

# El Crecimiento en Larvas de *Strombus gigas* (Mollusca, Gastropoda) Desde la Eclosión Hasta el Asentamiento

E. GARCIA-SANTAELLA y D. ALDANA ARANDA

*Centro de Investigación y Estudios Avanzados*

*Instituto Politécnico Nacional*

*Km. 6. Antigua Carretera a Progreso*

*Apartado postal #73-CORDEMEX 97310*

*Mérida, Yucatán, México*

## RESUMEN

La longitud sifonal es el parámetro usado con mayor frecuencia para medir el crecimiento en larvas y adultos de *Strombus gigas*. Sin embargo, se ha encontrado en diversas ocasiones que la medición de este parámetro en larvas menores de diez días de edad no es factible, debido a la posición natural que presenta la concha cuando el velum se retrae. En el presente estudio, las larvas fueron incluidas en gel de glicerina para registrar los incrementos diarios en longitud sifonal. Las larvas fueron alimentadas con *Tetraselmis suecica*, en tres diferentes raciones y cultivadas a  $29 \pm 1^\circ\text{C}$ , con cambios totales de agua cada tercer día, alimentación diaria durante veinte días, desde la eclosión hasta el asentamiento.

Como resultado de la técnica de inclusión desarrollada, se lograron incluir 3,600 larvas. Se pudo observar un patrón de crecimiento caracterizado por tres períodos bien diferenciados para la longitud sifonal. Durante el período I, se observó el crecimiento acelerado de las larvas, con un intervalo de 71.35 a 73.91  $\mu\text{-día}^{-1}$ . El período II de crecimiento lento, tuvo una duración aproximada de siete días, durante el cual se registraron tasas de crecimiento de 3.06 a 9.70  $\text{Ém}$ ,  $\text{día}^{-1}$ . En el período III, se observó una recuperación de las tasas de crecimiento con un intervalo de 27.09 a 48.08  $\mu\text{-día}^{-1}$ .

**PALABRAS CLAVE:** *Strombus gigas*, larvas, crecimiento, inclusión.

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento es una de las principales variables de respuesta utilizadas para determinar el efecto de las variaciones ambientales sobre el desarrollo de los organismos. Si existe algún factor nutricional, medio ambiental o de manejo que afecte el desarrollo, se podrá observar también un efecto en el crecimiento.

El crecimiento puede ser definido como el incremento medible de un sistema orgánico en peso o longitud y se distingue de diferenciación y desarrollo, los cuales representan un incremento en la organización del sistema (Bertalanffy, 1938). Cualquier medida del crecimiento debe ser referida a un intervalo definido en el tiempo, por lo cual es más apropiado hablar de tasa de crecimiento; misma que es representada por la diferencia entre la longitud o peso inicial y la longitud o peso final, en función de un periodo de tiempo determinado (García López, 1991).

El parámetro utilizado con mayor frecuencia para evaluar el crecimiento en moluscos bivalvos es la longitud de la concha (Bayne, 1965; Seed, 1976; Epifanio, 1979; Pechenik, 1980; Lucas, 1982; Sprung, 1984). En los moluscos gasterópodos como *Strombus gigas*, aunque el crecimiento es en espiral los parámetros utilizados son la longitud sifonal, medida desde el ápice de la concha hasta el borde exterior del canal sifonal (Randall, 1964; Creswell, 1984), el peso de la concha y el peso del cuerpo (Appeldoorn y Sanders, 1984). En larvas de *S. gigas*, el tamaño microscópico de la concha y la posición que naturalmente presenta cuando la larva se retrae, dificulta su medición durante los primeros diez días de crecimiento (Ballantine, 1981; Pillsbury, 1985; Aldana Aranda y Rodríguez Gil, 1987). Es muy probable, que el crecimiento en longitud sifonal durante los primeros días del desarrollo, reportado por la mayoría de los autores, corresponda en realidad al crecimiento en ancho o diámetro de la última espira de la concha.

En el presente estudio, se desarrolló una técnica de inclusión que permite la orientación adecuada de las larvas para registrar los incrementos diarios en longitud sifonal. Las lecturas de crecimiento así obtenidas permitieron establecer un patrón con tres periodos de crecimiento muy bien diferenciados, para las larvas de *Strombus gigas*, desde el momento de la eclosión hasta el asentamiento.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en el Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Marinos del CINVESTAV-IPN Unidad Mérida, con larvas eclosionadas de una freza colectada en Banco Chinchorro, Quintana Roo, México. Las larvas fueron cultivadas durante 20 días en recipientes de cinco litros, a  $29 \pm 1^\circ\text{C}$ , en agua de mar filtrada y esterilizada con luz UV, cambios totales cada tercer día y una densidad de 275 larvas por litro. La microalga *Tetraselmis suecica*, fue proporcionada como alimento en raciones que fluctuaron de 500 a 40,000 células algales por larva por día, de acuerdo a la tabla I.

Diariamente se colectaron diez a quince larvas por recipiente, y se fijaron con dos gotas de formol salino al 4%, separando las larvas extraídas por día en tubos Eppendorf. Posteriormente, las larvas fueron incluidas en gel de glicerina para poderla orientar y medir desde el día de la eclosión. La orientación se realizó observando al microscopio esteroscópico (4X), larva por larva, con la ayuda de dos agujas finas para entomología. De este modo, se incluyeron un total de tres mil 600 larvas colectadas a lo largo de los veinte días del experimento. La técnica de inclusión establecida durante el presente estudio fue la siguiente: a) Fusión del gel de glicerina (Glycerol gelatin, SIGMA DIAGNOSTICS, 1% phenol) en un horno eléctrico, a  $40^\circ\text{C}$  durante cinco minutos. b) Una vez fundido el gel, se vacía una línea delgada en varios

**Tabla I.** Raciones de alimento suministradas a las larvas durante el cultivo (número de células de *Tetraselmis suecica* por larva por día).

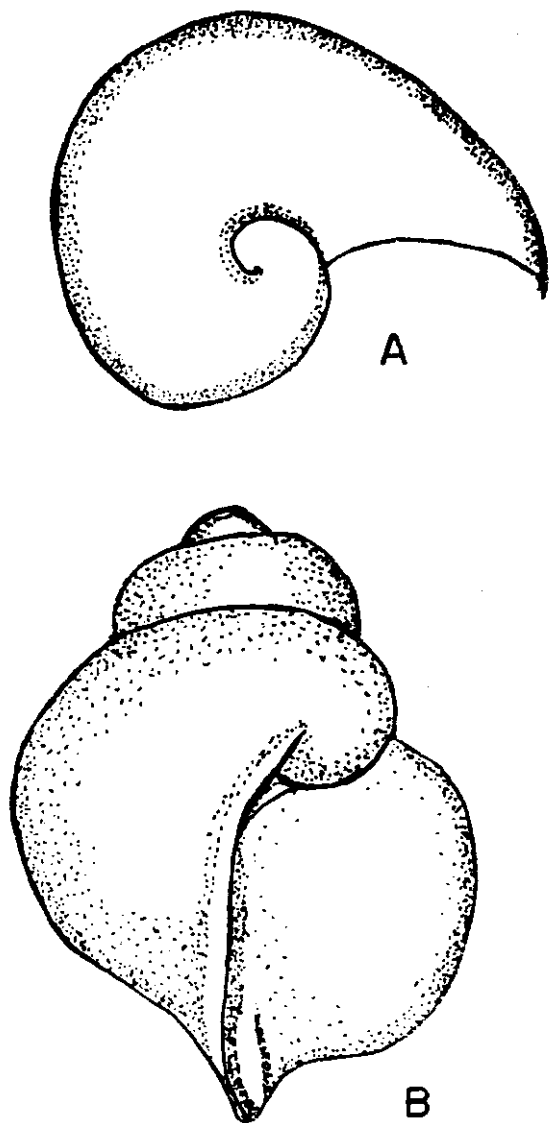
Día de Cultivo	Raciones		
	1	2	3
0-2	500	1000	2000
3-5	1000	2000	4000
6-8	1500	3000	6000
9-11	2000	6000	10000
12-14	3000	10000	20000
15-17	6000	20000	30000
18-20	10000	30000	40000

portaobjetos, con una pipeta Pasteur. c) Para mantener suave el gel y poder incluir las larvas, los portaobjetos así preparados se colocan bajo el calor de una lámpara incandescente 25 watts. d) Posteriormente, las larvas son decantadas del tubo Eppendorf hacia un portaobjetos excavado, de donde se extraen con un pincel de cuatro cerdas para eliminar al máximo el agua y el formol. e) Las larvas colectadas con el pincel son incluidas directamente en la línea de gel, bajo el microscopio estereoscópico a 4x, formando una hilera de larvas en cada portaobjetos. f) Una vez incluidas todas las larvas, se orientan en posición ventro-dorsal, con la ayuda de dos agujas finas de entomología. Esta posición permite observar el eje de la columela estructura sobre la cual se registra la longitud sifonal. En la figura 1a, se muestra la posición anteroposterior que presenta la concha cuando la larva se retrae y la figura 1b, muestra la posición necesaria para poder medir el eje de la columela, con la larva ya incluida.

Se efectuó un análisis de regresión lineal para cada curva de crecimiento por tratamiento, así como también se calcularon las tasas de crecimiento promedio diario en función de los incrementos diarios en longitud sifonal. Además se efectuó una breve comparación entre el crecimiento de la concha y la organogénesis de las larvas durante el cultivo.

## RESULTADOS

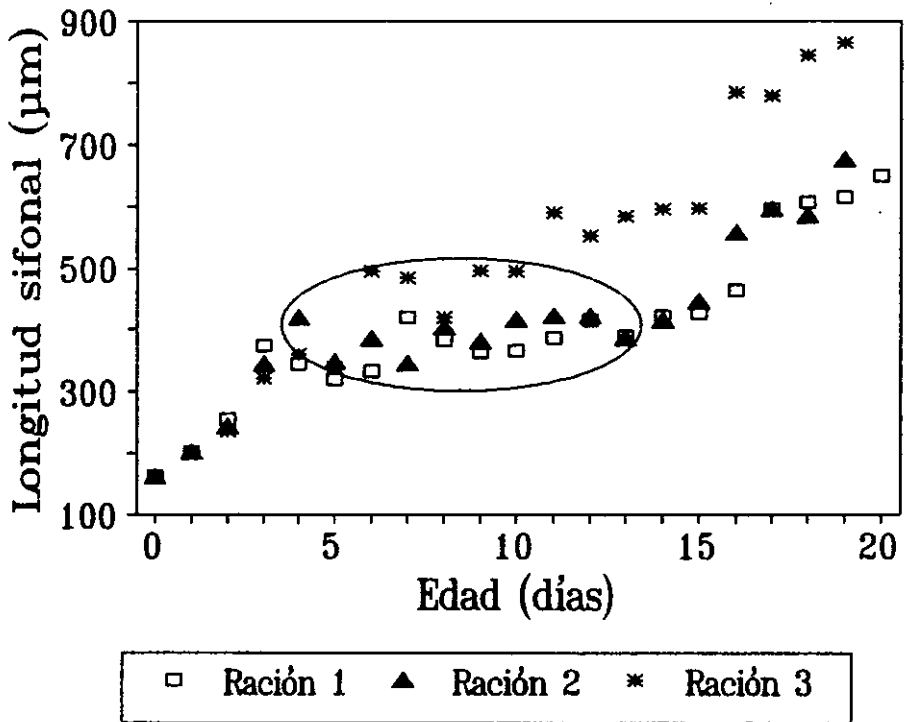
Debido al patrón de crecimiento observado, el análisis de crecimiento se efectuó para cada uno de los tres periodos que se registraron durante el experimento. En la Figura 2, se presenta el diagrama de dispersión de las lecturas de crecimiento en longitud sifonal registradas desde la eclosión hasta el asentamiento de las larvas de *S. gigas*. En dicho diagrama se puede observar claramente, la existencia de una fase o periodo durante el cual el crecimiento de la concha disminuye considerablemente, independientemente de la ración de alimento proporcionada a las larvas. Por lo tanto, el análisis del crecimiento se efectuó en función de tres periodos que a continuación se describen.



---

Figura 1. Orientación de las larvas de *Strombus gigas* observadas antes [a] y después [b] de la inclusión.

---



**Figura 2.** Diagrama de dispersión de las lecturas de crecimiento en longitud sifonal de las larvas de *Strombus gigas*, desde la eclosión hasta el asentamiento.

**Tabla II.** Ecuaciones de regresión y tasas de crecimiento promedio diario en longitud sifonal durante los tres periodos [n=x de 20 observaciones por día].

Periodo	Ración	Ecuación de la recta	Coefficiente $r^2$	Crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día}$ )
I	1	$y=68.48(x) + 145.31$	0.97	70.17
	2	$y=58.54(x) + 149.92$	0.97	60.47
	3	$y=49.73(x) + 152.74$	0.96	55.16
II	1	$y=5.87(x) + 325.93$	0.54	4.61
	2	$y=4.95(x) + 348.85$	0.53	4.29
	3	$y=16.42(x) + 356.56$	0.66	9.70
III	1	$y=35.96(x) - 66.66$	0.94	29.31
	2	$y=48.34(x) - 250.27$	0.97	48.08
	3	$y=50.43(x) - 81.66$	0.95	44.67

En las tablas II, se presentan las ecuaciones de regresión y las tasas de crecimiento promedio diario, calculadas para cada uno de los tres periodos de crecimiento observados durante el experimento. El período I, con una duración de tres a cinco días, estuvo caracterizado por un crecimiento acelerado de la protoconcha hasta completar la formación de la primera espira de la teleoconcha y el inicio de la segunda. Las tasas de crecimiento para el período I, independientemente de la ración de alimento, fueron siempre mayores que las obtenidas para los períodos II y III, para todos los tratamientos, de acuerdo a la t de Student [ $P < 0.05$ ].

En la Figura 3, se comparan las tasas de crecimiento obtenidas con las tres raciones durante los tres períodos. De acuerdo a t de Student, el mayor crecimiento observado durante el período I correspondió a la ración uno con  $70.17 \mu\text{-día}^{-1}$  y el menor, con  $55.16 \mu\text{-día}^{-1}$  para la ración 3 [ $P < 0.05$ ].

Es interesante notar que durante el período I, las tasas de crecimiento disminuyeron conforme la ración de microalgas aumentó, al contrario de lo que podría esperarse. La organogénesis durante este período, estuvo limitada al desarrollo de las estructuras y órganos con los cuales eclosionó la larva. Las estructuras más evidentes fueron los dos lóbulos del velum, corazones adulto y larvario funcionando, manchas oculares, pie en formación, tentáculo derecho en desarrollo, manto con poca pigmentación.

El período II, con una duración de 8 a 10 días, está caracterizado por el crecimiento lento de la teleoconcha hasta completar dos espiras y media. Las tasas de crecimiento registradas durante este período fueron las más pequeñas de los tres períodos observados, y de cualquiera de las 3 raciones en los períodos I y III, con diferencias significativas de acuerdo a pruebas t de Student [ $P < 0.05$ ].

En la Figura 3, se comparan las tasas de crecimiento de las tres raciones de alimento del período II. De acuerdo a pruebas t de Student, la ración tres

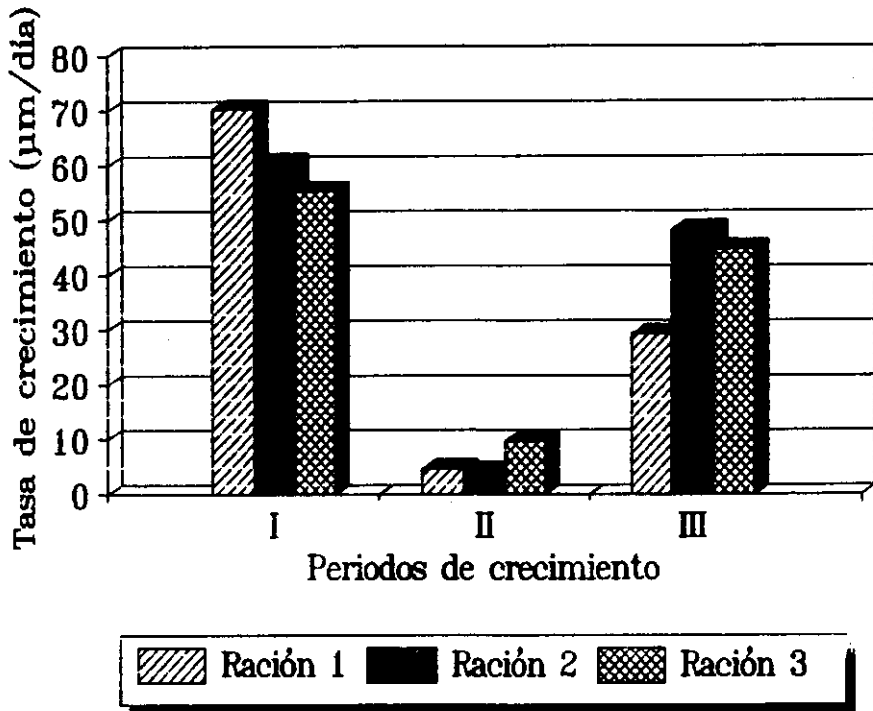


Figura 3. Comparación de las tasas de crecimiento de las larvas de *Strombus gigas*, durante los tres periodos con tres diferentes raciones de alimento.

mantuvo la tasa de crecimiento mas elevada, con  $9.70 \mu\text{-día}^{-1}$ , superior al crecimiento obtenido con las otras dos raciones durante este periodo [ANOVA, 95% IC].

Durante este período se observó el desarrollo de la mayoría de los órganos larvarios y adultos. Esta fase del desarrollo es crítica para la supervivencia de las larvas por el fuerte gasto energético que representa la organogénesis. Durante este período se observó el desarrollo de los seis lóbulos del velum, la masa bucal, el ctenidium, el pie y los tentáculos; además de la aparición de pigmentos color naranja en el pie y el manto, la migración de los ojos ala parte media de los tentáculos y la funcionalidad del estiletecristalino dentro del estómago.

El período III, con una duración de cinco a seis días, estuvo caracterizado por un crecimiento moderado de la teleoconcha hasta terminar de formar la tercera espira e iniciar la cuarta. Al comparar las tasas de crecimiento entre las tres raciones (Figura 3), se puede notar una recuperación en las tasas de crecimiento, que sin embargo, no superan las registradas durante el periodo I. Las tasas mas altas del tercer periodo, fueron registradas para las raciones dos y tres con  $48.08$  y  $44.67 \mu\text{-día}^{-1}$ , respectivamente, sin diferencias significativas entre ambos de acuerdo a la t de Student [ $P>0.05$ ].

Durante esta fase, comienza la reabsorción de los lóbulos del velum, por lo cual la larva pierde habilidad para mantenerse nadando en la columna de agua y tiende a pasar mas tiempo flotando sobre el fondo de los recipientes de cultivo. Para ese momento, el pie esta lo suficientemente desarrollado para permitir su desplazamiento sobre el fondo. Todo este proceso es conocido como asentamiento.

## DISCUSIÓN

La inclusión de las larvas en el gel de glicerina, permitió analizar los incrementos diarios en longitud sifonal de las larvas, desde la eclosión hasta el asentamiento. Por medio de este análisis, se logró demostrar que existe el mismo patrón de crecimiento en la concha de las larvas para todas las raciones de alimento, aún cuando la magnitud del crecimiento sea distinta entre cada ración. Los tres períodos de crecimiento estan definidos por variaciones en las tasas de crecimiento registradas durante el experimento.

En la Figura 4, se presenta el patrón de crecimiento de las larvas durante el experimento. Las líneas punteadas señalan la duración en días de cada período y la franja muestra el intervalo de tallas durante el cual la tasa de crecimiento de las larvas disminuye.

El análisis del crecimiento por periodos, permite observar con mayor claridad el efecto del alimento y la ración sobre el crecimiento de las larvas, debido a que cada periodo esta íntima meteligado con la organogénesis de las larvas y, por consiguiente, con las variaciones en los requerimientos energéticos que puedan tener durante el desarrollo. Al dividir la curva total de crecimiento



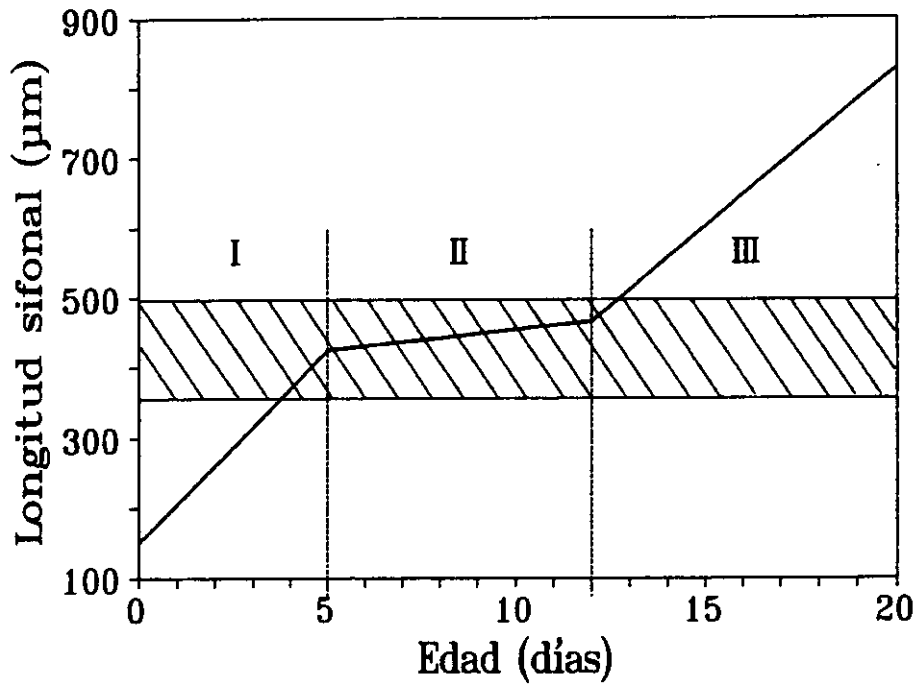


Figura 4. Patrón de crecimiento observado desde la eclosión hasta el asentamiento en larvas de *Strombus gigas*.

en tres períodos bien caracterizados, se pudo determinar que existe un período de crecimiento retardado o nulo, durante el cual no se observaron diferencias significativas entre las raciones probadas, a excepción de la ración tres con la cual la tasa de crecimiento fue ligeramente mayor.

Durante el período I, se observa un efecto inverso de la ración de alimento sobre el crecimiento de las larvas alimentadas con *T. suecica*, es decir, a mayor ración menor crecimiento. Este comportamiento podría ser atribuido al efecto del tamaño de la microalga sobre la eficiencia de captura de los cilios de la larva y su facilidad de ingestión y digestión, y que se ha observado que otras especies de menor tamaño, como *Isochrysis* aff. *galbana* son consumidas de mejor manera. Por otra parte, es probable que la ración de alimento suministrada durante este período fuera superior a la requerida por las larvas. En estudios realizados recientemente, Aldana Aranda y Patiño Suárez (1999), encontraron que en larvas menores de tres días, el proceso de ingestión y digestión de *T. suecica* es mas lento que el de *I. aff. galbana*.

A pesar de que el crecimiento se detiene prácticamente durante el período II, esto no es debido ni a la ración, ni a la calidad del alimento. Es preciso recordar, que el parámetro de crecimiento fue la longitud sifonal medida sobre la concha de la larva y que dicha estructura no representa directamente ni el estado fisiológico, ni el estado metabólico de las larvas. Si bien el crecimiento en longitud sifonal, disminuye durante el período II, las observaciones realizadas sobre la organogénesis durante el mismo experimento, permitieron confirmar que el nivel de organización y desarrollo es acelerado durante esta fase.

Si se comparan a el estado de desarrollo de las larvas y la cantidad de procesos biológicos que ocurren durante el período II, no se podría hablar de un crecimiento nulo. Es precisamente durante este período, cuando se observa la aparición y desarrollo funcional del mayor número de estructuras y órganos adultos. Por otra parte, en este momento la larva está formando la segunda y tercera espiras de la teleoconcha, las cuales tarda mas en completar ya que toda la energía puede estardirigiéndose a la organogénesis.

En ese sentido, Lucas y Beninger (1985) recomiendan el uso preferente de índices biológicos de condición cuando se desea conocer de una forma real el estado fisiológico del organismo en cuestión. Sin embargo en larvas de *S. gigas*, esto no hasido estudiado, por lo cual es evidente la importancia y ventaja de analizar el estado de desarrollo cuando se efectúan estudios nutricionales en larvas del caracol. De esta manera, es urgente la definición de índices biológicos de condición para este tipo de organismos, en lugar de las observaciones sobre el crecimiento de la concha.

El mayor efecto de la ración de alimento fue observado durante el período III, donde se observó un incremento gradual del crecimiento al aumentar la ración de alimento. A partir del noveno al décimo día del desarrollo, las reservas nutritivas en la glándula digestiva de las larvas de *S. gigas* se agotan

(D'Asaro, 1965), por lo cual se puede esperar una total dependencia energética del medio que les rodea, observándose así un mayor efecto del alimento proporcionado. Este proceso, conocido como exotrofia, ha sido observado en larvas del mejillón *Mytilus edulis*, por Lucas *et al.* (1986).

#### CONCLUSIONES

La técnica propuesta para inclusión y medición de larvas permitió registrar los incrementos diarios en longitud sifonal, desde la eclosión hasta el asentamiento;

- El patrón de crecimiento de la concha y los tres períodos que lo componen son independientes del efecto del alimento y la ración;

- El análisis del crecimiento por periodos permite obtener información precisa del efecto del alimento y la ración sobre el crecimiento y desarrollo de las larvas.

#### RECONOCIMIENTOS

Este trabajo fue relizado gracias al financiamiento otorgado por la Comunidad Económica Europea [CII\*0432 ME (UR)]; el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [P 218 CCOC 882530]; el Consejo Científico y técnico de la Embajada de Francia [P 65000 ME]; y la Beca de Maestría CONAC y T [No. 55872].

#### LITERATURA CITADA

- Aldana Aranda, D. y M.V. Patiño Suárez. 1999. Ingestión y digestión de ocho microalgas unicelulares por larvas de *Strombus gigas* (molusco gasterópodo) estudiado por epifluorescencia. *Proc. Gulf Carib. Fish. Inst.* **45**:871-888.
- Aldana Aranda, D. et L. Rodríguez Gil. 1987. Croissance larvaire de *Strombus gigas* (Mollusque: Gasteropode) en fonction de différentes méthodes d'élevage et de différentes algues. *Journal de la Recherche Oceanographique*, **11(4)**: 128-131.
- Appeldoorn, R.S. and I.M. Sanders. 1984. Quantification of the density growth relationship in hatchery reared juvenile conchs (*Strombus gigas* Linné and *S. costatus* Gmelin). *Journal of Shellfish Research*, **4(1)**: 63-66.
- Ballantine, D.L. [1981]. *Strombus gigas* hatchery culture program in Puerto Rico. National Marine Fisheries Service, Puerto Rico. 6pp. Unpubl. Report.
- Bayne, B.L. 1965. Growth and delay of metamorphosis of the larvae *Mytilus edulis* (L.). *Ophelia*, **2**: 1-47.
- Bertalanffy, L. 1938. A quantitative theory of organic growth (Inquiries on growth laws. II.). *Human Biology*, **10(2)**: 181-213.

- Creswell, L. R. 1984. Ingestion, assimilation, and growth of juveniles of the queen conch *Strombus gigas* Linné fed experimental diets. *Journal of Shellfish Research*, **4**(1): 23-30.
- D'Asaro, C.N. 1965. Organogenesis, development, and metamorphosis in the Queen Conch, *Strombus gigas*, with notes on breeding habits. *Bulletin of Marine Science*, **15**(2): 361-416.
- Epifanio, C.E. 1979. Growth in bivalve molluscs: nutritional effects of two or more species of algae in diets fed to the American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) and the hard clam *Mercenaria mercenaria* (L.). *Aquaculture*, **18**: 1-12.
- García López, R.M. [1991]. Edad y Crecimiento en Peces. Seminario de Investigación. CINVESTAV-IPN, Unidad Mérida. México. 13 p. No publicado.
- Lucas, A. 1982. La nutrition des larves de bivalves. *Oceanis*, **8**(5): 363-388.
- Lucas, A. and P.G. Beninger. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, **44**: 187-200.
- Lucas, A., L. Chebab-Chalabi et D. Aldana Aranda. 1986. Passage de l'endotrophie à l'exotrophie chez les larves de *Mytilus edulis*. *Oceanologica Acta*, **9**(1): 97-103.
- Pechenik, J.A. 1980. Growth and energy balance during larval lives of three prosobranch gastropods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **44**: 1-28.
- Pillsbury, K.S. 1985. The relative food value and biochemical composition of five phytoplankton diets for queen conch, *Strombus gigas* (Linne) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **90**: 221-231.
- Randall, J.E. 1964. Contribution to the biology of the queen conch, *Strombus gigas*. *Bulletin of Marine Science of the Gulf and Caribbean*, **14**(2): 246-295.
- Seed, R. 1976. Ecology. Cap. 2. Pages 38-49 in Bayne, B.L. (Ed) *Marine mussels: Their ecology and Physiology*. Vol. 10. Cambridge Press University, New York.
- Sprung, M. 1984. Physiological energetics of mussel larvae (*Mytilus edulis*). I. Shell growth and biomass. *Marine Ecology Progress Series*, **17**: 283-293.