

Research Article

Evaluación en ambiente natural, del uso de biopelículas marinas en el asentamiento larval de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819)

Marcela Cantillán¹, Carlos Riquelme² & Miguel Avendaño¹

¹Laboratorio de Cultivo y Manejo de Moluscos, Departamento de Acuicultura, Universidad de Antofagasta
P.O. Box 170, Antofagasta, Chile

²Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Acuicultura, Universidad de Antofagasta
P.O. Box 170, Antofagasta, Chile

RESUMEN. En una granja marina ubicada colindante con el área de reserva marina “La Rinconada” (Antofagasta, Chile), se evaluó el asentamiento larval del pectínido *Argopecten purpuratus* sobre colectores impregnados con películas multi-específicas, de las diatomeas *Navicula* sp. y *Amphora* sp., y de la cepa bacteriana NC₁, aisladas desde colectores utilizados en captaciones comerciales de esta especie que presentaron altos índices de fijación, y que bajo condiciones controladas de criadero y laboratorio, han mostrando altos niveles de asentamiento larval. Los resultados obtenidos con el uso de estas biopelículas, sobre colectores instalados en forma paralela a los utilizados por la empresa para la captación de semilla con fines comerciales, no mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos probados y el control, respecto a las fijaciones ocurridas en un lapso de 30 días de inmersión. Se discute, debido a los tiempos que demandaron las larvas de la primera cohorte en asentarse sobre los colectores tratados, un posible reemplazo de las biopelículas utilizadas, por otra común en todos ellos y atractiva para el asentamiento de las larvas, como causa de la ausencia de efectos significativos de los tratamientos probados en el medio natural. Se recomienda la necesidad de establecer el tiempo de permanencia, en el ambiente natural, de las biopelículas impregnadas a los colectores en laboratorio.

Palabras clave: *Argopecten purpuratus*, biopelículas multiespecíficas, asentamiento larval, ambiente natural, Chile.

Evaluation in natural environment of use of marine biofilms, in the larval settlement of *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819)

ABSTRACT. In a commercial farm located near the Marine Reserve “La Rinconada” (Antofagasta, Chile) the larval settlement of *Argopecten purpuratus* on artificial collectors impregnated with multiespecific films of marine diatoms *Navicula* sp. and *Amphora* sp. and, bacterial strain NC₁ were evaluated. These biofilms were isolates from artificial collector used in commercial activities with highest index of settlement in hatchery and laboratory conditions. The results to use this biofilms in collectors installed in same condition of commercial collectors show not statistical differences between treatment uses and the control based on the number of larvae for collectors after about 30 days of immersion. This differences observed, in base to time necessary to settle of larvae to first cohort on collector, is product of possible replacement of this biofilms for a common type in all collectors and more attractive for larval settlement. We recommend to estimate the time to replace the biofilms on artificial collectors installed in natural environment.

Keywords: *Argopecten purpuratus*, multiespecific biofilms, larval settlement, natural environment, Chile.

Corresponding author: Miguel Avendaño (mavendano@uantof.cl)

INTRODUCCIÓN

El pectínido *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), distribuido desde Paita, Perú (5°S, 81°W) hasta Ton-

goy, Chile (30°S, 71°W), es una de las especies marinas más importantes para la acuicultura de ambos países (Ávila *et al.*, 1994; Bandin & Mendo, 1999). Los métodos de cultivo usados en Chile son similares

a aquellos desarrollados en Japón para el cultivo de *Patinopecten yessoensis* Jay, 1857 (Ventilla, 1982). Sin embargo, después de más de dos décadas de haberse iniciado los cultivos comerciales de *A. purpuratus* en Chile, la actividad enfrenta serios problemas con el abastecimiento de semilla, que actualmente proviene en casi 90% de captaciones naturales (Abarca, 2001). Los pobres resultados obtenidos en los criaderos que aportan cerca del 10% restante, reflejan la dificultad para masificar su producción, a pesar que los primeros cultivos experimentales de larvas de la especie se desarrollaron hace casi de tres décadas (Gajardo *et al.*, 1996; Le Pennec, 1997; Le Pennec *et al.*, 1998; Abarca, 2001; Stotz & Mendo, 2001; Avendaño *et al.*, 2001, 2006, 2007). Estas dificultades están presentes en la mayoría de los pectínidos que se cultivan a nivel mundial, los cuales muestran importantes fluctuaciones anuales, incompatibles con la exigencia de las necesidades del mercado (Le Pennec, 1997). Ciertas épocas del año parecen más favorables que otras para la producción larvaria, pero frecuentemente el ciclo de cultivo es interrumpido antes o después de la metamorfosis por diversas razones, entre ellas la nocividad de bacterias o el acondicionamiento de los reproductores (Dorange, 1989; Soudant, 1995; Lambert *et al.*, 1998).

Sobre la base de antecedentes generados en laboratorio, que señalan que larvas de invertebrados requieren de bacterias en los sustratos, para estimular e inducir su asentamiento (Weiner *et al.*, 1989; Dillon *et al.*, 1989; Maki *et al.*, 1990; Pearce & Bourget, 1996), y que estas comunidades bacterianas adheridas al sustrato se encuentran asociadas con otros microorganismos tales como diatomeas, formando una película multi-específica, capaz de emitir varios tipos de señales que estimulan el asentamiento de larvas de moluscos (Hadfield, 1986; Pawlik, 1986, 1992; Zimmer-Faust & Tamburri, 1994; Keough & Raimondi, 1995), en Chile se ha comenzado a trabajar en el uso de estas biopelículas, para mejorar los niveles de producción de semilla de *A. purpuratus* bajo condiciones controladas de criaderos (Avendaño-Herrera *et al.*, 2002, 2003). Los resultados obtenidos al impregnar colectores con biopelículas de cuatro especies de diatomeas nativas, aisladas desde el Netlon® de colectores japoneses para pectínidos, con altos niveles de fijación de *A. purpuratus* en el medio natural, han mostrado un mejoramiento significativo en el asentamiento de sus larvas tanto en laboratorio como en criadero, comparado con lo que ocurre en colectores no tratados (Avendaño-Herrera *et al.*, 2003). Por otro lado, también en criaderos comerciales se ha ensayado la “biologización” de colectores utilizando cepas de biopelículas bacterianas específicas, obtenidas también de cepas aisladas desde

colectores con altos niveles de fijación de esta especie en el medio natural, obteniéndose resultados que muestran incrementos importantes del asentamiento larval en colectores tratados con estas bacterias perifíticas (Avendaño-Herrera *et al.*, 2002, 2005).

De acuerdo a los resultados señalados, con los que se han obtenido los mejores rendimientos bajo condiciones controladas, se implementó el siguiente estudio, para evaluar en el medio natural, durante períodos de instalación de colectores para la obtención de semilla de *A. purpuratus* con fines comerciales, el asentamiento larval en colectores impregnados con biopelículas específicas de diatomeas (*Navicula* sp. y *Amphora* sp.), y de la cepa bacteriana (NC₁) aisladas desde sistemas de cultivo de ostiones (Avendaño-Herrera *et al.*, 2002, 2003, 2005).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio se ubicó en una concesión de acuicultura ocupada por la empresa “El Golfo” que realiza el cultivo de *A. purpuratus*. Esta empresa está localizada en la bahía de Antofagasta, en el sector de La Rinconada (23°28'S, 70°30'W), a 20 km al norte de la ciudad de Antofagasta y colindante con la primera reserva marina de Chile (Fig. 1), que alberga uno de los bancos de *A. purpuratus* más importantes del país (Avendaño & Cantillán, 1996). Entre noviembre de 2004 y febrero de 2005, en este lugar y desde una de las líneas de cultivo, instaladas en un veril de 21 m de profundidad, se realizaron tres pruebas de captación de postlarvas de *A. purpuratus*, en forma paralela a la instalación de colectores con fines comerciales. Los colectores utilizados en estas pruebas fueron previamente impregnados con películas multi-específicas, de las diatomeas *Navicula* sp. y *Amphora* sp., y de la cepa bacteriana NC₁.

Impregnación de colectores

Las microalgas utilizadas para impregnar los colectores, se cultivaron por separado en unidades de producción masiva, utilizando como medio de cultivo F/2 comercial, iluminadas con una intensidad de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y con suministro de aire continuo. Una vez producidas estas microalgas, se cosecharon e inocularon separadamente en cuatro estanques de biologización de 1000 L, dotando cada uno con 600 L de agua de mar filtrada a 0,5 μm . Previo a la inoculación, el agua de dos de estos estanques fue desinfectada con cloro comercial por 2 h, quedando los otros dos sin desinfectar. En los estanques que se agregó cloro, el agua fue neutralizada con tiosulfato de

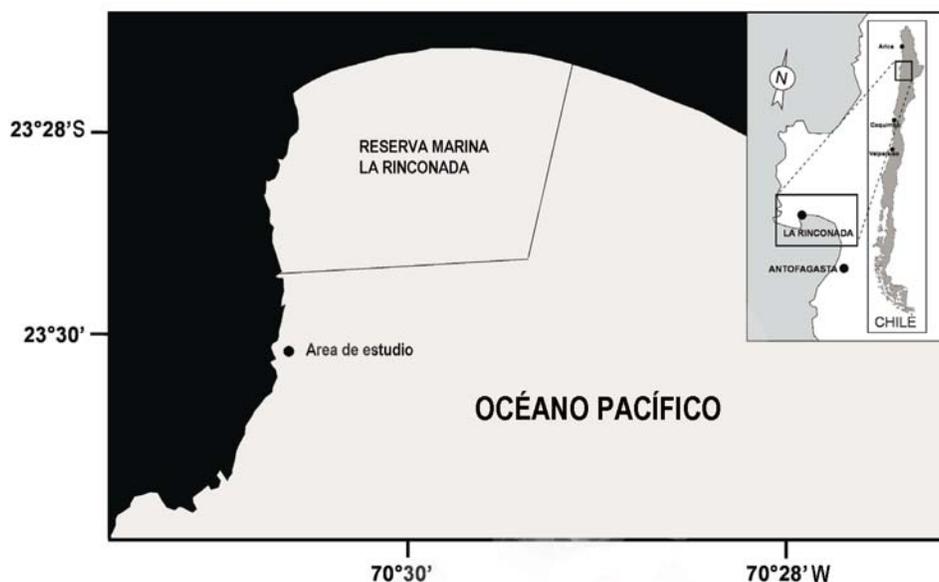


Figura 1. Localización geográfica del área de estudio, adyacente a la Reserva Marina La Rinconada, Antofagasta, Chile.

Figure 1. Geographic location of the study area, adjacent to the La Rinconada Marine Reserve, Antofagasta, Chile.

sodio de 3:1 (tio:cloro) durante 1 h y se sometió a aireación continua. Terminado el proceso de neutralización, a los cuatro estanques se adicionaron nutrientes (N, P, Si) y se incorporó en cada uno la cepa bacteriana NC₁ a una concentración de 1×10^4 cél mL⁻¹. Luego en estos estanques se sumergieron colectores de Netlon previamente desinfectados durante 5 días.

La cepa bacteriana NC₁ utilizada para impregnar los colectores junto a las diatomeas, fue cultivada previamente en 5 mL de caldo TSB (Tryptone Soya Broth) Oxoid Co., suplementado con 2% de NaCl (Merk), por 12 h a 20°C. Transcurridos cuatro días de la impregnación de los colectores en los estanques, se tomaron muestras para determinar la presencia de la cepa NC₁ a través del ADN genómico, siguiendo la metodología descrita por Tsai & Olson (1991). Para ello la cepa fue cosechada mediante centrifugación y lavada con solución salina marina (SSM). Posteriormente, las células fueron lisadas por medio de una lisozima y el proceso de congelamiento-calentamiento. Luego fue extraído el ADN desde el lisado, con SDS y fenol-cloroformo. Los ácidos nucleicos fueron extraídos desde los sobrenadantes y precipitados con etanol al 100% a -20°C durante 12 h. De los extractos crudos fueron removidos por medio de las moléculas ARN. Posteriormente el ARN-libre ADN fue purificado con una columna Elutip-d (Scheicher & Schuell, Keen, N.H.), con un prefiltro Schleider & Schuell NA010/27 (0,45 µm, celulosa acetato). Finalmente, el ADN fue recuperado desde la

columna siguiendo las instrucciones del fabricante. Los fragmentos de 16S rADN fueron amplificados utilizando los iniciadores EUBf933-GC-clamp y EUBr1387, que son específicos para las secuencias del 16S rADN del dominio *Bacteria*. Para prevenir la completa disociación de los fragmentos de ADN durante análisis por electroforesis en gel de gradiente desnaturalante (DGGE), se incorporó una abrazadera (clamp) de 40-bp rica en GC en la posición 5 finales del iniciador EUBf933.

Preparación de colectores

Se impregnaron grupos de 10 colectores con cuatro tratamientos diferentes. Los colectores desinfectados con cloro comercial, se impregnaron, con dos tipos de diatomeas junto con la cepa bacteriana: tratamiento TA, impregnados con *Navicula* sp. más la adición de la cepa bacteriana NC₁, y tratamiento TB, *Amphora* sp. más la cepa NC₁. Los otros dos tratamientos fueron realizados sin desinfección de cloro: tratamiento TC *Navicula* sp. más la cepa bacteriana NC₁ y tratamiento TD *Amphora* sp. más la cepa NC₁. Como Control (TN), se utilizaron colectores mantenidos en estanques con agua de mar sin filtrar y sin recambio por cinco días.

Una vez preparados los colectores, se introdujeron dentro de bolsas protectoras de 1 mm de abertura de malla, y amarrados de pares a reinales que se ataron a la línea madre, quedando a 1, 3, 5 y 6 m del fondo. Esta operación se repitió en tres oportunidades (noviembre y diciembre de 2004, y enero de 2005).

Después de 28 a 31 días de su instalación en el mar, se extrajeron los seis colectores de cada tratamiento y el control. Luego se transportaron hasta el laboratorio, donde se realizó una limpieza minuciosa para extraer todas las postlarvas fijadas. Las postlarvas de cada colector, se depositaron y homogeneizaron dentro de un muestreador de plancton de diez divisiones y se tomaron dos submuestras para contarlas y medirlas (Avendaño *et al.*, 2006, 2007). La medición se efectuó con un estereomicroscopio con ocular graduado.

Considerando antecedentes previos de la dinámica de producción larval del área, que señalan la continua presencia de larvas que resultan en el asentamiento de sucesivas microcohortes postlarvales sobre los colectores (Avendaño *et al.*, 2006, 2007; Cantillán *et al.*, 2007), la fijación de postlarvas en cada uno de los tratamientos, en las tres experiencias realizadas, se sometieron a un análisis de discriminación de cohortes, para evaluar el efecto de los tratamientos sobre la primera cohorte asentada. Para esto, los datos de longitud (alto de la concha) de los individuos de cada tratamiento y período de experimentación se agruparon en rangos de talla de 50 μm . Se determinó el número de cohortes, la abundancia relativa, la talla media y la desviación estándar de la talla media de cada cohorte a través del software MIX 3.1.a (MacDonald & Pitcher, 1979), que permite la separación de distribuciones mezcladas de datos agrupados por el método de máxima probabilidad, con un nivel de significancia del 0,05.

Para estimar el período en que se produjo el asentamiento de cada cohorte, se utilizó la tasa de crecimiento de 143 $\mu\text{m día}^{-1}$, reportada para postlarvas de *A. purpuratus* al interior de colectores en el sitio de estudio (Cantillán, 2000).

Luego, se probó el efecto de los tratamientos sobre la intensidad de fijación de las postlarvas pertenecientes a la primera cohorte asentada (cohorte C_1). Para ello, se evaluó la normalidad de los datos y la homogeneidad de varianza ($p < 0,001$) aplicando el Test de Bartlett y de Cochran, respectivamente. El bajo nivel de probabilidad se debió a que los análisis paramétricos son robustos a la no-normalidad y heterogeneidad de varianzas (Underwood, 1997). Los datos se transformaron mediante $\log_{10}(\text{data}+10)$ en todos los casos de excesiva heterogeneidad de varianzas. Posteriormente, se aplicó un ANOVA de dos vías ($p < 0,05$) y un análisis *a posteriori* de Student-Newman-Keuls (SNK) con un $p < 0,05$ (Underwood, 1997).

RESULTADOS

Los patrones temporales de asentamiento postlarval de *A. purpuratus*, mostraron un nivel máximo de asentamiento en las unidades de colecta en el período noviembre-diciembre (1.615 ± 508 postlarvas/colector), descendiendo en las pruebas experimentales posteriores a rendimientos de 327 ± 160 postlarvas/colector en diciembre-enero y 355 ± 303 postlarvas/colector en enero-febrero de 2005. En cada una de las experiencias realizadas, la totalidad de los colectores tratados fueron colonizados por dos cohortes postlarvales sucesivas. En los dos primeros períodos experimentales, más del 65% de las postlarvas fijadas en los colectores pertenecían a la primera cohorte asentada (C_1), a diferencia del tercer período que mostró predominio de la segunda cohorte C_2 (Tabla 1). La disparidad de la talla media de la cohorte C_1 en las tres experiencias realizadas (1.022 y 3.217 μm), reflejó que el tiempo transcurrido hasta la colonización de los colectores varió en los períodos de experimentación. Las estimaciones del momento de asentamiento, a partir de los modelos de crecimiento existentes, indicaron que en el período noviembre-diciembre 2004, la primera cohorte postlarval que varió entre 1.022 y 1.086 μm según el tratamiento (Tabla 1), se asentó a los 23 días de la instalación de los colectores en el agua, en la segunda experiencia donde la talla media fluctuó entre 2.912 y 3.217 μm , ocurrió entre 8 y 10 días post-inmersión, y en la tercera, en que la talla media varió entre 1.651 μm y 1.922 μm , el asentamiento ocurrió entre los 14 y 16 días.

Los resultados de la extracción del ADN genómico de la cepa NC_1 desde colectores, luego de permanecer cuatro días dentro de los estanques de biologización, mostraron que la cepa en estudio se impregnó en las superficies de fijación, indicando que la bacteria NC_1 logró colonizarlas previa introducción de estos sistemas, en el ambiente natural para la captación de postlarvas.

Los resultados mostraron que ninguna de las diferentes películas multiespecíficas tuvo un efecto sobre la intensidad de asentamiento de la primera cohorte en los colectores (Fig. 2). El ANOVA de dos vías reveló que el número de postlarvas de esta cohorte (C_1) no varió significativamente entre los diferentes tratamientos ($F_{4,75} = 1,40$; $p = 0,24$). Este análisis mostró por otro lado, diferencias respecto de la abundancia de postlarvas fijadas entre los períodos de experimentación ($F_{2,75} = 119,5$; $p = 0,0001$). El SNK-test reveló que la abundancia en la captación fue significativamente diferente entre los tres períodos experimentales.

Tabla 1. Talla media (altura de la concha) y porcentaje, de las postlarvas que pertenecen a la primera cohorte (Cohorte 1) y segunda cohorte (Cohorte 2), asentadas en los colectores impregnados con los diferentes tratamientos utilizados (TA: *Navicula* sp. + NC₁; TB: *Amphora* sp. + NC₁ (ambos con desinfección previa), TC: *Navicula* sp. + NC₁; TD: *Amphora* sp. + NC₁ (ambos sin desinfección previa); TN: control sin tratamiento), en los tres periodos experimentales. Las cohortes fueron separadas utilizando el Programa computacional MIX 3.1. (MacDonald & Pitcher, 1979). DS: desviación estándar.

Table 1. Mean post larval height and proportion of first and second cohort (Cohort 1 and Cohort 2) settled on collectors impregnated with different multi-biofilm (TA: *Navicula* sp. + NC₁; TB: *Amphora* sp. + NC₁ (both with prior disinfection), TC: *Navicula* sp. + NC₁; TD: *Amphora* sp. + NC₁ (both without prior disinfection); TN: control without treatment), on the three experimental periods. Cohorts were separated using the MIX 3.1. Software (MacDonald & Pitcher, 1979). DS: standard deviation.

Período de experimentación	Tratamiento	Cohorte 1		Cohorte 2	
		Talla media µm ± DS	Postlarvas (%)	Talla media µm ± DS	Postlarvas (%)
20 Nov 2004-21 Dic 2004	TA	1.079,6 ± 237,9	77,0	511,4 ± 73,5	23,0
	TB	1.090,2 ± 230,2	78,2	518,8 ± 70,3	21,8
	TC	1.068,5 ± 236,2	74,1	523,9 ± 60,2	25,9
	TD	1.086,4 ± 225,7	76,0	539,3 ± 77,7	24
	TN	1.022,3 ± 257,8	73,2	493,2 ± 59,2	26,8
21 Dic 2004-21 Ene 2005	TA	2.926,4 ± 635,2	65,5	1.025,1 ± 219,8	34,5
	TB	2.911,7 ± 630,8	71,0	1.015,9 ± 221,5	29,0
	TC	3.021,4 ± 652,1	71,3	1.030,0 ± 204,5	28,7
	TD	3.216,7 ± 563,6	70,3	1.017,8 ± 259,5	29,7
	TN	2.966,5 ± 589,6	67,5	1.012,5 ± 212,1	32,5
14 Ene 2005-11 Feb 2005	TA	1.650,7 ± 341,7	20,5	861,7 ± 179,3	79,5
	TB	1.792,9 ± 273,1	52,3	1.099,2 ± 266,7	47,7
	TC	1.649,9 ± 376,4	27,0	899,7 ± 217,6	73,0
	TD	1.921,8 ± 379,8	42,0	1.145,0 ± 262,6	58,0
	TN	1.792,9 ± 427,7	55,3	1.091,7 ± 265,2	44,7

DISCUSIÓN

Estudios de biología y cultivo de invertebrados marinos, indican que antes que las larvas se asienten sobre un sustrato, requieren que éste posea una biopelícula capaz de emitir señales químicas al medioambiente, que estimulen su asentamiento (Kavouras & Maki, 2000). La presencia de diatomeas en la microflora de las biopelículas que se adhieren a los sustratos, es un fenómeno natural y tales formaciones son inevitables en superficies limpias que se introducen al mar (Cooksey & Wigglesworth-Cooksey, 1995). Harvey *et al.* (1955) señalaron que después de adherirse las bacterias a una superficie,

ésta es colonizada secundariamente por diversas especies de diatomeas bénticas, las que tradicionalmente son usadas como superficie de asentamiento de larvas de abalones (Seki, 1980; Hahn, 1989). El estímulo para el asentamiento de invertebrados, incluyendo larvas de varias especies de pectínidos, puede deberse a varios factores, entre los cuales se encuentra la composición de las diatomeas y la densidad de las biopelículas. Las diatomeas pueden ser efectivas para este asentamiento, debido al particular microcosmos de material extracelular que mejora el asentamiento. Pearce & Bourget (1996) proponen que larvas de *Pecten magellanicus* son capaces de elegir entre diferentes sustratos para el

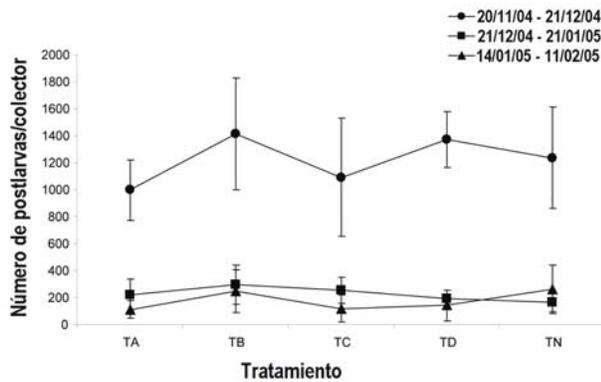


Figura 2. Número de postlarvas de la cohorte C₁ asentada sobre los colectores tratados con biopelículas multiespecíficas de diatomeas (*Navicula* sp. y *Amphora* sp.) y de la cepa bacteriana (NC₁) en los tres periodos experimentales (TA: *Navicula* sp. + NC₁; TB: *Amphora* sp. + NC₁ (ambos con desinfección previa), TC: *Navicula* sp. + NC₁; TD: *Amphora* sp. + NC₁ (ambos sin desinfección previa); TN: control sin tratamiento). Se muestra el valor medio y la desviación estándar de nueve réplicas por tratamiento.

Figure 2. Number of postlarvae of the Cohort 1 settled on the collectors pre-treated with multibiofilms diatoms (*Navicula* sp. and *Amphora* sp.), and the bacterial strain (NC₁) in the three experimental periods (TA: *Navicula* sp. + NC₁; TB: *Amphora* sp. + NC₁ (both with prior disinfection), TC: *Navicula* sp. + NC₁; TD: *Amphora* sp. + NC₁ (both without prior disinfection); TN: control without treatment). The average value of nine replicates per treatment and standard deviation is shown.

asentamiento, favoreciendo el de monofilamentos con biopelículas, como también lo señalan Harvey *et al.* (1997). Esta preferencia por sustratos de asentamiento observada en algunas larvas de pectínidos, ha motivado diversas investigaciones para determinar si uno de estos criterios está relacionado con la nutrición (Bourne & Hodgson, 1991). Los trabajos realizados por Dwiono (1992), sobre la débil actividad alimenticia que presenta *Pecten maximus* durante la metamorfosis, lo que no se traduce en una disminución del contenido energético de las postlarvas, y por el contrario se constata un ligero aumento, le llevó a plantear la hipótesis de la existencia de fuentes alternativas de alimentación para esta fase en los bivalvos, lo cual ha sido compartido por otros autores (Lucas, 1982; Bayne & Newell, 1983). Estas fuentes de alimentación alternativa, podrían ser la materia orgánica disuelta, tales como aminoácidos, materia orgánica particulada o bacterias (Dwiono, 1992).

En el presente trabajo, el uso de biopelículas sobre colectores dispuestos en el medio natural, no mostró

tener un efecto significativo en la cantidad de postlarvas de *A. purpuratus* asentadas, a diferencia de los resultados positivos obtenidos bajo condiciones controladas (Avendaño-Herrera *et al.*, 2002, 2003, 2005).

El efecto positivo bajo condiciones de laboratorio, del empleo de biopelículas para incrementar los niveles de fijación larval de invertebrados marinos, ha sido señalado en los últimos años por diversos autores (Bonar *et al.*, 1986; Butman *et al.*, 1988; Maki *et al.*, 1988; Fitt *et al.*, 1989). Avendaño-Herrera *et al.* (2002) constataron que, en colectores (netlones) tratados con una cepa bacteriana del género *Vibrio*, con la capacidad de formar biopelículas y que no causa efectos deletéreos en las larvas de *A. purpuratus*, muestran un asentamiento altamente significativo. Similares resultados, se obtuvieron al utilizar diatomeas del género *Navicula* (Avendaño-Herrera *et al.*, 2003), que mostraron una mejor capacidad de adherencia y mejor crecimiento en sustratos plásticos como los netlones, señalando además, que estas especies están mejor adaptadas para adherirse y formar biopelículas primarias, comparadas con otras especies como lo plantean Characklis & Bryers (1990). Experimentos de laboratorio con otras especies de pectínidos, también han mostrado elevados asentamientos larvales sobre superficies con biopelículas, en comparación con superficies sin ellas, como es el caso de *Chlamys hastata* (Hodgson & Bourne, 1988) y *P. magellanicus* (Parsons *et al.*, 1993).

Si bien, los antecedentes señalados han sido demostrados a través de resultados obtenidos tanto en criaderos comerciales como en laboratorio, en periodos de experimentación de seis y siete días de fijación de postlarvas en estanques, los obtenidos en el presente trabajo con *A. purpuratus* en el medio natural, contrastan con ellos, y no muestran diferencias en las fijaciones ocurridas tanto en colectores tratados con estas biopelículas, como en aquellos que sirvieron de control. Ello, a pesar que las biopelículas probadas consistieron en diatomeas y la cepa bacteriana, con las que se han obtenido los mejores resultados bajo condiciones controladas de laboratorio (Avendaño-Herrera *et al.*, 2002, 2003). Sin embargo, se debe considerar que en el presente trabajo, los asentamientos de la primera cohorte (C₁), ocurrieron entre las dos y tres semanas posteriores a la instalación de los colectores, en las tres experiencias realizadas, y por ello es posible señalar, la ocurrencia de un reemplazo de las biopelículas utilizadas en las pruebas, durante ese lapso de tiempo, por otro común en todos los colectores, y atractiva para el asentamiento de las larvas que constituyeron las primeras

cohortes (C_1). Ya se ha señalado en este trabajo, que tanto las diatomeas utilizadas como la cepa bacteriana NC_1 , corresponden a especies nativas, que fueron aisladas desde netlones de colectores extraídos desde el medio natural, con altos niveles de fijación de *A. purpuratus* (Avendaño-Herrera *et al.*, 2003). Encomendero & Dupré (2003), trabajando con asentamientos larvales de *A. purpuratus*, en diferentes tipos de sustratos observaron que con el paso del tiempo, las diferencias de fijación encontradas disminuían, apoyando lo señalado por Jacobi & Lagevin (1996), quienes sostienen que el efecto del sustrato original sobre las fijaciones es débil, siendo en definitiva la comunidad sésil local que se asienta sobre los sustratos, la que rige el asentamiento de la fauna móvil. También, Román & Cano (1987), indican que los colectores de pectínidos, requieren una inmersión mínima de 15 días para que se hagan atractivos y ocurran asentamientos larvales, coincidiendo con los tiempos señalados por Encomendero & Dupré (2003), que indican que los asentamientos inducidos por biopelículas, se producen después de 14 a 21 días, luego de la estabilización de ésta.

Finalmente, las fijaciones larvales ocurridas en las experiencias realizadas en este trabajo, confirman el área de La Rinconada, como área de retención larval de *A. purpuratus* (Cantillánnez, 2000; Cantillánnez *et al.*, 2007; Avendaño *et al.*, 2006, 2007), y también que los períodos de mejor captación tienen lugar entre octubre y abril, coincidiendo con los períodos de mayor actividad reproductiva que ocurre generalmente entre septiembre y abril del año siguiente (Avendaño & Le Pennec, 1996, 1997; Cantillánnez *et al.*, 2005). Debe señalarse, que esta área está sujeta a flujos alternados de corriente que resultan en una corriente predominante dirigida hacia el norte, pero que se encuentra con la barrera impuesta por la playa, reflejándose en forma cíclica en escalas de tiempo diarias. Esto permite buenas posibilidades de intercambio y mezcla de masas de aguas y a su vez, una alta capacidad de retención de material particulado dentro de un área de radio de 5 km, que favorece la permanencia de larvas de *A. purpuratus* en la zona, conduciendo a una continua fijación de postlarvas sobre colectores artificiales durante todo el año (Cantillánnez, 2000; Escribano & Hidalgo, 2001; Cantillánnez *et al.*, 2007; Avendaño *et al.*, 2006, 2007). Así también, las diferencias encontradas en las fijaciones acontecidas en los tres períodos del presente estudio, son coincidentes con las variaciones observadas en este mismo sector por Cantillánnez (2000), quién señaló además, la existencia de una relación directa entre niveles de captación de post larvas en colectores y los máximos de abundancias larvales. Finalmente, es

necesario indicar la conveniencia de establecer en futuros estudios, la efectividad del reemplazo de las biopelículas utilizadas en los colectores tratados y el tiempo en que este reemplazo ocurriría, considerando que las pruebas de fijaciones postlarvales realizadas en laboratorio, no sobrepasaron los siete días.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue realizado a través del proyecto FONDEF D0 211098. Los autores agradecen a los tres revisores anónimos cuyos comentarios permitieron mejorar el presente trabajo.

REFERENCIAS

- Abarca, A. 2001. Scallop hatcheries of *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) in Chile: a survey of the present situation. 13th International Pectinid Workshop, 18-24 April 2001, Coquimbo, pp. 74-75.
- Avendaño-Herrera, R., C. Riquelme & F. Silva. 2002. Utilización de biopelículas bacterianas en el asentamiento de larvas de *Argopecten purpuratus* (Lamarck 1819) en un hatchery comercial. Rev. Biol. Mar., Valparaíso, 37(1): 35-41.
- Avendaño-Herrera, R., M. Lody & C. Riquelme. 2005. Producción de sustancias inhibitorias entre bacterias de biopelículas en sustratos marinos. Rev. Biol. Mar. Oceanogr., 40(2): 117-125.
- Avendaño-Herrera, R., C. Riquelme, F. Silva, M. Avendaño & R. Irgang. 2003. Optimization of settlement of larval *Argopecten purpuratus* using natural diatom biofilms. J. Shellfish Res., 22(2): 393-399.
- Avendaño, M. & M. Cantillánnez. 1996. Efecto de la pesca clandestina, sobre *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), en el banco de La Rinconada, II Región. Cienc. Tec. Mar, 19: 57-65.
- Avendaño, M. & M. Le Pennec. 1996. Contribución al conocimiento reproductivo de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), en dos poblaciones de la II Región, Chile. Estud. Oceanol., Antofagasta, 15: 1-10.
- Avendaño, M. & M. Le Pennec. 1997. Intraspecific variation in gametogenesis in two populations of the Chilean mollusc bivalve, *Argopecten purpuratus* (Lamarck). Aquacult. Res., 28: 175-182.
- Avendaño, M., M. Cantillánnez & J. Peña. 2006. Effect of immersion time of cultch on spatfall of the scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) in the Marine Reserve at La Rinconada, Antofagasta, Chile. Aquacult. Int., 14: 267-283.
- Avendaño, M., M. Le Pennec & M. Cantillánnez. 2001. Anormalidades en larvas de *Argopecten purpuratus*

- (Lamarck, 1819) (Mollusca, Pectinidae); una causal de los problemas en la producción artificial de semilla. *Estud. Oceanol., Antofagasta*, 20: 33-42.
- Avendaño, M., M. Cantillán, G. Thouzeau & J. Peña. 2007. Artificial collection and early growth of spat of the scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), in La Rinconada Marine Reserve, Antofagasta, Chile. *Sci. Mar.*, 71(1): 197-205.
- Ávila, M., M. Seguel, H. Plaza, E. Bustos & R. Otaíza. 1994. Estado de situación y perspectivas de la acuicultura en Chile. Informe SGI-IFOP, 94/1: 166 pp.
- Bandin, R. & J. Mendo. 1999. Asentamiento larval de la concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en colectores artificiales en la Bahía Independencia, Pisco, Perú. *Invest. Mar., Valparaíso*, 27: 3-13.
- Bayne, B.L. & R.C. Newell. 1983. Physiological energetics of marine mollusks. In: A.S.M. Saleuddin & K.M. Wilbur (eds.). *The Mollusca*. 4. Academic Press, New York, pp. 407-515.
- Bonar, B., R. Weiner & R. Colwell. 1986. Microbial invertebrate interactions and potential for biotechnology. *Microb. Ecol.*, 12: 101-110.
- Bourne, N. & C.A. Hodgson. 1991. Development of a viable nursery system for scallop culture. In: S.E. Shumway & P.A. Sandifer (eds.). *An international compendium of scallop biology and culture*. World Aquaculture Workshops, N°1 Baton Rouge. The World Aquaculture Society, pp. 273-280.
- Butman, C.A., J.P. Grassle & C.M. Webb. 1988. Substrate choices made by marine larvae settling in still water and in a flume flow. *Nature*, 333: 771-773.
- Cantillán, M. 2000. Reproduction, vie larvaire et pré-recrútement du Pectinidae *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) dans la baie d'Antofagasta (Chili). Thèse Ph.D. Océanologie Biologique, Université de Bretagne Occidentale, Brest, 197 pp.
- Cantillán, M., G. Thouzeau & M. Avendaño. 2007. Improving *Argopecten purpuratus* culture in northern Chile: results from the study of larval and post-larval stages in relation to environmental forcing. *Aquaculture*, 272: 423-443.
- Cantillán, M., M. Avendaño, G. Thouzeau & M. Le Pennec. 2005. Reproductive cycle of *Argopecten purpuratus* (Bivalvia: Pectinidae) in La Rinconada marine reserve (Antofagasta, Chile): response to environmental effects of El Niño and La Niña. *Aquaculture*, 246: 181-195.
- Characklis, W.G. & J.D. Bryers. 1990. Biofilms. In: W.G. Characklis & K.C. Marshall (eds.). *Biofilms in wastewater treatment*. John Wiley & Sons, New York, pp. 671-696.
- Cooksey, K.E. & B. Wigglesworth-Cooksey. 1995. Adhesion of bacteria and diatoms to surfaces in the sea: a review. *Aquat. Microb. Ecol.*, 9: 87-96.
- Dillon, P.S., J. Maki & R. Mitchell. 1989. Adhesion of *Enteromorpha* swarms to microbial films. *Microb. Ecol.*, 17: 39-47.
- Dorange, G. 1989. Les gamètes de *Pecten maximus* L. (Mollusca, Bivalvia). Thèse Ph.D. Océanologie Biologique, Université de Bretagne Occidentale, 158 pp.
- Dwiono, S.A. 1992. La métamorphose chez *Pecten maximus* (L.) (Mollusque, Bivalve). Thèse Ph. D. Université de Bretagne Occidentale, Brest, 79 pp.
- Encomendero, L. & E. Dupré. 2003. Efectos del sustrato en la intensidad del asentamiento de larvas de *Argopecten purpuratus* Lamarck, 1819 (Bivalvia, Pectinidae), en ambiente controlado. *Invest. Mar., Valparaíso*, 31(1): 25-32.
- Escribano, R. & P. Hidalgo. 2001. Circulación inducida por el viento en bahía de Antofagasta, norte de Chile (23°S). *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 36(1): 43-60.
- Fitt, W.K., M.P. Labane, W.C. Fuqua, M. Walch, S.L. Coon, D.B. Bonar, R. Colwell & R.M. Weiner. 1989. Factor influencing bacterial production of inducers of settlement behavior of larvae of oyster *Crassostrea gigas*. *Microb. Ecol.*, 17: 287-298.
- Gajardo, G., P. Coutteau, K. Curé, P. Sorgeloos & J.A. Beardmore. 1996. Nutritional improvement of the commercial production of marine aquaculture species through application of innovative biotechniques. In: G. Gajardo & P. Coutteau (eds.). *Improvement of the commercial production of marine aquaculture species*. Proceedings of a Workshop on Fish and Mollusc Larviculture, pp. 7-12.
- Hadfield, M.G. 1986. Settlement and recruitment of marine invertebrates: a perspective and some proposals. *Bull. Mar. Sci.*, 39: 418-425.
- Hahn, K.O. 1989. Induction of settlement in competent abalone larvae. In: K.O. Hahn (ed.). *Handbook of culture of abalone and other marine gastropods*. Boca Raton, CRC Press, Florida, pp. 101-112.
- Harvey, M., G. Miron & E. Bourget. 1955. Resettlement of Iceland scallop (*Chlamys islandica*) spat on dead hydroids: response to chemical cues from the protein-chitinous perisarc and associated microbial film. *J. Shellfish Res.*, 14: 383-388.
- Harvey, M., E. Bourget & N. Gagné. 1997. Spat settlement of the giant scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin, 1791), and other bivalve species on artificial filamentous collector coated with chitinous material. *Aquaculture*, 148: 277-298.
- Hodgson, C.A. & N. Bourne. 1988. Effect of temperature on larval development of the spiny scallop, *Chlamys*

- hastata* Sowerby, with a note on metamorphosis. *J. Shellfish Res.*, 7: 349-366.
- Jacobi, C.M. & R. Lagevin. 1996. Habitat geometry of benthic substrata: effects on arrival and settlement of mobile epifauna. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 2006: 39-54.
- Kavouras, J.H. & J.S. Maki. 2000. Biofilm effects on the attachment behavior of zebra mussels. Big Sky, Montana: ASM Workshop-Biofilm July 2000, pp. 16-20.
- Keough, M.J. & P.T. Raimondi. 1995. Responses of settling invertebrate larvae to bioorganic film: effects of different types of films. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 207: 59-78.
- Lambert, C., J.L. Nicolas, V. Cilia & S. Corre. 1998. *Vibrio pectenica* sp. nov., a pathogen of scallop (*Pecten maximus*) larvae. *Int. J. Syst. Bact.*, 48: 481-487.
- Le Penneec, M. 1997. Les écloséries de mollusques bivalves: mode d'emploi. *Comptes-Rendus Aquaculture Canada 97*. *Bull. Aquacul. Assoc., Canada*, pp. 31-37.
- Le Penneec, M., R. Robert & M. Avendaño. 1998. The importance of gonadal development on larval production in pectinids. *J. Shellfish Res.*, 17(1): 97-101.
- Lucas, A. 1982. La nutrition des larves de bivalves. *Oceanis*, 8(5): 363-388.
- MacDonald, P.D.M. & T.J. Pitcher. 1979. Age-groups from size-frequency data: a versatile and efficient method of analyzing distribution mixtures. *J. Fish. Res. Board Can.*, 36: 987-1001.
- Maki, J.D., O. Rittschof, J.D. Costlow & R. Mitchell. 1988. Inhibition of attachment of larval barnacles, *Balanus amphitrite*, by bacterial surface films. *Mar. Biol.*, 97: 199-206.
- Maki, J.D., O. Rittschof, U. Samuelsoon, A. Szewzky, B. Yule, S. Kjelleberg, J.D. Costlow & R. Mitchell. 1990. Effect of marine bacteria and their exopolymers on the attachment on barnacle cypris larvae. *Bull. Mar. Sci.*, 46: 499-511.
- Parsons, G.J., M.J. Dadswell & J.C. Roff. 1993. Influence of biofilm on settlement of sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin, 1791), in Passamaquoddy Bay, New Brunswick, Canada. *J. Shellfish Res.*, 12: 279-283.
- Pawlik, J.R. 1986. Chemical induction of larval settlement and metamorphosis in the reef-building tube worm *Phragmatopoma californica* (Polychaeta: Sabellariidae). *Mar. Biol.*, 9: 59-68.
- Pawlik, J.R. 1992. Chemical ecology of the benthic marine invertebrates. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 30: 273-335.
- Pearce, C.M. & E. Bourget. 1996. Settlement of larvae of the giant scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin), on various artificial and natural substrata under hatchery-type conditions. *Aquaculture*, 141: 201-221.
- Roman, G. & J. Cano. 1987. Pectinid settlement on collectors in Malaga, S.E. Spain, in 1985. Sixth International Pectinid Workshop. Menai-Bridge, Wales, 9-14 April 1987, 32 pp.
- Seki, T. 1980. An advanced biological engineering system for abalone seed production. International Symposium on Coastal Pacific Marine Life. Bellingham: Western Washington University, pp. 45-54.
- Soudant, P. 1995. Les phospholipides et les sterols des geniteurs et des larves de coquille Saint Jacques *Pecten maximus* (L). Relations avec la nutrition. These Ph.D. Université Bretagne Occidentale, Brest, 294 pp.
- Stotz, W. & J. Mendo. 2001. Pesquerías, repoblamiento y manejo de bancos naturales de pectínidos en iberoamérica: su interacción con la acuicultura. In: A.N. Maeda-Martinez (ed.). Los moluscos pectínidos de iberoamérica: ciencia y acuicultura. Limusa, México, pp. 357-374.
- Tsai, Yu-Li & B.H. Olson. 1991. Rapid method for direct extraction of DNA from soil and sediments. *App. Env. Microb.*, 57: 1070-1074.
- Underwood, A.J. 1997. Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University, Cambridge, 504 pp.
- Ventilla, R.F. 1982. The scallop industry in Japan. *Adv. Mar. Biol.*, 20: 310-380.
- Weiner, R., M. Walch, M.P. Labare, D. Bonar & R. Colwell. 1989. Effect of biofilms of the marine bacterium *Alteromonas colwelliana* (LST) on set of the oysters *Crasostrea gigas* (Thunberg, 1793) and *C. virginica* (Gmelin, 1791). *J. Shellfish Res.*, 8: 117-123.
- Zimmer-Faust, R.K. & M.N. Tamburri. 1994. Chemical identity and ecological implications of waterborne, larval settlement cue. *Limnol. Oceanogr.*, 39: 1075-1087.

