D. Cultivo de Algas, Moluscos y Crustáceos o J. Diversificación de las Especies

# BIOLOGÍA DEL ASENTAMIENTO EN LAPAS DEL GÉNERO PATELLA

Diego Castejón<sup>1,2</sup>, Pedro Sousa<sup>1,2</sup> y Carlos A. P. Andrade<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>MARE - Marine and Environmental Sciences Centre, ARNET - Aquatic Research Network, Agência Regional para o Desenvolvimento da Investigação, Tecnologia e Inovação (ARDITI), Funchal, Madeira, Portugal

<sup>2</sup>UMa - Faculdade de Ciências da Vida, Universidade da Madeira, Funchal, Portugal

#### Trabajo Científico

Las lapas son gasterópodos marinos de interés comercial en la Macaronesia Europea, pero su producción pesquera se ha visto impactada por la disminución de las pesquerías y la aplicación de restricciones en las capturas. La acuicultura tiene el potencial de ofrecer alternativas de producción, sin embargo, su desarrollo se ha visto tradicionalmente limitado por la carencia de inductores de asentamiento, los cuáles son necesarios para la producción de post-larvas y juveniles. Recientemente, Castejón et al. (2023) y García et al. (2023) identificaron distintos inductores con capacidad de promover altas tasas de asentamiento en lapas: algas coralinas, agua condicionada y acetilcolina. El presente trabajo continúa dicha línea de investigación para profundizar en el efecto de tales inductores sobre el asentamiento, con el fin último de desarrollar estrategias de producción. Dos especies comerciales y nativas de Madeira fueron usadas como modelo: *Patella aspera* y *P. ordinaria* (Patellogastropoda: Patellidae).

#### Material y Métodos

Los gametos fueron obtenidos durante la época reproductora (Noviembre – Marzo) por disección y madurados artificialmente con un baño alcalino (NH<sub>4</sub>OH, pH 9.1, 15–20 min). Incubación (24 h) y cultivo larvario (48 h) realizados en estático (15.0  $\pm$  0.5 °C) y sin alimentación (larvas lecitotróficas). Las pedivelígeras nadadoras fueron seleccionadas mediante sifonado y distribuidas en los recipientes de asentamiento (placas de cultivo, Ref. 657160, Cellstar® Greiner Bio-One, Austria). Fueron empleados tres inductores de asentamiento: 1) algas coralinas obtenidas como epibiontes naturales de concha de lapas adultas, 2) agua condicionada producida mediante la colocación de fragmentos de concha con algas coralinas en un volumen conocido de agua de mar esterilizada durante 4 o 5 días, y 3) solución stock de acetilcolina  $10^{-2}$  M (Ref. A6625, Sigma–Aldrich, USA) elaborada por dilución directa de este neurotransmisor en agua de mar esterilizada.

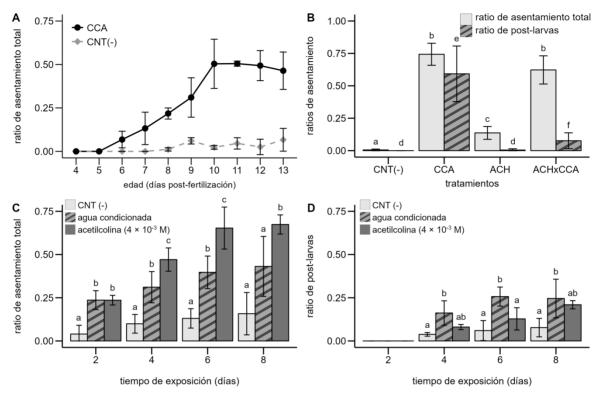
La carencia de inductores se usó como control negativo y las algas coralinas como control positivo. Se determinó la influencia de los siguientes factores en el asentamiento: 1) edad larvaria (3 a 12 días) mediante 24h de exposición a algas coralinas; 2) combinación de acetilcolina  $(4 \times 10^{-3} \text{ M})$  con algas coralinas en P. aspera o con agua condicionada en P. ordinaria; 3) exposición continuada (2 a 8 días) a agua condicionada y acetilcolina en P. ordinaria. Dos estadios de asentamiento fueron identificados: metamórficos (pérdida del velo) y post-larvas (cabeza y teleoconcha desarrolladas). El ratio de asentamiento total sumó metamórficos y post-larvas y se usó para estimar el éxito en iniciar la metamorfosis, mientras que el ratio de post-larvas se usó para determinar el éxito en completar la metamorfosis. Análisis estadísticos realizados con R versión 4.3.1.

### Resultados y Discusión

En larvas de lapas mantenidas a  $15.0 \pm 0.5$  °C, el asentamiento más temprano fue registrado en el día 6 post-fertilización, tanto en *P. aspera* como en *P. ordinaria* (Fig. 1A). El asentamiento alcanzó los ratios más elevados entorno al día 8-9 en *P. aspera* y día 10 en *P. ordinaria* (Fig. 1A).

La acetilcolina indujo un ratio de asentamiento total inferior al obtenido con algas coralinas en *P. aspera* (Fig. 1B) y superior al agua condicionada en *P. ordinaria* (Fig. 1C). En *P. aspera*, la combinación de acetilcolina y algas coralinas promovió un ratio de asentamiento total casi tan elevado como con algas coralinas, pero el ratio de post-larvas se mantuvo proporcionalmente inferior (Fig. 1B). De forma similar, en *P. ordinaria* la combinación de acetilcolina y agua condicionada promovió un elevado ratio de asentamiento total, pero el ratio de post-larvas fue proporcionalmente inferior.

En *P. ordinaria*, el tiempo de exposición a distintos inductores mostró resultados similares. En comparación con el agua condicionada, la acetilcolina promovió el mayor ratio de asentamiento total (Fig. 1C), pero el ratio de post-larvas se mantuvo proporcionalmente inferior al obtenido en el control y agua condicionada (Fig. 1D).



**Figura 1.** *P. ordinaria*: edad larvaria y asentamiento tras 24h de exposición a algas coralinas (A). *P. aspera*: combinación de algas coralinas y acetilcolina, ratios analizados por separado (B). *P. ordinaria*: tiempo de exposición a agua condicionada y acetilcolina, cada día de exposición fue analizado por separado (C – D). Diferentes letras indican diferencias estadísticas (p < 0.05).

La inducción del asentamiento con acetilcolina mostró un desacoplamiento entre el inicio de la metamorfosis (metamórficos + post-larvas) y su compleción (post-larvas). Los datos sugieren dos procesos neurofisiológicos asociados pero no necesariamente ligados: 1) la pérdida del velo (generalmente usado como primer indicador del asentamiento en gasterópodos marinos) y 2) la metamorfosis (desarrollo de cabeza, teleoconcha y sistema digestivo). La acetilcolina, como neurotransmisor clave en invertebrados (Kim y Lee 2018), parece promover el primer proceso e inhibir el segundo. Desde el punto de vista productivo, una estrategia viable para obtener asentamiento sincronizado podría basarse en la aplicación de algas coralinas o agua condicionada a larvas de 9 días de edad. Por el contrario, la acetilcolina no es recomendable para la producción de lapas, pero podría resultar útil para estudiar la neurofisiología del asentamiento y metamorfosis en este grupo animal.

#### Palabras clave

Acetilcolina; agua condicionada; algas coralinas; Patellidae; producción de semilla

## Bibliografía

Castejón, D., García, L. y Andrade, C.A.P. 2023. Crustose coralline algal factors determining the success of limpet (Patellogastropoda: Patellidae) settlement: species, exposure time, area and soluble cues. *Marine Biology* 170(12): 171. https://doi.org/10.1007/s00227-023-04321-1

García, L., Courtois de Viçose, G., Ginés, R., Andrade, C.A.P. y Castejón, D. 2023. Coralline algae, diatoms and acetylcholine as settlement inducers of the true limpet *Patella ordinaria* in Madeira. En: *Aquaculture Europe 2023 - Balanced Diversity in Aquaculture Development*: 262-263. http://doi.org/10.13140/RG.2.2.27401.21603

Kim, Y. H. y Lee, S. H. 2018. Invertebrate acetylcholinesterases: Insights into their evolution and non-classical functions. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 21(1): 186-195. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.11.017

#### Agradecimientos

Investigación financiada por el proyecto "AQUAINVERT (MAC/1. 1ª/282)". Muestreos para la obtención de lapas autorizados por la Secretaria de Economia, Mar e Pescas (Gobierno Regional de Madeira, Portugal).

# Correo del Autor

diego.castejon.dcb@gmail.com