

# Mecanismo de adhesión de la gota de grasa en embriones de merluza europea (*Merluccius merluccius* L.)

M. Nande<sup>1,2</sup>, J. Iglesias<sup>2</sup>, F.J. Sánchez<sup>2</sup> y M. Perez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Vigo, Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología, 36310, Vigo.

<sup>2</sup> Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Vigo. Apartado 1552, 36200 Vigo. E-mail: montse.perez@vi.ieo.es.

## Summary

One of the causes of mortality of European hake larvae during larval rearing, is the presence of the lipid droplet not adhered (non-ALD) in the yolk-sac (Iglesias et al, 2013). Lifespan of larvae with non-ALD is shorter than those with ALD. According to Ortiz-Delgado *et al.* (2012) lipid drop consumption increases between days 4 and 6 coinciding with the vascularization of the liver and mouth opening. The main goal of this study was to determine how the lipid droplet is fixed to the specific membrane located in the distal portion of the embryo tail. Histological cuts of non-ALD embryos showed a layer that surrounds the droplet and how it is linked to a cellular structure in the tail of the embryo. This union occurs 50 hours after fertilization and at that point you can already know whether the embryo and future larvae will be viable.

## Resumen

Una de las causas de elevada mortalidad de larvas de merluza europea durante el cultivo larvario, es la presencia de la gota de grasa no adherida (non-ALD) en el saco vitelino (Iglesias et al, 2013). Las larvas non-ALD tienen una vida más corta que las ALD. El consumo de gota lipídica aumenta entre los días 4 y 6 coincidiendo con la vascularización del hígado y la apertura de la boca (Ortiz-Delgado *et al.* 2012). El objetivo de este trabajo fue determinar cómo se fija la gota lipídica a la membrana envolvente situada en la zona distal de la cola del embrión. Los cortes histológicos de embriones con ALD, mostraron una membrana que envuelve la gota y cómo está unida a una estructura celular en la cola del embrión. Esta unión ocurre 50 horas tras la fertilización y en ese punto ya se puede saber si el embrión y la posterior larva va a ser viable o no.

## Justificación

La merluza europea es una especie de gran interés económico. El Instituto Español de Oceanografía cuenta en el Centro Oceanográfico de Vigo con el único stock en cautiverio de merluza europea y en los últimos años se han realizado diferentes ensayos de cultivo (Iglesias *et al.* 2010). Uno de los indicadores de calidad de la puesta es la proporción de larvas con la gota de grasa correctamente adherida a la membrana (ALD) y otras con gota de grasa no adherida (non-ALD). Las larvas non-ALD no pueden consumir la gota de grasa y mueren aunque se alimenten de presas (Iglesias et al, 2013). El objetivo de este trabajo fue determinar cómo se fija la gota lipídica a la membrana envolvente situada en la zona distal de la cola del embrión.

## Material y Métodos

El stock está compuesto por 17 merluzas europeas capturadas en la Ría de Vigo y aclimatadas en un tanque de 30000 L según Iglesias et al. (2013). La temperatura del agua se mantiene a  $14^{\circ}\text{C} \pm 1$  y permanecen en penumbra durante todo el año. El desove es espontáneo y se recoge en un colector al final del tanque según Sánchez et al. (2012). Los huevos fecundados se incuban en tanques troncocónicos de 150 L con un suave flujo de agua y aireación a  $14^{\circ}\text{C} \pm 1$ . Se muestrearon los huevos de merluza varias veces al día. Los huevos se observaron en una lupa Leica M8® y se fotografiaron las diferentes etapas de desarrollo embrionario con una cámara Leica IC80® HD. Las fotografías fueron tratadas con el programa Leica Application Suite V4®. Además se tomaron muestras de huevos en diferentes estadios de desarrollo y se conservaron en alcohol absoluto para el análisis histológico. Los huevos fueron fijados en resina y cortados en un ultramicrotomo. Los cortes histológicos fueron teñidos con azul de metileno. Se tomaron fotografías a un aumento de 10x.

## Resultados y discusión

El desarrollo embrionario de merluza europea fue descrito por Sánchez *et al.* (2012). En este trabajo, identificamos por primera vez una membrana envolvente que engloba la gota lipídica y la une con el embrión ALD mediante una estructura celular localizada en la cola del mismo. Se observó que en embriones non-ALD la gota de grasa no está englobada por la membrana (Figura 1).

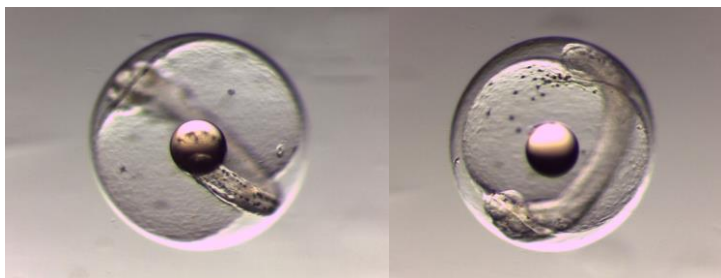


Figura 1. Gota lipídica adherida (1a), gota lipídica no adherida (1b).

En la figura 2 se muestra un embrión en el estadio de “cola corta”, estadio que aparece a las 72 horas tras fertilización a 14°C, con gota de grasa adherida. El corte histológico muestra la membrana que envuelve a la gota de grasa y la une con el embrión a través de una estructura celular situada en la cola del embrión que realizará la función de orientar y organizar esta estructura en la zona posterior de la masa vitelina en el momento de la eclosión y confinará la gota durante el proceso de absorción de reservas vitelinas.

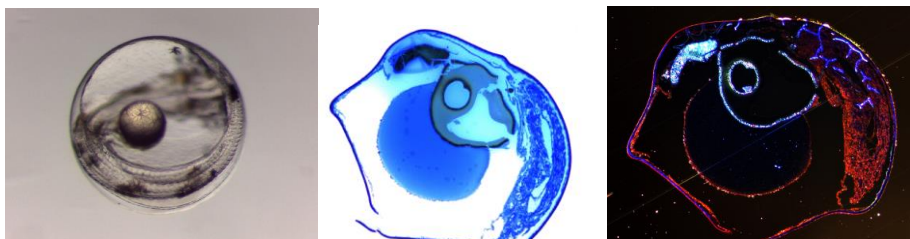


Figura 2. Estadio “cola corta” (2a), corte histológico (2b) y membranas celulares (2c).

## Bibliografía

Iglesias, J., Lago, M.J., Sánchez, F.J. y Cal, R. 2010. Capture, transport and acclimatization to captivity of European Hake (*Merluccius merluccius* L.). Preliminary data on feeding and growth. *Aquaculture Research* 41: 607–609.

Iglesias, J., Lago, M.J., Otero J.J., Gómez, C., Cal, R., F.J. Sánchez. 2013. Effect of the lipid droplet adherence on growth and survival of the European hake (*Merluccius merluccius*) larvae. *Aquaculture Research* 1-5.

Ortiz-Delgado, J. B., Iglesias, J., Sánchez, F.J., Cal, R., Lago, M.J., Otero, J.J. y Sarasquete, C. 2012. A morphohistological and histochemical study of hatchery-reared European hake, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758), during the lecitho-exotrophic larval phase. *Scientia Marina*, Vol 76, No 2.

Sánchez F.J., Otero J., Cal J.R., Lago M.J., Gómez C., Iglesias J. 2012. The first spontaneous spawning of European hake *Merluccius merluccius* L.: characteristics of eggs and early larval stages. *Aquaculture Research*, 43(11): 1729–1733.

## Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación del Instituto Español de Oceanografía a través de los proyectos CULMER y GENMOL2 y la colaboración de C Gómez Ceruelo y MJ Lago. Los cortes histológicos de los embriones fueron efectuados en el Centro de Apoyo Científico a Investigación (CACTI) de la Universidad de Vigo.