

Comportamiento Alimenticio de las Larvas de *Strombus gigas* en Función de la Temperatura

VICTORIA PATIÑO-SUAREZ y DALILA ALDANA-ARANDA

Laboratorio de Biología Marina
CINVESTAV IPN, Unidad Mérida
Km. 6 Carr. Ant. a Progreso C.P. 97310
Mérida, Yucatán, México

RESUMEN

En este trabajo se presenta el efecto de la temperatura en el comportamiento alimenticio de larvas velígeras de caracol rosa *S. gigas*. Dicho efecto fue estudiado mediante la observación directa de los procesos de ingestión y digestión, aplicando la microscopía de epifluorescencia. Ocho temperaturas fueron evaluadas: 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 y 32°C. Las larvas fueron alimentadas con *I. aff. galbana* a una concentración de 10,000 cel·ml⁻¹ y se trabajó a una densidad de 400 larvas/L. La ingestión fue determinada alimentando a las larvas por dos horas y observándolas al microscopio de epifluorescencia a cada hora. Para observar la digestión, las larvas fueron filtradas y colocadas en recipientes con agua de mar filtrada, sin alimento. La evolución de los procesos de ingestión y digestión fue observada a cada hora, en un período de ocho horas y a 24 horas después administrado el alimento. Todas las observaciones fueron realizadas con larvas vivas. El comportamiento alimenticio larval en las diferentes temperaturas estudiadas fue analizado mediante índices absolutos de ingestión (IAI) y digestión (IAD). Además, se realizó una estimación cualitativa del llenado del estómago (RG), en función de la temperatura. Independientemente de la temperatura, los valores del IAI son elevados ($\geq 90\%$). Respecto al IAD, su valor tiende a disminuir conforme baja la temperatura. De 28 a 32°C los valores del IAD oscilan entre 83 y 86%; mientras que, de 18 a 26°C son $< 80\%$; correspondiendo el valor más bajo (47%) a 18°C.

PALABRAS CLAVES: Molusco, *S. gigas*, larva, nutrición, temperatura

Feeding Behavior of *Strombus gigas* Larvae as a Function of Temperature

This work presents the effect of temperature in the Queen Conch *Strombus gigas* larvae. This effect was studied by means of the direct observation of ingestion and digestion, using the epifluorescence microscopy. Eight temperatures were tested: 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 y 32°C. Larvae were fed *I. aff. galbana*, at concentration of 10,000 cel/ml, and larval density was 400 larvae/L. To detect ingestion, larvae were fed for two hours, and observed under the epifluorescence microscopy each h. To observe digestion, larvae were sieved and placed in new containers with filtered seawater without food. Ingestion and digestion were observed each h, during 8 hours, and at 24 hours after feeding. All observations were done in live larvae. Larval feeding behavior on the different temperatures was analyzed by the absolute ingestion (AII) and digestion (ADI) indices. A qualitative estimation of the stomach filling (GR), according to temperature was also done. Independently of temperature, the AII values were high ($\geq 90\%$). Respectively, the ADI, it tends to decrease according the decline in temperature. From 28 to 32°C the AID values are between 83 and 86%; while, from 18 a 26°C they are $< 80\%$. The lowest ADI was 47% at 18°C.

KEY WORDS: Mollusk, *S. gigas*, larvae, nutrition, temperature

INTRODUCCIÓN

El caracol rosa *Strombus gigas* es un invertebrado bentónico que posee una larva planctónica durante su ciclo de vida. Estudios en el laboratorio han demostrado que bajo condiciones óptimas de alimentación, temperatura, densidad y calidad de agua, el período larval de este molusco es aproximadamente de 21 días, (Davis 2000). Boidron-Metairon (1995) señala que el alimento y la temperatura son factores que juegan un papel importante en el desarrollo y sobrevivencia de las larvas de varios invertebrados marinos. En las larvas de moluscos la alimentación está constituido por algas unicelulares, las cuales pueden representar del 90 al 95% del alimento (Aldana-Aranda *et al.* 2004). Diversas especies de microalgas se han probado como alimento para las larvas de *S. gigas* (Pillsbury 1985 y Aldana-Aranda y Patiño-

Suárez 1998); y su efecto se ha determinado de manera indirecta, a través del crecimiento y desarrollo (Brownell 1977, Aldana-Aranda y Rodríguez 1987, Heyman *et al.* 1989, Davis *et al.* 1993, Weil y Laughlin 1994, García-Santaella y Aldana-Aranda, 1994, Davis 1994, 2000), y de manera directa mediante la medición de sus tasas de ingestión y digestión (Aldana-Aranda *et al.* 1994, Aldana-Aranda y Patiño-Suárez 1997, Patiño-Suárez y Aldana-Aranda 2000, Patiño-Suárez y Aldana-Aranda 2003). En ambos casos, *Isochrysis* y *Tetraselmis* han resultado dietas adecuadas para cultivar *S. gigas*, ya que promueven un buen crecimiento y desarrollo larval (Aldana-Aranda y Patiño-Suárez 1998) y, son altamente ingeridas y digeridas por las larvas de *S. gigas* (Patiño-Suárez y Aldana-Aranda 2000, Patiño-Suárez y Aldana-Aranda, 2003). Respecto a la temperatura, se ha sugerido que este factor controla el

metabolismo de los organismos, regulando el crecimiento y desarrollo larval, la duración de la vida pelágica y la sobrevivencia (Scheltema 1967 y Pechenik *et al.* 1990). Aldana-Aranda y colaboradores (2001) mencionan que desde el punto de vista ecológico, la temperatura juega un papel estratégico en la sobrevivencia larval, ya que a mayor temperatura el crecimiento y desarrollo se acelera, lo que disminuye la duración de la vida larvaria y por ende el tiempo en que la larva permanece en el plancton, disminuyendo el riesgo de mortalidad por predación. Pese a lo anterior, pocos autores han estudiado específicamente el efecto de la temperatura en las larvas de *S. gigas* (Aldana-Aranda y Torrentera 1987, Corral y Ogawa 1985, Aldana-Aranda *et al.* 2001); por lo que, en este estudio se presenta el efecto de la temperatura en el comportamiento alimenticio de las larvas velígeras del caracol rosa *Strombus gigas*, recurso de importancia comercial en la región del Caribe que soporta una severa sobreexplotación (CITES Significant Trade Review 2003).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los huevos fertilizados fueron colectados de una hembra que se encontraban ovopositando en el Arrecife Alacranes, Península de Yucatán México (22° 52' -22° 10' LN y 90° 02' - 89° 19' LO). En el laboratorio, la masa de huevos fue suspendida en un contenedor de 40 litros con agua de mar filtrada. Después de la eclosión las larvas fueron transferidas a recipientes de plástico de 4 litros a una densidad de 400 larvas por litro. Se probaron ocho temperaturas: 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 y 32°C. El efecto de la temperatura en la alimentación larval de *S. gigas* fue determinado mediante la observación directa de los procesos de ingestión y digestión con microscopía de epifluorescencia. Para cada temperatura las larvas fueron alimentadas por dos horas con *Isochrysis* aff. *galbana*, cultivada en medio F/2 de Guillard y Ryther (1962), a una concentración de 10,000 cel/ml. En este tiempo, se midió la ingestión con observaciones al microscopio de epifluorescencia a cada hora. Para evaluar la digestión, cumplidas las dos horas de alimentación, las larvas se transfirieron a recipientes de agua de mar filtrada sin alimento. La digestión se observó a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 24 horas después de administrado el alimento. Todas las observaciones bajo el microscopio de epifluorescencia se realizaron con larvas vivas. La velocidad de estos procesos fue determinada mediante una escala cromática de cuatro estados de nutrición (Babinchak y Ukeles, 1979) (Tabla 1). El microscopio utilizado fue Carl Zeiss, Standard K7, equipado con una lámpara de mercurio HBO de 50W, un filtro excitador BP 450-490, un filtro divisor cromático FT510 y un filtro supresor LP 520.

Para comparar el comportamiento alimenticio en función de la temperatura se aplicaron los siguientes índices absolutos de ingestión y digestión (I.A.I. e I. A. D.) (Aldana Aranda 1993):

$$\text{I.A.I.} = \frac{\text{no-n4min}}{\text{no}} \times 100$$

$$\text{I.A.D.} = \frac{\text{no}-(\text{n4min} + \text{n1d})}{\text{no}} \times 100$$

en donde, no es total de larvas observadas; n1, larvas en estado 1; n2, larvas en estado 2; n3, larvas en estado 3; n4min, valor mínimo de larvas observadas en estado 4; y n1d, larvas en estado 1 a la última hora en la que este estado fue observado.

Tabla 1. Escala cualitativa de los cuatro estados de nutrición para evaluar la ingestión y grado de digestión de las células algales por las larvas (Babinchak y Ukeles, 1979).

Estados	Características
1	Células enteras visibles en el estómago, fluorescencia roja.
2	Presencia de células intactas y células lisadas, fluorescencia roja menos intensa y algunas veces rosa.
3	Ausencia de células intactas, fluorescencia difusa, rojo pálido, rosa o naranja.
4	Ninguna célula algal entera. No hay signos de fluorescencia, indicando que las larvas nunca ingirieron alimento o que la digestión ha culminado.

RESULTADOS

En la Figura 1 se presenta la evolución de los cuatro estados de nutrición, expresados en porcentaje, de las larvas de *S. gigas* alimentadas cultivadas a diferentes temperaturas.

Independientemente de la temperatura, *I. aff. galbana* es ingerida y digerida por las larvas de *S. gigas*. En las larvas incubadas a 18 y 20°C se observa un comportamiento similar: el estado 1 se presenta durante las seis primeras horas con valores \geq a 90%. La digestión inicia a la séptima hora, observándose el estado 2 con valores de 22% en las larvas incubadas a 18°C y de 38% en las incubadas a 20°C. A 24 horas de haber sido administrado el alimento, no se ha culminado la digestión, más del 90% de las larvas continúan en estado 2. A 22 y 24°C el estado 1 se observa con valores $>$ 85% en las cuatro primeras horas. La digestión inicia a la quinta hora con valores del estado 2 de 38% en las larvas incubadas a 22°C y de 45% en las incubadas a 24°C. A 24 horas, el 92% de larvas cultivadas a 22°C continúa en estado 2; mientras que, a 24°C el 87% de las larvas está en estado 4, el 10% en estado 2 y 3% en estado 3. A 26 y 28°C el comportamiento es similar: el estado 1 se observa con valores $>$ a 90% hasta la cuarta hora. La digestión inicia a la quinta hora con valores del

estado 2 de 16% en las larvas incubadas a 26°C y de 27% en las incubadas a 28°C. A 24 horas el número de larvas que continua en digestión es elevado; a 26°C el 50% de la población está en estado 2 y el 45% en estado 3; mientras que, a 28°C el 61% está en estado 2 y 31% en estado 3. A 30°C el 100% de las larvas está en estado 1 durante las cinco primeras horas. A la sexta hora se inicia la digestión con 41% de larvas en estado 2. A 24 horas, el 74% de la población se encuentra en estado 3 y 26% en estado 4. A 32°C, el estado 1 se observa con valores > a 95% durante las cuatro primeras horas. A diferencia de las otras temperaturas, la digestión inicia a la cuarta hora con 4% de las larvas en estado 2. El estado 3 de digestión más avanzada se observa desde la sexta hora con un valor de 57%. A 24 horas el 90% de las larvas ha completado la digestión (estado 4) y el 10% se encuentra en estado 3.

En la Figura 2 se presentan los valores del IAI e IAD, expresados en porcentaje, para cada temperatura estudiada. Independientemente de la temperatura los valores del IAI son elevados ($\geq 90\%$), lo que indica una alta ingestibilidad por *I. aff. galbana* a cualquier temperatura. Respecto de la digestión, en términos generales se observa una tendencia a aumentar el valor del IAD a medida que se incrementa la temperatura. Las larvas incubadas de 18 a 26°C muestran valores del IAD menores a 80%, correspondiendo el valor más bajo de 47% a 18°C. De 28 a 32°C la digestibilidad de *I. aff. galbana* es mayor, los valores del IAD oscilan entre 83 y 86%.

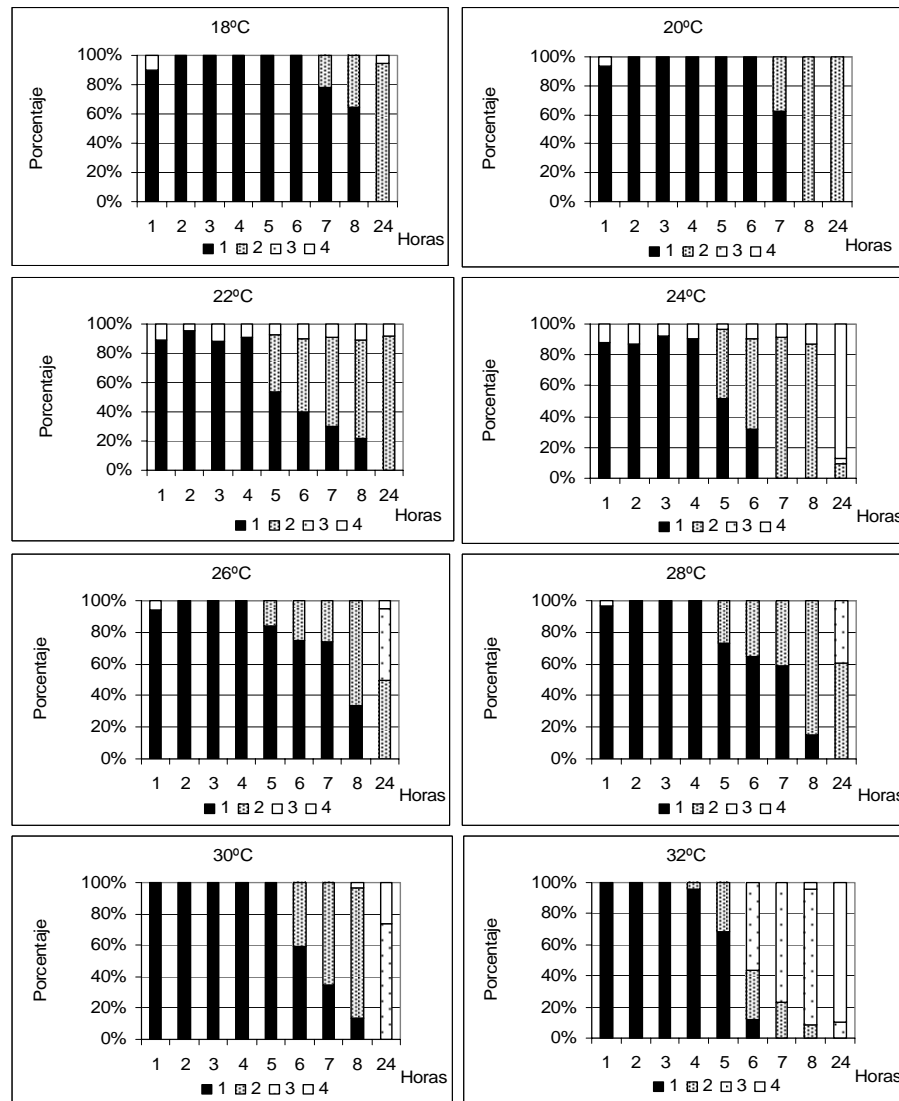


Figura 1. Evolución de los cuatro estados de nutrición, expresados en porcentaje, de las larvas de *S. gigas* cultivadas a diferentes temperaturas.

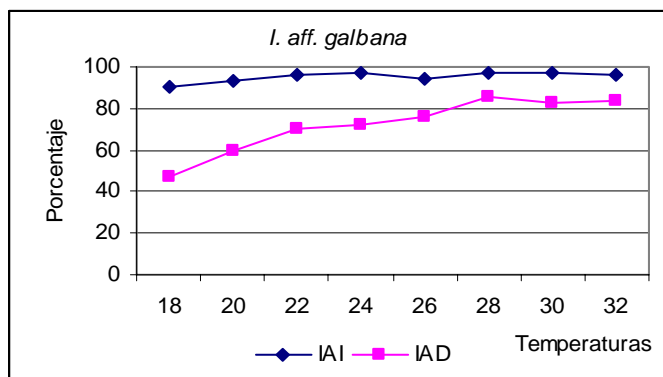


Figura 2. Porcentajes del índice absoluto de ingestión (IAI) e índice absoluto de digestión (IAD) de las larvas de *S. gigas* cultivadas a 8 diferentes temperaturas.

DISCUSIÓN

El efecto de la temperatura en las larvas de *S. gigas* ha sido determinado indirectamente mediante el crecimiento y duración del período larval (Aldana-Aranda y Torrentera 1987, Corral y Ogawa 1985, Aldana-Aranda *et al.* 2001). En este estudio el efecto de la temperatura en las larvas de *S. gigas* se determinó de manera directa mediante la observación de los procesos de ingestión y digestión con microscopía de epifluorescencia. Sacando ventaja la fluorescencia natural de la clorofila presente en los cloroplastos de las células algales y la transparencia de los tejidos y concha de la larva, esta técnica permitió realizar una estimación cualitativa, de la cantidad de alimento ingerido por la larva durante la primera y segunda hora de alimentación. La estimación del llenado del estómago, denominada como repleción gástrica (R.G.) se clasificó en cuatro categorías: 0, 25, 50, 75 y 100% de llenado estomacal. En la Figura 3 se presenta dicha estimación para cada

temperatura estudiada. En las larvas cultivadas a 18°C se observan llenados de 50 y 75%, siendo a la segunda hora en donde se presenta el mayor número de larvas (89%) con la mayor RG (75%). A 20°C, el 100% de la población presenta una RG del 75% a la primera hora; y a la segunda hora, el 76% de las larvas tienen una RG de 75% y el 24% una RG de 100%. A 22 y 24°C, a la segunda hora se observa un mayor número de larvas (73 y 80%, respectivamente) con una RG del 100%. A 28, 30 y 32°C, durante las dos horas de alimentación, el grueso de la población presenta una RG entre 75 y 100%; siendo mayor el porcentaje de larvas con RG de 100% (65, 65 y 78%, respectivamente) a la segunda hora.

Davis (2000) señala que la temperatura de cultivo óptima para las larvas de *S. gigas* es de 28°C; sin embargo a 24, 28 y 32°C se observa alta sobrevivencia y las larvas son metamórficamente competentes entre 16 y 24 días.

En un análisis sobre las temperaturas usadas en la crianza de larvas de este molusco, Aldana-Aranda y colaboradores (2001) muestran correlaciones de temperatura-tasa promedio de crecimiento y temperatura-tiempo en alcanzar la metamorfosis. En el primer caso, observan una zona óptima a 27°C con la mejor tasa de crecimiento (60 µm/día), después una zona subóptima a 26 y 28°C con una tasa de crecimiento de 40 µm/día, y una zona de bajo crecimiento a temperaturas > a 29°C y < a 26°C. En el segundo caso, observan una tendencia a disminuir el tiempo en alcanzar la metamorfosis al pasar de 26 a 29°C.

En este estudio, en las ocho temperaturas probadas, los valores del IAI son elevados (≥ 90%), lo que refleja que a cualquier temperatura *I. aff. galbana* es altamente ingerida por las larvas de *S. gigas*. De acuerdo con la repleción gástrica, en todas las temperaturas RG es ≥ 75%. Si bien en cualquier temperatura este valor es elevado, ligeras diferencias son observadas entre las larvas cultivadas a 18 y 20°C (RG predominante del 75%); y aquéllas cultivadas

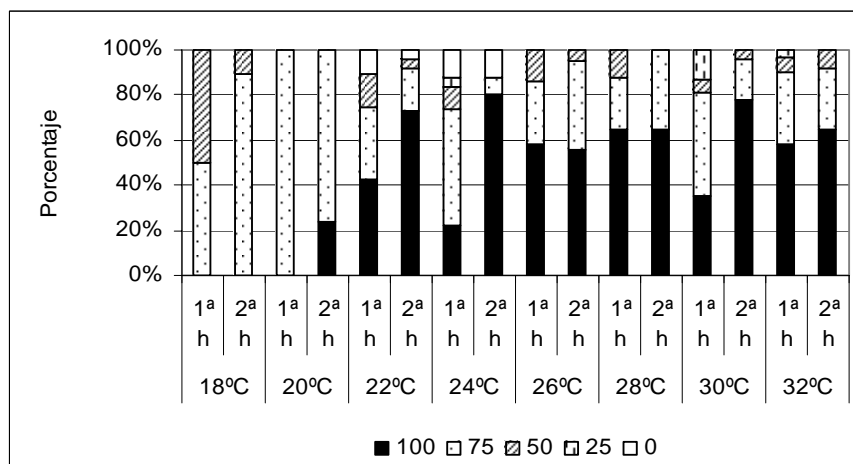


Figura 3. Porcentaje de larvas en las diferentes categorías de repleción gástrica (RG) estimadas (0, 25, 50, 75 y 100%), para las 8 temperaturas estudiadas.

de 22 a 32°C (RG predominante del 100%).

De acuerdo con los resultados del IAD, hay una tendencia de aumentar la velocidad de digestión al incrementarse la temperatura, hasta un máximo de 28°C. Posteriormente, de 28 a 32°C el IAD se mantiene en un rango entre 83 y 86%. A temperaturas \leq a 26°C la velocidad de digestión es \leq 77%, siendo las larvas cultivadas a 18°C las que presentan la digestión más lenta (47%).

En larvas de *S. gigas* cultivadas a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y $24 \pm 3^\circ\text{C}$, Aldana-Aranda y Torrentera (1987) obtienen mortalidad total a los 5 y 9 días de cultivo, respectivamente. En larvas de *S. costatus* cultivadas a 24°C, Aldana-Aranda *et al.* (1989) obtienen alta mortalidad, con bajas tasas de crecimiento ($26.21 \pm 8.89 \mu\text{m}/\text{día}$) y la metamorfosis se alcanza después de los 36 días.

En términos de ingestión y digestión, las larvas de *S. gigas* cultivadas entre 28 y 32°C presentan una mejor eficiencia alimenticia. Se sugiere probar el efecto de estas temperaturas, con énfasis 32°C, en términos de crecimiento y desarrollo.

LITERATURA CITADA

- Aldana-Aranda, D. y J. Rodríguez. 1987. Croissance larvaire de *Strombus gigas* (Mollusque gastéropode) en fonction de différentes méthodes delevage et de différentes algues. *J. Rech. Océanogr.* **11**(4):123-131.
- Aldana-Aranda, D., y B.L. Torrentera. 1987. Croissance larvaire de *Strombus gigas* (Mollusque: Gastéropode) en fonction de la nourriture et de la température. *Haliotis* **16**:403-411.
- Aldana-Aranda, D., A. Lucas, T. Brulé, E. Salguero, and F. Rendón. 1989. Effect of temperature, algal food, feeding rate and density on larval growth of the milk conch (*Strombus costatus*) in Mexico. *Aquaculture* **76**:361-371.
- Aldana-Aranda, D. 1993. *L'alimentation des Larves de Mollusques: Approche Méthologique*. These de Doctorat d'Universite. Universite de Marseille III. 68 pp.
- Aldana-Aranda, D., M.V. Patiño-Suárez, and T. Brulé. 1994. Ingestion and digestion of eight unicellular algae by *Strombus gigas* larvae (Mollusca gastropode) studied by epifluorescence microscope. *Aquaculture* **126**:151-158.
- Aldana-Aranda, D., V. Patiño-Suárez, and T. Brulé. 1997. Nutritional potentialities of *Chlamydomonas coccooides* and *Thalassiosira fluviatilis*, as measured by their ingestion and digestion rates by the Queen Conch larvae (*Strombus gigas*). *Aquaculture* **156**:9-20.
- Aldana-Aranda, D. and V. Patiño-Suárez. 1998. Overview of diets used in larviculture of three Caribbean Conchs: Queen Conch *Strombus gigas*, Milk Conch *Strombus costatus* and Fighting Conch *Strombus pugilis*. *Aquaculture* **167**:163-178.
- Aldana-Aranda, D., E. Baqueiro, y V. Patiño-Suárez. 2001. Descripción de las temperaturas usadas en el cultivo de larvas de *Strombus* spp. *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute* **52**:327-338.
- Babinchak, J. and R. Ukeles. 1979. Epifluorescence microscopy, a technique for the study of feeding in *Crassostrea virginica* veliger larvae. *Marine Biology* **51**:69-76.
- Boidron Metairon, I. 1995. *Larval Nutrition*. Pages 223-248 in: L. McEdward (ed.) *Ecology of Marine Invertebrate Larvae*. CRC Press, Boca Raton, Florida USA.
- Brownell, W.N. 1977. Reproduction, laboratory culture, and growth of *Strombus gigas*, *S. costatus* and *S. pugilis* in los Roques, Venezuela. *Bulletin of Marine Science* **27**(4):668-680.
- CITES Significant Trade Review, 2003. 19th Meeting of the Animal Committee. Geneva (Switzerland), 18-21 A 2003. AC 19 Doc.8.3 (Rev. 1). 71 pp.
- Corral, J.L., y J. Ogawa. 1985. Cultivo masivas de larvas de caracol *Strombus gigas* en estanques de concreto. *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute* **38**:345-351.
- Davis, M., C.A. Bolton, and A.W. Stoner. 1993. A comparison of larval development, growth, and shell morphology in three Caribbean *Strombus* species. *The Veliger* **36**(3):236-244.
- Davis, M. 1994. Mariculture techniques for queen conch (*Strombus gigas* L.): egg mass to juvenile stage. Pages 231-252 in: R.S. Appeldoorn and B. Rodríguez (eds.) *Strombus gigas Queen Conch Biology, Fisheries and Mariculture*. Fundación Científica Los Roques, Caracas, Venezuela,
- Davis, M. 2000. Queen Conch (*Strombus gigas*) culture techniques for research, stock enhancement and growout markets. Pages 127-160 in: M. Fingerma, and R. Nagabhushanam (eds.) *Recent Advances in Marine Biotechnology. Vol. 4, Part A*, Science Publishers, Inc, Princeton, New Jersey USA.
- García-Santaella, E. and D. Aldana-Aranda. 1994. Effect of algal food and feeding schedule on larval growth and survival rates of the queen conch, *Strombus gigas* (Mollusca, Gastropoda), in Mexico. *Aquaculture* **128**:261-268.
- Guillard, R.L.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve). *Canadian Journal of Microbiology* **8**:229-239.
- Heyman, W.D., R.A. Dobberteen, L.A. Urry, and A.M. Heyman. 1989. Pilot hatchery for the queen conch, *Strombus gigas*, shows potential for inexpensive and appropriate technology for larval aquaculture in the Bahamas. *Aquaculture* **77**:277-285.

-
- Patiño-Suárez, V. y D. Aldana-Aranda. 2000. Ingestión y digestión de siete especies de microalgas por larvas de *Strombus gigas* (Mesogastropoda: Strombidae). *Revista de Biología Tropical* **48** (1):87-93.
- Patiño-Suárez, V. y D. Aldana-Aranda. 2003. *Dinámica alimenticia de las larvas de Strombus gigas, estudiado por epifluorescencia*. Páginas 139-146 en: D. Aldana Aranda (ed.) *El Caracol Strombus gigas: Conocimiento Integral para su Manejo Sustentable en el Caribe*. CYTED. Yucatán, México.
- Pechenik, J.A., L. Eyster, J. Widdows, and L. Bayne. 1990. The influence of food concentration and temperature on growth and morphological differentiation of blue mussel *Mytilus edulis* L. larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **136**:47-64.
- Pillsbury, K.S. 1985. The relative food value and biochemical composition of five phytoplankton diets for queen conch *Strombus gigas* (Linné) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **90**:221-231.
- Scheltema, R. 1967. The relationship of temperature to the larval development of *Nassarius obsoletus* (Gastropoda). *Biological Bulletin* **132**:253-265.
- Weil, E. and R.A. Laughlin. 1994. Laboratory culture of *Strombus gigas* L. in the Dos Mosquises Marine Station, Los Roques National Park, Venezuela: Final results. Pages 275-294 in: R.S. Appeldoorn and B. Rodríguez (eds.) *Strombus gigas Queen Conch Biology, Fisheries and Mariculture*. Fundación Científica Los Roques, Caracas, Venezuela.