Efecto de la Acidificación Oceánica y la Temperatura en el Desarrollo Larval y Calcificación del Caracol Rosa, *Strombus gigas*

The Effect of Ocean Acidification and Temperature on Larval Development and Calcification of the Queen Conch *Strombus gigas*

Effeet de la Acidification et de la Temperature dans le Developement Larvaire et Calcification du Lambi, *Strombus gigas*

DALILA ALDANA ARANDA*, JOSÉ FRANCISCO CHÁVEZ VILLEGAS,
GEONEL RODRIGUEZ GATORRO y MARTHA ENRIQUEZ DÍAZ
*Laboratorio de Conservació, Biología y Cultivo de Moluscos del CINVESTAV IPN Unidad Mérida, Km. 6 Antigua carretera a Progreso, Mérida Yucatán. Mexico. *daldana@cinvestav.mx*

RESUMEN

Se estima un incremento de temperatura para 2100 de 1.1 a 6.4 °C (IPCC 2007) y una concentración atmosférica CO2 que puede llegar a 800 ppm (pH 7.6) al final de este siglo (Byrne et al. 2013). El incremento de temperatura y acidificación de los océanos afectará a muchos organismos marinos en su proceso de calcificación en particular a los moluscos. En este trabajo se evaluó el efecto de la temperatura y acidificación en el crecimiento, sobrevivencia y calcificación larval de *Strombus gigas* a pH 7.6 y 31oC vs 28.0 y pH 8.1. El crecimiento y sobrevivencia se evaluó cada 2 días y para la calcificación, el porcentaje de Calcio y Aragonite se determinó por microscopio electrónico EDX y Raman. A 31°C y pH 7.6 el crecimiento fue mayor pero no la tasa de sobrevivencia. El porcentaje de Calcio fue mayor a 28°C y pH 8.1 (37.29 ± 16.81%) lo mismo que la intensidad de Aragonita (1039.54 ± 780.26 a.u.), siendo menor en las larvas cultivadas a pH 7.6 and 31°C.

PALABRAS CLAVES: Acidificación Oceánica, calcificación, skeletogenesis, moluscos, *Strombus,* Caribe

INTRODUCCIÓN

El incremento en las emisiones de CO_2 durante el último siglo, ha producido cambios en los océanos, produciendo aumento de la temperatura y disminución del pH. Chollett et al. (2012) reportan para el Caribe un aumento de 1.41°C para el último siglo, alcanzando una temperatura media de 28 °C. Magaña Rueda et al. (2009) sugieren que la temperatura en esta región podría ascender hasta los 31°C hacia el año 2100 y la acidificación podría descender de 8.1 a 7.6 hacia para 2100 (Caldeira y Wickett 2003). Gledhill (2008), señalaque la presión parcial de CO_2 en el Caribe ha aumentado 2.2 $\mu atm \cdot año^{-1}$durante el último siglo, produciendo una disminución de 0.05 unidades de pH. Estos cambios afectan la dinámica de las poblaciones y el metabolismos de los organismos especialmente a los organismos calcificadores, donde las fases larvales son más susceptibles (Sale, 2010).

Strombus gigas (*Linnaeus*, 1758) es un organismo con distribución metapoblacional en el Caribe, cuyo periodo larval ha sido bien estudiadoc on fines acuícolas (28 - 29°C), pero no se conoce el efecto del incremento de temperatura y disminución del pH en su desarrollo larval y su calcificación. El objetivo deeste trabajo es cuantificar el efecto del incremento de la temperatura y la acidificación en el crecimiento y calcificación de la fase larval de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo Larval

Se colectó un segmento de masa ovígera de *S. gigas* recién desovada en Quintana Roo (20°19'00"N - 87°21'25" W). La incubación de embriones y el cultivo larval se realizaron a 28 °C y pH 8.1 como control y 31 °C, pH 7.6, por triplicado. Los niveles de temperatura y pH utilizados se establecieron de acuerdo a las condiciones actuales y las proyecciones al 2100 para la región Norte del Caribe Mexicano. La temperatura se controló utilizando calentadores para acuarios y el pH de los tratamientos se reguló por burbujeo de CO_2 cada 4 h. Temperatura y pH se monitorearon con un potenciómetro OaktonMod. pH 5+.

En cada unidad de cultivo se colocaron 100 huevos, registrándose el tiempo a la eclosión (h) para cada tratamiento. La alimentación se realizó cada 24 h, suministrando una mezcla de *Nannochloropsis oculata e Isochrysis galbana*, a una concentración de 1 000 cel/ml por unidad de cultivo. Cada 3 días se efectuó un recambio total de agua de mar filtrada, por filtros de polipropileno (5 µm) y esterilizada con UV. Se utilizaron mallas de 180 µm para la retención de las larvas.

Eclosión, Crecimiento y Mortalidad

Se registró el tiempo inicial y final de eclosión para cada tratamiento, contabilizando el número de huevos no eclosionados. El crecimiento y mortalidad fueron determinadas en 30 larvas para los días 0, 10, 20 y 30 días. Se midió la longitud sifonal (µm) de la concha utilizando el software Leica LAS Interactive Measurements (resolución 10x). La mortalidad fue calculada a partir de las conchas vacías obtenidas durante los recambios de agua

$$(\%\ de\ mortalidad = \frac{N°\ de\ conchas\ vacías}{N°\ inicial\ de\ larvas} * 100)$$

Calcificación

Se determinó la proporción en peso de Calcio (% *wt*) para larvas de 30 días, en tres larvas por tratamiento. Por formarse la teleoconchaa esta edad de acuerdo con Enriquez-Díaz, et al. (2015), utilizando un microscopio electrónico de barrido y espectroscopia de energía dispersiva (EDX, Philips ESEM-XL30). La medición se hizo en cuatro zonas de la concha siguiendo la longitud sifonal. Para la identificación y cuantificación de Aragonita y Calcita se utilizó un microscopio RAMAN (WitecAlpha 300, Láser 488 nm), empleando las distanciasRaman (cm^{-1}) propuestas por Nehrke et al. (2012), para Aragonita (206, 705 y 1 085/cm) y para Calcita (282, 711 y 1 085/cm). La intensidad Raman se calculó con el software OriginPro 8, en unidades arbitrarias. Se realizaron análisis de Kruskal-Wallis para eclosión, crecimiento, mortalidad y calcificación (EDX) entre tratamientos de temperatura y pH.

RESULTADOS

Eclosión

Se presentó a partir del día cinco de incubación, iniciando en larvas de 31°C, 110 h posteriores al desove y 118 h a 28°C. La duración de la eclosión fue de 18 h para 31°C y de 30 h para 28°C (Tabla 1). La tasa de eclosión fue de 90%, sin variación significativa en la proporción de larvas eclosionadas entre tratamientos ($H_{(g.l.\ 3)} = 6.38$, $p_{(\alpha 0.05)} = 0.0943$), pero si en el tiempo de eclosión ($H_{(g.l.\ 3)} = 8.31$, $p_{(\alpha 0.05)} < 0.0001$).

Crecimiento

Las larvas presentaron tallas de 230 ± 4.12 µm a 313.27±11.34 µm durante la eclosión. Se registró un crecimiento similar entre el control y los tratamientos hacia el día 10 (L.S. = ~650 µm), alcanzando tallas a la metamorfosis de 903 ± 80.92 en 31°C y pH 7.6 y de 776.07 ± 57.68 µm a 28°C y pH 8.1) (Tabla 1). El análisis de Kruskal-Wallis mostró variación significativa en el crecimiento entre tratamientos ($H_{(g.l.\ 3)} = 26.19$, $p_{(\alpha 0.05)} < 0.0001$).

Mortalidad

El mayor porcentaje de mortalidad acumulada fue en los tratamientos de 31°C y pH 7.6 = 49.06 ± 6.69% y de 34.92 ± 11.23% a 28°C y pH 8.1. La mortalidad mostró variación significativa entre tratamientos (Tabla 1).

Calcificación

La proporción de Calcio (% wt) fue mayor en el control con 41.94 ± 11.31% wt en 28°C y pH 8.1 (Tabla 1) y menor en 31°C y pH 7.6 con 38.17 ± 3.97% wt, sin variación significativa entre tratamientos.

Raman

Se detectaron tres picos para Aragonita (206, 705 y 1 085/cm) y Calcita (282, 711 y 1 085/cm). El pico de mayor intensidad se presentó a 28°C y pH 8.1 = 1039 ± 780 a.u. y el de menor intensidad en pH 7.6 y 31°C = 534 ± 180 a.u. (Tabla 1). Las condiciones de acidificación produjeron un decremento de 50% de Aragonita en la concha de las larvas.

DISCUSIÓN

El calentamiento y acidificación del océano tiene efectos en organismos calcificadores (Gazeau et al. 2010), donde las larvas son empleadas como indicadores (Sale, 2010; Talmage y Gobler, 2009, Ushakova 2003). Los estudios de cambio climático se han desarrollado con especies de aguas frías a templadas (Gazeau et al. 2010). Parker et al. (2010), con *Saccostrea glomerata* y *C. gigas* observan 100% de larva D en condiciones de 26 °C - pH 8.2 y menor proporción de eclosión a 18°C - pH 7.8: C. Gazeau et al. (2011) observan menor porcentaje de eclosión para embriones de *C. gigas* al disminuir el pH de 8.03 a 7.41 (de 95 a 20 %). En el caso de *S. gigas*, la tasa de eclosión no se vio influenciada por la disminución del pH.

El incremento de la temperatura y la disminución del pH tienen un efecto negativo en las tasas de mortalidad larval de moluscos. Aldana Aranda et al. (1989) registraron mortalidades de 83 a 90% para S. costatus ante incrementos de temperatura (de 24 a 28 °C, respectivamente). Gazeau et al. (2011) observaron en *C. gigas*, que la mortalidad aumenta de 20 a 90% al reducirse el pH de 8.1 a 7.6. En este estudio la mayor mortalidad se presentó a 31 ° C y pH 7.6. Por lo que respecta a la calcificación, la acidificación reduce la tasa de incorporación de calcio en sus concha (Talmage y Gobler 2009). Gazeau et al. (2011), observaron que la tasa de calcificación en larvas de C. gigas disminuye de 72 a 30% al disminuir el pH de 8.1 a 7.4. En este trabajo la proporción de calcio no mostró variación en las condiciones experimentales pero si la proporción de Aragonita que es la forma de carbonato que van a presentar las larvas al final de ésta. Auzoux-Bordenave et al. (2010) en moluscos señalan que la protoconcha se compone por aragonita y trazas de carbonato amorfo, mientras que la teleoconcha por calcita. En este estudio, las conchas de las larvas de 30 días (premetamórficas) de todos los tratamientos, presentaron aragonita,

Tabla 1. Efecto de la acidificación y temperatura en larvas del Caracol rosa *Strombus gigas* cultivadas 28°C y pH 8.1 y 31°C y pH 7.6 a la metamorfosis con una edad de 30 días.

Condiciones experimentales	28°C y pH 8.1	31°C y pH 7.6
Porcentaje de eclosión	90.15 ± 4.04	89.06 ± 3.64
Talla larval a la metamorfosis, 30 días de edad	776.07 ± 57.68 µm	903.77 ± 80.92 µm
Porcentaje de tasa de sobrevivencia	49.09 ± 6.69	34.92 ± 11.23
Pocentaje de Calcio en la concha larval a la metamorfosis (30 días de edad)	41.94 ± 11.31	38.17 ± 3.97
Aragonita en larvas de 30 días a la metamorfosis en unidades arbitrarias	1039.54 ± 780.26	534.04 ± 180.12

AGRADECIMIENTOS

Proyecto El caracol rosa como indicador de Cambio climático en el Caribe: Calentamiento y Acidificación Oceánica: CB-2011-01/181329, del Conacyt. Ana Ruth Cristóbal Ramos y José Bante Guerra por su apoyo técnico en la obtención de datos mediante EDX y Microscopía RAMAN.

LITERATURA CITADA

Aldana Aranda, D., A. Lucas, T. Brule, E. Salguero, E. y F. Rendon. 1989. Effects of temperature, algal food, feeding rate and density on the larval growth of the milk conch (*Strombus costatus*) in Mexico. *Aquaculture* **76**(3):361-371. http://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90087-2.

Auzoux-Bordenave, S., A. Badou, B. Gaume, S. Berland, M-N. Helléouet, C. Milet y S. Huchette. 2010. Ultrastructure, chemistry and mineralogy of the growing shell of the European abalone *Haliotis tuberculata*. *Journal of Structural Biology* **171**(3):277-290. http://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.05.012.

Caldeira, K. y M.E. Wickett. 2003. Oceanography: Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* **425**(6956):365-365. http://doi.org/10.1038/425365a.

Chollett, I., P.J. Mumby, F.E. Müller-Karger y C. Hu. 2012. Physical environments of the Caribbean Sea. *Limnology and Oceanography* **57**(4):1233-1244. http://doi.org/10.4319/lo.2012.57.4.1233.

Enriquez-Diaz, M.R., J.M. Volland, J.F. Chavez-Villegas, D. Aldana-Aranda y O. Gros. 2015. Development of the planktotrophic veligers and plantigrades of *Strombus pugilis* (Gastropoda). *Journal of Molluscan Studies* **81**(3):335-344. http://doi.org/10.1093/mollus/eyv011.

Gazeau, F., J.P. Gattuso, C. Dawber, A.E. Pronker, F. Peene, J. Peene, et al. 2010. Effect of ocean acidification on the early life stages of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Biogeosciences* **7**(7):2051-2060. http://doi.org/10.5194/bg-7-2051-2010.

Gazeau, F., J.P. Gattuso, M. Greaves, H. Elderfield, J. Peene, H.C.R. Heip y J.J. Middelburg. 2011. Effect of Carbonate Chemistry Alteration on the Early Embryonic Development of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *PLOS One* **6**(8),e23010. http://doi.org/10.1371/journal.pone.0023010.

Gledhill, D.K., R. Wanninkhof, F.J. Millero y M. Eakin. 2008. Ocean acidification of the Greater Caribbean Region 1996–2006. *Journal of Geophysical Research: Oceans* **113**(C10):C10031. http://doi.org/10.1029/2007JC004629.

Magaña Rueda, V., B. Graizbord, J. Buenfil Friedman y L. Gómez Mendoza. 2009. Capítulo 6 Escenarios de cambio climático y tendencias en la zona del Golfo de México. In *Adaptación a los impactos del cambio climático en los humedales costeros del Golfo de México* (Primera, Vol. 2, pp. 569–673). México D.F.: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales / Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT). http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/610/cap6.pdf.

Parker, L.M., P.M. Ross y W.A. O'Connor. 2010. Comparing the effect of elevated pCO_2 and temperature on the fertilization and early development of two species of oysters. *Marine Biology* **157** (11):2435-2452. http://doi.org/10.1007/s00227-010-1508-3.

Sale, P.F. 2010. Conservando la Conectividad de los Arrecifes: Guía Para los Administradores de las Áreas Marinas Protegidas. In *Programa de Investigación Dirigido a los Arrecifes de Coral y a la Creación de Capacidades para la Gestión, UNU-INWEH* (Vol. 1). Melbourne, Australia: Currie Comunicaciones. http://ccres.net/images/uploads/publications/2/crtr_connectivityhandbook_web_spanish.pdf.

Talmage, S.C. y C.J. Gobler. 2009. The effects of elevated carbon dioxide concentrations on the metamorphosis, size, and survival of larval hard clams (*Mercenaria mercenaria*), bay scallops (*Argopecten irradians*), and Eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *Limnology and Oceanography* **54**(6):2072-2080. http://doi.org/10.4319/lo.2009.54.6.2072.

Ushakova, O.O. 2003. Combined effect of salinity and temperature on *Spirorbis spirorbis* L. and *Circeus spirillum* L. larvae from the White Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **296**(1):23-33.