

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CONDICIONES EXPERIMENTALES EN LOS MODELOS DE SELECCIÓN DE MICROHABITAT EN CARACOLES TERRESTRES

EXPERIMENTAL CONDITIONS FOR MICROHABITAT SELECTION IN TERRESTRIAL SNAILS

Perea, J.¹, R. Acero¹, R. Martín², D. Valerio³, A.G. Gómez¹, E. Félix¹, A. Mayoral² y A. García¹

¹Departamento de Producción Animal. Universidad de Córdoba (UCO). Campus de Rabanales. 14071 Córdoba. España. E-mail: pa1gamaa@uco.es

²Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica. CIFA de Hinojosa del Duque. Córdoba. España. E-mail: ralonso.martin@juntadeandalucia.es

³Instituto Dominicano de Investigaciones Agrarias y Forestales (IDIAF) Santiago de los Caballeros. República Dominicana.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Selección de microhábitat. Preferencia.

ADDITIONAL KEYWORDS

Microhabitat selection. Preference.

RESUMEN

La selección de hábitat por los caracoles terrestres que se utilizan como animales de experimentación, es importante porque condiciona el crecimiento y éste, además de su importancia productiva, es un buen indicador en muchos estudios. Como apoyo a los estudios en este campo, se revisan diferentes modelos de elección de microhábitat en función de la selección del propio individuo o bien derivados de cuestiones en buena parte ajenas a él como la disponibilidad o accesibilidad del hábitat o el patrón de movimiento del organismo. Finalmente se plantean dos diseños experimentales adecuados para el estudio de preferencia en invertebrados bajo condiciones de laboratorio.

SUMMARY

Habitat selection by terrestrial snails, used as laboratory animals, is an important factor because it can alter growth rates often used as

a good biological indicator, moreover of its productive meaning. As support to the studies in this field, different models from election of microhabitat based on the individual selection or derived from other questions as the availability or the accessibility of the habitat or patron of movement of the organism are reviewed. Finally two experimental designs used in invertebrates under laboratorial conditions for preference studies are considered.

INTRODUCCIÓN

Los caracoles terrestres, además de animales productivos, se utilizan como animales de experimentación en diferentes campos científicos y su crecimiento se considera un buen indicador biológico (García *et al.*, 2006). Desde el punto de vista zootécnico la selección de hábitat es de gran interés

Arch. Zootec. 55 (R): 13-21. 2006.

ya que afecta al propio crecimiento (Dyer y Landis, 1996; Hunt, 1996), pues el hábitat proporciona un medio favorable o desfavorable para el desarrollo del animal. Por esta razón cobra gran interés el estudio de la selección de hábitat.

La selección de hábitat se estudia en múltiples escalas temporales y espaciales, abarcando desde las globales hasta las locales. Si se pretende analizar la distribución de una población se opta por los análisis a escala general; por el contrario, si el objetivo es analizar los factores que intervienen en la selección de microhábitat, se utilizan diseños experimentales a pequeña escala (Underwood *et al.*, 2004).

En una escala de observación amplia, la calidad y la disponibilidad del hábitat determina la distribución espacial de las especies o poblaciones; en tanto que a pequeña escala se analiza la dispersión de los individuos de una población (Hill *et al.*, 2004). La dispersión de los individuos a pequeña escala es el resultado de la interacción entre factores endógenos: comportamiento, fisiología, etc. y exógenos: condiciones ambientales, disponibilidad de alimento, etc. (Pennings *et al.*, 1998 y Barbeau *et al.*, 2004).

Por otra parte, es conveniente verificar que las condiciones ofrecidas son favorables para el desarrollo del organismo, incorporando la evaluación de los rendimientos; crecimiento, mortalidad y reproducción fundamentalmente. Así, cuando el organismo selecciona un hábitat y se obtienen bajos rendimientos, está seleccionando el hábitat *menos malo* de los *malos* propuestos. Este aspecto adquiere especial relevancia económica en helicultura.

El objetivo de este trabajo es analizar las condiciones necesarias para el diseño de diferentes modelos experimentales de selección de microhábitat y la propuesta de diseños experimentales en invertebrados bajo condiciones de laboratorio.

MODELOS DE SELECCIÓN DE MICROHÁBITAT

La complejidad de aislar la selección de hábitat de otros fenómenos y las múltiples escalas espaciales y temporales en que ello puede tener lugar dificultan el desarrollo de un modelo experimental que permita conocer la respuesta comportamental de un organismo hacia un determinado microhábitat (Underwood *et al.*, 2004). En consecuencia, es necesario establecer unas consideraciones previas a la realización e interpretación de modelos experimentales.

LA ASOCIACIÓN NO ES LA CAUSA

En la actualidad, el comportamiento y la ecología son dos de los campos en que más se está trabajando en relación con los patrones y causas de la distribución de los organismos móviles (Bastian, 2001). Así, se han desarrollado una serie de metodologías para el estudio de los patrones de distribución, como la correlación canónica (Guisan *et al.*, 1999), los análisis de correspondencia (Ter Braak, 1988), la estadística bayesiana (Aspinall, 1992), la regresión lineal (Legendre y Legendre, 1998) y las redes neuronales artificiales (Manel *et al.*, 1999). Estos desarrollos se consideran herramientas de predicción, aunque se han utilizado e

CONDICIONES EXPERIMENTALES EN SELECCIÓN DE MICROHÁBITAT

interpretado de modo subjetivo en múltiples ocasiones (Underwood *et al.*, 2004). Por el contrario en los diseños experimentales de selección de hábitat en laboratorio se pueden establecer relaciones de causalidad entre la distribución y el comportamiento del organismo (Barbeau *et al.*, 2004).

Frecuentemente se evidencia la existencia de una asociación no aleatoria entre distribución y comportamiento y también se interpreta como selección, aunque no se analiza el mecanismo causal de la distribución. Por ejemplo, los estudios de Conover (1978), Bertness (1981) y Hazlett (1981) indican la preferencia del cangrejo ermitaño de una isla de África por la concha de un caracol específico. Sin embargo, la asociación organismo-hábitat no implica preferencia, ya que ambos organismos viven en la misma profundidad y no existen otras combinaciones alternativas. Por lo tanto, se confunde lo observado (distribución del organismo) con la explicación o interpretación de la asociación (preferencia).

En consecuencia, para conocer qué condiciones prefiere un organismo es necesario evaluar su selección de microhábitat y no basta con conocer en qué condiciones se encuentra, ya que no necesariamente las ha seleccionado (Underwood *et al.*, 2004). En cualquier caso, Crowe y Underwood (1998) son muy críticos con los estudios de comportamiento en condiciones laborales indicando que se distorsiona el comportamiento natural del organismo. A pesar de esta posible distorsión en la respuesta comportamental, el desarrollo de experimentos en laboratorio permite aislar factores

en selección de microhábitat (Drolet *et al.*, 2004).

SELECCIÓN ACTIVA Y SELECCIÓN PASIVA

La preferencia es consecuencia del comportamiento del organismo y su expresión es la elección, y esta puede ser activa o pasiva (Liszka y Underwood, 1990). La elección activa se manifiesta cuando el organismo aparece asociado con mayor frecuencia de la esperada a un determinado microhábitat cuando simultáneamente concurren tanto la oportunidad de elegir, como la de optar por la alternativa (Crowe y Underwood 1998). La elección pasiva aparece cuando inciden otros factores que merman la capacidad de elección del organismo, por ejemplo: cuando la disponibilidad o accesibilidad no son similares en todas las opciones evaluadas (Barbeau *et al.*, 2004), cuando se dificulta la movilidad del organismo (Olabarria *et al.*, 2002), o aparecen otros factores que distorsionan la elección. A nivel experimental la elección activa indica preferencia; en tanto que la pasiva no permite conocer la causa de la elección (Olabarria *et al.*, 2002). Por tanto, en el diseño experimental deben plantearse tratamientos de elección y tratamientos alternativos que puedan ser rechazados; así Crowe y Underwood (1998) encuentran que el gasterópodo *Bembicium auratum* ocupa las conchas de los bivalvos frente a otras superficies y para comprobar la existencia de preferencia plantea tres tratamientos de elección; el primero evalúa la selección activa (gasterópodo frente a bivalvo), el segundo la selección pasiva (gasterópodo sobre bivalvo) y el tercero descarta la incidencia del

Archivos de zootecnia vol. 55 (R), p. 15.

factor manipulación (gasterópodo sobre bivalvo que previamente ha sido separado de otro bivalvo).

PATRÓN DE MOVIMIENTO

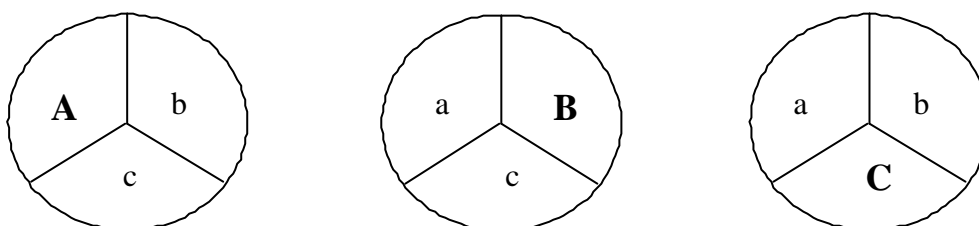
Otro aspecto a considerar en los diseños de selección de microhábitat es el patrón de movimiento. Es posible detectar preferencia por un factor cuando la realidad es que el factor dificulta la elección (Underwood *et al.*, 2004). Tal es el caso de las babosas marinas que se desplazan más lentamente por el sustrato rugoso que liso (Barbeau *et al.*, 2004). Si se estudia la preferencia por el sustrato liso o

rugoso y no se considera la posible dificultad de movimiento los resultados podrían estar sesgados en una determinada dirección. Una solución sería evaluar el patrón de movimiento de la babosa en ambos sustratos; tanto en tratamientos de control y de elección (Barbeau *et al.*, 2004).

DISPONIBILIDAD Y ACCESIBILIDAD AL HÁBITAT

En el diseño experimental basta con conocer la disponibilidad de cada microhábitat en los diferentes tratamientos de elección, sin embargo es recomendable que sea la misma para simplificar el estudio estadístico. Ade-

Tratamientos de elección (choice treatments)



Tratamientos de no elección (non choice treatments)

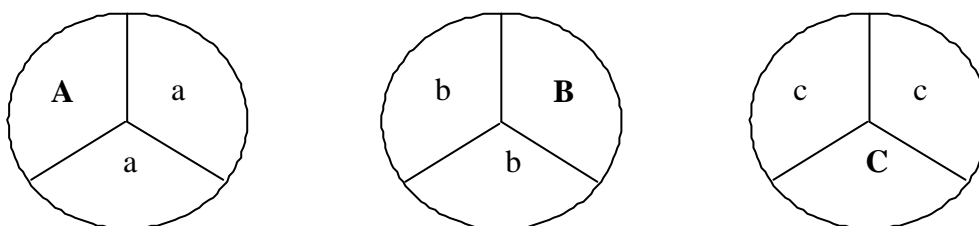


Figura 1. Diseño experimental con un factor y tres niveles. (Experimental design for one factor with three levels.) A partir de la propuesta de Olabarria et al. (2002) para estudiar la preferencia de un organismo móvil por un factor con tres niveles. Para obtener datos independientes sólo se incluye en el análisis estadístico los datos procedentes de la parte marcada por letras mayúsculas.

CONDICIONES EXPERIMENTALES EN SELECCIÓN DE MICROHÁBITAT

más cada uno de los microhábitats que se establezcan en el diseño experimental debe mostrar la misma accesibilidad que los demás (Crowe y Underwood, 1998). Las condiciones de accesibilidad y disponibilidad se cumplen con facilidad en laboratorio pero la situación es más difícil de cumplir en ensayos de campo en los que, además, es complejo aislar y cuantificar la incidencia de otros factores.

DISEÑOS EXPERIMENTALES DE SELECCIÓN DE HÁBITAT

La distribución de los organismos móviles a escala de microhábitat puede estudiarse desde un enfoque horizontal o vertical, tal y como describen Underwood *et al.* (2004). El enfoque horizontal describe el patrón de dispersión del organismo en el microhábitat y aporta información sobre aquellas condiciones que provocan distribuciones no aleatorias. Por otro lado, desde el enfoque vertical se estudian las causas que determinan esta dispersión. Asimismo se recomienda que el diseño experimental contemple los tres principios propuestos por Hinkelmann y Kempthorne (1994) para asegurar la validez del análisis estadístico: *replicación, aleatorización y bloqueo*.

A continuación, desde la perspectiva de un enfoque vertical, se analizan diferentes diseños de preferencia de microhábitat en laboratorio y aplicables a caracoles terrestres.

DISEÑO EXPERIMENTAL CON UN FACTOR

El caso más simple es la evaluación de la preferencia de un organismo con

un factor. En este caso el diseño experimental, ya sea al azar o por bloques aleatorios, debe constar de tantos tratamientos de elección y de no elección como categorías presente el factor. Asimismo, hay que considerar que en los experimentos de preferencia los datos de cada elección condicionan a los de las otras opciones del mismo tratamiento (Barbeau *et al.*, 2004). Por tanto, para obtener datos independientes sólo se deben registrar los datos de una de las opciones en cada tratamiento y desechar los de las combinaciones alternativas. En consecuencia, es necesario un tratamiento por cada categoría del factor. Asimismo, las diferentes categorías del factor tienen que ser iguales en accesibilidad y en disponibilidad. En la **figura 1** se muestra la adaptación del diseño propuesto por Olabarria *et al.* (2002) para estudiar preferencia de microhábitats en microgasterópodos.

Otro punto de gran importancia es la determinación de las variables de respuesta, que va a depender fundamentalmente del patrón de actividad del organismo. Así, si el organismo permanece la mayor parte del tiempo inmóvil, como es el caso de los caracoles terrestres durante la fase diurna, se recomienda registrar la frecuencia de ocupación en cada categoría; tal como aplican Drolet *et al.* (2004) en estrellas de mar y Perea *et al.* (2006). Por el contrario, si el organismo es muy activo se recomienda contabilizar el tiempo de ocupación de cada categoría, como proponen Barbeau *et al.* (2004) en babosas marinas.

Respecto al análisis estadístico hay dos opciones fundamentales: La primera, más frecuente, utiliza datos o

Archivos de zootecnia vol. 55 (R), p. 17.

	A/a		A/b		B/a		B/b	
C/c	AC	ac	AC	bc	BC	ac	BC	bc
C/d	AC	ad	AC	dd	BC	ad	BC	bd
D/c	AD	ac	AD	bc	BD	ac	BD	bc
D/d	AD	ad	AD	bd	BD	ad	BD	bd

Figura 2. Diseño experimental factorial con dos factores y dos niveles. (Experimental factorial design for two factor with two levels). Propuesto por Barbeu et al. (2004) para estudiar de modo conjunto la preferencia de un organismo móvil por dos factores, 1 y 2, con dos niveles. El factor 1 puede ser A/a o B/b y el factor 2 puede ser C/c o D/d. Para obtener datos independientes, sólo se incluyen en el análisis estadístico los datos procedentes de la mitad marcada por letras mayúsculas.

variables de tipo cualitativo (uso-disponibilidad, etc.), que se expresan en proporciones mediante tablas de contingencia (Piedrafita y Puig, 2001). La independencia entre variables se contrasta mediante el test no paramétrico Chi cuadrado (Hill *et al.*, 2004). Otra opción es utilizar pruebas paramétricas que establecen condiciones más estrictas de aplicabilidad y utilizan variables métricas, caso del ANOVA (Crowe y Underwood, 1998). En este caso la existencia de grupos de homogeneidad se determina mediante test de separación de medias. Los más utilizados son el de Student-Newman-Keuls (Drolet *et al.*, 2004) y Tukey (Jones y Boulding, 1999) y los más restrictivos el de Bonferroni y SNK.

DISEÑO EXPERIMENTAL CON VARIOS FACTORES

En la naturaleza es difícil aislar

unos factores de otros, que además pueden actuar de modo sinérgico o antagónico. En consecuencia es necesario estudiar la preferencia ante la combinación de dos o más factores, así como sus interacciones. Hay diseños que permiten evaluar las interacciones y otros que no lo permiten. Inicialmente conviene aplicar un análisis factorial completo; si resulta que los factores son aditivos y en consecuencia no hay efectos cruzados se opta por un modelo factorial incompleto sin interacciones o sin los efectos de las interacciones que son estadísticamente significativos. Otra alternativa muy utilizada es el estudio de cada factor en diferentes ensayos y posteriormente se interpretan los resultados de modo conjunto, bajo el supuesto de que los factores son independientes entre sí y no existen interacciones. Por ejemplo, Downes y Shine (1998) estudian independien-

CONDICIONES EXPERIMENTALES EN SELECCIÓN DE MICROHÁBITAT

temente, en *Oedura lesueurii*, el efecto de la temperatura, el sexo y la huída ante depredadores en la selección de hábitat. No obstante, en la mayor parte de los casos la interacción es el componente principal de la variación (Meadows y Campbell, 1972; Evans y Norris, 1997). En esta línea Barbeau *et al.* (2004) proponen un diseño experimental que contempla las interacciones y las desagrega en sus componentes.

El diseño experimental es similar al descrito para un solo factor, con la particularidad de que el número total de tratamientos crece exponencialmente con el número de categorías en cada factor (C), en vez de linealmente (Meadows y Ruagh, 1981). El número de tratamientos se establece mediante la siguiente expresión:

$$C = \prod_{i=1}^k x_i^r$$

Donde x es el número de niveles del factor i , k es el número total de factores del experimento, y r el número de opciones de elección que se ofrecen simultáneamente al organismo. Por ejemplo al estudiar el efecto de dos factores con dos categorías se plan-

tean 16 tratamientos ($2^2 \times 2^2$), distribuidos del modo siguiente: 4 de no elección y 12 de elección. Los 4 de no elección permiten evaluar el patrón de movimiento del organismo y descartar la incidencia de otros factores, 8 de elección para evaluar cada factor de forma independiente y 4 para estudiarlos de modo conjunto. Finalmente, las interacciones se evalúan considerando los 12 tratamientos de elección (**figura 2**).

El estudio estadístico recomendado, para evaluar el efecto de cada factor y de las interacciones, es el análisis de varianza múltiple. Asimismo, la existencia de grupos de homogeneidad se determina frecuentemente con el test de Student-Newman-Keuls. En la **tabla I** se muestran las diferentes técnicas estadísticas utilizadas en los estudios de preferencia.

CONCLUSIONES

El desarrollo de un modelo de selección de microhábitat en caracoles terrestres debe buscar las relaciones de causalidad entre la distribución y la

Tabla I. Métodos estadísticos para el estudio de preferencia. (Statistical methods for preference studies).

Referencia	Diferencias significativas	Grupos de homogeneidad
Crowe y Underwood (1998)	ANOVA múltiple	-
Downes y Shine (1998)	ANOVA simple y Test χ^2	-
Jones y Boulding (1999)	ANOVA simple y múltiple	Test Tukey
Hill <i>et al.</i> (2004)	Test χ^2 y Test U	-
Barbeau <i>et al.</i> (2004)	ANOVA simple y múltiple	Test SNK
Drolet <i>et al.</i> (2004)	ANOVA simple y múltiple	Test SNK
Perea <i>et al.</i> (2006)	ANOVA simple y múltiple	Test SNK

Archivos de zootecnia vol. 55 (R), p. 19.

preferencia activa del organismo, evitando fenómenos de selección pasiva (diferente accesibilidad, hábitats inadecuados, dificultad de movimiento, etc.). Los diseños experimentales propuestos en laboratorio parten del enfoque vertical y estudian la preferencia mediante la comparación entre situaciones de elección y de no elección. Se recomienda la utilización del análisis de varianza simple o múltiple, ya sea el diseño con uno o varios factores. En este último caso se recomienda el aná-

lisis factorial completo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco de la Red Andaluza de Experimentación Agraria en Helicicultura (RAEA), desarrollada entre el CIFA de Hinojosa del Duque de la Junta de Andalucía (IFAPA) y el Dpto. de Producción Animal de la Universidad de Córdoba.

BIBLIOGRAFÍA

- Aspinall, R.J. 1992. An inductive modelling procedure based on Bayes theorem for analysis of pattern in spatial data. *Int. J. Geogr. Inf. Syst.*, 6: 105-121.
- Barbeau, M.A., K. Durelle and R.B. Aiken. 2004. A design for multifactorial choice experiments: an example using microhabitat selection by sea slugs *Onchidoris bilamellata* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 307: 1-16.
- Bastian, O. 2001. Landscape Ecology - towards a unified discipline? *Landscape Ecol.*, 16: 757-766.
- Bertness, M.D. 1981. Shell preference and utilization patterns in littoral hermit crabs of the Bay of Panama. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 48: 1-16.
- Conover, M. 1978. The importance of various shell characteristics to the shell-selection behaviour of hermit crabs, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 32: 131-142.
- Crowe, T.P. and A.J. Underwood. 1998. Testing behavioural "preference" for suitable microhabitat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 225: 1-11.
- Downes, S. and R. Shine. 1998. Heat, safety or solitude? Using habitat selection experiments to identify a lizard's priorities. *Anim. Behav.*, 55: 1387-1396.
- Drolet, D., J.H. Himmelman and R. Rochette. 2004. Effect of light and substratum complexity on microhabitat selection and activity of the ophiuroid *Ophiopholis aculeate*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 313: 139-154.
- Dyer, L.E. and D.A. Landis. 1996. Effects of habitat, temperature and sugar availability on longevity of *Eriborus terebrans* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Environ. Entomol.*, 25: 1192-1201.
- Evans, L.J. and R.H. Norris. 1997. Prediction of benthic macroinvertebrate composition using microhabitat characteristics derived from stereo photography. *Freshwater Biol.*, 37: 621-633.
- García, A., J. Perea, A. Mayoral, R. Acero, J. Martos, G. Gómez and F. Peña. 2006. Laboratory rearing conditions for improved growth of juvenile *Helix aspersa* Müller snails. *Lab. Anim.*, 40: 309-316.
- Guisan, A., S.B. Weiss and A.D. Weiss. 1999. GLM versus CCA spatial modelling of plants species distribution. *Plant ecol.*, 143: 107-122.
- Hazlett, B.A. 1981. The behavioral ecology of hermit crabs. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 12: 1-22.
- Hill, J.B.P., G.I. Holwell, A. Göth and M.E. Herberstein. 2004. Preference for habitats

CONDICIONES EXPERIMENTALES EN SELECCIÓN DE MICROHÁBITAT

- with low structural complexity in the praying mantid *Ciulfina* sp. (Mantidae). *Acta Oecologica*, 26: 1-7.
- Hinkelmann, K. and O. Kempthorne. 1994. Design and analysis of experiments. Wiley-Interscience, New York.
- Hunt, P.D. 1996. Habitat selection by American redstarts along a successional gradient in northern hardwoods forests: evaluation of habitat quality. *The Auk*, 113: 875-888.
- Jones, K.M.M. and E.G. Boulding. 1999. State-dependent habitat selection by an intertidal snail: the costs of selecting a physically stressful microhabitat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 242: 149-177.
- Legendre, P. and L. Legendre. 1998. *Numerical Ecology*. Ed. Elsevier, Amsterdam.
- Liszka D. and A.J. Underwood. 1990. An experimental design to determine preferences for gastropod shells by a hermit-crab. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 137: 47-62.
- Manel, S., J.M. Días and S.J. Ormerod. 1999. Comparing discriminant analysis, neural networks and logistic regression for predicting species distribution: a case study with Himalayan river bird. *Ecol. Model.*, 120: 337-347.
- Meadows, P.S. and J.I. Campbell. 1972. Habitat selection in aquatic invertebrates. *Adv. Mar. Biol.*, 10: 271-382.
- Meadows, P.S., A.A. Ruagh. 1981. Multifactorial analysis of behavioural responses of the amphipod *Corophium volutator* to temperature-salinity combinations. *Mar. Ecol- Prog. Ser.*, 6: 183-190.
- Olabarria, C., A.J. Underwood and M.G. Chapman. 2002. Appropriate experimental design to evaluate preferences for microhabitat: an example of preferences by species of microgastropods. *Oecologia*, 132: 159-166.
- Pennings, S.C., T.H. Carefoot, E.L. Siska, M.E. Chase and T.A. Page. 1998. Feeding preferences of a generalist salt-marsh crab: relative importance of multiple plant traits. *Ecology*, 79: 1968-1979.
- Perea, J., A. García, G. Gómez, R. Acero, F. Peña and S. Gómez. 2006. Effect of light and substratum structural complexity on microhabitat selection of the snail *Helix aspersa* Müller. *J. Mollus. Stud.* (en prensa).
- Piedrafita, J. y P. Puig. 2001. Análisis estadístico, diseño experimental e interpretación de los resultados. En: Ciencia y Tecnología en Protección y experimentación Animal (605-628). McGraw-Hill Interamericana, Madrid.
- Ter Braak, C.J.F. 1988. CANOCO: na extension of DECORANA to analyze species-environment relationships. *Vegetatio*, 75: 159-160.
- Underwood, A.J., M.G. Chapman and T.P. Crowe. 2004. Identifying and understanding ecological preferences for habitat or prey. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 300: 161-187.

Recibido: 17-3-06. Aceptado: 20-7-06.

Archivos de zootecnia vol. 55 (R), p. 21.