

Evaluación de *Ulvela lens*, algas coralinas y diatomea *Navicula incerta* como inductores de fijación para las larvas de *Haliotis tuberculata coccinea* (Reeve)

G. Courtois de Vico, M.P. Viera, A. Bilbao, H. Fernández-Palacios y M.S. Izquierdo

Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA, IUSA & ICCM)) P.O. Box 56. 35200 Telde, Las Palmas, Islas Canarias, España. e-mail: gtricor@hotmail.com

Resumen

Se evaluó la eficacia de cuatro tipos de sustratos: algas coralinas, *Navicula incerta*, *Ulvela lens* ó una mezcla de las dos últimas, como promotores del asentamiento y metamorfosis de larvas de la oreja de mar. La eficacia de fijación larvaria varió significativamente entre tratamientos, siendo el más alto el obtenido con las algas coralinas con un porcentaje de fijación de un 34% seguido de *U. lens* con 22%. Dicha tasa descendió cuando éste alga se utilizó como sustrato junto con *N. incerta*, pero fue mayor que la obtenida con la diatomea como único sustrato. Estos resultados muestran que las placas envejecidas con algas coralinas o *U. lens* son adecuadas para el asentamiento de las post-larvas de *H. tuberculata coccinea*. Considerando la mayor facilidad de manejo de *U. lens* con respecto a las algas coralinas, el envejecimiento de las placas de asentamiento con *U. lens*, podría considerarse el método más adecuado para el cultivo masivo de post-larvas de *H. tuberculata coccinea*.

Abstract

Evaluation of *Ulvela lens*, coralline algae, and *Navicula incerta* diatom as larval settlement inducers for *Haliotis tuberculata coccinea*.

Settlement and metamorphosis of *H. tuberculata coccinea* larvae were examined in the presence of four inductive settlement cues, coralline algae, *N. incerta*, *U. lens* and *U. lens* + *N. incerta*. Larval settlement success differed significantly with substrate type, being the highest for the coralline algae, followed by a settlement of up to 22% on *U. lens*. Settlement was reduced on *U. lens* inoculated with the diatom *N. incerta* but was significantly higher than on films of the diatom alone. We suggest that plates seeded with coralline algae and *U. lens* will provide a reasonable settlement of *H. tuberculata coccinea* post-larvae. Seeding of plates with *U. lens*, due to the easiness of its manipulation compare to coralline algae, could be considered a convenient methodology for the rearing of *H. tuberculata coccinea* in mass culture systems.

Introducción

La especie de oreja de mar presente en Canarias, *H. tuberculata coccinea*, explotada tradicionalmente a nivel local, se considera actualmente como una especie amenazada. La sobrepesca mundial de bancos naturales de abalones y la alta demanda del producto, ha propiciado el desarrollo industrial del cultivo de este gasterópodo. La etapa de cultivo larvario se realiza comúnmente con un 90% o más de supervivencia. Por el contrario, la de fijación y metamorfosis, se destaca como la fase más crítica del cultivo, con una mortalidad que asciende usualmente a un 90-99% durante este período. Los estudios existentes sobre técnicas de inducción a la fijación larval (Morse, *et al.*, 1979b; Seki y Kan-no, 1981; Morse y Morse 1984; Searcy-Bernal, *et al.*, 1992; Roberts, 2001) indican que las larvas preparadas para la metamorfosis, tienen necesidad de encontrar y entrar en contacto con estímulos de fijación. De forma general, se han utilizado diatomeas bentónicas o biofilms naturales como sustratos, tanto para inducir al asentamiento como para alimentar a las postlarvas (Seki, 1980; Seki y Kan-no, 1981; Hahn, 1989; Takami *et al.*, 1997; Daume *et al.*, 2000). Sin embargo los estímulos necesarios para la fijación y el crecimiento larvario proporcionado por dichos sustratos resulta ineficiente (Kawamura y Takami, 1995; Buchal, *et al.*, 1998; Bernal, *et al.*, 2000; Daume,

et al., 2000). Así mismo, se ha observado que tanto el mucus de juveniles o adultos, como algunas sustancias encontradas en algas incrustantes coralinas, tales como el ácido gamma-aminobutírico (GABA), inducen de manera efectiva el asentamiento y la metamorfosis larval (Morse, *et al.*, 1979a; Seki y Kan-no, 1981; Slattery, 1992; Searcy Bernal *et al.*, 1992; Seki y Taniguchi, 1996; Seki 1997; Takami *et al.*, 1997; Bryan y Qian, 1998; Searcy-Bernal y Anguiano-Beltran, 1998; Daume *et al.*, 1999). En Japón, los criaderos cultivan *U. lens* para mejorar la fijación y alimentar a los juveniles de *H. discus hannai* (Takahashi y Koganezawa, 1988). Considerando la importancia del abalón en el desarrollo de la acuicultura actual y futura, es interesante desarrollar técnicas de cultivo de la especie presente en Canarias. Por eso, con el fin de mejorar la tasa de asentamiento y metamorfosis de las larvas, un paso clave para el desarrollo y la estandarización de la tecnología de producción a gran escala, se realizó el presente estudio de comparación la eficiencia de varios sustratos, en relación a los porcentajes de fijación de las larvas en el momento crítico de la metamorfosis.

Material y métodos

Los reproductores de *H. tuberculata coccinea* fueron inducidos a la puesta utilizando peróxido de hidrógeno (Morse, *et al.*, 1977). Todas las larvas empleadas en el experimento provenían de un mismo lote y se consideraron competentes para la fijación a partir de la observación del desarrollo del tercer túbulo cefálico (Hahn, 1989). Durante el experimento se comparó la eficacia de inducción a la fijación larvaria de 4 tipos de sustratos diferentes y de un control negativo de placas sin colonizar, mediante 3 réplicas de 4 placas de fijación por tratamiento. Las placas de fijación, de 25cm² de metacrílate fueron colocadas en posición vertical en tanques de 10L de agua filtrada a 1 mm. Las placas fueron colonizadas por algas coralinas o *U. lens* o *N. incerta*, o *U. lens* + *N. incerta*. Las esporas de *U. lens* se obtuvieron según el método de Takahashi y Koganezawa (1988). En cada tanque de 10L, se sembraron 2000 larvas competentes para la fijación de 72h de vida, a una temperatura de agua de 19±0.5 °C. Durante todo el experimento, los tanques se mantuvieron a temperatura ambiente bajo iluminación continua. Los tanques se mantuvieron sin flujo durante las primeras 24 horas y después se introdujo un flujo de 80 ml/min en cada tanque. Las larvas se contabilizaron bajo una lupa binocular a las 48 horas, después de ser introducidas en los tanques experimentales. Se consideraron fijadas aquellas larvas que habían perdido el velo, y que presentaron crecimiento de la concha, señal de metamorfosis. Los datos de número de larvas se transformaron para obtener datos normalizados para poder realizar una ANOVA de una vía y aplicar el test de Tukey de comparación múltiple de medias para analizar los datos. Se consideraron datos estadísticamente diferentes cuando $P < 0.05$.

Resultados

El porcentaje medio de fijación a las 48h para algas coralinas fue de un 34%, significativamente mayor ($P < 0.001$) que el obtenido con *N. incerta* con un valor de 0.9% (Tabla I). No hubo diferencia significativa entre los porcentajes de fijación obtenidos para la diatomea *N. incerta* y el control negativo ($P > 0.05$). Todos los tratamientos, excepto el de la *N. incerta*, fueron significativamente diferentes del control ($P < 0.001$). Todas las comparaciones entre los cuatro tratamientos presentaron una alta diferencia significativa ($P < 0.001$) así como en el caso de la comparación entre *U. lens* y las algas coralinas ($P < 0.05$). La eficacia de *U. lens* como inductor de fijación fue significativamente diferente ($P < 0.001$) según si había sido inoculada o no con *N. incerta*.

Tabla I: Porcentaje de fijación de post-larvas de *Haliotis tuberculata coccinea*, en respuesta a cuatro sustratos de inducción a la fijación, a las 48h después de su introducción a tanques de fijación (media±S.D.)

Tratamiento	% de Fijación a las 48h
<i>Ulvela lens</i>	22.13 ± 4.10
Control	0.42 ± 0.16
Algas Coralinas	34.35 ± 9.47
<i>Ulvela+Navicula incerta</i>	9.73 ± 1.48
<i>Navicula incerta</i>	0.90 ± 0.13

Discusión

Sabiendo que los factores que influyen en la fijación larvaria pueden tener impacto a largo plazo sobre la supervivencia de los juveniles y su desarrollo (Slattery, 1992) y frente a la inexistencia de estudios sobre la fijación larvaria del abalón Europeo *H. tuberculata*, se realizó el presente estudio, comparando la capacidad de inducción a la fijación larvaria de varios sustratos utilizados para otras especies de abalones, con el fin de determinar su idoneidad para el cultivo de *H. tuberculata coccinea*. En este estudio

larvas de *H. tuberculata coccinea* no respondieron al biofilm de *Navicula incerta*, lo que se corrobora con lo encontrado por Daume *et al.* (2000), que utilizando otras especies de *Navicula* no llegaron a inducir a larvas *H. rubra* de forma satisfactoria. Por el contrario, Kawamura y Kikuchi, (1992) lograron con éxito la fijación de *H. discus hannai* envejeciendo los sustratos con *N. ramosissima*. Eso indica que, posiblemente, la eficacia de inducción a la fijación de biofilm de diatomeas es específica de las especies o bien que los productos extracelulares de las diatomeas o las bacterias asociadas pueden jugar un papel importante en la inducción a la fijación larvaria. Se demostró que larvas de *H. tuberculata coccinea*, se fijaron con una tasa satisfactoria sobre algas coralinas y *Ulvella lens*; con unos valores mayores que los obtenidos con un biofilm de diatomea bentónica, sistema tradicional mundialmente utilizado en varios criaderos. El resultado obtenido con las algas coralinas, a pesar de ser consideradas como los mejores inductores de fijación larvaria, con unos valores hasta de un 80% (Roberts, 2001), dio lugar a una tasa de fijación mas baja, con resultados similares a lo observado para *Haliotis laevis* y *H. rubra* por Daume *et al.* (1999, 2000). Estas diferencias se podrían explicar por la variedad de especies y formas de crecimiento de las algas coralinas utilizadas los experimentos. La tasa de fijación de un 22% alcanzada con *U. lens* concuerda con la observada por Daume *et al.* (2000) para *H. rubra*, eso demuestra su eficiencia de inducción a la fijación de *H. tuberculata coccinea*. Como Daume *et al.* (2000) hemos observado tasas de fijación en un rango similar (10%) para *U. lens* colonizada por un inóculo de diatomea, lo que confirma la pérdida de inducción a la fijación de *Ulvella lens* una vez colonizada.

Conclusión

Los resultados del presente estudio permiten evaluar por primera vez los tipos de señales más adecuados para inducir la fijación larvaria de *H. tuberculata coccinea*, y de compararlos con lo observado para otras especies. También indican que son necesarios futuros experimentos que permitan establecer las características de los sustratos para inducir una fijación consistente de las post-larvas de *H. tuberculata coccinea*. No obstante, el presente estudio ofrece un método conveniente para inducir niveles razonables de fijación larvaria que se podrían aplicar a condiciones de cultivo a gran escala.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto JACUMAR (Oreja de mar) y ha sido parcialmente financiado por el FEDER dentro del Programa INTERREG IIIB

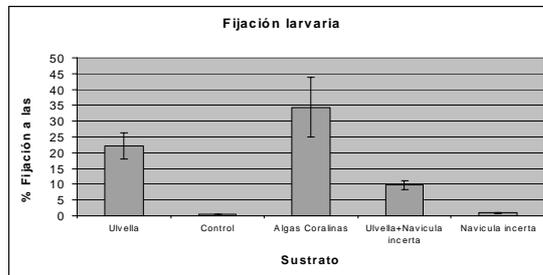


Figura 1: Porcentaje de fijación de post-larvas de *Haliotis tuberculata coccinea* a las 48h. Barras verticales indican la desviación estándar (n=3).

Bibliografía

- Bernal, R.S., L.A.V. Espino y C.A. Beltran. 2000. Effect of biofilm density on grazing rates of *Haliotis fulgens* postlarvae. *Journal of Shellfish Research* 19: 532.
- Bryan, P. J. y P. Qian. 1998. Induction of larval attachment and metamorphosis in the abalone *Haliotis diversicolor* (Reeve). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 223:39–51.
- Buchal, M., J.E. Levin y C. Langdon. 1998. *Dulse palmaria mollis* as a settlement substrate and food for the red abalone *Haliotis rufescens*. *Aquaculture* 165: 243-260.
- Daume, S., S. Brand-Gardner y W. J. Woelkerling. 1999. Preferential settlement of abalone larvae: diatom films vs. non-geniculate coralline red algae. *Aquaculture* 174:243–254.
- Daume, S., A. Krsinich, S. Farrell y M. Gervis. 2000. Settlement, early growth and survival of *Haliotis rubra* in response to different algal species. *J. Appl. Phycol.* 12: 479-488.
- Hahn, K.O., 1989. Handbook of Culture of Abalone and Other Marine Gastropods. CRC Press, Kawamura, T., Kikuchi, H., 1992. Effects of benthic diatoms on settlement and metamorphosis of abalone larvae. *Suisanzoshoku* 40, 403-409.
- Kawamura, T. y H. Takami. 1995. Analysis of feeding and growth rate of newly metamorphosed abalone *Haliotis discus hannai* fed on four species of benthic diatom. *Fish. Sci.* 61: 357-358.
- Morse, D.E., H. Duncan, N. Hooker y A.N.C. Morse. 1977. Hydrogen peroxide induces spawning in mollusks, with activation of prostaglandin endoperoxide synthetase. *Science* 196: 298-300.
- Morse, D.E., N. Hooker, H. Duncan y L. Jensen. 1979a. -Aminobutyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. *Science (Wash.)* 204: 407-410.
- Morse, D.E., N. Hooker, L. Jensen y H. Duncan. 1979b. Induction of larval abalone settling and metamorphosis by -aminobutyric acid and its congeners from crustose red algae: Presented at: 10. Annu. Meet. World Mariculture Society; Honolulu, HI (USA); 22 Jan 1979. World Mariculture Soc.,
- Morse, A.N.C., C.A. Froydand y D.E. Morse. 1984 Molecules from cyanobacteria and red algae that induce larval settlement and metamorphosis in the mollusc *Haliotis rufescens*. *Mar Biol.* 81, 3, 293-298
- Roberts, R., 2001. A review of settlement cues for larval abalone (*Haliotis* spp.) *J. Shellfish. Res.* 20 (2): 571-586.
- Seki, T. 1980. An advanced biological engineering system for abalone seed production. International Symposium on Coastal Pacific Marine Life. Western Washington University, Bellingham, pp. 45-54.
- Seki, T. y H. Kan-no. 1981. Induced settlement of the Papanese abalone, *Haliotis discus hannai* veliger by the mucus trail of the juvenile and adult abalone. *Bull. Tohoku Natl. Fish. Res. Inst.* 43: 29-36.
- Seki, T. y K. Taniguchi. 1996. Factors critical to the survival of herbivorous animals during settlement and metamorphosis. In: Y. Watanabee, Y. Yamashita & Y. Oozeki, editors. Survival strategies in early life stages of marine resources. Brookfield: A. A. Balkema. pp. 341–354.
- Seki, T. 1997. Biological studies on the seed production of the northern Japanese abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Bull. Tohoku Natl. Fish. Res. Inst.* 59:1–71.
- Searcy Bernal, R., A.E. Salas Garza, R.A. Flores Aguilar y P.R. Hinojosa Rivera. 1992. Simultaneous comparison of methods for settlement and metamorphosis induction in the red abalone (*Haliotis rufescens*). *Aquaculture* 105: 241-250.
- Searcy Bernal, R. y C. Anguiano Beltrán. 1998. Optimizing the Concentration of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) for Inducing Larval Metamorphosis in the Red Abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca: Gastropoda) *J. World. Aquaculture. Soc.* 29 (4): 463–470.
- Slaterry, M., 1992. Larval settlement and juvenile survival in the red abalone (*Haliotis rufescens*): an examination of inductive cues and substrate selection.
- Takahashi, K. y A. Koganezawa. 1988. Mass culture of *Ulvela lens* as a feed for abalone *Haliotis discus hannai*. *NOAA Tech. Rep. NMFS* 70: 29-36.
- Takami, H., T. Kawamura e Y. Yamashita. 1997. Survival and growth rates of post-larval abalone *Haliotis discus hannai* fed conspecific trail mucus and/or benthic diatom *Cocconeis scutellum* var. parva. *Aquaculture* 152: 129-138.