

REVISION

Inductores químicos del asentamiento de invertebrados marinos bentónicos: importancia y necesidad de su estudio en Chile

Chemical inducers of settlement of benthic marine invertebrates:
importance and needs of their study in Chile

SEBASTIAN R. RODRIGUEZ¹, F. PATRICIO OJEDA¹
y NIBALDO C. INESTROSA²

¹ Departamento de Ecología.

² Unidad de Neurobiología Molecular, Departamento de Biología Celular y Molecular.
Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile,
Casilla 114-D, Santiago, Chile.

RESUMEN

El asentamiento es un proceso de gran importancia en la dinámica y estructura poblacional y comunitaria de numerosas especies de invertebrados marinos bentónicos, y representa una de las fases fundamentales en el cultivo de especies de importancia comercial. Numerosas señales químicas han sido descritas como fundamentales para desencadenar la respuesta de asentamiento larval. Por un lado, inductores naturales han sido caracterizados a partir de estudios de respuesta de asentamiento como consecuencia de la presencia de sustratos naturales, y han sido asociados principalmente a tres tipos de fuentes: individuos conespecíficos, filmes microbianos y especies presa. Muchos de estos inductores han tenido una gran importancia en el desarrollo del conocimiento de la historia natural de los organismos, ya que por sí solos han sido capaces de explicar numerosos patrones observados en la naturaleza. Por otro lado, inductores artificiales han sido asociados a sustancias neurotransmisoras y sus precursores. Estos últimos inductores, junto con los estudios de los mecanismos fisiológicos de transducción de la señal exógena del asentamiento, son de gran importancia en la comprensión global de la respuesta larval, especialmente en relación a la regulación del proceso. El uso del ion potasio, como una valiosa herramienta de inducción del asentamiento, ha permitido optimizar el cultivo de numerosas especies de importancia económica. A pesar del gran impacto que las señales químicas naturales y artificiales tienen en procesos biotecnológicos y de su efecto en la determinación de patrones naturales, muy pocos estudios se han desarrollado en Chile. En este contexto, la presente revisión intenta destacar los importantes avances que se pueden lograr a partir del estudio de estas señales, con el propósito de incentivar líneas de investigación en esta área en nuestro país.

Palabras claves: Larvas competentes, inductores naturales, inductores artificiales, ion potasio.

ABSTRACT

Settlement is an important process affecting the population and community dynamics of a large number of benthic marine invertebrates, and represents one of the fundamental phases in the cultivation of commercially important species. A large number of chemical cues have been described as fundamental factors triggering the larval settlement response. On one hand, the natural inducers have been characterized from studies carried out on natural substrates, and have been mainly associated to three types of sources: conspecific individuals, microbial films and prey species. Natural inducers have had a great importance in the progress of the natural history knowledge of organisms, since they have been able to explain by themselves a large number of ecological patterns. On the other hand, the artificial inducers have been associated to neurotransmitters and their precursors. These type of inducers, in tandem with studies of the physiological transduction mechanisms of the exogenous settlement cues, have been of a great importance in the understanding of larval response, specially those related with the regulation of this process. The use of potassium ion as a valuable tool of settlement induction, has allowed to improve cultivation of several economically important species. Despite their great biotechnological and ecological impact of natural and artificial chemical cues, very few studies have been done in Chile. This paper attempts to highlight the important progresses that can be obtained from the study of these type of cues, with the aim of stimulate future research lines in this area in our country.

Key words: Competent larvae, natural inducers, artificial inducers, potassium ion.

INTRODUCCION

El asentamiento de invertebrados marinos bentónicos es un proceso de gran importancia que tiene repercusiones a nivel ecológico, fisiológico y biotecnológico. Diversos estudios han demostrado que el asentamiento es capaz de determinar patrones ecológicos al interior de poblaciones adultas, e incluso determinar la dinámica poblacional y estructura comunitaria de muchos ensamblajes marinos, al determinar *a priori* los tamaños de las poblaciones participantes (Keough 1984, Caffey 1985, Connell 1985, Gaines & Roughgarden 1985, Menge & Sutherland 1987, Fairweather 1988, Underwood & Fairweather 1989, Minchinton & Scheibling 1991). De esta manera, el asentamiento ha vuelto a ser considerado una fase importante en la historia natural de los organismos, capaz de dar respuesta a numerosas interrogantes derivadas de los patrones observados en la naturaleza. Este nuevo énfasis ha sido denominado "supply-side ecology" (Lewin 1986, Young 1987). Por otro lado, numerosos estudios a nivel fisiológico-molecular han sido llevados a cabo en orden a poder explicar los mecanismos a través de los cuales se produce la transducción de las señales provenientes del medio externo, y que estarían desencadenando los cambios conductuales y morfo-genéticos asociados al asentamiento (Morse *et al.* 1980, Trapido-Rosenthal & Morse 1986a, Baxter & Morse 1987, véase también Morse 1991). Finalmente, la sobre-explotación de especies de invertebrados marinos de importancia comercial ha hecho necesario el desarrollo de tecnologías para el cultivo de recursos bentónicos (Colwell 1983). En este contexto el proceso de asentamiento ha llegado a transformarse en una de las fases más importantes a desarrollar en el ámbito de la acuicultura, con el objeto de optimizar la eficiencia en la obtención de reclutas que puedan eventualmente transformarse en adultos (Morse 1984).

La importancia del asentamiento a nivel de distintas disciplinas del quehacer biológico es la que nos ha incentivado a presentar este análisis exhaustivo de las di-

versas señales químicas involucradas en la generación de la respuesta larval durante el desarrollo de este proceso. El estudio de estas señales no sólo permite una mejor comprensión de la problemática del asentamiento en la naturaleza y de los mecanismos de transducción de los inductores exógenos que operan durante el proceso, sino que también contribuye a mejorar y/o introducir técnicas que permiten hacer más eficiente la transición plancton-bentos de larvas de diversas especies de invertebrados marinos bentónicos.

Concordante con lo anterior, los objetivos de la presente revisión son: (1) realizar un análisis descriptivo de los diversos inductores químicos responsables de la respuesta de asentamiento en larvas pelágicas de invertebrados marinos bentónicos; (2) describir los mecanismos de transducción de señales asociados al asentamiento, y relacionarlos a la acción de los diferentes inductores químicos descritos en la literatura, y (3) resaltar aquellos aspectos ecológicos, fisiológicos y biotecnológicos asociados al estudio de estas señales químicas, con el objeto de incentivar su estudio en especies chilenas. Sólo el desarrollo de líneas de investigación en este campo permitirán una comprensión más integrada de este fenómeno en especies de nuestra costa, aspecto de gran importancia que aún no ha sido abordado del todo. El análisis se realizará considerando dos grupos fundamentales de señales químicas inductoras: (1) inductores naturales, los cuales han sido descritos a partir de observaciones de respuesta de asentamiento como consecuencia de la presencia de sustratos naturales (e.g., individuos conoespecíficos, especies presa), y (2) inductores artificiales, los cuales siendo neurotransmisores, sus precursores o iones, son capaces de generar respuestas de asentamiento larval similares a aquellas determinadas por señales provenientes de sustratos naturales. Asimismo, a lo largo del trabajo se irá destacando la importancia de las diversas sustancias inductoras en distintas disciplinas de la biología básica y aplicada, intentando lograr una integración del proceso a distintos niveles de organización (i.e., ecológico-fisiológico-molecular).

Definición de asentamiento

Poca claridad existe en la literatura en relación a la definición y utilización del término asentamiento. Esto se hace aún más evidente si se comparan diferentes aproximaciones al fenómeno. Desde una perspectiva ecológica, el asentamiento ha sido considerado como una de las fases de colonización de hábitat por parte de organismos marinos con larvas planctónicas, que incorpora una etapa de fijación al sustrato y otra de metamorfosis (Keough & Downes 1982, Keough 1986, Davis 1987, 1988, Harrold *et al.* 1991). Por otra parte, se ha considerado el asentamiento como una fase que sólo incorpora cambios conductuales macroscópicos asociados al comportamiento de búsqueda de micrositios adecuados en la superficie del sustrato (Coon *et al.* 1985, 1990a, b, Bonar *et al.* 1990). De esta manera, el así llamado "comportamiento de asentamiento" (proceso aún reversible), ha sido considerado como una fase distinta al de la fijación al sustrato y posterior metamorfosis (proceso irreversible), y en el que se suceden una serie de eventos morfogenéticos (Burke 1983, Bonar *et al.* 1990).

En el caso de invertebrados marinos bentónicos con larvas pelágicas, el término asentamiento debiera describir el proceso de incorporación de nuevos individuos al interior de las poblaciones, a través del cambio de un modo de vida pelágico a un modo de vida bentónico. En este contexto, el asentamiento puede definirse como un fenómeno que se inicia con la búsqueda de un sustrato adecuado donde residir, y que termina cuando la metamorfosis ha sido completada (véase Johnson *et al.* 1991b). En este proceso se pueden diferenciar dos fases: (1) una fase de comportamiento de búsqueda de micrositios adecuados, y (2) una fase de fijación al sustrato, que desencadena la metamorfosis. Esta proposición, además de unificar aspectos y criterios utilizados en diferentes disciplinas, resulta de gran operacionalidad, ya que las respuestas conductuales y morfogenéticas descritas pueden ser desencadenadas por distintas señales químicas inductoras provenientes del medio externo (Ines-

trosa *et al.* 1988, véase también Coon *et al.* 1990a).

Estado de competencia larval

La fase de dispersión larval planctónica que presentan la mayoría de las especies de invertebrados marinos bentónicos puede ser dividida en dos períodos: (1) uno de precompetencia, y (2) otro de competencia. La precompetencia se caracteriza por ser un período de crecimiento y desarrollo larval, mientras que la competencia es un período en el que la larva ha completado su desarrollo y posee la capacidad de responder a estímulos externos inductores del asentamiento (Burke 1983, Jablonski & Lutz 1983, Hadfield 1986, Yool *et al.* 1986, Barlow 1990, Bonar *et al.* 1990). Se ha observado que algunos factores abióticos, tales como la temperatura y la salinidad, pueden ser determinantes en la duración temporal de ambos períodos (Zimmerman & Pechenik 1991).

En la ausencia de buenos marcadores morfológicos o de comportamiento larval que indiquen con precisión el momento exacto de la adquisición del estado de competencia en numerosas especies de invertebrados marinos, el método comúnmente utilizado para su detección ha sido la observación empírica de una respuesta de asentamiento en presencia de un inductor (Pechenik 1984, Miller & Hadfield 1984, Pechenik & Heyman 1987, Coon *et al.* 1990a). Así, por ejemplo, se puede evaluar la competencia de larvas planctónicas de moluscos mediante el incremento de los niveles extracelulares de potasio (Inestrosa *et al.* 1990). Este procedimiento ha sido utilizado en diversos géneros de moluscos como *Haliotis*, *Phestilla*, *Crepidula* y *Astrea*, e incluso en el poliqueto *Phragmatopoma californica* (Fewkes) (Yool *et al.* 1986).

El conocimiento del momento exacto de la adquisición de la competencia larval es de gran relevancia, ya que puede tener repercusiones importantes a distintos niveles de organización. En este contexto, se ha observado que concentraciones elevadas del ion potasio generan un asentamiento incompleto, esto es, sedimentación sin

metamorfosis en larvas precompetentes del gastrópodo *Concholepas concholepas* (Bruguière 1789) (Inestrosa *et al.* 1992). Esta sedimentación ocurriría como consecuencia de la detención del movimiento ciliar del velo, como también ha sido descrito en larvas de otros invertebrados (Morse *et al.* 1980, Barlow 1990, Bonar *et al.* 1990). Asimismo, se ha observado que una exposición larval temprana frente al inductor es capaz de disminuir la respuesta de asentamiento (habitación), como resultado de una reducción del número de receptores larvales externos (i.e., down-regulation), en el abalón californiano *Haliotis rufescens* Swaison (Trapido-Rosenthal & Morse 1986a, b, Morse 1991). Esta observación no sólo ha sido útil en permitir una mejor comprensión de los mecanismos de regulación fisiológicos que estarían involucrados en la transducción de las señales químicas durante el asentamiento, como será analizado más adelante, sino también sería de gran importancia desde una perspectiva ecológica. En especies que presentan larvas con períodos de vida pelágica corta (como es el caso del abalón), este fenómeno sería un excelente mecanismo para mejorar la dispersión, e incluso impedir un asentamiento inmediato de la larva junto a sus progenitores, evitando así una eventual competencia posterior por espacio y alimento (véase Morse 1991). Desde un punto de vista biotecnológico, el retraso en la respuesta larval como resultado de una exposición a destiempo del inductor podría tener consecuencias negativas al disminuir la eficiencia y provocar retrasos en el proceso de cultivo.

La prolongación del período larval más allá de la adquisición fisiológica del estado competente parece ser un fenómeno recurrente en larvas de invertebrados marinos bentónicos (véase revisión de Pechenik 1990). Sin embargo, el retraso en la exposición de larvas competentes a señales inductoras podría repercutir negativamente en el crecimiento y sobrevivencia posterior de juveniles, como ha sido mostrado para dos especies de erizos irregulares (Highsmith & Emler 1986). Como consecuencias de este fenómeno se podría esperar una disminución de la producción al in-

terior de las poblaciones naturales, con subsecuentes efectos a nivel de dinámica poblacional y estructura comunitaria (dependiendo de la importancia de la especie a considerar). Así, también, una baja en la producción de reclutas, que eventualmente pueden llegar al estado adulto, podría generar pérdidas irreversibles desde un punto de vista comercial, especialmente si lo que se persigue es una optimización de la producción de semillas.

La problemática de poder determinar la competencia larval en forma rápida y precisa ha llevado en el último tiempo a la búsqueda de marcadores endógenos del desarrollo larval. En este contexto se han realizado importantes avances en el gastrópodo *Concholepas concholepas*, especie en la cual se ha intentado relacionar etapas del desarrollo larval con diversos patrones moleculares, tales como los niveles de AMPc (Campos *et al.* 1991)¹ y los niveles de proteoglicanos (Brandan *et al.* 1990, 1992). Estos estudios también han intentado relacionar estas etapas con cambios en los patrones proteicos o niveles de enzimas del sistema nervioso, como ser la razón AChE/BuChE (Inestrosa *et al.* 1988, 1990). Las buenas correlaciones encontradas hasta ahora entre las variaciones de los niveles de compuestos moleculares y la adquisición del estado de competencia y asentamiento de larvas de este molusco hacen necesario incrementar la búsqueda de otros marcadores endógenos que permitan precisar el momento de adquisición de la capacidad de respuesta frente a inductores exógenos en larvas de otros invertebrados marinos bentónicos. Esto es de gran importancia, principalmente por las repercusiones que el retraso en la adquisición del estado de competencia larval o la exposición tardía de la larva a su inductor pueden tener a nivel ecológico, fisiológico y biotecnológico, como se mencionó anteriormente.

¹ Campos EO, FC Bronfman & NC Inestrosa (1991) Niveles intracelulares de AMP cíclico (AMPc) en *Concholepas concholepas*. IV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, septiembre 1991, Coquimbo.

Inductores naturales

Como ya ha sido señalado, una vez que las larvas planctónicas han adquirido el estado de competencia, éstas pueden detectar estímulos externos y responder a través del asentamiento. Muchas de estas señales inductoras externas han sido descubiertas y estudiadas a partir de observaciones de asentamiento de larvas sobre distintos sustratos naturales. En términos generales, las señales inductoras naturales han sido asociadas a tres tipos de fuentes: (1) individuos conoespecíficos (Highsmith 1982, Hadfield 1986, Pawlik 1986, Raimondi 1991); (2) filmes microbianos (Kirchman *et al.* 1982, Morse *et al.* 1984, Maki *et al.* 1989, Pearce & Scheibling 1991), y (3) especies presa (Barnes & Gonor 1973, Morse & Morse 1984, Hadfield & Pennington 1990). Es importante destacar que estas fuentes no son exclusivas, a pesar de que una gran mayoría de los inductores naturales descritos en la literatura pueden ser incluidas en estas categorías.

Inductores asociados a individuos conoespecíficos

El asentamiento inducido por adultos conoespecíficos ha sido descrito en diversos grupos de invertebrados marinos bentónicos, tales como poliquetos (Jensen & Morse 1984, Pawlik 1986), sipuncúlidos (Hadfield 1986), equinoideos (Highsmith 1982, Burke 1984), moluscos (Akashige *et al.* 1981), cirripedios (Knigh-Jones 1953, Raimondi 1988, 1991, Bushek 1988) y ostras (Hidu *et al.* 1978).

Existen numerosos ejemplos de determinación de patrones gregarios en la naturaleza por efecto de una inducción de asentamiento por parte de individuos de la misma especie. Uno de ellos lo representa el poliqueto *Phragmatopoma lapidosa californica*, en el cual se ha observado que ácidos grasos libres (e.g., ác. palmitoleico, ác. linoleico) asociados a la matriz de arena y cemento de los tubos, que los adultos construyen y en los cuales viven, serían los responsables de su asentamiento larval (Pawlik 1986). Este autor ha observado

incluso una respuesta altamente especie-específica y restringida al género *Phragmatopoma*. A pesar de ello, no se ha descartado que biomoléculas hidrofílicas también puedan estar involucradas en la inducción. Es así que se ha postulado como hipótesis alternativa la posibilidad de que una proteína polimérica (rica en residuos de dihidroxifenilalanina) sea la verdadera responsable del asentamiento de larvas de este organismo (Jensen & Morse 1990). Otro ejemplo lo representan los erizos irregulares *Dendraster excentricus* (Eschscholtz) y *Echinarachnius parma* (Lamarck), en los cuales se ha demostrado que un péptido de bajo peso molecular, producido por los adultos y secuestrado por la arena en la cual viven enterrados, sería la señal química inductora del asentamiento (Highsmith 1982, Burke 1984, Pearce & Scheibling 1990b). En ambos casos el asentamiento preferencial en zonas asociadas a la presencia de adultos de la misma especie estaría generando el patrón de distribución agregada que estas poblaciones presentan en la naturaleza (e.g., Highsmith 1982). Finalmente, Raimondi (1991) ha concluido que la inducción del asentamiento en larvas del cirripedio *Chthamalus anisopoma* se asociaría a la presencia de adultos conoespecíficos, al observar asentamiento sobre parches de adultos trasplantados fuera de los límites de su distribución (sitios en los cuales no ocurriría asentamiento previo al trasplante). A pesar de que la presencia de adultos de la misma especie sería un estímulo positivo para larvas de cirripedios, densidades de cobertura superiores a cierto umbral podrían provocar una disminución del asentamiento por reducción del espacio libre (Chabot & Bourget 1988).

Como se puede deducir del análisis anterior, la existencia de inductores naturales del asentamiento asociados a individuos de la misma especie puede ser de gran importancia desde un punto de vista ecológico, ya que por sí solos pueden explicar numerosos patrones de distribución observados en la naturaleza. En este contexto, la determinación de un tipo de distribución agregada podría tener importantes repercusiones, no sólo al aumentar la probabilidad

de fecundación en el caso de especies que liberan sus gametos al medio (Pearse & Arch 1969, Russo 1979, Pawlik 1986), o que presentan fecundación interna (e.g., cirripedios), sino que también al actuar como un eficaz mecanismo de defensa principalmente contra depredadores (Garnick 1978, Bernstein *et al.* 1981).

Inductores asociados a films microbianos

Films microbianos de distinta naturaleza han sido descritos como importantes inductores del asentamiento de larvas de invertebrados marinos bentónicos. En este sentido se ha observado inducción tanto por films de diatomeas y cianobacterias (Aka-shige *et al.* 1981, Morse *et al.* 1984), como por films bacterianos (Kirchman *et al.* 1982). Un ejemplo de lo anterior lo representa el alto porcentaje de asentamiento observado en presencia de films de bacterias y diatomeas en larvas del erizo *Loxechinus albus* (Molina 1782) (González *et al.* 1987, Bustos *et al.* 1991).

La inducción por parte de bacterias ha sido ampliamente la más estudiada. En este contexto, un efecto positivo por parte de este tipo de films ha sido observado en numerosas especies de invertebrados marinos bentónicos, tales como poliquetos (Kirchman *et al.* 1982), cirripedios (Maki *et al.* 1988), briozoos (Maki *et al.* 1989) y ostras (Bonar *et al.* 1990) entre otros. La respuesta de asentamiento por parte de estos films estaría generada al parecer por la presencia de polisacáridos o glicoproteínas extracelulares unidos a la pared bacteriana (Kirchman *et al.* 1982, Hadfield 1986), o bien compuestos solubles liberados por estos films (Bonar *et al.* 1990). Bonar *et al.* (1990) han observado que mientras los primeros favorecen la metamorfosis de larvas de ostras del género *Crassostrea*, el compuesto soluble induce su comportamiento de búsqueda sobre el sustrato (véase también Coon *et al.* 1990b). La inducción del comportamiento de búsqueda de micrositios en ostras está dado por amoníaco (excretado por la mayoría de las bacterias y animales marinos, ver Bonar *et al.* 1990); y por L-DOPA (Coon

et al. 1990a, b), el cual provendría de films bacterianos o incluso individuos conespecíficos (Coon *et al.* 1985). El hecho de que el amoníaco sea un importante inductor del comportamiento de búsqueda de sustrato para la fijación, hace pensar que más allá de la presencia o ausencia de films bacterianos, sistemas ecológicos o áreas al interior de éstos con alta actividad biológica, podrían ser de gran importancia al permitir que este compuesto alcanzara niveles suficientemente altos para generar la respuesta larval (Coon *et al.* 1990b). Es importante señalar que a pesar de que se ha observado en forma recurrente un incremento del potencial inductivo de asentamiento por parte de films bacterianos de mayor edad (Maki *et al.* 1989, Fitt *et al.* 1990, Pearce & Scheibling 1991), también se han descrito casos en los cuales se ha observado un efecto contrario (Maki *et al.* 1988). En este sentido se ha propuesto como probable que la composición específica del film sea la responsable definitiva de un efecto inductivo o inhibitorio dado por la edad del film (Maki *et al.* 1989).

Recientemente ha sido propuesto que los compuestos que inducen el asentamiento de numerosas especies, y que han sido tradicionalmente asociados a la superficie de algas crustosas coralinas (Morse & Morse 1984, Morse *et al.* 1984), no sean producidas por éstas, sino por bacterias asociadas a ellas (Johnson *et al.* 1991a, b). Este punto es de gran importancia, ya que pone en evidencia la necesidad de análisis más exhaustivos acerca de los verdaderos responsables de la inducción del asentamiento en larvas de invertebrados marinos bentónicos. En este sentido, muchos factores físicos (e.g., discontinuidad de la superficie del sustrato, velocidad del flujo de agua, contorno superficial), que han sido relacionados con el asentamiento (Crisp & Barnes 1954, Wethey 1986, Carleton & Sammarco 1987), podrían estar asociados a la presencia de films bacterianos, siendo estos últimos los verdaderos determinantes de los patrones ecológicos de asentamiento observados en la naturaleza.

Inductores asociados a especies presa

Se conocen numerosas especies cuyas larvas son inducidas a asentarse por organismos que van a constituir el alimento de los reclutas o adultos. En este sentido, una serie de especies herbívoras son inducidas en su respuesta de asentamiento por algas crustosas, tales como gastrópodos (Morse 1990, Yool *et al.* 1986), chitones (Barnes & Gonor 1973), patelas (Steneck 1982) y erizos (Cameron & Hinegardner 1974, Rowley 1989, Pearce & Scheibling 1990a, 1991). El abalón californiano *Haliotis rufescens* ha sido el molusco más estudiado en este ámbito. Para este gastrópodo se ha observado un asentamiento específico sobre algas crustosas coralinas de los géneros *Lithothamnium* y *Lithophyllum*, o sobre algas crustosas no coralinas del género *Hildebrandia* (Morse *et al.* 1979, Morse & Morse 1984, Barlow 1990). En ambos casos el inductor se encontraría disponible en la superficie de estas algas, y correspondería a un oligopéptido que imitaría en su acción al neurotransmisor ácido γ -aminobutírico (GABA), uniéndose a receptores específicos de éste (Morse 1990). La inducción de asentamiento en larvas del erizo *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson) estaría dada por la misma fracción parcialmente purificada del péptido extraído de la pared de las algas crustosas coralinas (Rowley 1989). Actividad inductora también se ha observado en algas foliosas rojas de los géneros *Laurencia*, *Gigartina* y *Porphyra*; sin embargo, las moléculas responsables de la respuesta de asentamiento han sido encontradas en extractos y no disponibles en la superficie de ellas (Morse & Morse 1984).

En especies carnívoras se ha descrito asentamiento en respuesta a señales provenientes de importantes organismos presa en los nudibranquios *Phestilla sibogae* Bergh, *Onchidoris bilamellata* (L.) y *Adalaria proxima* (Alder & Hancock) (Todd 1985, Pennington & Hadfield 1989, Hadfield & Pennington 1990, Todd *et al.* 1991). En el caso de *P. sibogae*, el inductor correspondería a una pequeña mo-

lécula polar y soluble derivada del coral *Porites compressa*, por lo que no sería necesario un contacto directo entre la larva y el sustrato inductor para generar la respuesta de asentamiento (Hadfield 1986, Hadfield & Pennington 1990). Esto último también se ha observado en el sipuncúlido *Golfingia misakiana* (Hadfield 1986).

El asentamiento inducido por especies presa sería un excelente mecanismo para favorecer la sobrevivencia y crecimiento de los recién asentados, al representar una fuente inmediata de alimento. Es por esta razón que la búsqueda de este tipo de señales tan importantes en la determinación de patrones naturales debe partir de un conocimiento básico de aspectos ecológicos de la especie a considerar (e.g., patrones de reclutamiento, dieta de adultos y juveniles). En este contexto, podría esperarse que algas crustosas y macroalgas juveniles fueran potenciales inductores del asentamiento de larvas del erizo *L. albus* al ser importantes componentes de la dieta de los reclutas (Guisado & Castilla 1987). Asimismo, algunos invertebrados como *Pyura*, *Balanus* y *Perumytilus* podrían presentar asociadas sustancias químicas inductoras del asentamiento de larvas del loco *C. concholepas*, ya que se ha observado un reclutamiento preferencial sobre estas especies presa (Castilla *et al.* 1979, Gallardo 1979).

El hecho de que Hadfield (1984) no encontrara ningún inductor artificial más rápido y eficiente en su accionar que el inductor natural derivado de la especie presa del nudibranquio *P. sibogae*, nos señala que la búsqueda de señales naturales no sólo es importante desde una perspectiva ecológica, sino que también puede tener un gran impacto biotecnológico, al mejorar la eficiencia del proceso de cultivo.

Por último, es importante destacar que también se han descrito señales naturales inhibitorias del asentamiento (Davis & Wright 1990, Davis *et al.* 1991). En este contexto, en numerosas especies el asentamiento podría ser el resultado de un rechazo a señales inhibitorias por parte de la larva, más que una respuesta positiva frente a señales inductivas (Woodin 1991).

Inductores artificiales

Principalmente a partir de información recopilada en los sistemas naturales se han podido detectar un sinnúmero de sustancias que siendo neurotransmisores, sus precursores o iones, son capaces de inducir el asentamiento en larvas de diversas especies de invertebrados marinos bentónicos. Esto último estaría indicando de alguna manera la existencia de receptores neuronales, al menos en los procesos iniciales que desencadenan esta respuesta (Yool *et al.* 1986). Como se verá más adelante, estudios de estos inductores artificiales han sido de gran importancia ya que han permitido sugerir posibles mecanismos a través de los cuales la transducción de las señales químicas externas podría estar ocurriendo.

L-DOPA y catecolaminas

El L- β -3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) y las catecolaminas (dopamina, adrenalina y noradrenalina) son importantes sustancias inductoras del asentamiento de diversas especies de invertebrados marinos. Estos compuestos son derivados de tirosina, que cumplen importantes funciones hormonales, y que participan en la formación de pigmentos e importantes proteínas adhesivas y estructurales. Derivados de tirosina son capaces de inducir el asentamiento de especies como la ostra *Crassostrea virginica* (Gmelin) y el mitílido *Mytilus edulis* L. (Pawlik 1990). En el caso de la especie congénica *C. gigas* (Thunberg) se ha observado que mientras L-DOPA induce el comportamiento de búsqueda de micrositios adecuados sobre el sustrato, la adrenalina y la noradrenalina sólo inducen la metamorfosis posterior (Bonar *et al.* 1990, Coon *et al.* 1990a). A partir de esta información se ha formulado un modelo que explicaría la transducción de la señal externa (ver Fig. 6 en Bonar *et al.* 1990). En este contexto, L-DOPA proveniente del medio externo se incorporaría al interior de la larva, y transformándose en dopamina actuaría a nivel de receptores dopaminérgicos. Este fenómeno, apoyado por el hecho de que

estas especies de ostras poseen una respuesta tardía a las catecolaminas con respecto a la estimulación dopaminérgica, sugiere que la activación de la metamorfosis estaría dada por una liberación endógena de catecolaminas con posterioridad a la cementación larval (Coon *et al.* 1985, Bonar *et al.* 1990, véase también Pawlik 1990). Más aún, se ha observado que los niveles endógenos de noradrenalina cambian dramáticamente durante el desarrollo larval, duplicándose justo antes de la adquisición de la competencia metamórfica (Bonar *et al.* 1990). Estas catecolaminas al parecer actuarían en receptores adrenérgicos del tipo α -1, lo que lleva a la hipótesis de que el segundo mensajero inositol-fosfato, mediado por calcio, operaría en la transducción de la señal adrenérgica. Sin embargo, esto aún no ha sido demostrado (Bonar *et al.* 1990).

El L-DOPA y la adrenalina también han sido descritos como inductores en el bivalvo *Pecten maximus* (Pawlik 1990), mientras que la dopamina ha presentado poder inductivo en el gastrópodo *Ilyanassa obsoleta* (Say) (Levantine & Bonar 1986)² y el erizo irregular *Dendraster excentricus* (Burke 1983). Este último autor ha indicado que la señal química endógena podría actuar directamente sobre los tejidos de la larva durante la metamorfosis, o indirectamente causando la liberación de sustancias adicionales (e.g., dopamina) que estimularían los tejidos con efectores metamórficos. Esta hipótesis ha sido apoyada por estudios que señalan que la reserpina (sustancia que depleta de catecolaminas los tejidos de vertebrados) interfiere con la metamorfosis, inhibiéndola (véase Burke 1983).

Acido γ -aminobutírico (GABA)

El GABA, que actúa como neurotransmisor inhibitorio provocando la hiperpolarización de membranas postsinápticas mediante un incremento en la permeabilidad de ésta a

² Levantine PL & DB Bonar (1986) Metamorphosis of *Ilyanassa obsoleta*: natural and artificial inducers. *American Zoologist* 26: 14A.

iones cloro, es otro potente inductor artificial del asentamiento de numerosos invertebrados marinos bentónicos. Así, por ejemplo, el GABA y moléculas análogas (e.g., ácido γ -hidroxibutírico, ácido γ -amino-n-valérico) son importantes inductores en el abalón *H. rufescens* (Morse *et al.* 1979, Trapido-Rosenthal & Morse 1986a, b, Morse 1991). La inducción del asentamiento por GABA dependería de la depolarización de células accesibles al medio externo, mediada por un eflujo neto de cloro, ya que se ha observado que esta inducción es bloqueada por altas concentraciones externas de cloro o bloqueadores de su flujo (e.g., sulfonil isotiocianostilbeno), pero no por bloqueadores de canales de potasio (e.g., tetraetilamonio) (Baloun & Morse 1984).

La activación de los canales aniónicos dependería de enzimas fosforiladas por proteínas quinasas A, las cuales, a su vez, serían activadas por AMPc (Morse *et al.* 1980, Trapido-Rosenthal & Morse 1986b). Los niveles de este último serían aumentados por la activación de la adenilato ciclasa por la unión del inductor exógeno al receptor (ver Fig. 4 en Baxter & Morse 1987, véase también Morse 1991). En este modelo de transducción de la señal exógena se ha propuesto, incluso, la existencia de una vía facilitadora de la respuesta de asentamiento (Trapido-Rosenthal & Morse 1986a). Por ejemplo, se ha encontrado que la larva de *H. rufescens* exhibe una amplificación de su sensibilidad, como respuesta a la presencia de lisina y aminoácidos relacionados (Baxter & Morse 1987). El receptor activado por lisina activaría una proteína G, la cual actuaría sobre una fosfolipasa asociada a la membrana. Esta última hidrolizaría una molécula anclada a la membrana liberando diacilglicerol e inositol trifosfato (IP_3). El primero activaría una proteína quinasa C, la cual fosforilaría a las proteínas involucradas en el proceso de amplificación (ver Fig. 4 en Baxter & Morse 1987, véase también Morse 1991).

Desde una perspectiva ecológica, la interacción de las vías de transducción y amplificación aumentaría enormemente la sensibilidad larval, permitiendo respuestas

de asentamiento en áreas potencialmente favorables pero con bajas concentraciones del inductor natural (Morse 1990), o incluso favoreciendo el proceso en áreas costeras ricas en nutrientes (los aminoácidos están contenidos en la llamada materia orgánica disuelta) (Trapido-Rosenthal & Morse 1986a).

Otras especies en las cuales se ha observado inducción por GABA son los moluscos *Mopalia muscosa*, *Tonicella lineata* y *Katherina tunicata* (Morse *et al.* 1979, Morse *et al.* 1984, Pawlik 1990) y el erizo *Strongylocentrotus droebachiensis* (Müller) (Pearce & Scheibling 1990a).

Colina y derivados

La colina es un conocido precursor del neurotransmisor acetilcolina, la cual juega un importante papel en las sinapsis químicas neuronales y neuromusculares tanto en vertebrados como en invertebrados. Ha sido observado que la colina y algunos derivados (e.g., succinilcolina) son capaces de inducir asentamiento completo en los gastrópodos *Phestilla sibogae* e *Ilyanassa obsoleta* (Pawlik 1990), y la ostra *Crasostrea gigas* (Coon *et al.* 1985); y un asentamiento incompleto en el poliqueto *Phragmatopoma lapidosa californica* (Pawlik 1990).

Al parecer los derivados de colina no actuarían en receptores externos, sino que activarían directamente el sistema nervioso como ha sido mostrado en *P. lapidosa californica* (Pawlik 1990). Esto sería posible debido a que las larvas serían capaces de ingresar colina en forma activa desde el medio externo (Hadfield & Pennington 1990). El hecho de que no se haya observado competencia por el mismo receptor entre el inductor natural y la colina, ni tampoco que larvas precompetentes se habitúen a derivados de colina en el caso del nudibranquio *P. sibogae*, sugiere que los sitios de acción de ambos tipos de inductores serían diferentes (Hirata & Hadfield 1986). Asimismo, se han descrito diversas hipótesis de cómo la colina actuaría a nivel del sistema nervioso en larvas de este gastrópodo: (1) actuando directamente en receptores internos de acetilcolina; (2) par-

tipicando como precursor en su biosíntesis, y/o (3) estimulando la síntesis y liberación de catecolaminas como neurotransmisores (Hirata & Hadfield 1986, Hadfield & Pennington 1990).

Iones

Se puede deducir del modelo de transducción de señal descrito para el abalón *Haliotis rufescens* y de la información obtenida en otros estudios, que el sistema nervioso estaría involucrado en la iniciación del proceso de asentamiento en al menos un gran número de invertebrados marinos bentónicos (Burke 1983, Yool et al. 1986). Dado que la conducción de impulsos eléctricos en los tejidos nerviosos depende de la mantención de un potencial de reposo a través de la membrana celular, el cual es función de la permeabilidad de la membrana al potasio, sodio y cloro (Kuffler et al. 1984), resulta de gran interés el análisis del efecto de iones y otros compuestos que afectan su transporte transmembrana sobre el asentamiento (Barlow 1990). Se ha observado, por ejemplo, que el calcio estaría implicado en la transducción de señales morfogenéticas en el poliqueto *Phragmatopoma californica* (Yool et al. 1986), y que el Rb^+ y el Cs^+ inducen el asentamiento del molusco *Crepidula fornicata* (L.) (Pechenik & Heyman 1987). Sin embargo, el ion más estudiado y con el que se han logrado mejores resultados es el potasio. Se han descrito numerosas especies cuyas larvas metamorfosean en presencia de una concentración elevada de potasio, tales como los moluscos *Phestilla sibogae*, *Astraea undosa*, *Haliotis rufescens* (Yool et al. 1986), *Crepidula fornicata* (Pechenik & Heyman 1987), *Crepidula plana* Say (Zimmerman & Pechenik 1991), *Adalaria proxima* (Todd et al. 1991), *Concholepas concholepas* (Inestrosa et al. 1992), y el poliqueto *Phragmatopoma lapidosa californica* (Yool et al. 1986). Este ion actuaría depolarizando células externas receptoras de estímulos inductivos y su acción dependería de su concentración y del tiempo de exposición (Baloun & Morse 1984).

Es así que se ha observado que el potasio, hasta concentraciones de 20 mM, depolariza la membrana epitelial de la larva desencadenando el proceso de metamorfosis (Yool et al. 1986, Pechenik & Heyman 1987, Zimmerman & Pechenik 1991, Inestrosa et al. 1992).

Experimentos han mostrado que el tetraetilamonio (bloqueador de canales de potasio) inhibe la metamorfosis en el abalón *H. rufescens* en respuesta a potasio (Baloun & Morse 1984). Sin embargo, en contraposición a lo anterior, se ha observado insensibilidad a este compuesto en otras especies como el nudibranquio *Phestilla sibogae* y el poliqueto *Phragmatopoma lapidosa californica* (Yool et al. 1986). Yool et al. (1986) han sugerido que es probable que existan distintos tipos de canales de potasio a través de los cuales éste actúa.

A pesar de que el potasio se ha transformado en una excelente herramienta de inducción artificial del asentamiento de larvas de numerosas especies de invertebrados marinos, su eficacia no es absoluta. Nell & Holliday (1986) sólo obtuvieron un 19% de metamorfosis con una concentración elevada de potasio en el bivalvo *Saccostrea commercialis*, mientras que Eyster & Pechenik (1987) no observaron respuesta en larvas de *Mytilus edulis*. Asimismo, Rittschof et al. (1986) encontraron un efecto inhibitorio de una concentración elevada de potasio en larvas del cirripedio *Balanus amphitrite* Darwin. A pesar de ello, el hecho de que este ion actúe directamente sobre los canales iónicos, saltándose de esta manera la trama intermediaria de mensajeros entre éstos y el receptor de la señal exógena, lo hacen un compuesto eficiente en el cultivo de muchas especies de importancia comercial, como se mostró anteriormente. Es por eso que desde una perspectiva biotecnológica el estudio de señales artificiales y sus mecanismos de transducción resultan de vital importancia en la optimización de técnicas de inducción del asentamiento en sistemas de cultivo, y permiten dar pistas sobre la naturaleza de los inductores naturales.

CONCLUSIONES

Como se ha señalado en esta revisión, el estudio de los inductores químicos del asentamiento de larvas de invertebrados marinos bentónicos es de gran importancia por las consecuencias que éstos tienen tanto a nivel ecológico como biotecnológico. A partir del estudio de señales naturales ha sido posible entender patrones ecológicos de distribución espacial de numerosas especies, por lo que éstas representan una nueva perspectiva a partir de la cual se pueden llevar a cabo estudios ecológicos de esta índole.

Por otra parte, el análisis de los mecanismos de transducción de señales y su regulación, como así también el estudio de inductores artificiales, han permitido una mejor comprensión de la respuesta larval a señales exógenas y, por tanto, mejorar la eficiencia del asentamiento en sistemas de cultivo.

A pesar de la importancia del estudio de las señales naturales y artificiales a nivel de distintas disciplinas del quehacer biológico, éstas no han sido consideradas en los estudios relacionados con el proceso de asentamiento larval de especies de invertebrados chilenos. Es por esta razón que para poder realizar avances más trascendentes en esta problemática es necesario: (1) incrementar la búsqueda de marcadores endógenos que permitan precisar el momento de adquisición de la competencia larval en invertebrados marinos bentónicos de nuestra costa; (2) reconocer sustratos naturales de reclutamiento y determinar su poder inductivo en el asentamiento a través de protocolos observacionales y experimentales, y (3) purificar y caracterizar moléculas inductoras, con el fin de utilizarlas (junto a sustancias análogas) en sistemas de cultivo y en el estudio de los mecanismos fisiológicos involucrados en la inducción del asentamiento y respuesta larval. El desarrollo de estas líneas de investigación no sólo serán un importante aporte en la explicación de patrones naturales observados en especies de nuestra costa, sino que también permitirán mejorar la eficiencia en el manejo de los recursos bentónicos a través del diseño de técnicas efec-

tivas en los sistemas de cultivo. Esto último es de gran importancia, dada la fuerte sobreexplotación a que han sido sometidas muchas especies chilenas (e.g., loco, erizo, ostión). Finalmente, el estudio de las señales inductoras del asentamiento en especies de nuestra costa, tanto a nivel ecológico como fisiológico-molecular, permitirán avanzar hacia una mejor comprensión de la historia natural de los invertebrados marinos bentónicos chilenos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Proyecto Sectorial Recurso "Loco" FONDECYT 3502-89 a N.C.I., y el Proyecto FONDECYT 0753-91 a F.P.O.

LITERATURA CITADA

- AKASHIGE S, T SEKI, H KAN-NO & T NOMURA (1981) Effects of γ -aminobutyric acid and certain neurotransmitters on the settlement and the metamorphosis of the larvae of *Haliotis discus hannai* Ino (Gastropoda). Bulletin Tohoku Regional Fishery Research Laboratory 43: 37-45.
- BALOUN AJ & DE MORSE (1984) Ionic control of settlement and metamorphosis in larval *Haliotis rufescens* (Gastropoda). Biological Bulletin 167: 124-138.
- BARLOW LA (1990) Electrophysiological and behavioral responses of larvae of the red abalone (*Haliotis rufescens*) to settlement-inducing substances. Bulletin of Marine Science 46: 537-554.
- BARNES JR & JJ GONOR (1973) The larval settling response of the lined chiton *Tonicella lineata*. Marine Biology 20: 259-264.
- BAXTER G & DE MORSE (1987) G protein and diacylglycerol regulate metamorphosis of planktonic molluscan larvae. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 84: 1867-1870.
- BERNSTEIN BB, BE WILLIAMS & KH MANN (1981) The role of behavioral responses to predators in modifying urchins" (*Strongylocentrotus droebachiensis*) destructive grazing and seasonal foraging patterns. Marine Biology 63: 39-49.
- BONAR DB, SL COON, M WALCH, RM WEINER & W FITT (1990) Control of oyster settlement and metamorphosis by endogenous and exogenous chemical cues. Bulletin of Marine Science 46: 484-498.
- BRANDAN E, M GONZALEZ, R GONZALEZ-PLAZA & NC INESTROSA (1990) Increase of macromolecule synthesis after hatching of *Concholepas concholepas* veliger larvae: effect of sulfate in the synthesis of proteoglycans. Comparative Biochemistry and Physiology 96B: 613-619.
- BRANDAN E, M GONZALEZ, NC INESTROSA, C TEMBLAY & R URREA (1992) High molecular weight proteoglycan is differentially expressed during development of the mollusc *Concholepas concholepas*. The Journal of Experimental Zoology (en prensa).

- BURKE RD (1983) Neural control of metamorphosis in *Dendraster excentricus*. *Biological Bulletin* 164: 176-188.
- BURKE RD (1984) Pheromonal control of metamorphosis in the Pacific sand dollar, *Dendraster excentricus*. *Science* 225: 442-443.
- BUSHEK D (1988) Settlement as a major determinant of intertidal oyster and barnacle distributions along a horizontal gradient. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 122: 1-18.
- BUSTOS E, C GODOY, S OLAVE & R TRONCOSO (1991) Investigaciones en el erizo chileno *Loxechinus albus* (Molina 1782). En: Instituto de Fomento Pesquero (ed). *Desarrollo de técnicas de producción de semillas y repoblación de recursos bentónicos*: 1-108. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo.
- CAFFEY HM (1985) Spatial and temporal variation in settlement and recruitment of intertidal barnacles. *Ecological Monographs* 55: 313-332.
- CAMERON RA & R HINEGARDNER (1974) Initiation of metamorphosis in laboratory cultured sea urchins. *Biological Bulletin* 146: 335-342.
- CARLETON JH & PW SAMMARCO (1987) Effects of substratum irregularity on success of coral settlement: quantification by comparative geomorphological techniques. *Bulletin of Marine Science* 40: 85-98.
- CASTILLA JC, CH GUIASADO & J CANCINO (1979) Aspectos ecológicos y conductuales relacionados con la alimentación de *Concholepas concholepas* (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). *Biología Pesquera Chile* 12: 99-114.
- CHABOT R & E BOURGET (1988) Influence of substratum heterogeneity and settled barnacle density on the settlement of cypris larvae. *Marine Biology* 97: 45-56.
- COLWELL RR (1983) Biotechnology in the marine sciences. *Science* 222: 19-24.
- CONNELL JH (1985) The consequences of variation in initial settlement vs. post-settlement mortality in rocky intertidal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 93: 11-45.
- COON SL, DB BONAR & RM WEINER (1985) Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), by L-DOPA and catecholamines. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 94: 211-221.
- COON SL, WK FITT & DB BONAR (1990a) Competence and delay of metamorphosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Biology* 106: 379-387.
- COON SL, M WALCH, WK FITT, RM WEINER & DB BONAR (1990b) Ammonia induces settlement behavior in oyster larvae. *Biological Bulletin* 179: 297-303.
- CRISP DJ & H BARNES (1954) The orientation and distribution of barnacles at settlement with particular reference to surface contour. *Journal of Animal Ecology* 23: 142-162.
- DAVIS AR (1987) Variation in recruitment of the subtidal colonial ascidian *Podoclavella cylindrica* (Quoy & Gaimard): the role of substratum choice and early survival. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 106: 57-71.
- DAVIS AR (1988) Effects of variation in initial settlement on distribution and abundance of *Podoclavella moluccensis* Sluiter. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 117: 157-167.
- DAVIS AR & AE WRIGHT (1990) Inhibition of larval settlement by natural products from the ascidian, *Eudistoma olivaceum* (Van Name). *Journal of Chemical Ecology* 16: 1349-1357.
- DAVIS AR, AJ BUTLER & I ALTENA (1991) Settlement behaviour of ascidian larvae: preliminary evidence for inhibition by sponge allelochemicals. *Marine Ecology Progress Series* 72: 117-123.
- EYSTER LS & JA PECHENIK (1987) Attachment of *Mytilus edulis* L. larvae on algal and byssal filaments is enhanced by water agitation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 114: 99-110.
- FAIRWEATHER PG (1988) Consequences of supply-side-ecology: manipulating the recruitment of intertidal barnacles affects the intensity of predation upon them. *Biological Bulletin* 175: 349-354.
- FITT WK, SL COON, M WALCH, RM WEINER, RR COLWELL & DB BONAR (1990) Settlement behavior and metamorphosis of oyster larvae (*Crassostrea gigas*) in response to bacterial supernatants. *Marine Biology* 106: 389-394.
- GAINES S, S BROWN & J ROUGHGARDEN (1985) Spatial variation in larval concentrations as a cause of spatial variation in settlement for the barnacle, *Balanus glandula*. *Oecologia (Berl.)* 67: 267-272.
- GALLARDO C (1979) El ciclo vital del Muricidae *Concholepas concholepas* y consideraciones sobre sus primeras fases de vida en el bentos. *Biología Pesquera Chile* 12: 79-89.
- GARNICK E (1978) Behavioral ecology of *Strongylocentrotus droebachiensis* (Müller) (Echinodermata: Echinoidea). *Aggregating behavior and chemotaxis. Oecologia (Berl.)* 37: 77-84.
- GONZALEZ L, J CASTILLA & CH GUIASADO (1987) Effect of larval diet and rearing temperature on metamorphosis and juvenile survival of the edible sea urchin *Loxechinus albus*, Molina 1782 (Echinoidea: Echiniadae). *Journal of Shellfish Research* 6: 104-115.
- GUIASADO CH & JC CASTILLA (1987) Historia de vida, reproducción y avances en el cultivo del erizo comestible *Loxechinus albus* (Molina, 1782) (Echinoidea; Echiniadae). En: Arana P (ed) *Manejo y Desarrollo Pesquero*: 59-68. Escuela de Ciencias del Mar, Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso.
- HADFIELD MG (1984) Settlement requirement of molluscan larvae: new data on chemical and genetic roles. *Aquaculture* 39: 283-298.
- HADFIELD MG (1986) Settlement and recruitment of marine invertebrates: a perspective and some proposals. *Bulletin of Marine Science* 39: 418-425.
- HADFIELD MG & JT PENNINGTON (1990) Nature of the metamorphic signal and its internal transduction in larvae of the nudibranch *Phestilla sibogae*. *Bulletin of Marine Science* 46: 455-464.
- HARROLD C, S LISIN, KH LIGHT & S TUDOR (1991) Isolating settlement from recruitment of sea urchins. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 147: 81-94.
- HIDU H, GV WILLIAM & FP VEITCH (1978) Gregarious setting in European and American oysters: response to surface chemistry versus waterborne pheromones. *Proceedings of the National Shellfish Association* 68: 11-16.
- HIGHSMITH RC (1982) Induced settlement and metamorphosis of sand dollar (*Dendraster excentricus*)

- larvae in predator-free sites: adult sand dollar beds. *Ecology* 63: 329-337.
- HIGHSMITH RC & RB EMMETT (1986) Delayed metamorphosis: effect on growth and survival of juvenile sand dollars (Echinoidea: Clypeasteroidea). *Bulletin of Marine Science* 39: 347-361.
- HIRATA KY & MG HADFIELD (1986) The role of choline in metamorphic induction of *Phestilla* (Gastropoda: Nudibranchia). *Comparative Biochemistry and Physiology* 84C: 15-21.
- INESTROSA NC, R GONZALEZ, MA GONZALEZ, A PERELMAN, JP SANCHEZ, C KOENIG & E BRANDAN (1988) Investigaciones biotecnológicas en larvas de "Loco", *Concholepas concholepas* (Bruguiera, 1789) (Gastropoda: Muricidae). *Biología Pesquera Chile* 17: 73-94.
- INESTROSA NC, R LABARCA, A PERELMAN, EO CAMPOS, M GONZALEZ, E BRANDAN, JP SANCHEZ & R GONZALEZ-PLAZA (1990) Aspectos biotecnológicos en larvas de "Loco". *Archivos de Biología y Medicina Experimental* 23: 179-186.
- INESTROSA NC, M GONZALEZ, A KALERGIS & EO CAMPOS (1992) Metamorfosis y desarrollo de *Concholepas concholepas* (Mollusca; Gastropoda; Muricidae) ("Loco"): aspectos celulares y moleculares. *Revista de Biología Marina, Valparaíso* (en prensa).
- JABLONSKI D & RA LUTZ (1983) Larval ecology of marine benthic invertebrates: paleobiological implications. *Biological Reviews* 58: 21-89.
- JENSEN RA & DE MORSE (1984) Intraspecific facilitation of larval recruitment: gregarious settlement of the polychaete *Phragmatopoma californica* (Fewkes). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 83: 107-126.
- JENSEN RA & DE MORSE (1990) Chemically induced metamorphosis of polychaete larvae in both the laboratory and the ocean environment. *Journal of Chemical Ecology* 16: 911-930.
- JOHNSON CR, DG MUIR & AL REYSENBACH (1991a) Characteristic bacteria associated with surfaces of coralline algae: a hypothesis for bacterial induction of marine invertebrate larvae. *Marine Ecology Progress Series* 74: 281-294.
- JOHNSON CR, DC SUTTON, RR OLSON & R GIDDINS (1991b) Settlement of crown-of-thorns starfish: role of bacteria on surfaces of coralline algae and a hypothesis for deepwater recruitment. *Marine Ecology Progress Series* 71: 143-162.
- KEOUGH MJ (1984) Dynamics of the epifauna of the bivalve *Pinna bicolor*: interactions among recruitment, predation, and competition. *Ecology* 65: 677-688.
- KEOUGH MJ (1986) The distribution of a bryozoan on seagrass blades: settlement, growth, and mortality. *Ecology* 67: 846-857.
- KEOUGH MJ & BJ DOWNES (1982) Recruitment of marine invertebrates: the role of active larval choices and early mortality. *Oecologia (Berl.)* 54: 348-352.
- KIRCHMAN D, S GRAHAM, D REISH & R MITCHELL (1982) Bacteria induce settlement and metamorphosis of *Janua (Dexiospira) brasiliensis* Grube (Polychaeta: Spirorbidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 56: 153-163.
- KNIGHT-JONES EW (1953) Laboratory experiments on gregariousness during setting in *Balanus balanoides* and other barnacles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 30: 584-599.
- KUFFLER SW, JG NICHOLLS & AR MARTIN (1984) From Neuron to Brain. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 651 pp.
- LEWIN R (1986) Supply-side ecology. *Science* 234: 25-27.
- MAKI JS, D RITTSCHOF, JD COSTLOW & R MITCHELL (1988) Inhibition of attachment of larval barnacles, *Balanus amphitrite*, by bacterial surface films. *Marine Biology* 97: 199-206.
- MAKI JS, D RITTSCHOF, AR SCHMIDT, AG SNYDER & R MITCHELL (1989) Factors controlling attachment of bryozoan larvae: a comparison of bacterial films and unfiled surfaces. *Biological Bulletin* 177: 295-302.
- MENGE BA & JP SUTHERLAND (1987) Community regulation: variation in disturbance, competition, and predation in relation to environmental stress and recruitment. *American Naturalist* 130: 730-757.
- MILLER SE & MG HADFIELD (1986) Ontogeny of phototaxis and metamorphic competence in larvae of the nudibranch *Phestilla sibogae* Bergh (Gastropoda: Opisthobranchia). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 97: 95-112.
- MINCHINTON TE & RE SCHEIBLING (1991) The influence of larval supply and settlement on the population structure of barnacles. *Ecology* 72: 1867-1879.
- MORSE ANC (1991) How do planktonic larvae know where to settle? *American Scientist* 79: 154-167.
- MORSE ANC & DE MORSE (1984) Recruitment and metamorphosis of *Haliotis* larvae induced by molecules uniquely available at the surfaces of crustose red algae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 75: 191-215.
- MORSE ANC, CA FROYD & DE MORSE (1984) Molecules from cyanobacteria and red algae that induce larval settlement and metamorphosis in the mollusc *Haliotis rufescens*. *Marine Biology* 81: 293-298.
- MORSE DE (1984) Biochemical and genetic engineering for improved production of abalones and other valuable mollusc. *Aquaculture* 39: 263-282.
- MORSE DE (1990) Recent progress in larval settlement and metamorphosis: closing the gaps between molecular biology and ecology. *Bulletin of Marine Science* 46: 465-483.
- MORSE DE, N HOOKER, H DUNCAN & L JENSEN (1979) γ -aminobutyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. *Science* 204: 407-410.
- MORSE DE, H HELEN, N HOOKER, A BALOUN & G YOUNG (1980) GABA induces behavioral and developmental metamorphosis in planktonic molluscan larvae. *Federation Proceedings* 39: 3237-3241.
- NELL JA & JE HOLLIDAY (1986) Effects of potassium and copper on the settling rate of Sydney rock oyster (*Saccostrea commercialis*) larvae. *Aquaculture* 58: 263-267.
- PAWLIK JR (1986) Chemical induction of larval settlement and metamorphosis in the reef-building tube worm *Phragmatopoma californica* (Sabelliidae: Polychaeta). *Marine Biology* 91: 59-68.
- PAWLIK JR (1990) Natural and artificial induction of metamorphosis of *Phragmatopoma lapidosa californica* (Polychaeta: Sabelliidae), with a critical look at the effects of bioactive compounds on

- marine invertebrate larvae. *Bulletin of Marine Science* 46: 512-536.
- PEARCE CM & RE SCHEIBLING (1990a) Induction of metamorphosis of larvae of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, by coralline red algae. *Biological Bulletin* 179: 304-311.
- PEARCE CM & RE SCHEIBLING (1990b) Induction of settlement and metamorphosis in the sand dollar *Echinarachnius parma*: evidence for an adult-associated factor. *Marine Biology* 107: 363-369.
- PEARCE CM & RE SCHEIBLING (1991) Effect of macroalgae, microbial films, and conspecifics on the induction of metamorphosis of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* (Müller). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 147: 147-162.
- PEARSE JS & SW ARCH (1969) The aggregation behavior of *Diadema* (Echinodermata: Echinoidea). *Micronesica* 51: 166-171.
- PECHENIK JA (1984) The relationship between temperature, growth rate, and duration of larval life for larvae of the gastropod *Crepidula fornicata* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 74: 241-257.
- PECHENIK JA (1990) Delayed metamorphosis by larvae of benthic marine invertebrates: does it occur? is there a price to pay? *Ophelia* 32: 63-94.
- PECHENIK JA & WD HEYMAN (1987) Using KCl to determine size at competence for larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 112: 27-38.
- PENNINGTON JT & MG HADFIELD (1989) Larvae of a nudibranch mollusc (*Phestilla sibogae*) metamorphose when exposed to common organic solvents. *Biological Bulletin* 177: 350-355.
- RAIMONDI PT (1988) Settlement cues and determination of the vertical limit of an intertidal barnacle. *Ecology* 69: 400-407.
- RAIMONDI PT (1991) Settlement behavior of *Chthamalus anisopoma* larvae largely determines the adult distribution. *Oecologia* (Berl.) 85: 349-360.
- RITTSCHOF D, J MAKI, R MITCHELL & JD COSTLOW (1986) Ion and neuropharmacological studies of barnacle settlement. *Netherlands Journal of Sea Research* 20: 269-275.
- ROWLEY RJ (1989) Settlement and recruitment of sea urchins (*Strongylocentrotus* spp.) in a sea-urchin barren ground and a kelp bed: are populations regulated by settlement or post-settlement processes? *Marine Biology* 100: 485-494.
- RUSSO AR (1979) Dispersion and food differences between two populations of the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*. *Journal of Biogeography* 6: 407-414.
- STENECK RS (1982) A limpet-coralline alga association: adaptations and defenses between a selective herbivore and its prey. *Ecology* 63: 507-522.
- TODD CD (1985) Settlement-timing hypothesis: reply to Grant and Williamson. *Marine Ecology Progress Series* 23: 197-202.
- TODD CD, MG BENTLEY & JN HAVENHAND (1991) Larval metamorphosis of the opisthobranch mollusc *Adalaria proxima* (Gastropoda: Nudibranchia): the effects of choline and elevated potassium ion concentration. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 71: 53-72.
- TRAPIDO-ROSENTHAL HG & DE MORSE (1986a) Regulation of receptor-mediated settlement and metamorphosis in larvae of a gastropod mollusc (*Haliotis rufescens*). *Bulletin of Marine Science* 39: 383-392.
- TRAPIDO-ROSENTHAL HG & DE MORSE (1986b) Availability of chemosensory receptors is down-regulated by habituation of larvae to a morphogenetic signal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83: 7658-7662.
- UNDERWOOD AJ & PG FAIRWEATHER (1989) Supply-side ecology and benthic marine assemblages. *Trends in Ecology and Evolution* 4: 16-20.
- WETHEY DS (1986) Ranking of settlement cues by barnacle larvae: influence of surface contour. *Bulletin of Marine Science* 39: 393-400.
- WOODIN SA (1991) Recruitment of infauna: positive or negative cues? *American Zoologist* 31: 797-807.
- YOOL AJ, SM GRAU, MG HADFIELD, RA JENSEN, DA MARKELL & DE MORSE (1986) Excess potassium induces larval metamorphosis in four marine invertebrate species. *Biological Bulletin* 170: 255-266.
- YOUNG CM (1987) Novelty of supply-side ecology. *Science* 235: 415-416.
- ZIMMERMAN KM & JA PECHENIK (1991) How do temperature and salinity affect relative rates of growth, morphological differentiation, and time to metamorphic competence in larvae of the marine gastropod *Crepidula plana*? *Biological Bulletin* 180: 372-386.