

# Ingestión y Digestión de Siete Microalgas por Larvas de *Strombus gigas* (Molusco, Gasterópodo) de Uno Día de Edad, Estudiado por Epifluorescencia

DALILA ALDANA ARANDA y VICTORIA PATIÑO SUÁREZ

CINVESTAV IPN Unidad Mérida

Biología Marina

A.P. 73

C.P. 97310 Mérida, Yucatán, México

## RESUMEN

Se determinaron los procesos de ingestión y digestión de siete microalgas por larvas de *Strombus gigas*, utilizando como método directo la microscopía de epifluorescencia. Las larvas utilizadas en este estudio fueron de 1 día de edad. Las algas usadas durante el estudio fueron: *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis chuii*, *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta*, *Thalassiosira fluviatilis*, *Chlamydomonas coccoides* y *Chaetoceros* sp. La temperatura experimental se mantuvo a 26°C. De acuerdo al proceso de ingestión las siete microalgas fueron clasificadas en dietas de buena y mala ingestión. Además estas microalgas fueron clasificadas en función al proceso de digestión en dietas de buena, regular y mala digestión. Este estudio establece las bases de las cinéticas de ingestión y digestión en larvas de *Strombus gigas*, las cuales son características tanto para la edad de la larva como para el tipo de dieta. Asimismo, los resultados de este trabajo permiten seleccionar la dieta idónea para cada estadio larvario.

**PALABRAS CLAVES:** digestión, ingestión, larva, nutrición, *Strombus gigas*.

## INTRODUCCIÓN

La etapa de desarrollo larvario es un período que comprende del estado post-embriionario a la metamorfosis. Durante esta etapa, las larvas difieren de los organismos adultos, tanto en morfología, fisiología, hábitat como en nutrición. A pesar de los estudios realizados sobre el cultivo de larvas de *Strombus gigas* en el laboratorio (D'Asaro, 1965; Iversen, 1983; Rodríguez Gil, 1986; Davis *et al.*, 1987 y Boidron Metairon, 1988), la información en el aspecto nutricional no ha sido suficiente. A este respecto, algunas generalidades han sido descritas por Sidall (1981), Ballantine y Appeldoorn (1983), Davis y Hesse (1983), Pillsbury (1985), Aldana Aranda y Torrentera (1987), Aldana Aranda y Rodríguez Gil (1987), Aldana Aranda *et al.* (1991), García Santaella (1992) y Aldana Aranda y Patiño Suárez (Aceptado).

Para evaluar las tasas de ingestión y digestión del alimento ingerido por las larvas, se han desarrollado algunos métodos tales como, las tasas de claridad de las partículas del medio (Walne, 1959; Le Roux, 1975; Malouf y Bresse, 1977; Røisgard *et al.*, 1980), métodos enzimáticos (Samain y Boucher, 1974), el uso de

marcadores radiactivos (Walne, 1965; Ukeles y Sweeney, 1969; Conover y Francis, 1973) y la microscopía de epifluorescencia (Babinchak y Ukeles, 1979; Lucas y Rangel, 1981, 1983; Le Pennec y Rangel, 1985). Este último es un método, que a diferencia de los otros, permite el seguimiento de manera rápida y directa de la ingestión, la lisis y la digestión de partículas de alimento (microalgas) ingeridas por la larva velígera. Con el microscopio de epifluorescencia se puede observar el interior del tracto digestivo de la larva, en donde es detectada la fluorescencia natural de la clorofila de las células algales.

Con el propósito de analizar los requerimientos nutricionales de las larvas de *Strombus gigas*, en el presente trabajo se utilizó la microscopía de epifluorescencia, estableciéndose cinéticas de ingestión y digestión de este molusco para las larvas de 1 día de edad.

#### MATERIAL Y MÉTODO

Las masas de huevos fueron colectadas de hembras que se encontraban ovopositando a una profundidad de 10 m, en la localidad de Banco Chinchorro, Península de Yucatán México, situado a 18°47'-18°23' IN y 87°14' E, a 24 Km de la costa Sureste de Quintana Roo, entre Xcalak y Ubero. En el laboratorio, las huevas se colocaron sobre una malla de 500 µm, sumergidas en agua de mar filtrada y esterilizada con luz U.V. y con recambios diarios hasta el momento de la eclosión. Después de la eclosión, las larvas se transfirieron a recipientes de plástico de 4 litros a una densidad de 100 larvas por litro. Para el cultivo de microalgas se utilizó el medio F/2 de Guillard y Ryther (1962). Las especies de microalgas seleccionadas fueron: *Thalassiosira fluviatilis*, *Tetraselmis chuii*, *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis* aff. *galbana*, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlamydomonas coccoides* y *Chaetoceros* sp. Los experimentos de epifluorescencia se realizaron con larvas de 1 día. Los procesos de ingestión y digestión se observaron a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 horas. Para analizar el fenómeno de digestión, la alimentación fue interrumpida después de la segunda hora, transfiriendo las larvas a recipientes de agua de mar filtrada y esterilizada sin alimento. La concentración de alimentación fue de  $2 \times 10^4$  células por mililitro. El período experimental para que las larvas ingirieran las microalgas tuvo una duración de dos horas para cada especie de alga. Durante las ocho horas de duración de este estudio, la temperatura se mantuvo constante a 26°C. Las observaciones de los procesos de ingestión y digestión fueron realizadas bajo el microscopio de epifluorescencia de acuerdo a lo reportado por Aldana Aranda y Patiño Suárez (Aceptado), habiéndose observado un total de 1680 larvas. El microscopio utilizado fue marca Carl Zeiss, tipo Standard K7, equipado con una lámpara de mercurio de alta presión HBO de 50W, un filtro excitador BP 450-490, un filtro divisor cromático FT510 y un filtro supresor LP 520.

### Estados de nutrición

En este estudio se utilizaron los cuatro estados de nutrición establecidos por Babinchak y Ukeles (1979) y Lucas y Rangel (1981), cuyas características son resumidas en el cuadro 1.

### Índices de ingestión y digestión

Se utilizaron los índices de ingestión descritos por Salaün (1987) y el de digestión descrito por Aldana Aranda *et al.* (1991) para determinar el comportamiento alimenticio de las larvas de *Strombus gigas*. Estos se describen a continuación:

Índice de Ingestión, I. I. = No. de larvas en estado 1/No. de larvas observadas

Índice de Digestión, I. D.= No. de larvas en estado 2+3/No. de larvas observadas

## RESULTADOS

### Estados de nutrición

La figura 1 muestra las variaciones de los estados de nutrición con respecto al tiempo, de las larvas de 1 día de edad alimentadas con siete diferentes microalgas.

El estado 1 fue observado a la primera hora con valores entre 67% y 94% para las larvas alimentadas con *D. tertiolecta*, *T. chuii*, *T. suecica*, *C. coccoides* e *I. aff. galbana*. Contrariamente, los lotes de larvas alimentados con *T. fluviatilis* y *Chaetoceros* sp. presentaron solamente valores de 4% y el 7% respectivamente para este estado. A pesar de que las larvas de estos dos lotes experimentales permanecieron en contacto con el alimento durante 6 horas, éstas nunca excedieron su tasa de ingestión a valores superiores al 8%. A la segunda hora *I. aff. galbana* fue la única que presentó un 100% de larvas en estado 1. A la tercera hora las poblaciones alimentadas con *D. tertiolecta*, *T. suecica*, *I. aff. galbana* y *T. chuii* iniciaron el proceso de digestión, observándose el estado 2 con valores de 8%, 9%, 24% y 40% respectivamente. Las larvas alimentadas con *C. coccoides* iniciaron el proceso de digestión hasta la cuarta hora con un 8% de la población en estado 2. A la quinta hora, las larvas alimentadas con *D. tertiolecta*, *C. coccoides*, *I. aff. galbana*, *T. chuii* y *T. suecica* aún mostraron larvas en estado 1 con valores que fluctuaron entre 10% y 47%. Este estado fue observado a la sexta hora en las larvas alimentadas con *T. suecica*, *T. chuii* y *D. tertiolecta* con valores del 2%, 3% y 6% respectivamente y, hasta la séptima hora pero sólo para las larvas alimentadas con *T. suecica* con un valor de 4%. A la octava hora se observaron larvas en estado 2, con valores de 5%, 32%, 33%, 35% y 42% para las larvas alimentadas con *I. aff. galbana*, *T. suecica*, *T. chuii*, *D. tertiolecta* y *C. coccoides* respectivamente. A esta misma hora, el estado 3 registró valores de 41%, 43%, 56%, 30% y 21% para las larvas alimentadas con *I. aff. galbana*, *T. suecica*, *T. chuii*, *D. tertiolecta* y *C. coccoides* respectivamente.

**Cuadro 1.** Escala cualitativa de los cuatro estados de nutrición utilizados para evaluar los resultados del presente estudio de alimentación larvaria.

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 pálida, 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.

**Cuadro 2.** Células algales clasificadas en función de su ingestión, por larvas de *S. gigas* de 1 día de edad.

Ingestión	Alga
Buena	<i>I. aff. galbana</i> <i>T. chuii</i> <i>T. suecica</i> <i>D. tertiolecta</i> <i>C. coccoides</i>
Mala	<i>T. fluviatilis</i> Chaetoceros sp.

**Cuadro 3.** Células algales clasificadas en función de su digestión por larvas de *S. gigas* de 1 día de edad.

Digestión	Alga
Buena	<i>I. aff. galbana</i> <i>T. chuii</i>
Regular	<i>T. suecica</i> <i>D. tertiolecta</i>
Mala	<i>C. coccoides</i>

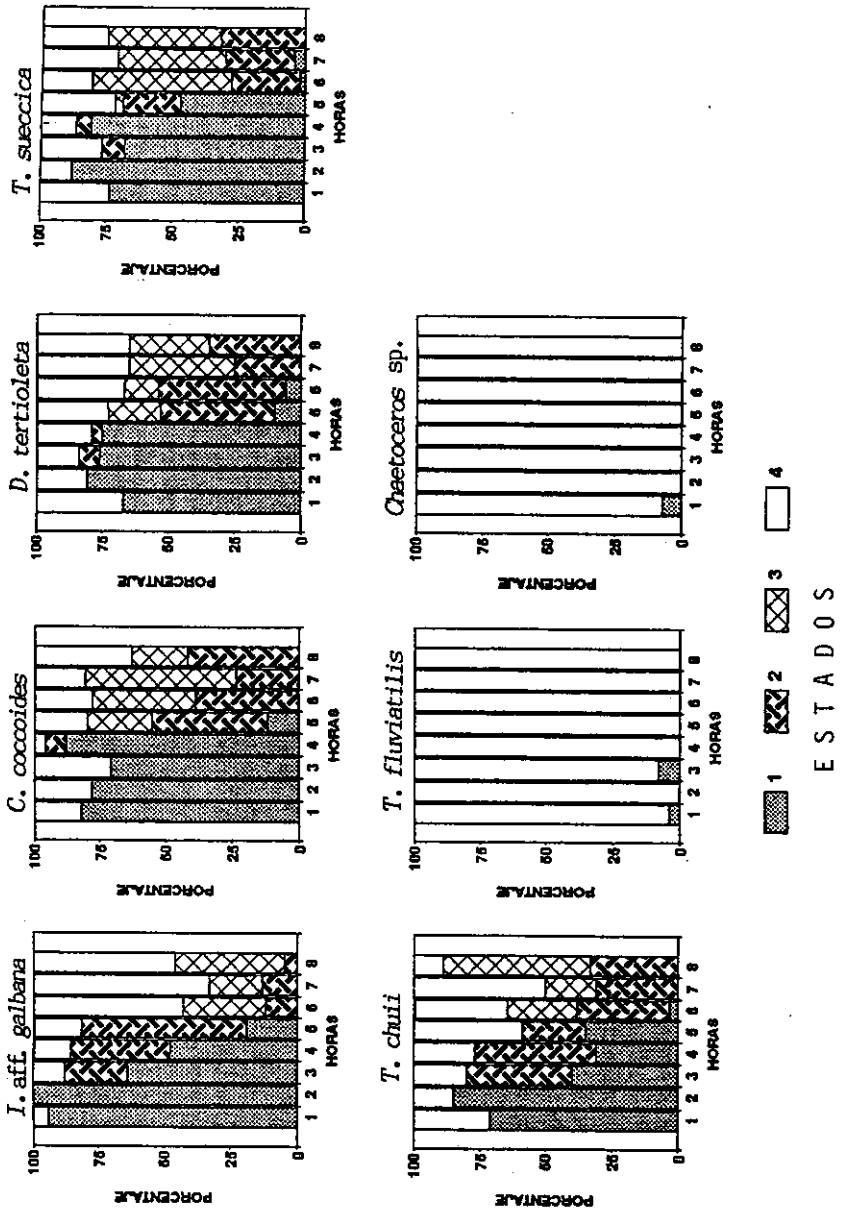


Figura 1. Variaciones de los 4 estados de nutrición con respecto al tiempo, de las larvas de *Strombus gigas* de 1 día de edad para las siete especies de microalgas.

### Indices de nutrición

*Índice de ingestión.* La figura 2 muestra los cambios en el índice de ingestión de las larvas de 1 día de edad alimentadas con siete diferentes microalgas.

Las larvas alimentadas con *Chaetoceros* sp. y *T. fluviatilis* mostraron un índice de ingestión prácticamente de cero. A la primera hora las poblaciones alimentadas con *D. tertiolecta*, *T. chuii*, *T. suecica*, y *C. coccooides* registraron valores entre 0.67 y 0.82 para este índice, mientras que en la alimentada con *I. aff. galbana* se obtuvo un valor de 0.94. A la segunda hora las larvas con *I. aff. galbana* alcanzaron el valor de 1 y en aquéllas alimentadas con *D. tertiolecta*, *T. chuii* y *T. suecica* el valor de este índice se incrementó a 0.81, 0.85 y 0.88, respectivamente. A la quinta hora se observó un descenso en el valor de este índice en todas las poblaciones, registrándose valores de 0.47, 0.35, 0.19, 0.12 y 0.10 para *T. suecica*, *T. chuii*, *I. aff. galbana*, *C. coccooides* y *D. tertiolecta* respectivamente. Todas las poblaciones registraron un valor de cero hasta la séptima hora.

*Índice de digestión.* La figura 3 muestra los cambios en el índice de digestión para las siete poblaciones de larvas de 1 día de edad.

Las poblaciones alimentadas con *D. tertiolecta*, *T. suecica*, *I. aff. galbana* y *T. chuii* comenzaron la digestión a la tercera hora, mostrando valores para este índice de 0.08, 0.09, 0.24 y 0.40 respectivamente. Las larvas alimentadas con *C. coccooides* iniciaron la digestión hasta la cuarta hora, reportando un índice de 0.08. A este tiempo, las poblaciones alimentadas con *I. aff. galbana* y *T. chuii* registraron valores de 0.38 y 0.46, mientras que las alimentadas con *D. tertiolecta* y *T. suecica* de 0.04 y 0.06, respectivamente. A la sexta hora el índice de digestión para las poblaciones alimentadas con *T. suecica*, *C. coccooides*, *D. tertiolecta*, *T. chuii* y *I. aff. galbana* fue de 0.79, 0.77, 0.61, 0.62 y 0.43 respectivamente. A la octava hora no se observó digestión completa en ninguna de las poblaciones estudiadas y los valores para este índice fueron entre 0.89 y 0.46.

### DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos las siete microalgas estudiadas fueron clasificadas en función al proceso de ingestión presentado por las larvas de *S. gigas* en dos grupos cualitativos: microalgas que presentan una buena ingestión y microalgas que presentan poco o ningún grado de ingestión, denominadas estas últimas como de mala ingestión (Cuadros 2). Siguiendo el mismo razonamiento, las microalgas estudiadas también fueron clasificadas en función al grado de su digestión en tres grupos: microalgas que son digeridas, microalgas de regular digestión y microalgas que no son digeridas, denominándolas como de buena, regular y mala digestión respectivamente. El

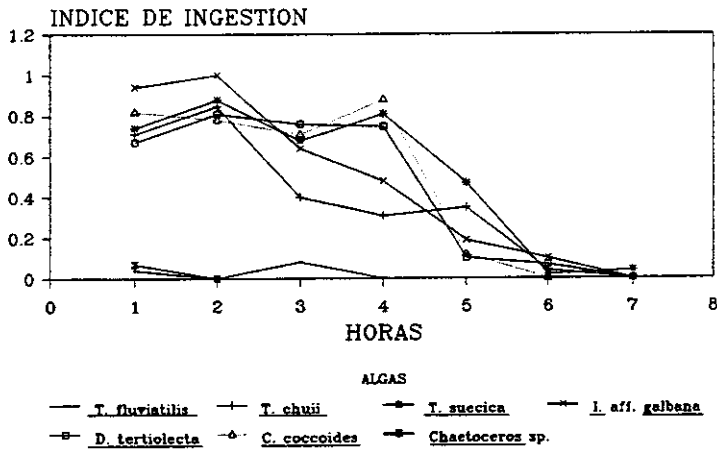


Figura 2. Cambios en el índice de ingestión con respecto al tiempo, de las larvas de *Strombus gigas* de 1 día de edad alimentadas con siete especies de microalgas.

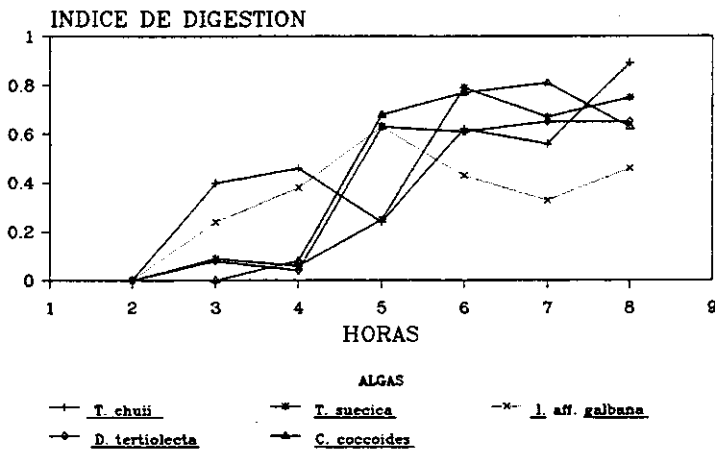


Figura 3. Cambios en el índice de digestión con respecto al tiempo, de las larvas de *Strombus gigas* de 1 día de edad alimentadas con siete especies de microalgas.

cuadro 3 resume el comportamiento y la evolución de la digestibilidad de cada microalga por las larvas de este molusco.

*I. aff. galbana*, *T. chuii*, *T. suecica*, *D. tertiolecta* y *C. coccoides* fueron ingeridas con una buena aceptación (Figura 1). Por el contrario, *T. fluviatilis* y *Chaetoceros* sp. son microalgas que no fueron ingeridas por estas larvas (Figura 1). Aún cuando *I. aff. galbana*, *T. chuii*, *T. suecica*, *D. tertiolecta* y *C. coccoides* son microalgas que fueron clasificadas como de "buena ingestión", cabe señalar que *I. aff. galbana* y *T. chuii* son dietas que mostraron un índice de ingestión con valores ligeramente mayores que *T. suecica*, *D. tertiolecta* y *C. coccoides* (Figura 2).

*T. chuii* e *I. aff. galbana* fueron las dietas que desencadenaron el proceso de digestión más rápidamente entre la segunda y la cuarta horas, siendo inclusive *T. chuii* la que realizó este proceso ligeramente más rápido que *I. aff. galbana* (Figura 3). Estas observaciones se encuentran de acuerdo a lo que señalan Aldana Aranda y colaboradores (1991).

Como se ha observado, en este estudio las larvas de *S. gigas* mostraron una baja ingestibilidad y digestibilidad para las microalgas *T. fluviatilis* y *Chaetoceros* sp. Si bien se ha visto que el tamaño de las células algales juegan un papel importante en la nutrición de los moluscos (Fretter, V. y Montgomery, M., 1968), también ha sido reportado que el valor nutritivo de una alga está en función de su digestibilidad, particularmente de la pared celular, del balance del contenido nutritivo y de la no producción de toxinas por las células algales (Lucas, 1990). *T. fluviatilis* posee una longitud promedio de 30  $\mu\text{m}$  y *Chaetoceros* sp. presenta la particularidad de formar cadenas de una longitud promedio de aproximadamente 40  $\mu\text{m}$ , además son microalgas que pertenecen a la familia de las diatomeas teniendo como característica particular la presencia de pared celular o fustela que contiene formas hidratadas de dióxido de silicón y ácido péptico (Coll Morales, 1982). Las características anteriores ponen en evidencia el hecho de que tanto *T. fluviatilis* como *Chaetoceros* sp. no son dietas idóneas para los primeros días de vida larvaria de *S. gigas*.

De estos resultados se observa que las larvas de *Strombus gigas* poseen perfiles de ingestibilidad y digestibilidad que son específicos para cada especie algal y para la edad larvaria.

#### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado con el apoyo financiero de los proyectos CI1\*0432ME(JR) de la Comunidad Económica Europea, P65000ME de la CST Embajada de Francia y P218CCOC882530 del CONACyT. Asimismo, se agradece el apoyo de la Secretaría de Pesca, a través de las Delegaciones de Quintana Roo, Yucatán y a los pescadores de la Cooperativa de Banco Chinchorro. También se extiende este agradecimiento al Ing. Manuel Sánchez, al Ing. Olaf. Domínguez y a la Química Luisa Zaldivar por su apoyo técnico.



LITERATURA CITADA

- Aldana Aranda, D. and 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.
- Aldana Aranda, D. and L. Torrentera Blanco. 1987. Croissance larvaire de *Strombus gigas* (Mollusque: Gasteropode) en fonction de la nourriture et de la température. *Haliotis* 16: 403-411.
- Aldana Aranda, D.; A. Lucas, T. Brulé, M. Andrade, E. García, N. Maginot and M. Le Pennec. 1991. Observations on ingestion and digestion of unicellular algae by *Strombus gigas* larvae (Mollusca, Gastropoda) using epifluorescence microscopy. *Aquaculture* 92: 359-366.
- Aldana Aranda, D. y M. V. Patiño Suárez. Ingestion and digestion of eight unicellular algae by *Strombus gigas* larvae (Mollusca gastropode) studied by epifluorescence microscope. *Aquaculture*, (Aceptado).
- Babinchak, J. and R. Ukeles. 1979. Epifluorescence microscopy, a technique for the study of feeding in *Crassostrea virginica* veliger larvae. *Mar. Biol.* 51: 69-76.
- Ballantine, D.L. and Appeldoorn, R.S. 1983. Queen conch culture and future prospects in Puerto Rico. *Gulf Carib. Fish. Inst.*, 35: 73-82.
- Boidron Metairon, I. 1992. A new approach to comparative studies of *Strombus gigas* larvae at the developmental and nutritional levels. *Gulf Carib. Fish. Inst.*, 41: 459-467.
- Coll Morales, J. 1982. Acuicultura Marina Animal. Mundi Prensa, Madrid, 669 pp.
- Conover, R.J. and V. Francis 1973. The use of radioactive isotopes to measure the transfer of materials in aquatic food chains. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 18: 272-283.
- D'asaro, N.C. 1965. Organogenesis, development and metamorphosis in queen conch, *Strombus gigas*, with notes on breeding habits. *Bulletin of Marine Science*, 15(2): 359-415.
- Davis, M.; C. Hesse and G.T. Hodgkins. 1987. Commercial hatchery produced queen conch, *Strombus gigas*, seed for the research and grow-out market. *Gulf Carib. Fish. Inst.*, 37:1-16.
- Davis, M. and R. C. Hesse. 1983. Third world level mariculture in the Turks and Caicos Islands. *Gulf Carib. Fish. Inst.*, 37: 73-82.
- Fretter, V. and M. C. Montgomery. 1968. The treatment of food by prosobranch veligers. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 48: 499-520.
- García Santaella, E. 1992. Efecto de la dieta y la ración sobre el crecimiento y desarrollo de las larvas de *Strombus gigas* (Linné, 1756) hasta su asentamiento. Tesis presentada para recibir el grado de M.en C. CINCESTAV, Mérida, Yucatán, 115 pp.

- Guillard, R.R.L. and J. H. Ryther. 1962. Studies on marine planktonic diatoms. *I. Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve). *Can. J. Microbiol.*, **8**: 229-239.
- Iversen, E. S. 1983. Feasibility of increasing Bahamian conch production by mariculture. *Gulf Carib. Fish. Inst.*, **35**: 83-88.
- Lucas, A. 1990. Feeding and digestion in bivalve larvae. In: *Proc. of Memorial Symposium in Honor of Sir Charles Maurice Yonge*. Brian Morton (Ed) Hong Kong, 173-190.
- Lucas, A. and C. Rangel Davalos. 1981. Vitesse d'ingestion et de digestion phytoplancton observées au microscope à épifluorescence chez les larves de *Mytilus edulis* (L.) (Bivalvia, Mollusca). *Haliotis*, **11**: 171-180.
- Lucas, A. and C. Rangel Davalos. 1983. Detection of the first larval feeding in *Crassostrea gigas*, using the epifluorescence microscope. *Aquaculture*, **30**: 369-374.
- Le Pennec, M. and C. Rangel Davalos. 1985. Observations en microscopie à épifluorescence de l'ingestion et de la digestion d'algues monocellulaires chez les jeunes larves de *Pecten maximus* (Pectinidae, Bivalvia). *Aquaculture*, **47**: 39-51.
- Le Roux, S. 1975. Valeur comparée de diverses algues monocellulaires pour l'alimentation des larves de *Mytilus edulis* (L.) en élevages expérimentaux. Thèse de Doctorat, Université de Brest, 103 pp.
- Malouf, R.E. and W.P. Breese. 1977. Food consumption and growth of larvae of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in a constant flow rearing system. *Proc. Natl. Shellfish. Assoc.*, **67**: 10pp.
- Pillsbury, K.S. 1985. The relative food value and biochemical composition of five phytoplankton diets for quen conch, *Strombus gigas* (Linne) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **90**: 221-231.
- Riisgard, H.U., A. Randlov and P.S. Kristensen. 1980. Rates of water processing, oxygen consumption and efficiency of particles retention in veligers and young post-metamorphic *Mytilus edulis*. *Ophelia*, **19**(1): 37-47.
- Rodríguez Gil, L. 1986. Desarrollo embrionario y metamorfosis del caracol rosado *Strombus gigas* (Linnaeus). Tesis presentada para recibir el grado de M.en C. CINCESTAV, Mérida, Yucatán, 48 pp.
- Salaön, M. 1987. Influence des facteurs du milieu sur la nutrition des larves de bivalves en Baie de St-Brieuc. *Haliotis*, **16**: 209-220.
- Samain, J.F. and J. Boucher. 1974. Dosage automatique et simultané de l'amylase et de protéines de zooplancton. *Ann. Inst. Océanogr. Paris*, **50**: 199-205.

- Siddall, S.E. 1981. Larviculture. In: *Proc. 1st Queen Conch Fish. and Maric. Meet.*, berg C.J., Jr (Ed). The Wallace Groves Aquaculture Foundation, Freeport, Bahamas, pp 13-23.
- Ukeles, R. and B. Sweeney. 1969. Influence of dinoflagellate trichocysts and other factor of the feeding of *Crassostrea virginica* larvae on *Monochrysis lutheri*. *Limnol. Oceanogr.*, 14(3): 403-410.
- Walne, P.R. 1959. Some observations on the feeding behaviour of oyster (*Ostrea edulis*) larvae and their relation to rearing problems. *Proc. 15th Inst. Congr. Zool.*, London, 234-236.
- Walne, P.R. 1965. Observations on the influence of food supply and temperature on the feeding and growth of the larvae of *Ostrea edulis* L. *Fish Invest.* London, Ser. II 24(1): 1-43.