas para retirar Pb de sustratos contaminados mediante la recolección de la parte aérea en ausencia de tratamientos específicos de movilización del Pb (por ejemplo mediante adición de EDTA), es muy limitada, aunque los valores de absorción y transporte entre la raíz y la parte aérea son similares a los encontrados en otras especies que se han propuesto para ser utilizadas en programas de fitorremediación como *Brassica juncea* (Baylock y col., 1997). La movilidad del plomo en la parte aérea fue constante, por lo que no existe acumulación diferencial en órganos, lo que podría confirmar que el transporte del Pb a lo largo de la parte aérea tiene lugar de forma pasiva, a través de un proceso de difusión, tal como se ha observado en *Cardaminopsis halleri* o *Armeria maritima* (Dahamani-Muller y col., 2000).

Debido al gran número de factores que intervienen en el proceso (tipo y edad de las plantas, tipo de ensayos, condiciones de crecimiento, etc.) los resultados son difíciles de comparar con los de otros investigadores. Sin embargo, podemos concluir que, bajo nuestras condiciones experimentales,

las plantas de álamo presentan un umbral de tolerancia al Pb por encima del cual, pese al aumento de concentración de Pb en la planta, el contenido total de Pb no aumenta, lo que marcaría un límite para ser utilizada en tareas de fitorremediación, aunque esta tolerancia umbral debe ser fijada en diferentes condiciones experimentales. Además el Pb se acumula principalmente en las raíces que son capaces de acumular cantidades mayores de Pb que las existentes en el medio en el que crecen (FCR>1), ya sea sobre un sustrato artificial o sobre un suelo de mina contaminado con Pb, por lo que podrían considerarse como una especie útil en la estabilización de este metal tóxico en suelos contaminados.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Ministerio de Educación y Ciencia la ayuda económica para la realización de este trabajo a través del Proyecto AGL2005-00709.

BIBLIOGRAFÍA

BAKER, A.J.M., BROOKS, R.R. 1989. Terrestrial higher plants which hyper accumulate metallic elements – Review of their distribution, ecology, and phytochemistry. Biorecovery, 1: 81-126.

BAKER, A.J.M., REEVES, R.D., HAJAR, A.S.M. 1994. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae). New Phytologist 127: 61–68.

BLAYLOCK, M.J., D.E. SALT, S. DUSHENKOV, O. ZAKHAROVA, C. GUSSMAN, Y. KAPULNIK, B.D. ENSLEY, I. RASKIN. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. Environ. Sci. Technol. 31: 860-865.

CLEMENS, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. Planta, 212: 475-486.

CLEMENS, S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. Biochimie, 88: 1707-1719.

COUSELO, J.L., CORREDOIRA, E. 2004. Transformación genética de *Populus tremula x tremuloides* con la secuencia *AtPCS1* para su uso en programas de fitorremediación. Rev. Acad. Gal. Cienc., 23: 79-94.

DAHMANI-MULLER, H., VAN OORT, F., GÉLIE, B., BALABANE, M. 2000. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. Environ. Pollu. 109: 231-238.

DOS SANTOS UTMAZIAN, M.N., WIESHAMMER, G., VEGA, R., WENZEL, W.W. 2007. Hydroponic screening for metal resistance and accumulation of cadmium and zinc in twenty clones of willows and poplars. Environ. Pollut. 148: 155-165.

GISBERT, C., CLEMENTE, R., NAVARRO-AVINO, J., BAIXAULI, C., GINER, A., SERRANO, R., WALKER, J., BERNAL, M.P. 2006. Tolerance and accumulation of heavy metals by *Brassicaceae* species grown in contaminated soils from Mediterranean regions of Spain, Environmental and Experimental Botany, 25: 19-27.

HALL, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance J. Exp. Bot. 53(366): 1-11.

YANG, Y.Y., SONG, J.Y., SUH, W.Y., LEE, H.S. 2000. Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization of the mechanism of tolerance. Plant Physiol. 124(3): 1019-1026.

MACFARLANE GR, BURCHETT MD. 2001. Photosynthetic pugnebts and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the greymangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. Mar. Pollut. Bull., 42: 233-240.

MEERS, E., VANDECASTEELE, B., RUTTENS, A., VANGRONSVELD, J., TACK, F.M.G. 2007. Potential of five willow species (*Salix* spp.) for phytoextraction of heavy metals. Environ. Exp. Bot. 60: 57-68.

PARKER, D.R., CHANEY, R.L., NORVELL, W.A. 1995. Geochem-PC a chemical speciation program for IBM and compatible personal computers. *In* RH Loeppert, AP Schwab, S Goldberg, eds, SSSA Special Publication Number 38. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, WI, pp 253-269.

SEREGIN, I.V, IVANOV, V.B. 2001. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. Russ. J. Plant Physiol. 48: 606-630.

VAN ASSCHE, F., CLIJSTERS, H. 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. Plant, Cell & Environment 13: 195–206.

Revista Real Academia Galega de Ciencias. Vol. XXVI. Págs. 43-52 (2007)

EL SISTEMA MESOENDOESQUELETAL EN ANÉMONAS DE MAR (CNIDARIA, HEXACORALLIA, ACTINIARIA)

M. O. ZAMPONI

CONICET. Laboratorio de Biología de Cnidarios (LABIC) http://www.labic.8m.com
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Ciencias Marinas
Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3250. B 760 2AYL Mar del Plata.
Argentina. E-mail: mzamponi@mdp.edu.ar Fax: 0054 (00223) 475--3554

RESUMEN

Los cnidarios se caracterizan por presentar un sistema esquelético constituido por el exoesqueleto (ectodermo), mesoesqueleto (mesogloea) y endoesqueleto (endodermo). Según la capa que intervenga tendrá mayor o menor prevalencia, aunque el sistema esquelético actúa como una unidad funcional. El esfínter marginal es una estructura que está formado por endodermo y mesogloea constituyendo un representante del sistema mesoendoesqueletal de las anémonas de mar (orden Actiniaria). Dicho músculo regula la apertura y cierre del disco oral, y la morfología del mismo representa una respuesta adaptativa al medio ambiente en el cual viven.

Palabras clave: Actiniaria – sistema esquelético – esfínter marginal

ABSTRACT

The phylum Cnidaria is characterized by a skeletal system comprising of exoskeleton (ectoderm), mesoskeleton (mesogloea) and endoskeleton (endoderm). These three layers may have different levels of activity, but the skeletal system acts as a single functional unit. The marginal sphincter can be formed by the endoderm and mesogloea, and this muscle is typical of the

mesoendoeskeleton system of sea anemones (order Actiniaria), controlling the aperture of the oral disk. The shape of the marginal sphincter is an adaptative response to the environment in which this species lives.

Key words: Actiniaria – skeletal system – marginal sphincter.

INTRODUCCION

El sistema esquelético de los cnidarios se divide en exoesqueleto, mesoesqueleto y endoesqueleto. Los prefijos exo (ectodermo), meso (mesogloea) y endo (endodermo) indican las partes del organismo que tienen mayor intervención en el antagonismo muscular, soporte protección; no obstante el requerimiento puede ser satisfecho por una combinación de los tres tipos esqueléticos (Chapman, 1974).

El amplio rango de los elementos constitutivos que conforman el sistema esquelético, como su uso simple o combinado en una variedad de situaciones morfológicas, demuestran la plasticidad evolutiva del sistema de sostén de los cnidarios. Dicho sistema permite a estos organismos explotar una variedad de condiciones acuáticas especialmente diversas con respecto al movimiento del agua. Hay algunas formas de pólipos que presentan resistencia a la acción de las olas, mientras que otras tienen adaptación moderada a la turbulencia del agua, lo que les permite vivir en la zona intermareal, y están sujetas a fuerzas que son altamente variables en magnitud, dirección y duración. Como ejemplo de lo mencionado el esfínter marginal de las anémonas de mar es un representante de ese sistema mesoendoesqueletal.

Este músculo fue estudiado mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) revelando la ultraestructura y composición de los miofilamentos de la especie *Phymactis clematis* Dana 1849 por González Olivera *et. al.,* (2002); sin embargo la macro morfología externa como la variación que presenta son desconocidas.-

El objetivo de este estudio es analizar la morfología del músculo esfínter de especies de anémonas de mar que constituyen poblaciones conspicuas y dominantes en el ecosistema intermareal (Acuña y Zamponi, 1995; Zamponi, 2002).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las especies empleadas para la realización de este estudio fueron *Phymactis clematis* Dana, 1849 y *Aulactinia marplatensis* (Zamponi, 1977). Dicho material procede del sector comprendido entre el Horizonte Mediolitoral Superior (HMS) y el Horizonte Mediolitoral Inferior (HMI) del Piso Mediolitoral (PM) (terminología según Peres, 1961) del sistema Intermareal de la ciudad de Mar del Plata (38° 05' S, 57° 32' W, Argentina).

Los ejemplares fueron recolectados en un nivel de marea de 0,48 m de altitud el 21/06/06 y se obtuvieron cuatro ejemplares de *P. clematis* y tres ejemplares de *A. marplatensis* respectivamente. Ambos lotes fueron transportados a laboratorio y se acondicionaron en acuarios tipo standard con agua de mar y aireación constante. Los lotes de ambas especies fueron posteriormente anestesiados con cloruro de magnesio hexahidrato ($MgCl_2$ $6H_2O$) y mantenidos en oscuridad durante un período de 24 h, para ser fijados en solución salina de formaldehído neutralizado al 40%.

Tras dos semanas de permanencia en la solución salina de formaldehído, y para que el material se endureciese, se procedió a la disección de los ejemplares. La disección de los lotes fue realizada siguiendo el plano longitudinal de simetría, y se obtuvieron los siguientes datos merísticos: longitud y anchura del músculo esfínter, forma del músculo esfínter, longitud y anchura del eje mesogloeal, forma del eje mesogloeal, numero de subejes mesogloeales, longitud y anchura de los subejes mesogloeales.

La observación de los músculos esfínteres se realizó con un microscopio binocular Kyowa Optical mod. SDZ-TR-PL, y la medición de los mismos se llevó a cabo con la ayuda de un ocular micrométrico a escala de graduación 10/100. Se realizaron cortes histológicos de 7μ de espesor y se utilizó la tinción clásica de hematoxilina-eosina para los análisis de anatomía microscópica.

UBICACIÓN TOPOGRÁFICA Y ARQUITECTURA DEL MÚSCULO ESFÍNTER MARGINAL.

Figs. 1-5. 1. Diagrama longitudinal de una anémona de mar (a, modificado de Manuel, 1981). Esquema del músculo esfínter, indicando la longitud y anchura del mismo, al igual que el eje y los subejes mesogloeales (b). **2**. Sección longitudinal de *Aulactinia marplatensis* (x 2.0). Tentáculo (T), disco oral (DO), ectodermo (E), mesogloea (M), endodermo (EN), esfínter marginal (e). **3**. Aspecto general de *Phymactis clematis* (tamaño natural). **4**. Sección longitudinal del esfínter marginal (x 1.7) indicado por la flecha, mostrando el aspecto palmado. **5**. Detalle microscópico del esfínter marginal palmado observando el eje mesogloeal (em) y los numerosos subejes mesogloeales (sm) (x 0,1).

La pared del cuerpo de las anémonas de mar está constituida por tres capas: una externa celular denominada ectodermo (epidermis), una capa central colágena de tejido conectivo elástico llamada mesogloea y una capa interna, también celular, que constituye el endodermo (gastrodermis) **(Fig 2)**.

La capa central a veces presenta engrosamientos, pero también puede ser muy delgada y cartilaginosa aunque generalmente es más o menos flexible y elástica (Manuel, 1981). La musculatura epidérmica es mayoritariamente difusa y se halla confinada al disco oral (extremo distal) (Arai, 1972), y la mayoría de las anémonas tienen trazos de músculo circular en dicho extremo, o cerca de éste, constituyendo el esfínter marginal Stephenson, 1928; Dunn et al., 1980) **(Figs. 1 y 2)**. Este músculo puede ser mesogloeal o endodermico según su ubicación y en base a la concentración de fibras mesogloeales

se caracteriza por ser difuso o bien circunscripto cuando los procesos mesogloeales se subdividen en ejes y subejes; también puede encontrarse un grado intermedio conocido como músculo circunscripto-difuso (ya que en realidad son muy pocos los músculos fuertes y difusos).

RESULTADOS

Músculo esfínter marginal en *Phymactis clematis* Dana, 1849.

Se han contabilizado cuatro ejemplares de los cuales se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 1: Datos cuantitativos y cualitativos del esfínter

N° Ejemplares	Longitud/ mm	Anchura/ mn	Forma	Endodermo
1	1,67	1,21	palmada	liso
1	1,52	1,06	palmada	liso
1	1,06	0,76	palmada	liso
1	1,36	1,06	palmada	liso
T= 4				

Obtenidos los datos biométricos macroscópicos, se analizó la estructura histológica del mismo. El esfínter marginal de *P. clematis* es de tipo circunscripto con forma palmada **(Fig. 5)** y rodeado de un endodermo liso. El eje mesogloeal puede variar de cilíndrico a bifurcado (Tabla 2); cuando presenta esta última condición, la bifurcación comienza muy cerca de la base de origen del eje.

Tabla 2: Datos cuantitativos y cualitativos del eje mesogleal

N° Ejemplares	Longitud mm	Anchura mn	Forma
1	0,91	0,60	cilíndrica
1	0,91	0,15	cilíndrica
1	0,30	0,22	bifurcada
1	1,06	0,15	bifurcada
T= 4			

La capa mesogleal que conforma el eje y los subejes presenta tamaño diferente según donde se localiza, así que la mesogloea de la base del eje es gruesa y dicho engrosamiento acompaña a la bifurcación. A medida que la mesogloea se continúa en los subejes, se caracteriza por ser delgada y el adelgazamiento se acentúa a medida que esta capa se extiende en las múltiples ramificaciones.

Tabla 3. Datos cuantitativos de los subejes mesogleales y número de subejes

Nº Ejemplares	Longitud mm	Anchura mm	Nº Subejes
1	0,76	0,30	>5
1	0,15	0,07	>4
1	0,07	0,07	>3
1	0,91	0,07	>4
T=4			

Figs. 6-8. 6. Aspecto general de *Aulactinia marplatensis* (tamaño natural). **7.** Sección longitudinal del esfínter marginal (x 2.0) indicado por la flecha, mostrando el aspecto pinnado. **8.** Detalle microscópico del esfínter marginal pinnado observando el eje mesogloeal (em) y los numerosos subejes mesogleales (sm). (x 0,1).

Histológicamente esta capa es anhista y presenta núcleos celulares esparcidos; entremezcladas se visualizan fibras de elastina que con tinción PAS son fácilmente observables. El endodermo es muy delgado y se halla

constituído por células alineadas que bordean el esfínter; dichas células son aproximadamente iguales.

Músculo esfínter marginal en *Aulactinia marplatensis* Zamponi, 1977).

Tres son los ejemplares analizados y de los cuales se obtuvieron los siguientes datos:

El esfínter marginal de *A. marplatensis* es de tipo circunscripto con forma pinnada **(Fig. 8)** y se halla rodeado de un endodermo festoneado. El eje mesogloeal es cónico y truncado (Tabla 5) y esta forma se origina muy cerca del inicio del eje.

La capa mesogleal reúne características similares a los observados en *P. clematis,* pero la diferencia debe remarcarse a nivel del epitelio, que además de ser festoneado como se indicara, presenta valles y crestas en su recorrido periférico, donde a nivel de los valles se visualizan más de una célula con sus respectivos núcleos, pero a nivel de las crestas, las células se ordenan una a continuación de otra en forma lineal y aquí pareciera que hay una disposición no observada en los valles.

El aspecto de los tejidos observados a nivel de las crestas, muestra una ordenación celular similar a la apreciada en el epitelio liso de *P. clematis*.

Tabla 4: Datos cuantitativos y cualitativos del esfínter

N° Ejemplares	Longitud mm	Anchura mn	Forma	Endodermo
1	1,67	1,06	pinnada	festoneado
1	1,21	1,06	pinnada	festoneado
1	1,36	1,36	pinnada	festoneado
T= 3				

Tabla 5: Datos cuantitativos y cualitativos del eje mesogloeal

N° Ejemplares	Longitud/ mm	Anchura/ mn	Forma
1	0,60	0,76	cónica truncada
1	0,30	0,60	cónica truncada
1	0,76	0,91	cónica truncada
T= 3			

Tabla 6: Datos cuantitativos de los subejes mesogloeales y número de subejes

N° Ejemplares	Longitud mm	Anchura mn	N° subejes
1	0,45	0,15	>9
1	1,21	0,15	>9
1	0,45	0,15	>5
T= 3			

CONCLUSIÓN

Los cnidarios generalmente se caracterizan por tener un cuerpo blando con un esqueleto hidrostático que le da sostén, y en adición puede tener algún esqueleto mineralizado (Fautin y Mariscal, 1991). Los pólipos solitarios de anémonas de mar (Actiniaria) están sostenidos por ese esqueleto hidrostático que les permite regular la presión hídrica interna, en base a los requerimientos del organismo, y en relación a su medio ambiente. Este esqueleto hidrostático está regulado por la oclusión y apertura del disco oral que permite la expulsión o la entrada de agua según las condiciones. Dicho disco oral **(Figs. 1 y 6)** es regulado por el esfínter marginal; este músculo puede tener formas diferentes en función de las características de la zona en la que se distribuya la especie (Zamponi, 1981; Patronelli *et al.*, 1987).

Algunos factores abióticos como la temperatura, la salinidad, y los embates del oleaje, etc. influyen en la actividad fisiológica de dicho músculo dando como resultado modificaciones en el comportamiento del mismo, según las especies procedan del intermareal o submareal (Patronelli *et al.*, 2004). Patronelli *et al.* (2005) han demostrado diferentes velocidades de respuesta en músculos esfínter en especies de anémonas de mar; esas diferencias pueden atribuirse a variaciones en las morfologías observadas. El músculo esfínter de *P. clematis* morfológicamente constituye la forma típica palmada con un epitelio liso; mientras que en *A. marplatensis* el mismo músculo es pinnado con epitelio festoneado. Dichas diferencias deben correlacionarse con el medio ambiente donde se localizan las especies; *P. clematis* generalmente se halla en las superficies planas de los afloramientos cuarcíticos del ecosistema intermareal, donde las olas golpean moderadamente. La especie *A. marplatensis* se localiza sobre las paredes verticales de esos afloramientos, en consecuencia este músculo es

de contextura fuerte, ya que, el epitelio festoneado permite una oclusión del disco oral más sostenida en el tiempo asegurando un mayor volumen de agua retenida en el interior de la cavidad gastrovascular.

Generalmente la presión interna es de 2 a 3 mm de agua, pero puede variar según las especies como lo demostró Chapman (1949) en *Calliactis parasitica* Couch, 1838 donde la presión generada por la rápida contracción elevaba la presión de agua a 150 mm, mientras que, Batham y Pantin (1950) en cuidadosos estudios realizados en *Metridium senile* Linnaeus, 1767 mostraron que la presión normal oscilaba entre 2 y 7 mm de agua, pero podía elevarse llegando a 100 mm. La mayor cantidad de subejes (Tabla 6) hacen que la arquitectura mesogleal soporte mejor el embate del agua evitando la rotura del epitelio. Este epitelio al tener crestas y valles presenta una mayor superficie de adhesión a la musculatura epidérmica; dicha musculatura asegura que la presión hídrica interna se mantenga constante mientras el animal realiza intercambio respiratorio en condiciones normales de inmersión, o bien le permite sobrevivir en situaciones extremas de inmersión y soleación.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a la Sra. Graciela Testa (CONICET) por la asistencia técnica en la compaginación del texto y las ilustraciones. El trabajo ha sido realizado a través del PIP n° 5071 (CONICET) y EXA n° 362/06 (UNMdP).

BIBLIOGRAFIA

ACUÑA, F. H. y M. O. ZAMPONI. 1995. Feeding ecology of intertidal sea anemones (Cnidaria, Actiniaria): food sources and trophic parameters. Biociencias, Porto Alegre, 3 (2): 73-84.

ARAI, M. N. 1972. The muscular system of *Pachycerianthus*. Can. J. Zool., 50: 311-317.

BATHAM, E. J. y PANTIN, C. F. A. 1950. Muscular and hydrostatic actino in the sea anemone *Metridium senile* (L). J. Exp. Biol., 27: 264-289.

CHAPMAN, G. 1949. The mechanism of opening and closing of *Calliactis parasitica*. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 28: 641-649.

CHAPMAN, G. 1974. The skeletal system.L. Muscatine and H. M. Lenhoff (eds.): In: Coelenterate Biology. Reviews and New Perspectives. Academic Press. New Yorck. pp. 93-128.

DUNN, D. F.; F. S. CHIA y LEVIN, R. 1980. Nomenclature of Aulactinia (= Bunodactis), with description of *Aulactinia incubans* n. Sp. (Coelenterata, Actiniaria) an internally brooding sea anemone from Puget Sound. Can. J. Zool., 58: 2071-2080.

FAUTIN, D.J. y MARISCAL R.N. 1991. Cnidaria: Anthozoa. En: Frederick W. Harrinson (ed), Microscopic Anatomy of Invertebrates. Vol. 2. Placozoa, Porifera, Cnidaria and Ctenophora. Willey-Liss, Inc. pp.267-358.

GONZALEZ OLIVERA, E.; D. L. PATRONELLI ; M. O. ZAMPONI y M. A. OPPEDISAMO. 2002. The marginal sphincter of the sea anemone *Phymactis clematis* (Anthozoa): transmission electron microscopic analysis. Rev. R. Acad. Galega Cienc., XXI: 31-38.

MANUEL, R. L. 1981. British Anthozoa. Sinopsis of the British Fauna (New Series). nº 18. Academic Press. 241 p.

PATRONELLI, D. L.; M. O. ZAMPONI; A. BUSTOS y F. V. VEGA. 1987. Morphological and physiological adaptations in the marginal sphincter of anemone *Phymactis clematis*, Dana 1849 from different environments. Comp. Biochem. Physiol., 88 A(2): 337-340.

PATRONELLI, D. L.; E. GONZALEZ OLIVERA; M. O. ZAMPONI. 2004. Contractile responses of sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) from subtidal environment of Mar del Plata (Argentina). Rev. R. Acad. Galega Cienc., XXIII: 95-104.

PATRONELLI, D. L.; E. GONZALEZ OLIVERA y M. O. ZAMPONI. 2005. Influence of the intertidal environment on muscle activity in different species of sea anemomnes (Actiniaria). Aimal Biology, 55 (2): 101-109.

PERES, J. M. 1961. Oceanographie Biologique et Biologie Marine. I. La vie bentique. Presses Universitaires. Paris. 541 p.

STEPHENSON, T. A. 1928. The British Sea Anemones. Vol. I. The Ray Society. London.

ZAMPONI, M. O. 1981. Estructuras anatómicas adaptativas en anémonas (Coelenterata; Actiniaria). Neotropica, 22: 165-169.

ZAMPONI, M. O. 2002. Cnidarians from great bioenvironmental units (= intertidals ecosystems) of province of Buenos Aires (Argentina) and the human impact. Rev. R. Acad. Galega Cienc., XXI: 5-17.