



SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



ESTUDIOS SOBRE EL CULTIVO DE LARVAS  
Y JUVENILES DE ALMEJA CATARINA  
*Argopecten ventricosus (=circularis)* (Sowerby II, 1842)  
EN EL LABORATORIO

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

T E S I S  
QUE PRESENTA  
PABLO MONSALVO SPENCER  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

La Paz, Baja California Sur, México  
1998

# INDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS.....*	I
LISTA DE TABLAS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
CAPITULO 1.- INTRODUCCION.....	1
CAPITULO 2.- ANTECEDENTES.....	9
CAPITULO 3.- JUSTIFICACION.....	12
CAPITULO 4.- OBJETIVOS.....	13
CAPITULO 5.- MATERIALES Y METODOS	
5.1.- Origen de los reproductores.....	15
5.2.- Selección y marcado de reproductores.....	17
5.3.- Maduración reproductiva de <i>Argopecten</i> <i>ventricosus</i> .....	18
5.4.- Inducción-al desove.....	18
5.5.- Fecundidad real.....	20
5.6.- Fertilización.....	20
5.7.- Desarrollo embrionario y lar-vario.....	21
5.8.- Asentamiento, metamorfosis y cultivo de juveniles..	24
5.9.- Crecimiento y supervivencia de juveniles de <i>Argopecten ventricosus</i> en relación a la temperatura y salinidad.....	26
5.1 O.-Crecimiento y supervivencia de juveniles de <i>Argopecten ventricosus</i> en relación a la cantidad de alimento.....	27
CAPITULO 6.- RESULTADOS	
6.1.- Maduración reproductiva de <i>Argopecten</i> <i>ventricosus</i> .....	29
6.2.- Inducción al desove.....	31
6.3.- Fecundidad real.....	33

6.4.- Desarrollo embrionario, larval y juvenil de <i>Argopecten ventricosus</i> .....	34
6.5.- Crecimiento de juveniles de <i>Argopecten ventricosus</i> en relación a la temperatura y la salinidad.....	47
6.6.- Crecimiento de juveniles de <i>Argopecten ventricosus</i> en relación a la concentración del alimento.....	54
CAPITULO 7.- DISCUSION..	58
CAPITULO 8.- CONCLUSIONES..	68
CAPITULO 9.- RECOMENDACIONES..	69
CAPITULO 10.- BIBLIOGRAFIA ..	70
CAPITULO 11.- GLOSARIO..	88
ANEXO: Publicación internacional derivada del trabajo de tesis: .....	91

Monsalvo-Spencer, P., Maeda-Martínez, A.N. and Reynoso-Granados, T., 1997. Reproductive maturity and spawning induction in the catarina scallop *Argopecten ventricosus* (= *circularis*) (Sowerby II, 1842). Journal of Shellfish Research, 16(1):67-70.

## LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Localización de los bancos de almeja catarina ( <i>Argopecten ventricosus</i> ) en la Ensenada de La Paz.....	16
Figura 2. Tanques cilíndrico-cónicos de 100 l de capacidad utilizados para el cultivo de larvas de almeja catarina ( <i>Argopecten ventricosus</i> ).....	22
Figura 3. Sistema de flujo continuo y circuito cerrado para el cultivo de larvas pediveliger y juveniles de almeja catarina ( <i>Argopecten ventricosus</i> ).....	25
Figura 4. Porcentaje de madurez gonadal de la almeja catarina ( <i>Argopecten ventricosus</i> ) durante el acondicionamiento gonádico.....	30
Figura 5. Gametos de la almeja catarina ( <i>Argopecten ventricosus</i> ).....	35
Figura 6. Desarrollo embrionario de la almeja catarina, ( <i>Argopecten ventricosus</i> ).....	37
Figura 7. Desarrollo embrionario y larvario de la almeja catarina, <i>Argopecten ventricosus</i> .....	38
Figura 8. Secreción de la disoconcha de la almeja catarina, ( <i>Argopecten ventricosus</i> ).....	43
Figura 9. Crecimiento de las aurículas de la concha en juveniles de almeja catarina, ( <i>Argopecten ventricosus</i> ).....	44
Figura 10. Juvenil de almeja catarina ( <i>Argopecten ventricosus</i> ) mostrando filamentos branquiales.....	45
Figura 11. Juvenil de almeja catarina ( <i>Argopecten ventricosus</i> ) mostrando costillas y ctenoliums en el canal del biso de la disoconcha.....	46

Figura 12. Ctenoliums desarrollados en el canal del biso de un juvenil de almeja catarina ( <i>Argopecten ventricosu s</i> ) .....	48
Figura 13. Crecimiento de juveniles de almeja catarina, ( <i>Argopecten ventricosus</i> , 2.23±0.04 mm de altura) cultivados a diferentes salinidades a 20°C.....	49
Figura 14. Crecimiento de juveniles de almeja catarina, ( <i>Argopecten ventricosus</i> , 2.23±0.04 mm de altura) cultivados a diferentes salinidades a 23°C.....	50
Figura 15. Crecimiento de juveniles de almeja catarina, ( <i>At-gopecten ventricosus</i> , 2.23±0.04 mm de altura) cultivados a diferentes salinidades a 28°C .....	51
Figura 16. Crecimiento de juveniles de almeja catarina, ( <i>Argopecten ventricosus</i> , 2.89±0.03 mm de altura) cultivados a 28°C, 37‰ y a diferentes concentraciones de la mezcla de <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Chaetoceros sp.</i> y <i>Tetraselmis suecica</i> en proporción 6:3:1.....	55

## LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1. Respuesta a diferentes estímulos del desove, en ejemplares reproductivamente maduros de almeja catarina <i>Argopecten ventricosus</i> (n=20individuos).....	32
Tabla 2. Tasa de crecimiento (mm/día) de juveniles de <i>Argopecten ventricosus</i> (2.23±0.4 mm de altura inicial), cultivados a diferentes temperaturas y salinidades, durante 15 días de experimentación .....	52
Tabla 3. Análisis de variancia donde se prueba el efecto de la salinidad y la temperatura, sobre el crecimiento de juveniles de almeja catarina <i>Argopecten ventricosus</i> .....	52
Tabla 4. Prueba de rangos múltiples para definir las diferencias entre temperaturas sobre el crecimiento de almeja catarina <i>Argopecten ventricosus</i> .....	53
Tabla 5. Prueba de rangos múltiples para definir las diferencias entre salinidades sobre el crecimiento de juveniles de almeja catarina <i>Argopecten ventricosus</i> .....	53
Tabla 6. Tasa de crecimiento (mm/día) de juveniles de <i>Argopecten ventricosus</i> (2.89±0.03 mm de altura), cultivados a diferentes concentraciones de <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Chaetoceros sp.</i> y <i>Tetraselmis suecica</i> , en proporción 6:3:1 respectivamente a 28 °C y 37‰.....	56
Tabla 7. Análisis de variancia donde se prueba el efecto de la concentración de alimento, sobre el crecimiento de juveniles de almeja catarina <i>Argopecten ventricosus</i> .....	56
Tabla 8. Prueba de rangos múltiples para definir las diferencias entre concentraciones de alimento, sobre el crecimiento de juveniles de almeja catarina <i>Argopecten ventricosus</i> .....	57

## RESUMEN

En el presente trabajo se estudiaron la maduración reproductiva, los métodos de inducción al desove, la fecundidad real y el desarrollo larval y juvenil en la almeja *catarina* (*Argopecten venticosus*, Sowerby II, 1842). Adicionalmente se determinó el efecto de la temperatura, la salinidad y la cantidad del alimento, en el crecimiento de juveniles de la misma especie.

Los resultados indican que adultos recién desovados de almeja *catarina* pueden ser madurados artificialmente en 27 días, a  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 37‰ y alimentados con  $3.9 \times 10^9$  células/almeja/día de *Isochrysis galbana*; *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis suecica*, en proporción 6:3:1. La termoestimulación combinada con la adición de productos sexuales, produjo el desove en el 50 % de los reproductores y fué el único tratamiento que indujo la liberación de ovocitos. La serotonina (5-hydroxytryptamina) fué muy efectiva como inductor de esperma solamente. La fecundidad real varió entre 2.17 y 3.01 millones de ovocitos por almeja de 45 mm de altura. El desarrollo larval ocurrió en 15 días y el desarrollo juvenil se estudió durante 45 días, hasta los 4.3 mm de altura. Las distintas etapas del desarrollo fueron descritas basándose en un estudio microfotográfico. En el estudio del efecto de la temperatura (20, 23 y  $28^\circ\text{C}$ ) y salinidad (28, 32 y 37 ‰) combinados, el mayor crecimiento de 0.0707 mm/día se obtuvo a  $20^\circ\text{C}$  y 37‰. Finalmente, en el estudio del efecto de concentración de alimento, desde  $0.25 \times 10^5$  hasta  $1.5 \times 10^5$  células/ml de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis suecica*, en proporción 6:3:1, el mayor crecimiento de 0.0334 mm/día, se obtuvo a la mayor concentración probada. No se logró determinar si una concentración mas alta podría producir un mayor crecimiento.

## ABSTRACT

In the present work, several studies on the reproduction and development of the catarina scallop (*Argopecten ventricosus*, Sowerby II, 1842) were done, including reproductive maturation, methods for spawning induction, determination of the real fecundity, and the development of larvae and juveniles. It was also determined the effect of temperature, salinity, and food quantity on growth of juveniles of the same species.

Results indicate that recently spawned broodstock can be matured to spawning in 27 days, at  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 37ppt salinity and with a food ration of  $3.9 \times 10^9$  cells/scallop/day of a 6:3:1 mixture of *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.*, and *Tetraselmis suecica*. Thermostimulation combined with the addition of sexual products from another individual, were effective as spawning inducers in 50% of the breeders and were the only treatment that induced oocyte release. Serotonin (5-hydroxytryptamine) was very effective as sperm inducer only. Real fecundity varied between 2.17 and 3.01 million oocytes per 45-mm shell height. Larval development lasted 15 days and the juvenile stage was followed during 45 days up to 4.3-mm shell height. Larval and juvenile development was studied under the light microscope, and microphotographs of the relevant stages and structures were taken.

The study of the combined effect of temperature (20, 23, and  $28^\circ\text{C}$ ) and salinity (28, 32, and 37 ppt) indicated that highest growth of scallop juveniles of 0.0707 mm/day was obtained at  $20^\circ\text{C}$  and 37 ppt salinity. Finally, the highest growth of juveniles fed  $0.26 \times 10^5$  to  $1.5 \times 10^5$  cells/ml of 6:3:1 *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.*, and *Tetraselmis suecica* was found at the highest concentration tested. It was not possible to determine if a higher concentration would improve growth rate.

# CAPITULO 1

## INTRODUCCION

*Argopecten ventricosus* (= *circularis*) (Sowerby II, 1842), es conocida comunmente en México como almeja catarina (Félix-Pico, 1991a; Waller, 1995). En este país, existe una importante pesquería comercial principalmente en la costa Oeste de Baja California Sur y el Golfo de California. La importancia económica de la almeja **catarina** radica en el alto valor del músculo aductor o “callo” y su amplio mercado. Se comercializa fresco-enhielado en los Estados Unidos de Norteamérica y en México, o localmente precocido con la gónada y el manto incluidos. La pesquería de almeja **catarina** fué de 978.3 toneladas-anales de callos promedio de 1981 a 1990, registrándose una producción atípica de mas de 2,500 toneladas anuales en 1989 y 1990 (Maeda-Martínez et al., 1993). Sin embargo, existen casos donde las poblaciones de almeja **catarina** han desaparecido por completo, supuestamente debido a la sobreexplotación del recurso. Tal es el caso en la Ensenada de La Paz (Baqueiro et al., 1981) en 1980 y en Panamá (Morales y Muñiz, 1992) en 1987. En 1978, la Ensenada de La Paz fué el área de pesca más importante de almeja **catarina** en México. Sin embargo, la densidad de los organismos se redujo de 13 a 1 almeja por m<sup>2</sup>,

en un período de 2 años. En 1986, la pesquería de almeja **catarina** en Panamá, registró capturas por un valor superior a los 31 millones de dólares, significando uno de los mayores incrementos conocidos del sector pesquero panameño en toda su historia. Ese año, solamente los pescadores artesanales ingresaron a Panamá 13 millones de dólares en exportaciones, además de haberse generado aproximadamente 35,000 empleos directos. A partir de 1987, la pesquería desapareció, trayendo como consecuencia una catástrofe económica en ese país centroamericano (Morales y Muñiz, 1992).

Con la finalidad de regular la pesquería y proteger a la **especie** de la sobreexplotación, en 1987 la antigua Secretaría de Pesca (ahora SEMARNAP), inició un programa de fomento acuícola, en que el sector privado y las cooperativas interesadas en explotar los bancos naturales, estaban obligadas a coleccionar semillas y a liberarlas en las áreas previamente determinadas por la Secretaría de Pesca (Diario Oficial, 1987). Esta medida carecía de sustento científico, pero fomentó el interés de productores e instituciones por la **acuicultura** de la especie. Ahora se sabe que las poblaciones naturales de almeja **catarina** se desarrollan por la combinación de factores naturales como el tamaño de las poblaciones silvestres, la temperatura, las corrientes marinas, la velocidad y dirección del viento, la

presión de depredación, etc. (Maeda-Martínez et al., 1993), pero aún se desconoce el efecto real de la explotación sobre las poblaciones.

Gracias a la gran cantidad de estudios existentes sobre esta especie (ver antecedentes mas adelante) y a las condiciones mas favorales para el desarrollo de la acuicultura en nuestro país, en 1995 una empresa del sector privado cosechó mas de 20 toneladas métricas de callos en Bahía Magdalena, a partir de 4.5 millones de semillas de origen combinado (silvestres y del laboratorio), cultivadas en el fondo marino con un nuevo método de cultivo (Maeda-Martínez y Ormart-Castro, 1995). No obstante, en esta experiencia hubo desabasto de semillas en algunos meses del año, debido a la inconsistencia en la producción de semillas en el laboratorio, lo cual provocó un desfasamiento en el programa de producción (Maeda-Martínez com. pers.). Por lo tanto, aún se requiere revisar la zootecnia de semillas de almeja catarina en el laboratorio (Avilés-Quevedo, 1990; Maeda-Martínez et **al.**, 1989; Maeda-Martínez et **al.**, 1995), incluyendo la determinación precisa del tiempo para madurar reproductivamente a una almeja bajo un medio ambiente determinado, el método mas efectivo para inducir el desove, la determinación de la fecundidad real, el método de cultivo de larvas, la inducción al asentamiento y la metamorfosis de juveniles, y las condiciones óptimas de temperatura, salinidad y

concentración de microalgas.

La maduración reproductiva y la inducción al desove en *A. ventricosus* ha sido estudiada por Avilés-Quevedo y Muciño-Díaz (1988). Ellas encontraron que adultos de *A. ventricosus* con gónadas indiferenciadas pueden ser madurados en solamente 20 días a 18 °C, 35 ‰ de salinidad y una ración de  $4 \times 10^9$  células/almeja/día de *Isochrysis galbana*.

Los métodos de inducción al desove en pelecípodos han sido discutidos en revisiones por Giese (1959), Loosanoff y Davis (1963), Galtsoff (1961, 1969), Fretter y Graham (1964), Loosanoff (1954, 1971), Giesé y Parse (1974) y Sastry (1979). Choques térmicos, cambios en la salinidad, luz, estrés mecánico, y algunas sustancias químicas han sido probadas como inductores del desove. La temperatura ha sido considerada uno de los factores mas importantes como estimuladores del desove en bivalvos.

También se conoce que el complejo serotonina-creatinina-sulfato induce el desove en *A. irradians* (Gibbons y Castagna, 1984), *Pecten albicans* (Tanaka y Murakoshi, 1985), *Pecten ziczac* (Vélez et al., 1990) y *A. purpuratus* (Martínez et al., 1996). En el pectínido dióico *Patinopecten yessoensis*, la serotonina es efectivo tanto en machos como en hembras. Se

desconoce aún cual es el papel que juega este neurotransmisor como inductor al desove.

Para determinar la fecundidad intraovárica en organismos marinos, se emplean métodos gravimétricos o estereológicos apoyados con la histología (King, 1948; Cumming, 1961; Shafee y Lucas, 1980). Sin embargo, la fecundidad intraovárica puede reflejar números de gametos muy superiores a los que realmente se desovan, ya que en la gran mayoría de los moluscos los desoves son parciales (Yamamoto, 1950; Wolf, 1987). Por consiguiente, parte de los gametos pueden permanecer en el ovario sin ser expulsados al medio externo. Normalmente éstos gametos son reabsorbidos por el organismo y las sustancias nutricias son empleadas nuevamente para la gametogénesis en el siguiente ciclo reproductivo (Gabbott, 1975; Blake y Sastry, 1979; Sastty, 1979). En el laboratorio de producción, es muy importante conocer la fecundidad real, o sea el número promedio de ovocitos que se pueden esperar del desove de un adulto reproductivamente maduro. Esto tiene un impacto económico muy grande ya que de aquí se calculará el número de reproductores que se deben madurar y por consiguiente la cantidad de fitoplancton que se debe producir para su alimentación.

La literatura existente sobre la importancia de la geometría de los tanques de cultivo de larvas es muy escasa. Normalmente, las larvas de moluscos son cultivadas en tanques anchos de fondo plano, lo cual no permite una mezcla y oxigenación del medio de cultivo adecuados y se puede inducir mortalidad en las larvas ya que éstas quedan atrapadas en los sedimentos del tanque. Por lo tanto, sería conveniente diseñar y probar tanques con geometría delgada, alta, y de fondo cónico, que produzcan una mezcla homogénea del medio de cultivo y eviten la sedimentación de las larvas.

La proximidad del asentamiento y metamorfosis de una larva nadadora a un juvenil reptante, está indicada por la presencia de una mancha ocular, la degeneración del velum y el desarrollo de un pié reptante. En moluscos bivalvos, el asentamiento y la metamorfosis son consideradas como las etapas críticas del desarrollo, donde frecuentemente ocurre una alta mortalidad de los individuos. Este fenómeno se puede prolongar en ocasiones hasta dos semanas después de iniciado el proceso (Pechenik, 1980, Ebert y Houk, 1984). Los métodos tradicionales para el asentamiento en moluscos, no son satisfactorios en los pectínidos por dificultades en su manejo (Thompson et al., 1985). Por ejemplo, las larvas y juveniles de pectínidos no deben ser expuestas al aire por tiempos prolongados, no es posible desinfectarlos con soluciones de cloro para remover epibiontes, etc.

En los pectínidos, esta etapa es crítica ya que aparte de que el pié reptante tiene una capacidad muy grande de adhesión, el manto inicia la secreción de la disoconcha de composición aragonítica, la cual es muy frágil. Por esta razón, deberá encontrarse un método que evite el manejo de los juveniles en esta etapa. Maeda-Martínez *et al.* (1995) describen un método para este fin que consiste en la introducción del substrato de fijación a los tanques de cultivo larvario y Mazón-Suástegui *et al.* (1991) utilizaron camas para fijación de ostión y sistemas de surgencia, con resultados satisfactorios.

Para mejorar el cultivo de la almeja catarina, se requiere además contar con un estudio fotográfico de las primeras fases de desarrollo que le ayude al zootecnista a familiarizarse con estructuras morfológicas clave. Actualmente solamente existen diagramas de los estadios mas importantes del desarrollo de esta especie (Avilés-Quevedo, 1990) y dos fotografías de microscopía electrónica de barrido de una larva pediveliger y un juvenil (Robles-Mungaray y Serrano-Guzmán, 1995).

Finalmente, para eficientar la zootecnia de almeja catarina en el laboratorio, aún se necesita incrementar la tasa de crecimiento de los juveniles sin reducir la supervivencia. Actualmente se emplean entre 55 y 60 días (Avilés-Quevedo, 1990; Maeda-Martínez *et al.*, 1989; Mazón-Suástegui *et*

al., 1991; Robles-Mungaray y Serrano-Guzmán , 1995) para alcanzar 3 mm de altura de la concha a partir de la metamorfosis. Los factores ambientales más importantes que determinan el crecimiento en invertebrados marinos son la temperatura: la salinidad y la calidad y cantidad del alimento (Sastry, 1966; 1979). Con el fin de optimizar los métodos de cultivo, se requiere determinar experimentalmente los valores de esos factores donde se obtenga la tasa de crecimiento más elevada, sin reducción en la tasa de supervivencia.

## CAPITULO 2

### ANTECEDENTES

El compendio mas reciente sobre la **biología**, ecología y acuicultura de pectínidos, ha sido compilado por Shumway, (1991). Los antecedentes del cultivo de ***A. ventricosus*** en México, han sido descritos por Félix-Pico ***et al.*** (1989). Los primeros experimentos de cultivo fueron hechos por Félix-Pico (1978) en 1976, quien realizó un cultivo piloto en la Ensenada de La Paz, a partir de semillas silvestres. Este trabajo sirvió de base para el desarrollo de cultivos experimentales más detallados como los trabajos de Félix-Pico ***et al.*** (1980) en la Ensenada de La Paz, Reyes-Sosa (1988) en Bacochibampo, Sonora, y la tesis de maestría de Tripp (1985) en Bahía Magdalena, B.C.S. Adicionalmente, se realizaron trabajos sobre la colecta de semilla silvestre (Tripp , 1985; Reyes-Sosa, 1985; Ruiz-Verdugo y Cáceres-Martínez, 1991; Tripp-Quezada, 1991; Maeda-Martínez ***et al.***, 1993), la producción de semillas en el laboratorio (Mazón-Suástegui ***et al.***, 1991; Maeda-Martínez ***et al.***, 1995; Robles-Mungaray y Serrano-Guzmán, 1995) y se diseñaron y probaron sistemas de engorda en suspensión (Siewers, 1983; Hernández-Llamas y Singh, 1988; Hernández-Llamas y

Gómez-Muñoz, 1996; Maeda-Martínez et al., 1997) y en fondo (Cáceres-Martínez et al., 1986; Maeda-Martínez y Ormart-Castro, 1995). Paralelamente, se encontró que la depredación es un factor limitante en el desarrollo de cultivos en fondo sin protección (Maeda et al., 1992).

Adicionalmente a estos estudios, la **zootecnia** se ha basado significativamente en estudios básicos de biología, ecología y ecofisiología de la especie. Algunos aspectos de la ecología reproductiva de *A. ventricosus*, como el índice gonádico y los estadios de madurez por métodos histológicos o macroscópicos, han sido estudiados por Baqueiro et al. (1981), Cáceres-Martínez et al. (1990); Tripp-Quezada (1985; 1991), Villatejo-Fuerte y Ochoa-Báez (1993) y Vitlatz (1992; 1993; 1994; 1996). Villatejo-Fuerte (1995) determinó la fecundidad de la especie a diferentes tallas. Félix-Pico (1975; 1985), Tripp-Quezada (1985) y Félix-Pico (1991 b), estudiaron los periodos de desove poblacional en la Ensenada de La Paz, en Bahía Concepción y en Bahía Magdalena respectivamente, basados en la colecta de larvas en el plancton y la captación de juveniles en colectores. Singnoret-Braitovsky et al. (1996) determinaron la tolerancia a la salinidad de la especie, estudiando la presión osmótica de la hemotínfa en función de la salinidad del medio ambiente.

Algunos estudios básicos han permitido la mejoría de técnicas de cultivo de semillas en el laboratorio, los cuales tratan sobre la inducción a la maduración artificial de reproductores, la inducción al desove y el cultivo de larvas y juveniles (Mazón-Suástegui, 1986; Coronel-Solórzano et al., 1987; Martínez, 1988; Avilés-Quevedo, 1990 y Avilés-Quevedo y Muciño-Díaz, 1990). También se han descrito parásitos en esta especie (Gómez-Del Prado, 1982; Gómez-Del Prado et al., 1992) y se ha estudiado el efecto *Vibrio alginolyticus* sobre las larvas de la almeja **catarina** (Sainz et al., 1997). Finalmente, se ha estudiado la ingestión y digestión larvaria en almeja catarina, alimentadas con 10 especies de microalgas (Lora-Vilchis y Maeda-Martínez, 1997).

## CAPITULO 3

### JUSTIFICACION

El cultivo de cualquier especie se basa en la disponibilidad de semillas en tiempo, en cantidad y calidad. A pesar de que ya se han logrado producir semillas de *A. ventricosus* en el laboratorio a nivel comercial, la producción ha sido aún errática. En este trabajo se presenta una revisión de los métodos de cultivo y/o la adaptación o modificación de las técnicas tradicionales para el cultivo de moluscos. Se muestra además el desarrollo ontogénico de la especie, fotografiado bajo el microscopio compuesto hasta el estadio juvenil, lo cual representa una herramienta importante para el laboratorio de producción, para el taxónomo, o el biólogo del desarrollo.

Finalmente, en este trabajo se definen los valores óptimos de temperatura, salinidad y cantidad de alimento, los cuales constituyen algunos de los factores más importantes que regulan el crecimiento y la supervivencia de las especies marinas.

Con este trabajo se pretende contribuir al desarrollo y la consolidación de la incipiente industria del cultivo de moluscos en México.

## CAPITULO 4

### OBJETIVOS

#### Objetivo General:

Contribuir a la optimización de la zootecnia de juveniles de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) en el laboratorio.

#### Objetivos específicos:

- Identificar las etapas de madurez gonádica de los reproductores.
- Evaluar un método de maduración artificial de reproductores.
- Determinar la eficiencia de algunos métodos de inducción al desove, en la almeja catarina.
- Evaluar un método de cultivo de larvas.
- Estimar la fecundidad de la especie a una talla determinada.
- Descripción del desarrollo embrionario, larval y juvenil de la almeja catarina.
- Evaluar un método para inducir el asentamiento y la metamorfosis de juveniles.
- Determinar los valores óptimos de temperatura y salinidad combinados en el crecimiento y supervivencia de juveniles de almeja catarina.

- Determinar la concentración de microalgas que promueva el mayor crecimiento en juveniles de almeja catarina.

## CAPITULO 5

### MATERIALES Y METODOS

#### 5.1 Origen de los Reproductores

Adultos de almeja catarina mayores de 45 mm de altura con madurez gonádica avanzada, fueron periódicamente recolectados durante 1988, por buceo libre a  $2.5 \pm 0.5$  metros de profundidad, en el banco natural "El Comitán" en la Ensenada de La Paz, B.C.S ( $24^{\circ}07'N - 110^{\circ}24'W$ ) (Figura 1). Estos organismos sirvieron para los experimentos de maduración e inducción al desove y como progenitores de las larvas y juveniles cultivados de este trabajo. En el momento de la colecta se registraron  $28^{\circ}C$  de temperatura y 37 ‰ de salinidad. Las almejas fueron transportadas al laboratorio del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) ubicado a 1 Km de distancia del sitio de colecta, en una hielera de 60 l conteniendo agua marina del mismo sitio la cual recibió aireación constante. Durante el transporte, la temperatura del agua se registraba cada 10 min con un termómetro de campo Bannam con una escala de  $-20$  a  $110^{\circ}C$  y  $1^{\circ}C$  de precisión. En caso de detectar algún aumento en la temperatura, se introdujeron a la hielera bolsas de polietileno conteniendo

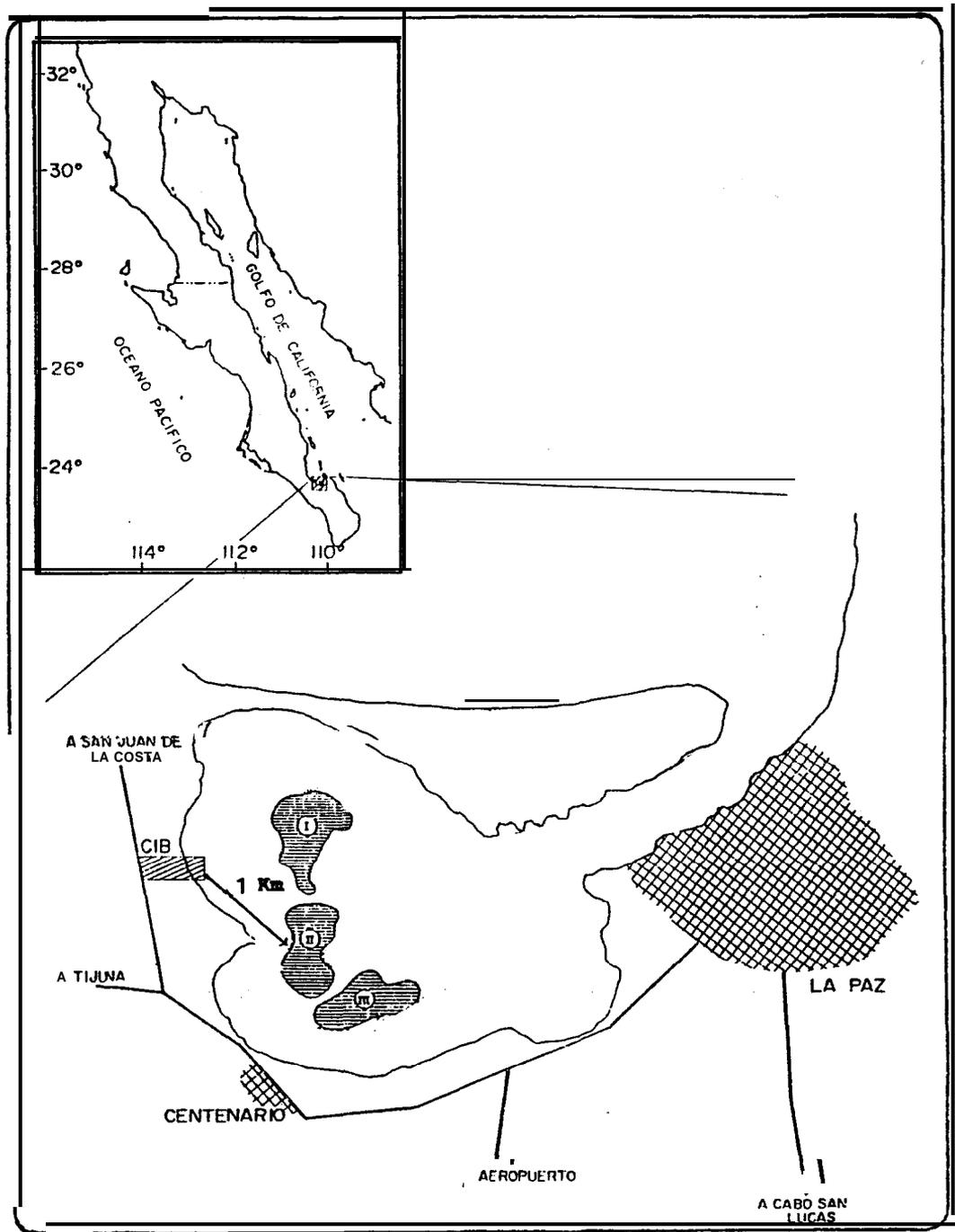


Figura 1 Localización de los bancos de almeja *catarina* (*Argopecten ventricosus*) en la Ensenada de La Paz: Las Palmitas (I); El Comitan (II) y El Centenario (III). (Modificado de Yoshida y De Alva, 1977).

cubos de hielo para contrarrestar el calentamiento. En ningún caso se registró mortalidad de los organismos durante el transporte.

## 5.2 Selección y marcado de reproductores

Al llegar al laboratorio, cada individuo fué lavado y liberado de epibiontes con una espátula y cepillos de alambre y posteriormente se colocaron en un tanque de fibra de vidrio de 1100 l de capacidad. El proceso de transporte y lavado indujo el desove masivo de las almejas el cual duró 5 horas. Una vez que se detuvo el desove, se seleccionaron 300 organismos completamente desovados para los experimentos. A diferencia con otros grupos de moluscos, los pectínidos abren las valvas al ser extraídos del agua, permitiendo hacer la revisión de la gónada sin sacrificarlo. Las gónadas de los organismos seleccionados tenían forma de saco transparente con ausencia de pigmentación, donde se observaba claramente el intestino. Este estadio de indiferenciación de las porciones testicular y ovárica, correspondió al estadio I de la escala empírica de Sastry (1963). Las almejas seleccionadas, se marcaron con una etiqueta de plástico atada a un orificio pequeño perforado en el lóbulo auricular dorsal de la concha. Esto permitió mantener un estricto registro de los organismos experimentales.

### 5.3 Maduración reproductiva de *Argopecten ventricosus*

El estudio de maduración reproductiva, se llevó a cabo en un tanque de fibra de vidrio de 1,100 l de capacidad, el cual recibió un flujo constante de 3 l/min de agua marina filtrada recirculante a  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$  y 37 ‰ de salinidad, conteniendo una mezcla de microalgas cultivadas de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis suecica*, en proporción 6:3:1. Las almejas recibieron una ración diaria de  $3.9 \times 10^9$  células/org/día. Las heces en el tanque fueron eliminadas diariamente por sifoneo y cada tercer día se hizo un recambio total del agua y del alimento.

El efluente del tanque rectangular, caía por gravedad a un tanque reservorio de plástico de 150 l, donde se encontraba una bomba sumergible que regresaba el agua nuevamente al tanque de aclimatación. El agua en el reservorio recibió aireación continua. Cada 4 días se registró la condición gonádica de los ejemplares.

### 5.4 Inducción al desove

Una vez que las almejas alcanzaron nuevamente el estadio IV de madurez gonádica, se probaron cinco tratamientos de inducción al desove empleando 20 almejas por tratamiento:

- a) Choque térmico agudo (18 a 30 °C en 1 segundo)
- b) Choque térmico rápido (incremento de 3°C/min de 18 a 30 °C)
- c) Incremento térmico gradual (1°C/min de 18 a 30 °C)
- d) Incremento térmico gradual mas adición de gametos (como el tratamiento anterior) (Loosanoff y Davis, 1963).
- e) Inyección intragonadal de serotonina (5-hydroxytryptamina), 0.025, 0.25 y 2.5 mM (Tanaka y Murakoshi, 1985).
- f) Inyección intragonadal de KCl, 0.5, 1.0 y 2.0 mM (Young, 1945), y
- g) Choques eléctricos (20V durante 1 seg)(Iwata, 1951)

Los experimentos de choque térmico se llevaron a cabo en tanques de 70 l. Inicialmente cada tanque contenía agua de mar a la temperatura de maduración (23±1°C). Posteriormente, se vació agua **precalentada** por sifón a los tanques, a la velocidad necesaria para provocar el cambio deseado, hasta alcanzar los 30 °C. La respuesta al estímulo de inducción fué considerada rápida, media o lenta, si la expulsión de gametos ocurrió en menos de 3 h, entre 3 y 5 h, o en más de 5 horas posteriores a la aplicación del estímulo.

Los gametos expulsados por estos organismos, fueron colectados separadamente para ser posteriormente utilizados en los estudios de

fecundidad real, ontogenia y cultivo larval y juvenil.

### 5.5 Fecundidad real

Para determinar la fecundidad real en esta especie, la totalidad de ovocitos desovados de al menos 20 almejas del experimento anterior, fueron colectados separadamente del esperma en tanques de plástico de 4 litros, conteniendo agua de mar filtrada a través de un filtro Wathman (GF/C). Cinco muestras de 10 ml de la suspensión de huevos, se diluyeron nuevamente en probetas graduadas, aforando a 100 ml con agua de mar. El número de ovocitos fué determinado por cuenta directa ( $n > 5$ ) en una cámara Sedgewick-Rafter de 1 ml. Estos mismos ejemplares fueron medidos bajo el microscopio compuesto en cuyo ocular tenía una retícula calibrada. De manera similar se hicieron conteos y mediciones del esperma.

### 5.6 Fertilización

Los ovocitos resultantes del experimento anterior, se suspendieron en agua de mar filtrada contenida en cubetas de plástico de 20 l de capacidad, a razón de 10 ovocitos/ml. A partir de este momento y hasta el estadio juvenil, se fijaron muestras de especímenes bajo cultivo en formol al 4%,

neutralizado con borato de sodio 1 N, para su posterior observación y toma de microfotografías. La fertilización *in vitro*, se llevó a cabo mezclando las suspensiones de espermatozoides y ovocitos, a razón de 6 espermatozoides por ovocito. El éxito de la fertilización se verificó examinando muestras de la suspensión al microscopio compuesto. La operación se efectuó lo más rápido posible antes de transcurridos 30 min posteriores al desove, según lo recomiendan Dupuy et al. (1977).

## 5.7 Desarrollo embrionario y larvario

Después de la fertilización, los embriones se mantuvieron en las mismas cubetas de plástico durante 24 h, a una densidad de 10 huevos/ml, a 37 ‰ de salinidad y  $23 \pm 1$  °C con aireación muy suave y sin alimento ya que antes del estadio veliger, los embriones y la larva trocófora intermedia, son lecitotróficos. Una vez cumplidas las 24 h, las larvas alcanzaron el estadio veliger temprano también conocido como "D" por la forma de la concha. Estas larvas con protección valvar y capacidad de nado y de alimentación externa, fueron transferidas a columnas con fondo cónico de 100 l (Figura 2), a una densidad de 10 larvas/ml.

Las larvas se alimentaron con 60,000 células/ml de *Isochrysis galbana*,

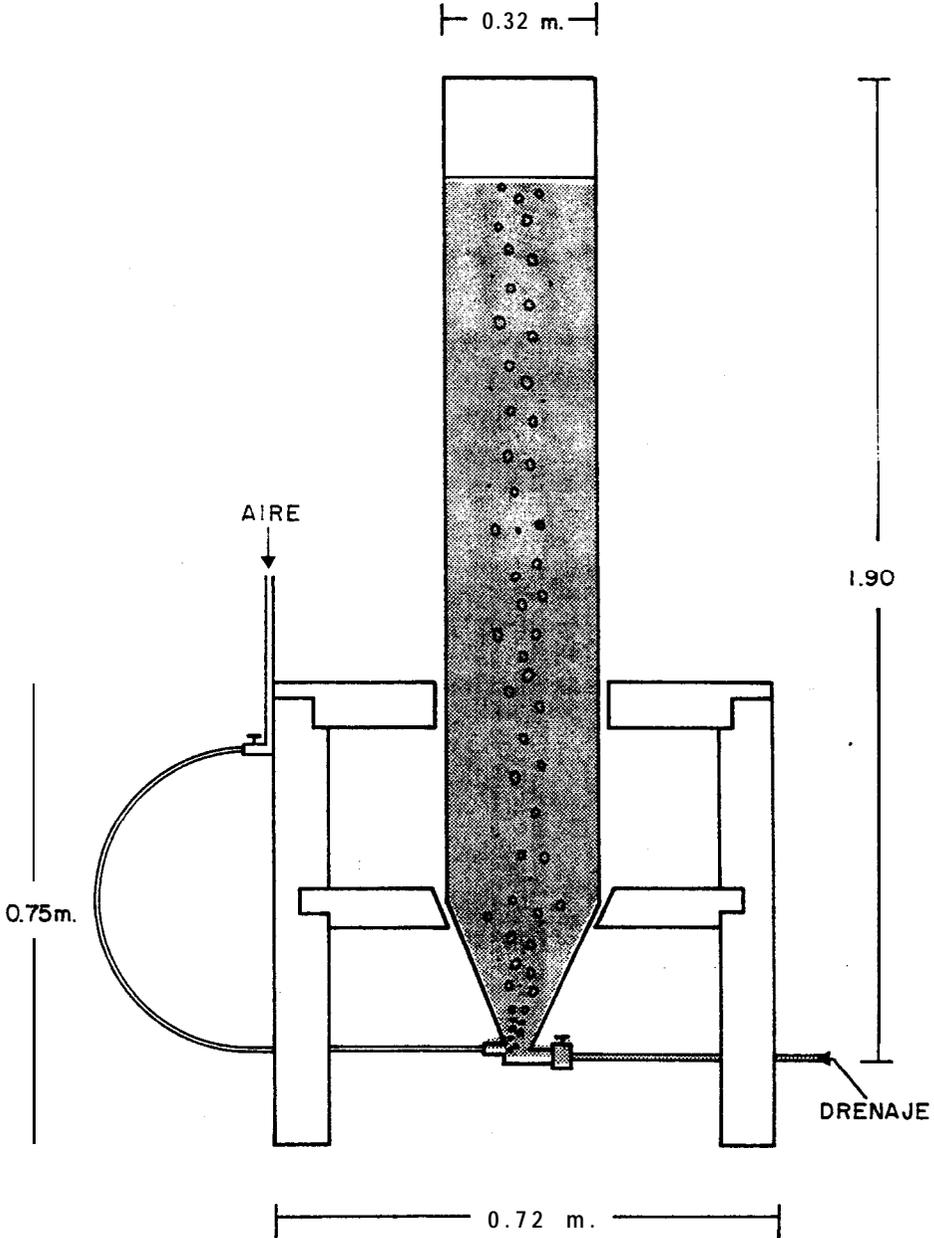


Figura 2. Columnas cilíndrico cónicas de 100 l de capacidad utilizadas para el cultivo de larvas de almeja **catarina** (*Argopecten ventricosus*), hasta la formación de la mancha ocular.

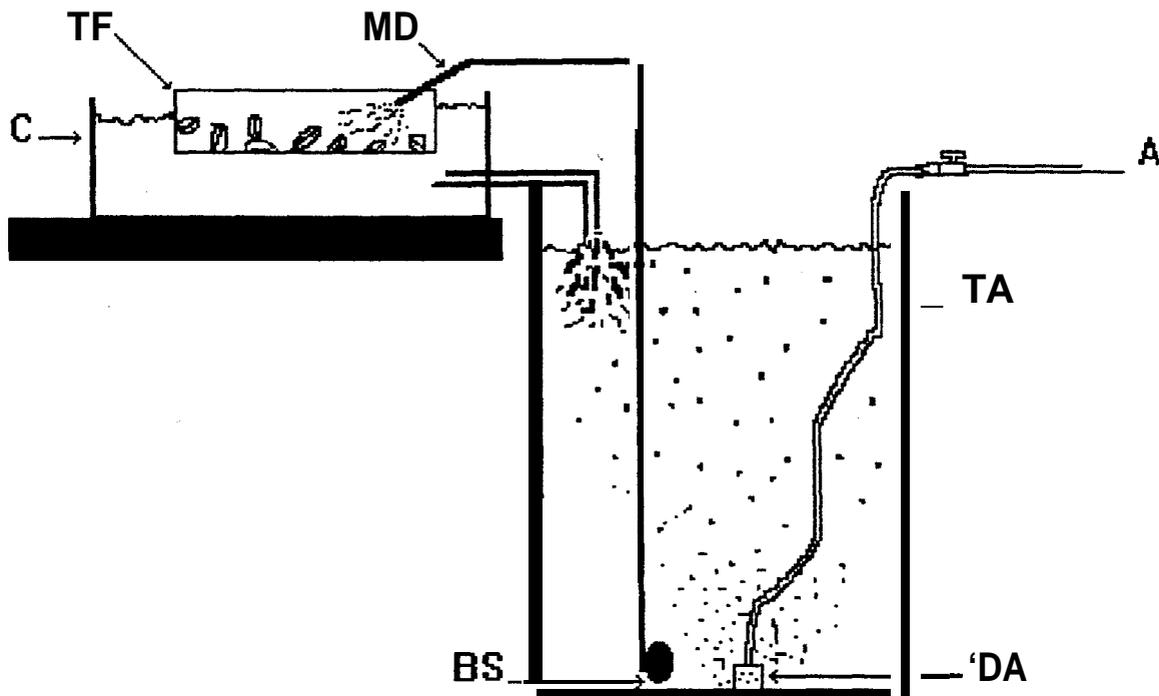
*Chaetoceros* sp. y *Tetraselmis suecica* en proporción **6:3:1**. Una vez alcanzadas las 85  $\mu\text{m}$  de longitud de concha promedio a los 6 días de cultivo, la densidad se redujo a 6 **larvas/ml** y se aumentó la concentración del alimento a 100,000 **células/ml**. A los 11 días de cultivo cuando la longitud promedio de la concha alcanzó las 112  $\mu\text{m}$ , la densidad **larvaria** se redujo a 3 **larvas/ml** y la concentración del alimento se incrementó a 150,000 **células/ml**.

Durante el cultivo larvario, el agua de los tanques se renovó por completo cada tercer día. Durante el recambio del agua, las larvas se retuvieron en una serie de tamices de nylon de diferentes aperturas de malla; colocando el de mayor calibre en la parte superior hasta el de menor calibre en la parte inferior. Al inicio del cultivo, la malla de menor calibre fué de 22  $\mu\text{m}$ . El uso de tamices de esta forma, permitió seguir el desarrollo del cultivo sin necesidad de mediciones microscópicas, ya que fué posible distinguir el crecimiento y la distribución de tallas conforme se observaba la abundancia de larvas en las mallas de diferente calibre. A lo largo del cultivo **larvario**, se utilizaron mallas de las siguientes aperturas: 22, 45, 54, 60, 85, 95, 112, 120, 135, 140, 150 y 160  $\mu\text{m}$ .

## 5.8 Asentamiento, metamorfosis y cultivo de juveniles

En el presente estudio, se utilizó un sistema de recirculación de agua, que permitiera inducir el asentamiento de las larvas y evitara el daño a las delicadas larvas pediveliger en proceso de metamorfosis. El sistema (Figura 3) consistió en tamices de plástico de 30 cm de diámetro con malla de nylon de 140  $\mu\text{m}$ , parcialmente sumergidos en tanques de 70 l conteniendo agua de mar a temperatura y salinidad constantes (24 °C y 37 ‰) y  $1.5 \times 10^5$  células/ml de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis suecica* en proporción 6:3:1. Los efluentes de los tanques se condujeron por gravedad a un tanque reservorio de 150 l de capacidad, el cual contenía una bomba sumergible que regresaba el fluido a los tamices.

El alimento consumido fué repuesto tres veces al día y cada 48 horas se realizaron recambios totales del agua y el alimento del sistema. Los tamices recibieron un flujo continuo con dirección tangencial de agua y alimento, a razón de 0.5 l/min. Las larvas pediveliger con mancha ocular de los tanques cilindrocónicos, se suspendieron en el agua dentro de los tamices donde ocurrió el asentamiento y la metamorfosis. Una vez superada la fase crítica con el engrosamiento y crecimiento de la disoconcha, el tamiz fue reemplazado por otros de mayor calibre de acuerdo al crecimiento (160, 180, 212 y 250  $\mu\text{m}$ ). Los juveniles se transfirieron de un tamiz a otro con la



**Figura 3. Sistema de flujo continuo y circuito cerrado para el cultivo de larvas pediveliger y juveniles de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*). A=Toma de aire; BS=Bomba sumergible; C=Contenedor; DA=Difusor de aire; MD=Manguera de dosificación de alimento y agua marina; TA=Tanque de almacenamiento; TF=Tamiz de fijación.**

ayuda de pinceles de cerdas finas.

### 5.9 Crecimiento y supervivencia de juveniles de *Argopecten ventricosus* en relación a la temperatura y salinidad.

Con el objeto de determinar la combinación óptima de temperatura y salinidad en la almeja catarina, se diseñó un experimento matricial de 15 días de duración, exponiendo a una parte de los juveniles resultantes del experimento anterior, a combinaciones de tres temperaturas (20, 23 y 28 °C) y tres salinidades (28, 32 y 37 ‰) por duplicado.

Veinte juveniles de  $2.23 \pm 0.4$  mm de altura de la concha, fueron seleccionados por tamizado y colocados en matraces Erlenmeyer de 250 ml, conteniendo 200 ml de agua marina filtrada a través de filtros **Whatman GF/C** y esterilizada por radiación ultravioleta. A cada matraz se le agregaron  $1.5 \times 10^5$  cel/ml de una mezcla de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis suecica*, en proporción 6:3: 1 respectivamente. Los matraces se mantuvieron a las temperaturas y salinidades experimentales en baños termorregulados. La salinidad de los medios de cultivo, se ajustaron con la ayuda de un refractómetro de mano, empleando agua destilada como diluyente. Los medios de cultivo fueron renovados diariamente durante los

15 días de duración del experimento. El efecto de los tratamientos fué evaluado midiendo diariamente la altura de la concha de todos los ejemplares en los matraces y la supervivencia. La altura de las conchas se midió con un microscopio estereoscópico con retícula calibrada.

5.10 Crecimiento y supervivencia de juveniles de *Argopecten ventricosus* en relación a la cantidad del alimento.

Una vez estimada la combinación de temperaturas y salinidades óptimas, se procedió a investigar el efecto de la concentración de alimento en el crecimiento de juveniles. La dieta se preparó mezclando tres de las microalgas con alto valor nutritivo en esta especie (Avilés-Quevedo, 1990; Lora-Vilchis y Maeda-Martínez, 1997) y en otros moluscos como en *Ostrea edulis* (Walne, 1974). Así, se emplearon *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp., y *Tetraselmis suecica*, cuyo índice de valor nutritivo en *Ostrea edulis* es de 1.000, 1.028 y 1.200 respectivamente (Walne, 1974). La proporción de células de cada especie en ese mismo orden fue de 6:3:1, respectivamente. Las concentraciones probadas fueron de  $0.25 \times 10^5$ ,  $0.50 \times 10^5$ ,  $0.75 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1.25 \times 10^5$  y  $1.50 \times 10^5$  células/ml.

Veinte organismos de  $2.89 \pm 0.03$  mm de altura promedio de la concha,

fueron colocadas por triplicado en matraces Erlenmeyer de 250 ml, con 200 ml de agua marina filtrada conteniendo las dietas. El volumen fué renovado diariamente durante los 13 días de duración del experimento. El crecimiento y la supervivencia se estimaron de igual forma que en los experimentos de temperatura y salinidad.

## CAPITULO 6

### RESULTADOS

#### 6.1 Maduración reproductiva de *Argopecten ventricosus*

Los cambios temporales en la maduración reproductiva de 300 adultos de *Argopecten ventricosus* se muestran en la Figura 4. En el estadio I de indiferenciación, el tejido gonádico era transparente y no fué posible distinguir la porción que correspondía a cada sexo. En el segundo día de acondicionamiento, algunos folículos en el 5% de los animales, presentaban oogonias y espermatogonias características del estadio II. Las oogonias y espermatogonias solamente fueron evidentes bajo el microscopio estereoscópico. Entre los días 7 y 9, el 85% de los individuos ya se encontraban en el estadio II. Después del día 18, el 85% de las almejas estaban en el estadio III , caracterizado por una pigmentación uniforme en la parte testicular de color cremoso y de color anaranjado en la región ovárica. En este estadio, el volumen de la gónada se incrementó notablemente. En el estadio de madurez o estadio IV, ambas regiones de la gónada mostraban colores muy brillantes, cremoso oscuro en la parte masculina y anaranjado-rojiza la parte femenina. Esta pigmentación era

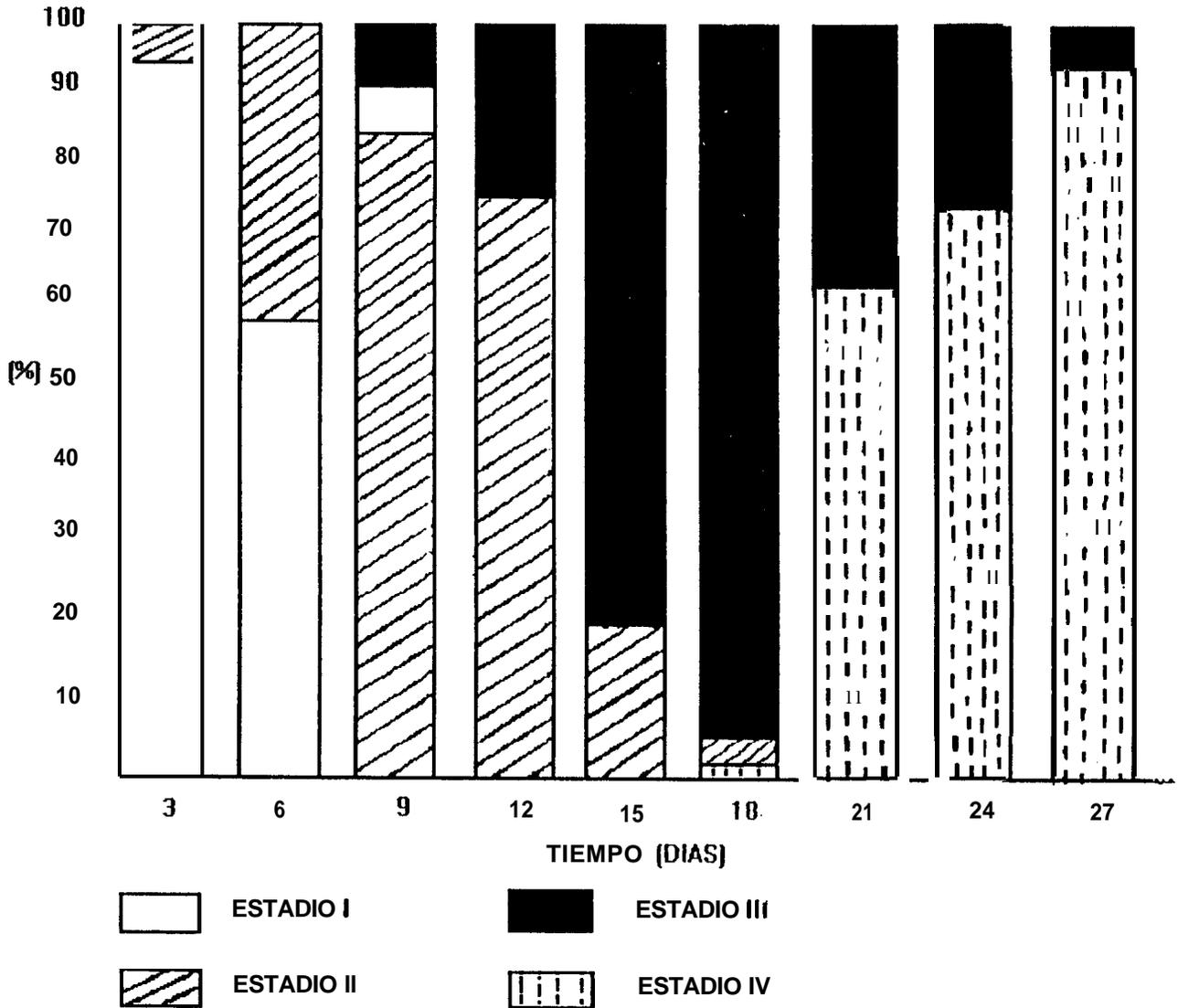


Figura 4. Porcentaje de madurez gonadal de la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) durante el acondicionamiento gonádico.

homogénea y la gónada aumentó aún más su volumen. El día 27, el 95% de los organismos se encontraron en el estadio IV.

## 6.2 Inducción al desove

En la Tabla 1, se presentan los resultados de los experimentos de inducción al desove.

El choque térmico agudo de 18 a 30 °C en 1 segundo, indujo el desove en 20% de las almejas solamente, con una respuesta media entre 3 y 5 horas después de aplicado el estímulo. El 75% de estos organismos iniciaron el desove como macho y el resto lo hicieron como hembra. En los tratamientos siguientes, choque térmico rápido (3 °C por minuto de 18 a 30 °C) e incremento térmico gradual (1°C/min de 18 a 30 °C), solamente 10 y 30% de las almejas desovaron. La respuesta fue lenta, y media, respectivamente. Cuando el tratamiento de incremento térmico gradual fue aplicado con adición de productos sexuales, la respuesta al estímulo se incrementó al 50% de los organismos. El tiempo de respuesta permaneció a un nivel medio. El promedio de los porcentajes de desove iniciales como hembra o macho obtenidos de los tratamientos térmicos, mostraron que un 63% fueron desoves como macho y solamente el 37% iniciaron liberando ovocitos. Las almejas estimuladas por los diferentes tratamientos térmicos,

Tabla 1. Respuesta a diferentes estímulos del desove, en ejemplares reproductivamente maduros de almeja *Argopecten ventricosus* (n=20 individuos).

Método	Respuesta (% de ocurrencia)			Desove inicial (%)	
	Rápida < 3 h	Media 3-5 h	Lenta > 5 h	Hembra	Macho
Choque térmico agudo (18-30°C en 1 segundo)		20		25	75
Choque térmico rápido, (incrementos de 3°C/min. de 18 a 30°C)	-		10	50	50
Incremento térmico gradual (1°C/min de 18 a 30°C)	-	30		35	65
Incremento térmico gradual con adición de gametos (= al tratamiento previo)	-	50		40	60
<b>Porcentage</b> promedio usando el estímulos térmicos.	-			37.5	62.5
Inyección intragonadal de serotonina (0.025, 0.25, y 2.5 mM)	100			0	100
Inyección intragonadal de de KCL (0.5, 1.0 y 2.0 mM)	-			0	0
Choques eléctricos (20V durante 1 seg)				0	0

continuaron desovando cambiando de un producto sexual a otro sin ningún patrón definido.

Por otra parte, las almejas inyectadas con serotonina, fueron estimuladas en un 100%, iniciando el desove como machos. Las respuestas en las tres concentraciones de serotonina fué rápida. El esperma fué liberado a los  $9 \pm 1$  min después de la inyección. Sin embargo, este método resultó muy estresante para los organismos ya que la serotonina produjo movimientos valvares muy bruscos al grado que en ocasiones se expulsaron filamentos branquiales. El desove de esperma continuó hasta la tercer hora posterior a la inyección de serotonina. Durante este tiempo, no se' observó la expulsión de ovocitos.

Por último, no se obtuvo respuesta a las inyecciones de cloruro de potasio ni a los choques eléctricos.

### 6.3 Fecundidad real

La fecundidad real promedio de 20 almejas de 45 mm de altura, fué de  $2.59 \pm 0.42 \times 10^6$  ovocitos, con un valor máximo de 3.01 y mínimo de  $2.17 \times 10^6$ .

En la gran mayoría de los organismos, los desoves fueron parciales, ya que se observaron gametos residuales en el interior de la gónada aún cuando el desove ya hubiese concluido.

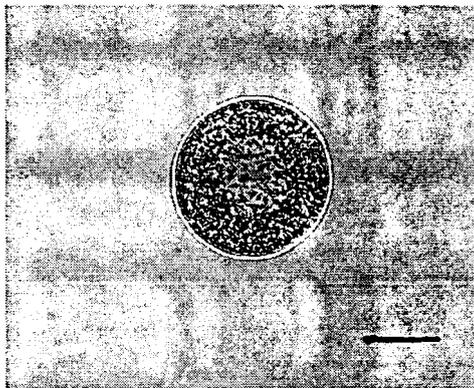
Los ovocitos desovados de la almeja catarina, tuvieron un diámetro promedio de  $53.0 \pm 5.0 \mu\text{m}$  (Figura 5a) ( $n=20$ ), con un diámetro mínimo de  $48 \mu\text{m}$  y máximo de  $58.0 \mu\text{m}$ .

Por otra parte, los conteos de esperma dieron como resultado un promedio de  $178 \pm 71$  millones por organismo, con un máximo de 249 y un mínimo de 108 millones. La cabeza del espermatozoide midió  $3.0 \pm 0.4 \mu\text{m}$  de longitud por  $2.3 \pm 0.1$  de anchura y el flagelo  $47.0 \pm 3.0 \mu\text{m}$  de longitud (Figura 5b).

#### 6.4 Desarrollo embrionario, larval y juvenil de *Argopecten ventricosus*.

La fertilización ocurrió en un 90 % de los ovocitos desovados, a una proporción de 7 espermatozoides por ovocito. Sin embargo, se desconoce el número de ovocitos que venían previamente fertilizados a la adición del esperma, ya que en la almeja catarina, ocurren simultáneamente ambos gametos en el riñón de la almeja catarina durante el desove (Lora-Vilchis, Rodríguez-Jaramillo y Maeda-Martínez com. pers)

a)



b)

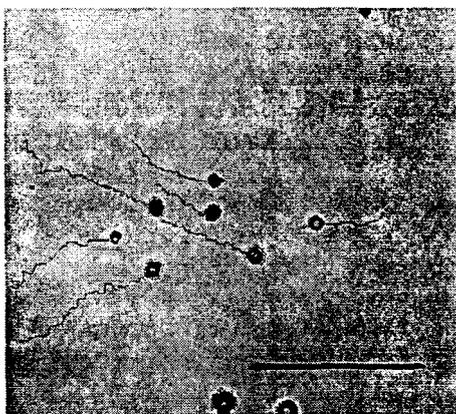


Figura 5. Gametos de la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*)  
a) Ovocito; b) Espermatozoides. (Barra=30  $\mu\text{m}$ )

El crecimiento larvario fué lineal durante los 15 días de cultivo y se describe mediante la ecuación:

$$\text{Altura de la concha} = 54.1895 + 6.0969 * \text{Días}$$

Los ovocitos fecundados de forma esférica, presentaron el primer cuerpo polar entre los 9-12 min (Figura 6a) y el segundo a los 13-15 min después de la fertilización (Figura 6b). La primera división celular ocurrió a los 25 min después de la fertilización (Figura 6c), y a los 40 min, el embrión de 73  $\mu\text{m}$  de diámetro, desarrolló un lóbulo polar del tamaño de los dos primeros blastómeros, dando la impresión de un estadio de tres células (Figura 6d). La segunda división ocurrió a los 80 min, resultando un embrión de 4 blastómeros de 76  $\mu\text{m}$  (Figura 6e). Mas tarde, uno de los blastómeros desarrolló un lobulo polar, dando la apariencia de un estadio de cinco células (Figura 6f). Este lóbulo polar fué de mayor tamaño que los blastómeros.

A las tres horas de la fertilización, se formó una blástula esférica de 80  $\mu\text{m}$  de diámetro (Figura 7a), la cual permaneció hasta la quinta hora sin ningún cambio morfológico aparente bajo el microscopio compuesto. A partir de

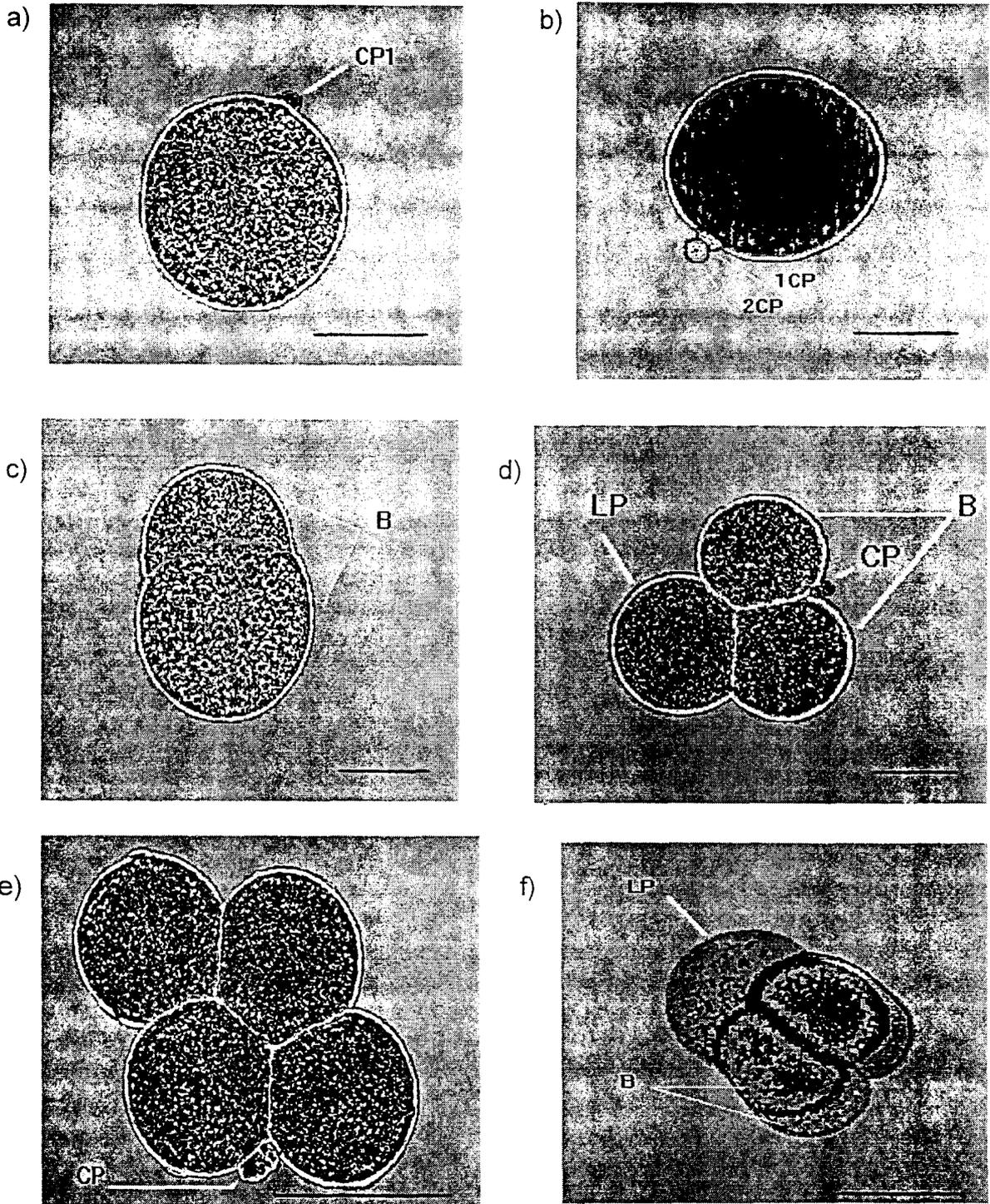


Figura 6. Desarrollo embrionario de la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*). Ver texto para la descripción de las microfotografías, CP1=1er. cuerpo polar; 2CP=2do. cuerpo polar; CP=cuerpos polares (1er y 2do.); LP=lóbulo polar. (Barra=30  $\mu$ m).

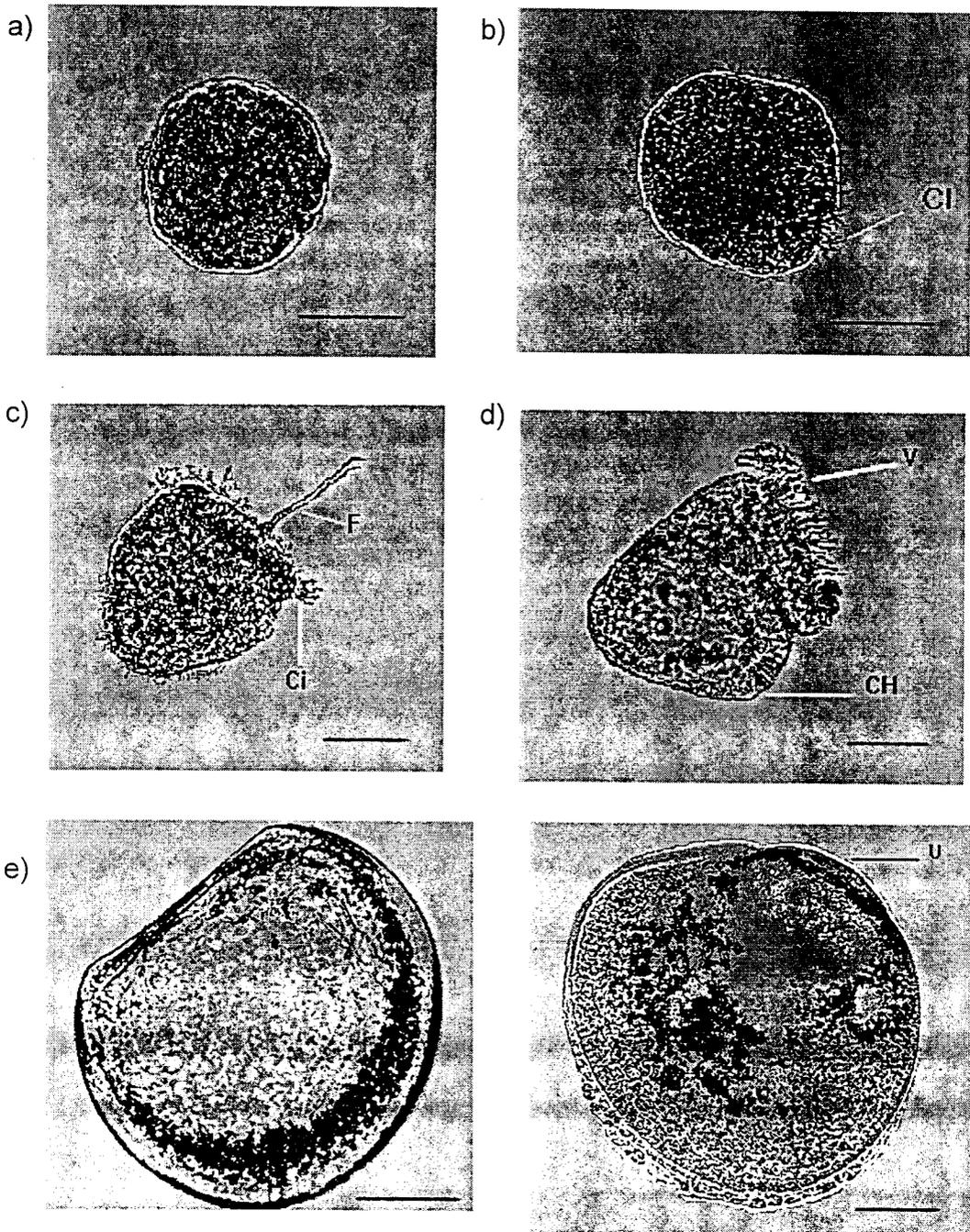


Figura 7. Desarrollo embrionario y larvario de la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*). a) Blástula, b) Gástrula, c) Larva trocófora, d) Secreción de la prodisoconcha durante la metamorfosis de larva trocófora a larva véliger, e) Larva veliger "D", f) Larva veliger umbada. BARRA = 30  $\mu$ m. (CI = Cilios; F = Flagelo apical; V = Velum; CH = Prodisoconcha; U = Umbo).

la quinta hora, se desarrolló una gástrula ciliada casi esférica (Figura 7b), la cual exhibió movimientos rotatorios muy activos tanto en el fondo del tanque como en columna de agua. A las 6 horas, se presentó la primera larva característica de los moluscos conocida como trocófora (Figura 7c). Esta larva lecitotrófica y nadadora, adquirió una forma mas o menos cónica de 80  $\mu\text{m}$  en su dimensión mayor. Presentó una corona de cilios en uno de los extremos, en cuyo centro se desarrolló un flagelo apical de  $7\pm 1\mu\text{m}$  de longitud. El nado de la trocófora fué muy activo en dirección al flagelo apical, el cual se mantuvo permanentemente extendido.

A las 8 horas de la fertilización, fué evidente la formación de la glándula de la concha en la parte distal de la larva, y el velum en la parte proximal (Figura 7d). Esta trocófora avanzada de  $81\pm 3\mu\text{m}$ , se alimentó solamente de vitelo y se encontró parcialmente desnuda, pero mostró indicios del crecimiento de las valvas de la prodisoconcha.

Entre las 8 y las 22 horas, la larva se mantuvo muy activa, nadando continuamente en la columna de agua. Las valvas alcanzaron a cubrir el cuerpo de la larva, quedando solamente expuesto el velum. A partir de ese momento, la larva alcanzó el estadio veliger cuya característica principal fué la presencia del velum desarrollado. El velum cumplió las funciones de

natación, captura del alimento y su conducción hacia la boca, Y la respiración, hasta la metamorfosis.

La primera veliger conocida como larva de charnela recta o "D", midió 84  $\mu\text{m}$  de altura promedio de la concha (Figura 7e). En ese momento, las larvas en los tanques de cultivo se alimentaron parcialmente de las partículas del medio externo (mixotrofia), según fué observado bajo el microscopio.

Conforme avanzaba el crecimiento, el flagelo apical desapareció y la rectitud de la charnela se fué perdiendo. Del día 2 al día 12, las larvas permanecieron en natación constante en la columna de agua. El velum fué creciendo gradualmente y fué posible observar las partículas ingeridas en proceso de digestión, dentro del sistema digestivo de la larva. A partir del día 13, las larvas midieron 136  $\mu\text{m}$  de altura de la concha. Estas mostraron una apariencia más robusta por la concavidad de las valvas y la presencia del umbo (Figura 79. A los 16 días, las larvas de 178-188  $\mu\text{m}$  de altura presentaron indicios de la proximidad del asentamiento y la metamorfosis: el umbo mas desarrollado, .un pie extensible rudimentario y una mancha ocular.

Estas larvas conocidas como pediveliger, fueron transferidas al sistema de

flujo continuo y circuito cerrado descrito anteriormente (Figura 3). En este sistema, el crecimiento fué exponencial y se describe mediante la ecuación:

$$\text{Altura de la concha} = e^{(5.043 + 0.05471 \cdot \text{DIAS})}$$

A los pocos minutos de su transferencia al sistema, las pediveliger experimentaron períodos combinados de natación con intentos de reptación con el pié, tanto en la malla como en el aro de plástico del tamiz. Posteriormente, un número creciente de animales fueron reduciendo su actividad natatoria para fijarse al substrato mediante el pie e iniciar la metamorfosis.

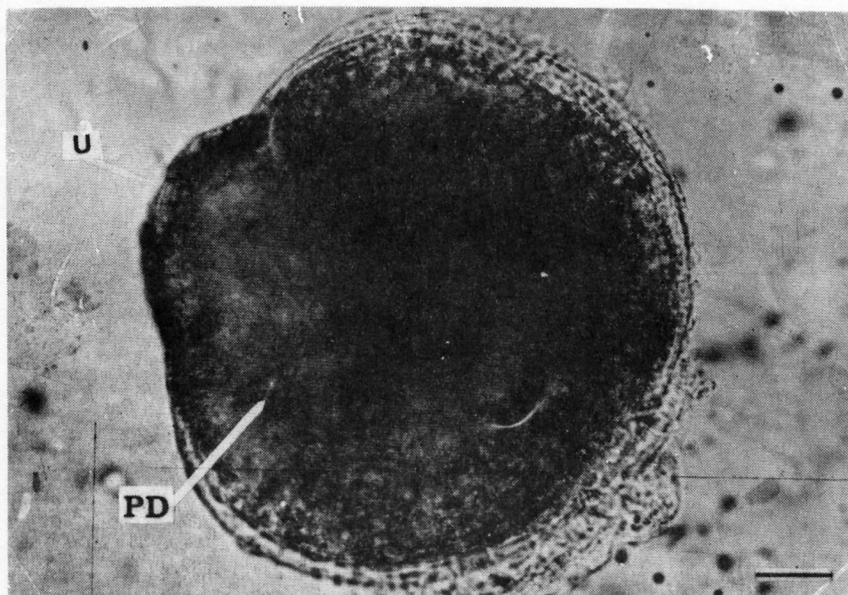
A los 19 días de la fertilización, las pediveliger de 197216  $\mu\text{m}$  de altura, mostraron la degeneración gradual del velum, la cual se acompañó del desprendimiento de cilios en movimiento. Simultáneamente, se observó el desarrollo de las branquias que tomaron las funciones del velum como órgano de respiración y filtración del alimento, y fué evidente el inicio del funcionamiento de la glándula del biso ya que algunos juveniles se observaron fijos al substrato con pelos **bisales**. Una vez perdido el velum, los ahora juveniles se distribuyeron homogéneamente en el tamiz, reptando activamente sobre la malla y el aro, hasta donde permitió el nivel del agua.

Al encontrar su sitio, los juveniles se fijaron con el biso.

Cuando los juveniles alcanzaron los 254  $\mu\text{m}$  de altura, se inició la secreción de la disoconcha, de estructura aragonítica muy frágil, con cristales exagonales muy característicos y evidentes bajo el microscopio (Figura 8a). Los juveniles de 300  $\mu\text{m}$  de altura presentaron una muesca **bisal** en la disoconcha, una aurícula dorsal derecha, y se pudo distinguir la línea divisoria entre la prodisoconcha y la disoconcha (Figura 8b). Al alcanzar las 366  $\mu\text{m}$ , algunos juveniles aún presentaron la mancha ocular (no se observa en las microfotografías) y fué visible la aurícula dorsal izquierda (Figuras 9a y 9b).

En organismos de 530  $\mu\text{m}$ , las 4 aurículas presentaron tamaños similares y la concha mayor grosor debido a la acelerada calcificación. A las 578  $\mu\text{m}$  de altura, se dejó de observar la mancha ocular y los filamentos branquiales fueron más evidentes, observándose algunos tentáculos elongados y ocelos bien desarrollados en el margen externo manto (Figura 10a). Cuando los juveniles alcanzaron la altura promedio de 611  $\mu\text{m}$ , el margen de *la concha mostró algunas líneas del crecimiento bajo el microscopio y fué* cuando se observaron manchas de blancas y de colores (Figura 1 Ob).

a)



b)

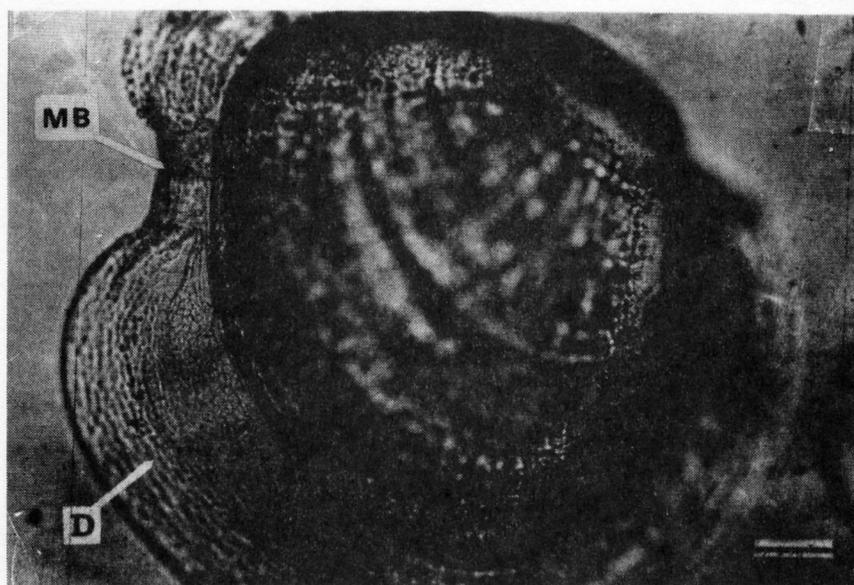


Figura 8. Secreción de la disoconcha de la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*). a) Larva véliger con un umbo de 19  $\mu\text{m}$  de ancho e inicio de la secreción de la disoconcha. b) Diferenciación de la cristalización de la prodisoconcha y disoconcha con la formación del canal del biso. D=disoconcha; MB=canal del biso; PD=prodisoconcha; U=umbo. (Barra=27  $\mu\text{m}$ )

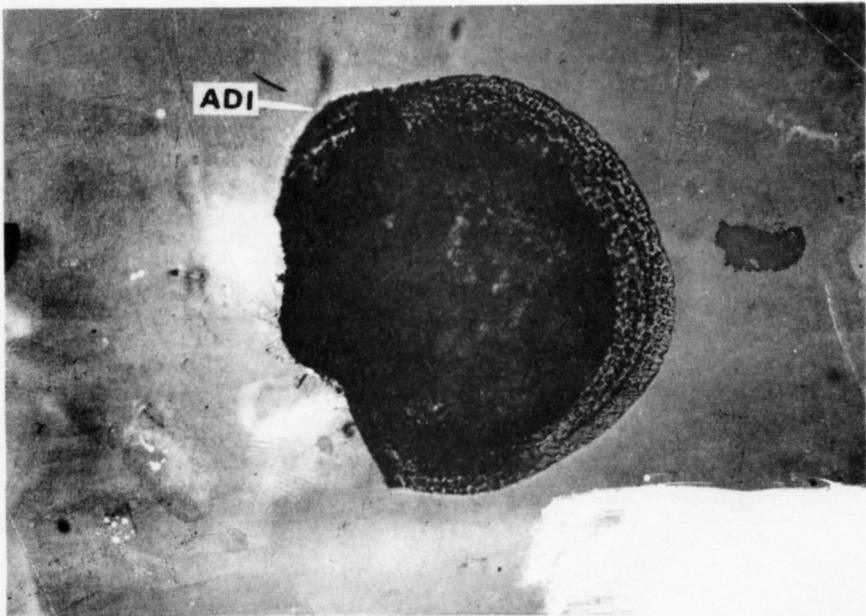
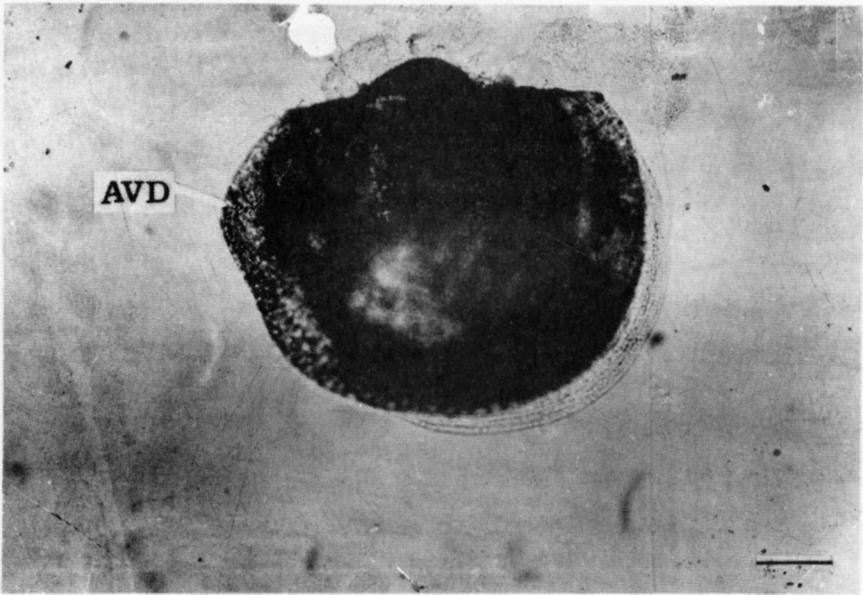


Figura 9. Crecimiento de las aurículas de la concha en juveniles de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*). a) Aurícula ventral dorsal de 18  $\mu\text{m}$  de longitud. B) Aurícula dorsal derecha. ADI= aurícula dorsal derecha; AVD=aurícula ventral derecha. (Barra=47  $\mu\text{m}$ )

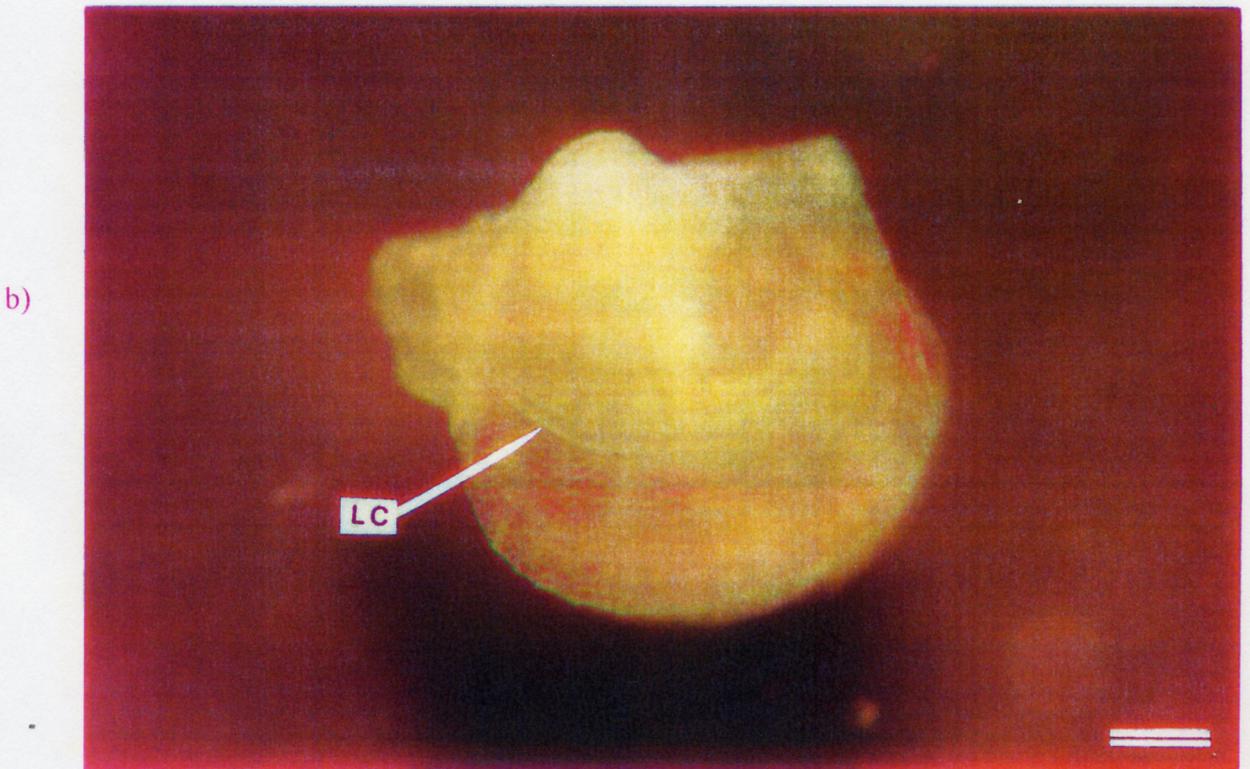
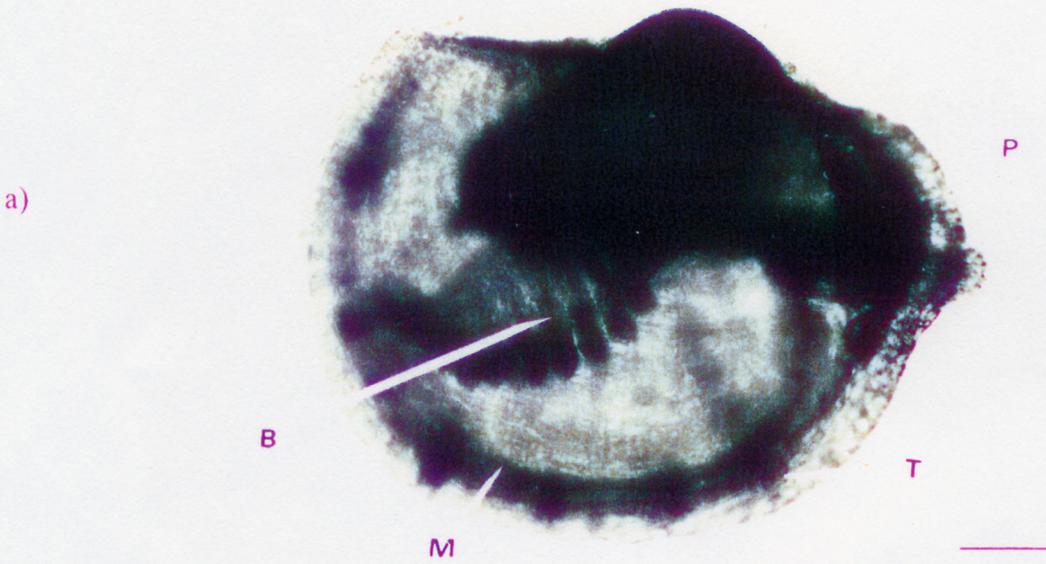
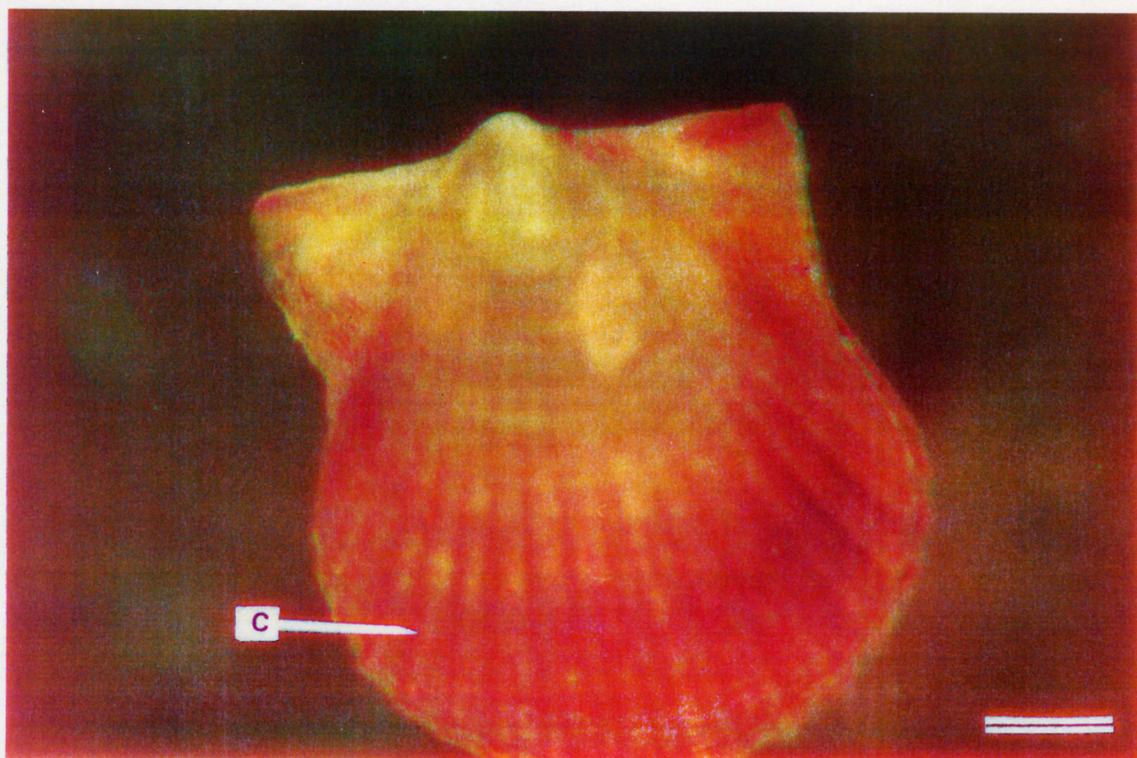


Figura 10. Juvenil de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) mostrando: a) Pie, branquias y tentáculos en el margen del manto. b) Pigmentación y líneas de crecimiento de la concha. B=branquias; M=manto; LC=líneas de crecimiento; P=pie; T=tentáculos. (Barra=34  $\mu$ m)

a)



b)

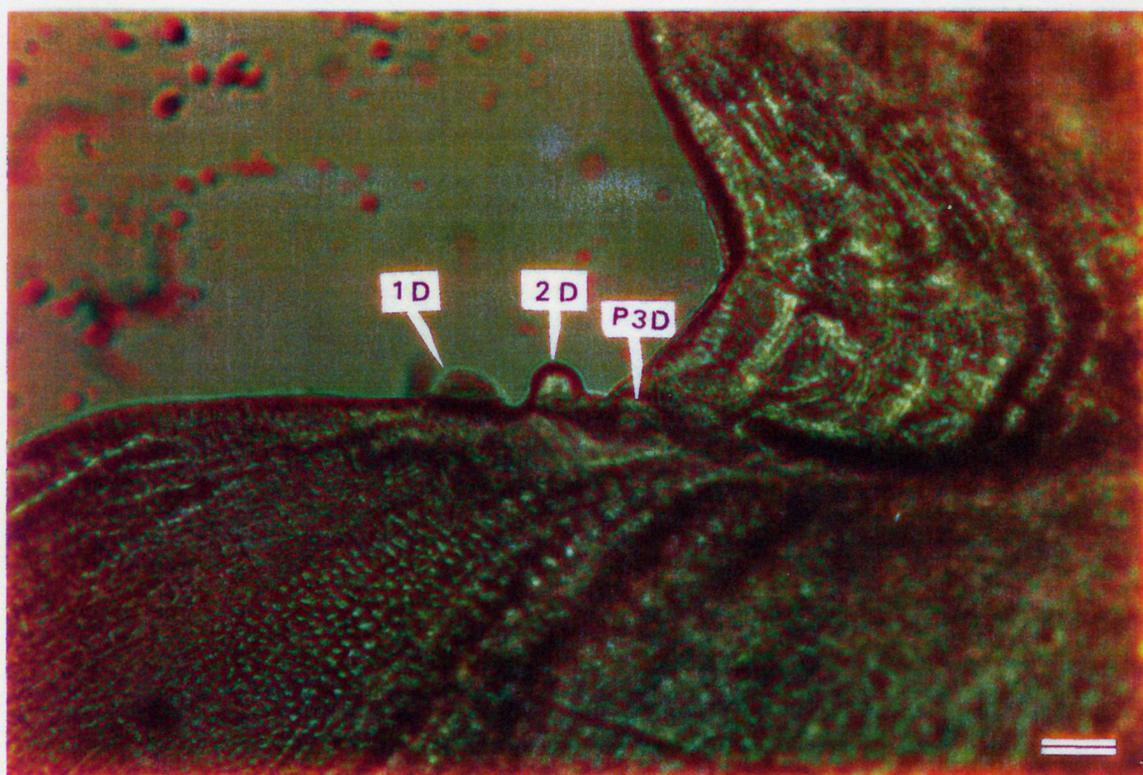


Figura 11. Juvenil de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) mostrando costillas y ctenoliums en el canal del biso de la disoconcha. a) Costillas de la concha. B) Primero, segundo y primordio del tercer ctenolium del canal del biso. C=costilla; ID, 2D=1er. y 2do. ctenoliums; P3D= primordio del tercer ctenolium del canal del biso. (Barra=34  $\mu$ m)

A los 33 días de cultivo, la concha de los juveniles de 900  $\mu\text{m}$  de altura, perdió su transparencia por completo, debido a la calcificación y pigmentación características de la especie. A las 926  $\mu\text{m}$ , se observó la formación de las costillas de la concha (Figura 1 la) y tres dientecillos o ctenoliums en el canal del biso (Figura // b), los cuales fueron aumentando en número hasta 22, en juveniles de 4,250  $\mu\text{m}$  de altura promedio (Figura 12).

#### 6.5 Crecimiento de juveniles de *Argopecten ventricosus* en relación a la temperatura y la salinidad.

Los resultados del crecimiento de juveniles cultivados durante 15 días a 20, 23 y 28 °C a diferentes salinidades (28, 32 y 37 ‰), se muestran en las Figuras 13, 14 y 15. El crecimiento en todos los tratamientos fué lineal, obteniéndose coeficientes de correlación mayores a 0.9. Por lo tanto, las pendientes de las ecuaciones reflejaron la tasa de crecimiento de los juveniles (mm/día). El mayor crecimiento se obtuvo a 20 °C-37 ‰, con un crecimiento de 0.0707 mm diarios durante los 15 días de experimentación (Tabla 2). Este crecimiento fué menor hacia temperaturas mas' elevadas y a salinidades mas bajas.

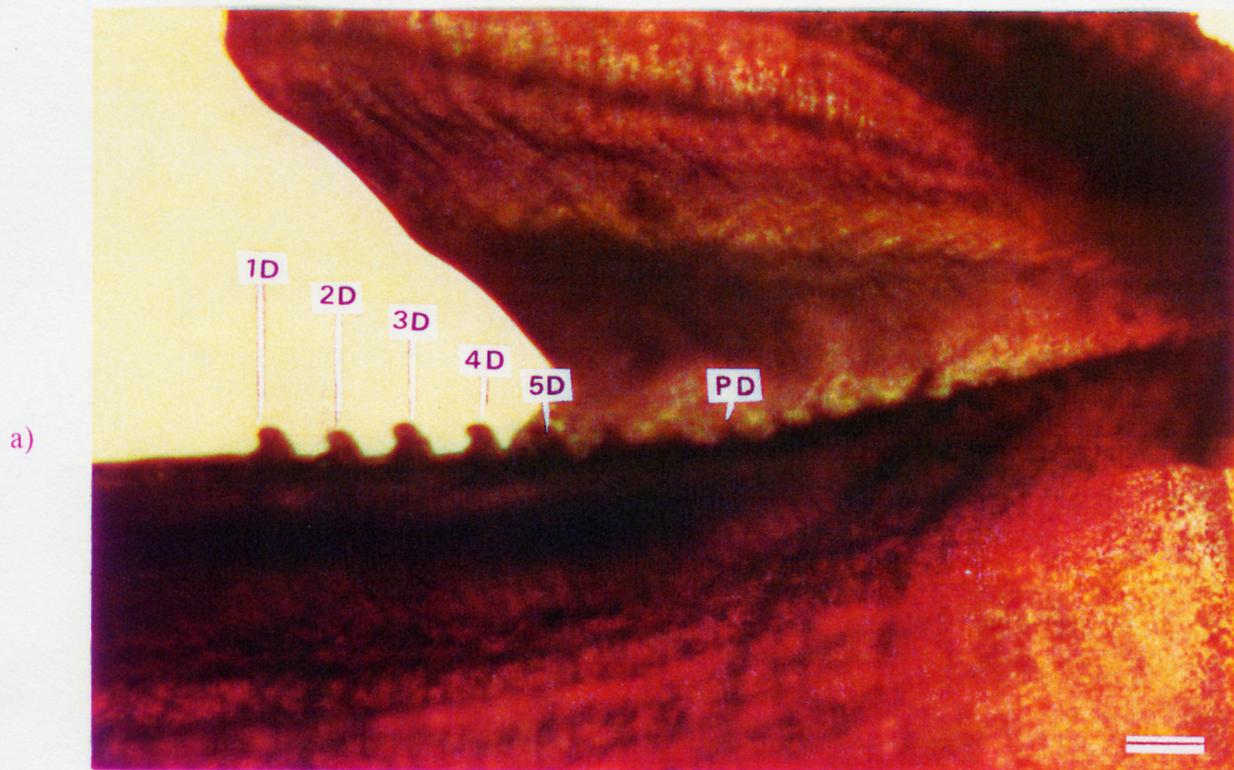
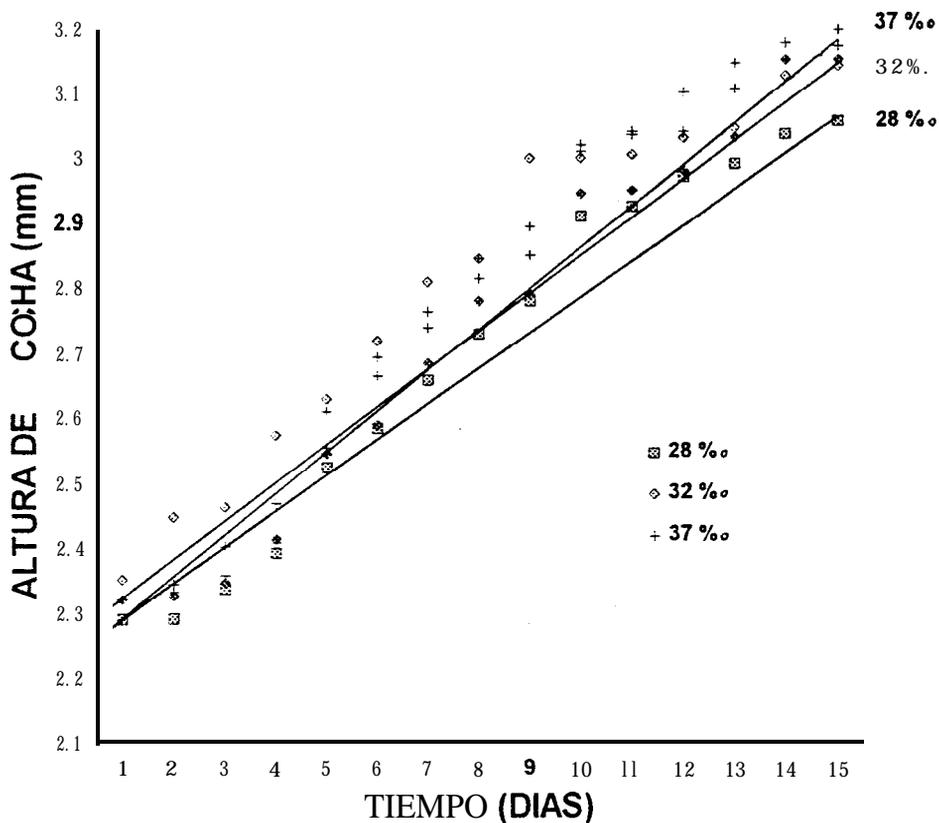
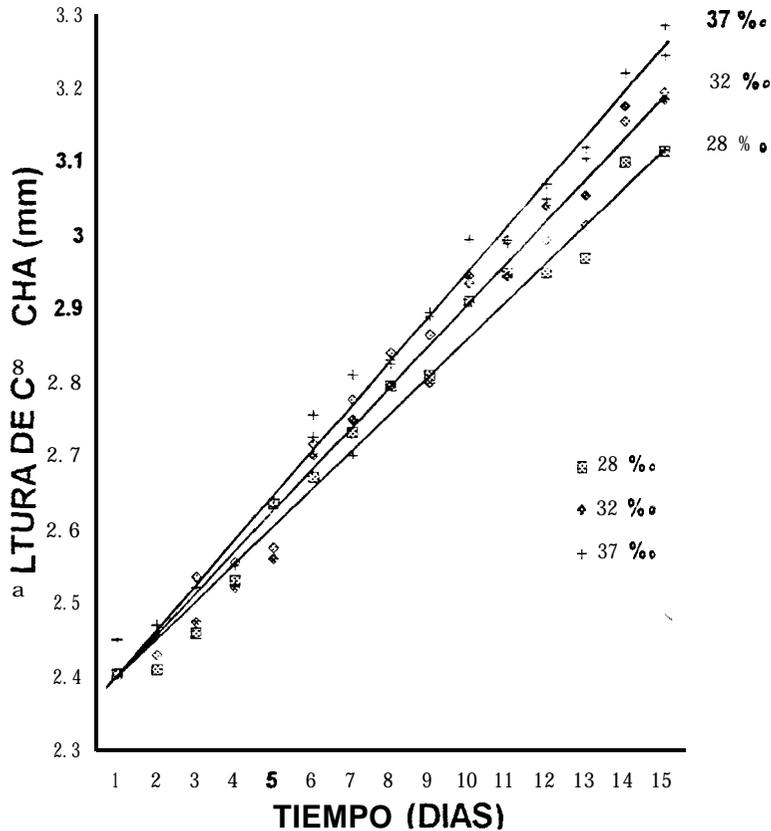


Figura 12. Ctenolium desarrollados en el canal del biso de un juvenil de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*). 1D;2D;3D;4D;5D=ctenolium; PD= primordio de ctenolium. (Barra=250  $\mu$ m)



**Figura 13.** Crecimiento de juveniles de almeja **catarina** (*Argopecten ventricosus*) ( $2.23 \pm 0.04$  mm de altura) cultivados a diferentes salinidades a  $20^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 14.** Crecimiento de juveniles de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) ( $2.23 \pm 0.04$  mm de altura) cultivados a diferentes salinidades a  $23^{\circ}\text{C}$ .

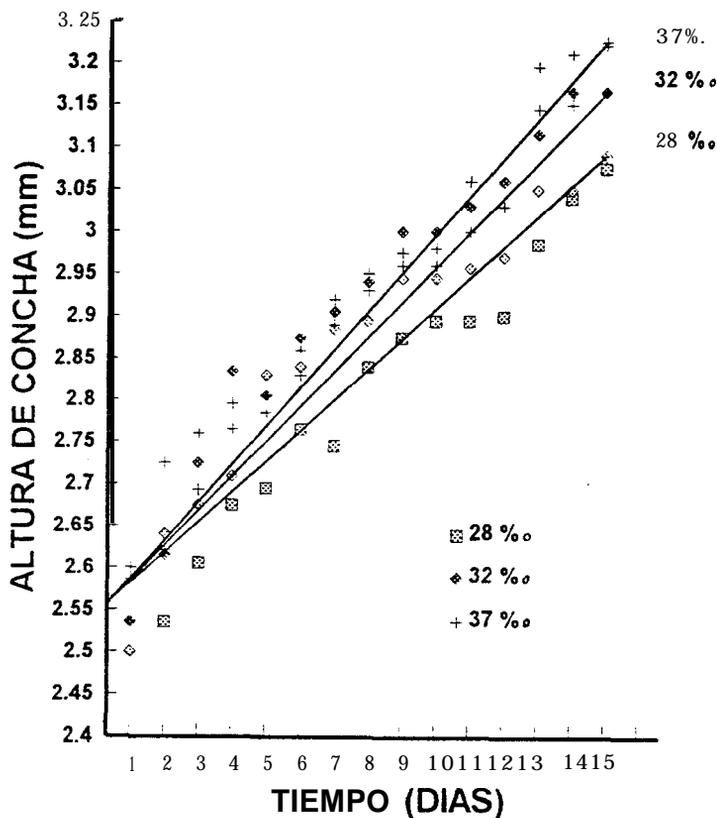


Figura 15. Crecimiento de juveniles de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) ( $2.23 \pm 0.04$  mm de altura) cultivados a diferentes salinidades a  $28^{\circ}\text{C}$ .

Tabla 2. Tasa de crecimiento (mm/día) de juveniles de *Argopecten ventricosus* ( $2.23 \pm 0.4$  mm de altura inicial), cultivados a diferentes temperaturas y salinidades, durante 15 días de experimentación.

TEMPERATURA (°C)	Repetición	SALINIDAD (‰)		
		28	32	37
20	1	0.0614	0.0659	0.0701
	2	0.0610	0.0637	0.0713
	X	0.0610	0.0637	0.0707
23	1	0.0543	0.0591	0.0605
	2	0.0529	0.0563	0.0604
	X	0.0536	0.0577	0.0604
28	1	0.0370	0.0417	0.0453
	2	0.0420	0.0359	0.0433
	X	0.0395	0.0388	0.0443

Tabla 3. Análisis de variancia donde se prueba el efecto de la salinidad y la temperatura, sobre el crecimiento de juveniles de almeja catarina *Argopecten ventricosus*.

Fuente	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F	P
Salinidad	0.000077	2	0.000038	14.84	0.0141
Temperatura	0.000947	2	0.000473	182.58	0.0001
Residual	0.000010	4	0.000002		
Total	0.001034	8			

Tabla 4. Prueba de rangos múltiples para definir las diferencias entre temperaturas sobre el crecimiento de juveniles de almeja *catarina* *Argopecten venfricosus*.

Temperatura	<i>n</i>	Medias	Grupos homogéneos
20	3	0.0655667	X
23	3	0.0572333	X
28	3	0.0408667	X
Contraste			Diferencia ± Límites
20 - 23			< 0.0247 0.003651
20 - 28			* 0.0083 0.003651
23 - 28			< -0.0163 0.003651

„ Denota diferencias significativas.

Tabla 5. Prueba de rangos múltiples para definir las diferencias entre salinidades sobre el crecimiento de juveniles de almeja *catarina* *Argopecten venfricosus*.

Salinidad	<i>n</i>	Medias	Grupos homogéneos
28	3	0.0514333	X
32	3	0.0537667	X
37	3	0.0584667	X
Contraste			Diferencia ± Límites
28-32			-0.00233 0.003651
28 - 37			< -0.00703 0.003651
32-37			* -0.0.0047 0.003651

„ Denota diferencias significativas.

El análisis de variancia de las pendientes (Tabla 3), muestra diferencias significativas ( $<0.01$ ) entre salinidades y entre temperaturas. Las pruebas de rangos múltiples del crecimiento en función de la temperatura (Tabla 4), indican nula homogeneidad entre temperaturas, mientras que el crecimiento en función de la salinidad (Tabla 5) fué homogéneo a 28 y 32 ‰ pero diferente a 37 ‰. La mortalidad en todos los tratamientos fué despreciable.

6.6 Crecimiento de juveniles de *Argopecten ventricosus* en relación a la concentración del alimento.

El crecimiento de juveniles cultivados durante 13 días a 28 °C, 37 ‰, a diferentes concentraciones de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.*, y *Tetraselmis suecica* 6:3:1 (Figura 16) fué lineal en todas las concentraciones, con coeficientes de correlación mayores a 0.94. Por lo tanto, las pendientes calculadas de los análisis de regresión entre crecimiento y concentraciones, reflejaron las tasas de crecimiento. El mayor crecimiento se obtuvo a  $1.5 \times 10^5$  células/ml con 0.0334 mm/día (Tabla 6). El crecimiento fué gradualmente menor a concentraciones de microalgas mas bajas. El análisis de variancia de las pendientes (Tabla 7), muestra diferencias significativas ( $<0.01$ ) entre las concentraciones probadas. La

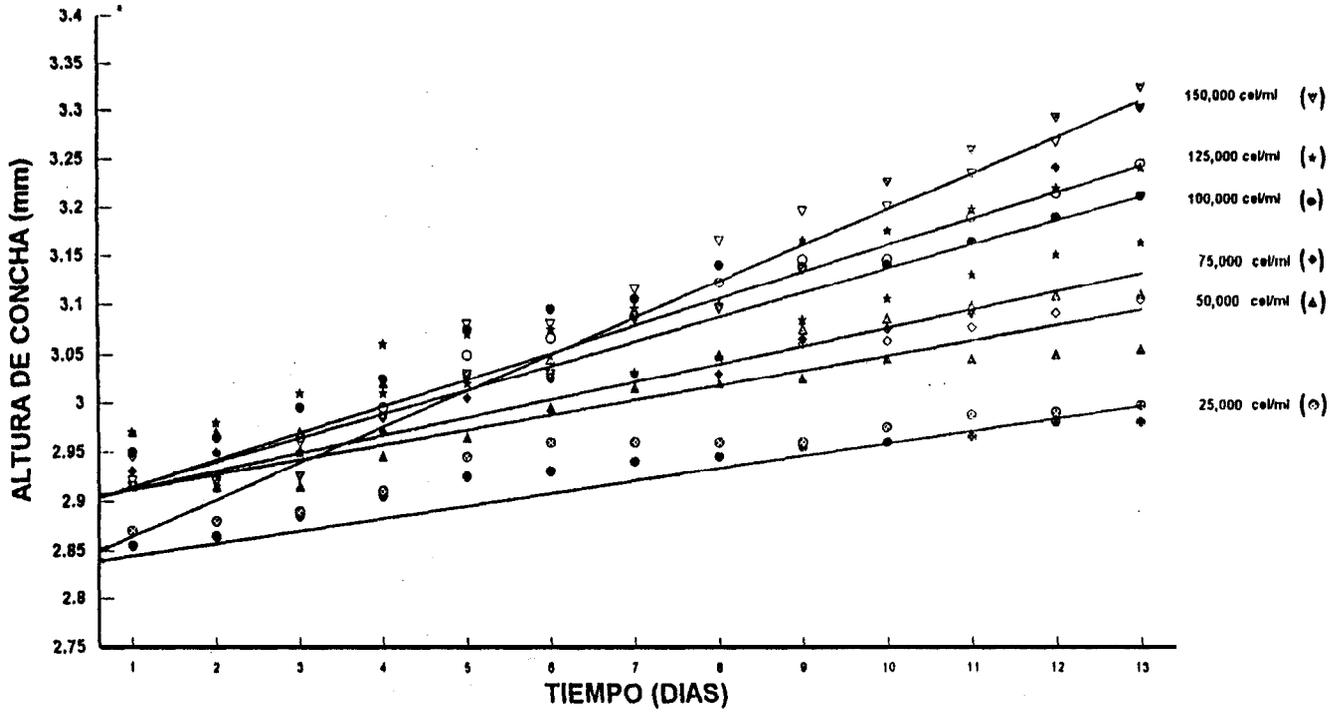


Figura 16. Crecimiento de juveniles de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) ( $2.89 \pm 0.03$  mm de altura) cultivados a  $28^\circ\text{C}$ , 37 ‰ y a diferentes concentraciones de la mezcla de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp. y *Tetraselmis suecica* en proporci3n 6:3:1.

Tabla 6. Tasa de crecimiento (mm/día) de juveniles de *Argopecten ventricosus* ( $2.89 \pm 0.03$  mm de altura) , cultivados a diferentes concentraciones de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis suecica*, en proporción 6:3:1 respectivamente a 28°C y 37 ‰.

Repetición	CONCENTRACION DE ALIMENTO ( $\times 10^5$ cel/ml)					
	0.25	0.50	0.75	1.0	1.25	1.5
1	0.012	0.016	0.0164	0.0224	0.0248	0.0338
2	0.012	0.013	0.0143	0.0206	0.0236	0.0330
X	0.012	0.014	0.0150	0.0215	0.0242	0.0334

Tabla 7. Análisis de variancia donde se prueba el efecto de la concentración de alimento, sobre el crecimiento de juveniles de almeja catarina *Argopecten ventricosus*.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F	P
Entre concentraciones	0.00063034	5	0.000126	80.77	0.000
Dentro de las concentraciones	0.00000936	6	0.000001		
Total	0.00063970	11			

prueba de rangos múltiples para crecimiento y concentración de alimento (Tabla 8), indica que la concentración de 25,000 células/ml produjo el mismo crecimiento que la de 50,000, y ésta a su vez que la de 75,000. La concentración de 75,000 células/ml fué diferente de la de 100,000, pero ésta última produjo estadísticamente el mismo crecimiento que la concentración de 125,000. Estas últimas concentraciones fueron diferentes a la mayor concentración probada (150,000 células/ml). La mortalidad en todos los tratamientos fué también despreciable.

Tabla 8 . Prueba de rangos múltiples para definir las diferencias entre concentraciones de alimento, sobre el crecimiento de juveniles de almeja *catarina Argopecten ventricosus*.

Concentración (1 0 <sup>5</sup> células/ml)	n	Media	Grupos homogéneos
25	2	0.012	X
50	2	0.0145	XX
75	2	0.01535	X
100	2	0.0215	X
125	2	0.0242	X
150	2	0.0334	X

Contraste	Diferencia	± Limites
25 - 50	-0.0025	0.003057
25 - 75	<del>del</del> -0.00335	0.003057
25 - 100	<del>del</del> -0.0095	0.003057
25 - 125	*-0.0122	0.003057
25 - 150	<del>del</del> -0.0214	0.003057
50 - 75	-0.00085	0.003057
50 - 100	<b>*-0.007</b>	0.003057
50 - 125	<b>*-0.0097</b>	0.003057
50 - 150	<del>del</del> -0.0189	0.003057
75 - 100	'-0.00615	0.003057
75 - 125	10.00885	0.003057
75 - 150	<b>*-0.01805</b>	0.003057
100 - 125	-0.0027	0.003057
100 - 150	<del>del</del> -0.0119	0.003057
125 - 150	<del>del</del> -0.0092	0.003057

~~del~~ Denota diferencias **significativas**.

## CAPITULO 7

### DISCUSION

En los pectínidos, la examinación visual de las gónadas es un método directo que permite distinguir los estadios de madurez reproductiva basándose en la apariencia morfocromática. En la almeja catarina, se han descrito escalas de madurez (Baqueiro et al., 1981; Tripp, 1985; Villalejo-Fuerte y Ochoa-Báez, 1993). Baqueiro et al. (1981) presentaron una escala histológica con cinco fases de desarrollo gametogénico sin incluir criterios cuantitativos del análisis microscópico. Tripp (1985) propone una escala basada en observaciones macroscópicas, en la cual no se especifica una diferencia morfocromática entre los estadios indiferenciado y postdesove ni entre la gametogénesis inicial y la intermedia. Sin embargo, cada estadio lo relaciona con un índice gonádico que puede ser considerado como una medida de la fecundidad relativa (Villalejo-Fuerte, 1995). La más reciente escala propuesta para esta especie (Villalejo-Fuerte y Ochoa-Báez, 1993), fué desarrollada a partir de un estudio histológico, fundamentado en la caracterización cualitativa y cuantitativa de cada estadio del desarrollo de la gónada, pero sin abordar aspectos morfocromáticos de la gametogénesis.

Esta escala proporciona la frecuencia modal del diámetro de los ovocitos en cada etapa del desarrollo gonadal.

En el presente trabajo y en el de Avilés-Quevedo (1990), se consideró adecuada la escala empírica morfocromática de **Sastry** (1963) desarrollada para *Argopecten irradians*, porque cuenta con confirmación histológica y describe adecuadamente los estadios de madurez de *Argopecten ventricosus*. En el laboratorio de producción, este método morfocromático probó ser muy rápido y permitió seleccionar fácilmente los reproductores para el desove.

El método para madurar reproductivamente la almeja **catarina** descrito en el presente trabajo, produjo reproductores maduros en solamente 27 días a 25 °C y  $3.9 \times 10^9$  células/almeja /día de la mezcla de microalgas. Sin embargo, se desconoce si este tratamiento acelera la maduración reproductiva comparativamente con el medio natural. Avilés-Quevedo y Muciño-Díaz (1988) lograron madurar completamente reproductores de esta especie en un tiempo más corto (20 días), a una temperatura más fría (18 °C) y empleando una ración alimenticia más elevada ( $4 - 5 \times 10^9$  células/almeja/día). Los siete días de diferencia con respecto a los resultados de este trabajo, se pueden deber a la falta de precisión en la selección de los reproductores por parte de Avilés-Quevedo y Muciño-Díaz (1988). Estos autores emplearon almejas en estado indiferenciado, lo que significa que sus organismos pudiesen haber estado en el estadio II de madurez cuando aún no era posible distinguir macroscópicamente el desarrollo de los gametos y sin embargo la maduración estaba ya muy

avanzada. En contraste, en este trabajo el ciclo de maduración se inició con almejas recién desovadas. En caso de que estos autores hayan partido de almejas en estadio VI, existen dos posibilidades para explicar la diferencia de siete días: a) El marco de actividad en la almeja **catarina** es máximo a 19 °C, lo que significa que existe mayor energía para el crecimiento y la reproducción a esa temperatura (M.T. Sicard com. pers.) ó b) Que la ración mas elevada empleada por Avilés-Quevedo y Muciño-Díaz (1988), haya producido una maduración más rápida. En una especie similar (*Argopecten irradians*), la maduración en condiciones de laboratorio es alcanzada entre los 26 y 30 días a 18 °C (Castagna y Duggan, 1971) y en 35 días a  $29 \pm 1$  .0 °C (Sastry, 1963) mantenidas en flujo continuo de agua de mar cruda.

La termoestimulación es uno de los métodos más comunes para la inducción al desove en moluscos (Loosanoff y Davis, 1963). De los métodos usados en este trabajo para la inducción al desove, el choque. térmico parece ser la alternativa para obtener tanto esperma como ovocitos de reproductores madurados de *Argopecten ventricosus*. Este método ha sido probado exitosamente por Avilés-Quevedo (1990), así como por Mazón-Suástegui et al. (1991); Maeda-Martínez et al. (1995); Robles-Mungaray y Serrano-Guzman (1995) en centros de producción acuícolas. La eficiencia de este inductor es mejorada si productos sexuales de ejemplares sacrificados de la misma especie son agregados al tanque del desove. La mejoría en la intensidad del estímulo por adición de productos sexuales, ha

sido observada en un gran número de especies (Lossanoff y **Davis**, 1963; Bayne, 1965). Wada (1954) encontró que la adición de suspensiones de huevos o esperma, inducen al desove en *Tridacna*. A pesar de que los tratamientos de temperatura parecen ser muy estresantes, no producen ningún efecto negativo en el desarrollo de las larvas resultantes cultivadas en el laboratorio. Otra alternativa para inducir al desove en la almeja catarina, es la combinación del manejo (choque mecánico) con algún cambio térmico. Aunque este método no fué evaluado, en este trabajo produjo desoves no buscados después de la colecta de los reproductores.

En *A. ventricosus*, el desove se inicia principalmente como machos que como hembras. Esto también ocurre en *A. irradians*, donde los espermatozoides son liberados mas fácilmente que los ovocitos (Sastry, 1966). En la actualidad no existe una explicación satisfactoria a este hecho. En la almeja catarina, la serotonina es un inductor al desove muy efectivo como en *A. irradians* (Gibbons y Castagna, 1984), *Pecten albicans* (Tanaka y Murakoshi, 1985), *Euvola ziczac* (Vélez et al., 1990) y *A. purpuratus* (Martínez, et al., 1996). Sin embargo, la serotonina no produce la liberación de ovocitos en especies hermafroditas como la almeja catarina, pero es efectiva como inductor del desove de ovocitos en pelecípodos **dióicos** como *Patinopecten yessoensis* (Matsutani y **Nomura**, 1982). El papel de la serotonina como inductor al desove en pelecípodos, requiere de mayor investigación.

Recientemente, Martínez et al. (1996), encontraron que las inyecciones de dopamina y prostaglandina E(2), con un lapso de 30 min entre las aplicaciones, inducen la liberación de esperma y ovocitos en *A. purpuratus*. Esta alternativa podría ser probada en *A. ventricosus* para la obtención separada de gametos y así poder tener control sobre la fertilización.

En el presente estudio, ejemplares maduros de *Argopecten ventricosus* de 45 mm de altura, expulsaron entre  $2.1$  y  $3.0 \times 10^6$  ovocitos. Robles-Mungaray y Serrano-Guzman (1995), estimaron una fecundidad de  $1.4 \times 10^7$  ovocitos/reproductor en animales de 5 a 7 cm de altura, basándose en el número inicial de larvas "D" obtenidas en un desove. Estos valores de fecundidad real, concuerdan con la encontrada en *A. irradians* por Sastry (1963) y Langton et al. (1987), quienes contaron alrededor de 2 millones de ovocitos por almeja. Sin embargo, Villalejo-Fuerte (1995) estimó una fecundidad cercana a los 12 millones de ovocitos para *Argopecten ventricosus*. Esta importante discrepancia puede deberse al método empleado por Villalejo-Fuerte, ya que sus cálculos los realizó midiendo la diferencia en el peso húmedo de la gónada de un organismo maduro, menos el peso húmedo de la gónada de una almeja desovada, dividido entre el peso del ovocito.

El éxito de la fertilización se podría medir por el número de ovocitos fecundados. Sin embargo, el porcentaje de fertilización obtenida en este

trabajo (90%), a razón de 7 espermatozoides por ovocito, no refleja el número de larvas normales que se obtuvieron, ya que un número no cuantificado de larvas mostraron malformaciones. Gruffydd y Beaumont (1970) determinaron la proporción óptima de ovocitos y espermatozoides en *Pecten maximus* pero concluyen que un alto porcentaje (90.5%) de los embriones desarrollarán uno de los cuatro tipos de malformaciones descritas por ellos mismos. La causa de las malformaciones está relacionada con el número de ovocitos en el recipiente cultivo mas que a la poliespermia. En el laboratorio de ecofisiología y cultivos del CIBNOR, se obtienen entre 8 y 16 % de larvas normales en *A. ventricosus* (Maeda-Martínez et al., 1989).

Las larvas anormales se eliminaron gradualmente a los primeros días del cultivo, gracias al tamizado regular de larvas descrita en el Capítulo 2. Al avanzar el crecimiento, las larvas anormales se fueron rezagando del grupo de larvas normales.

El desarrollo de embriones, larvas y juveniles **ocurrió** como lo describe Avilés-Quevedo, (1990). Adicionalmente, en el presente trabajo se muestra fotográficamente el desarrollo de la disoconcha sobre la prodisoconcha, posteriormente a la metamorfosis. Este es un momento crítico, ya que la manipulación de los juveniles pudiese causarles daño.

La mortalidad normalmente observada durante la metamorfosis, puede

deberse al efecto de la inanición del organismo, causada por la descoordinación natural entre la degeneración del velum y la secreción de los filamentos branquiales. Gruffydd y Beaumont (1972), mencionan que los filamentos branquiales son funcionales como órgano de alimentación durante el primer día posterior a la metamorfosis. Aquí cobra relevancia el vigor larval producido por una alimentación adecuada durante el cultivo.

En la actualidad no se conocen estudios que evalúen el crecimiento y la supervivencia larvaria en moluscos, en función de la geometría de los tanques de cultivo. En este trabajo, el cultivo de larvas se realizó en tanques cilíndricos de fondo cónico, dando buenos resultados de crecimiento (6.09  $\mu\text{m}/\text{día}$ ). Posiblemente la ventaja más importante en la geometría de los tanques usados fué la inyección de aire por el vértice del fondo cónico, ya que se evitó la sedimentación de las larvas y produjo una mezcla más efectiva del alimento. Aún es necesario hacer un estudio comparativo del crecimiento y la supervivencia de las larvas cultivadas en tanques de diferentes dimensiones y formas.

El crecimiento larvario de *A. ventricosus* fué similar al obtenido por Avilés-Quevedo (1990) y Mazón-Suástegui et al. (1991). Sin embargo, la tasa de crecimiento fué menor a la obtenida por Robles-Mungaray y Serrano-Guzmán (1995) quienes produjeron larvas pediveliger en Bahía Kino, Sonora en solamente 9 días a  $28 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 35-36 ‰ y  $30\text{-}50 \times 10^3$  células/ml

de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans*. La diferencia puede ser explicada por la alta calidad de agua existente en el laboratorio de Bahía Kino la cual es tomada prácticamente de mar abierto.

Como se ha mencionado, debido a la alta mortalidad que ocurre durante el asentamiento y la metamorfosis, se han buscado sistemas para aumentar la supervivencia. Para fijar larvas metamórficas de *A. ventricosus*, Mazón-Suástegui et al. (1991) emplearon charolas de asentamiento usadas en ostras y sistemas de surgencia con 0.7 % y 9.6% de supervivencia respectivamente. Maeda-Martínez et al. (1995) y Robles-Mungaray y Serrano Guzmán (1995), introdujeron mallas de fijación en los tanques de larvas con 30 y 58 % de supervivencia, respectivamente. En el presente trabajo se obtuvo un 50 % de supervivencia, fijando las **pediveliger** en tamices de malla de nylon.

En este estudio, se logró determinar la combinación óptima de temperatura (20 °C) y salinidad (37 ‰) en el crecimiento de juveniles de almeja catarina. Este hallazgo tiene una gran relevancia, ya que durante mucho tiempo se había especulado sobre este tema. En cuanto a la temperatura, los resultados indican que *A. ventricosus* es una especie que se adapta más a condiciones templadas que a las tropicales. Con esto se puede explicar la ocurrencia espasmódica de la especie en las bahías cálidas del Golfo de California (Concepción y La Paz) en México y en las costas de Panamá,

durante períodos climáticos fríos, y la presencia permanente en las bahías frías de México (Magdalena, San Ignacio) y zonas profundas de la plataforma continental de Baja California. Los resultados de este trabajo, coinciden con los reportados por Singnoret-Brailovsky *et al.* (1996), quienes encontraron que *A. ventricosus* es un osmoconformador perfecto y sobrevive en un mayor porcentaje a 37 ‰. Estos autores definieron el intervalo de salinidad en adultos de la especie entre 27 y 47 ‰. Las salinidades empleadas en el presente trabajo de 28 a 37 ‰, caen dentro de ese intervalo, lo cual explica porqué la mortalidad fué despreciable.

En el presente trabajo, se empleó un método similar al de Walne (1970) para determinar la cantidad de alimento óptimo en la almeja catarina. Sin embargo, la tasa de crecimiento mas alta (0.0334 mm/día), se obtuvo a la densidad microalgal más elevada ( $1.5 \times 10^5$  células/ml). Por lo tanto, no se logró determinar si una concentración mas elevada pudiese producir un mayor crecimiento. Debido a que en los moluscos la tasa de filtración es inversamente proporcional a la densidad de partículas suspendidas (Jørgensen, 1960; Bayne, 1983), el continuar elevando la concentración de microalgas resultaría posiblemente en una **disfunción** del aparato filtroalimentador (Bayne, 1976; Motton, 1983) de las almejas . Por lo tanto, para determinar la cantidad de alimento en almeja **catarina** a concentraciones mas elevadas, sería conveniente utilizar un método que

mantenga la concentración de microalgas constante mientras se monitorea el consumo de alimento (Winter, 1973).

La tasa de crecimiento del experimento de temperatura y salinidad a 28°C y 37 ‰ (0.0443 mm/día), debería ser la misma que la del experimento de concentración de alimento a  $1.5 \times 10^5$  células/ml (0.0334 mm/día). La diferencia posiblemente se deba a que en el segundo experimento, se emplearon semillas mas grandes (2.89 mm) que en las del primero. (2.23 mm). La tasa de crecimiento es inversamente proporcional a la talla de los organismos.

## CAPITULO 8

## CONCLUSIONES

- 1.- Los reproductores recién desovados de almeja catarina, pueden ser madurados artificialmente en 27 días, a  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 37‰ y alimentados con  $3.9 \times 10^9$  células/almeja/día de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis suecica*, en proporción 6:3:1.
- 2.- La termoestimulación combinada con la adición de productos sexuales, produjo el desove en el 50 % de los reproductores, y fué el único tratamiento que indujo la liberación de ovocitos.
- 3.- La serotonina (5-hidroxitriptamina) fué muy efectiva como inductor de esperma solamente.
- 4.- La fecundidad real varió entre 2.17 y 3.01 millones de ovocitos por almeja de 45 mm de altura.
- 5.- Los tanques cilíndricos son apropiados para el cultivo de larvas de almeja catarina. En estos tanques, el período larval tuvo una duración de 15 días, con una tasa de crecimiento de 6.09  $\mu\text{m}/\text{día}$ .
- 6.- El sistema de fijación descrito en este trabajo, produce una alta supervivencia (50%), durante la metamorfosis de las larvas de almeja catarina.
- 7.- El crecimiento de los juveniles en tamices fué exponencial, alcanzándose 4.3 mm de altura en 45 días.
- 8.- El mayor crecimiento (0.0707 mm/día) en juveniles de almeja catarina, se obtuvo a  $20^\circ\text{C}$  y 37‰, habiéndose probado las combinaciones de 20, 23 y  $28^\circ\text{C}$  y 28, 32 y 37 ‰.
- 9.- El mayor crecimiento (0.0334 mm/día) en juveniles de almeja catarina, se obtuvo a  $1.5 \times 10^5$  células/ml de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis suecica*, en proporción 6:3:1, habiéndose probado concentraciones entre  $0.25 \times 10^5$  y  $1.5 \times 10^5$ . No se logró determinar si una concentración mas alta podría producir un mayor crecimiento.

## CAPITULO 9

### RECOMENDACIONES

- 1.- Se recomienda el uso del método morfocromático empleado en este trabajo, para determinar los estadios de madurez en la almeja catarina. Sin embargo, aún se requiere desarrollar una escala de madurez gonádica específica para esta especie, con confirmación histológica.
- 2.- Se recomienda la termoestimulación con adición de productos sexuales, como método para obtener ovocitos y esperma, en reproductores maduros de almeja catarina.
- 3.- Se recomienda la cuenta directa de ovocitos desovados, para la determinación de la fecundidad real en moluscos.
- 4.- Se recomienda realizar un estudio que defina la causa de las malformaciones en las larvas de almeja catarina y otros pectínidos. En su caso, determinar la densidad óptima de ovocitos para disminuir el porcentaje de larvas con malformaciones.
- 5.- Se recomienda el uso de tanques cilindrico-cónicos para el cultivo de larvas de almeja catarina. Sin embargo, aún es necesario realizar un estudio de supervivencia larvaria, en función de la geometría del tanque de cultivo.
- 6.- Para maximizar la tasa de crecimiento larvario, se recomienda que los laboratorios de producción\_ de larvas, cuenten con una fuente de agua de mar de la mas alta calidad posible. De preferencia, el agua debería de ser bombeada desde mar abierto.
- 7.- Se recomienda confirmar por métodos ecofisiológicos, la combinación óptima de temperatura y salinidad encontrada en este trabajo, en el crecimiento de juveniles de almeja catarina.
- 8.- Para la determinación de la cantidad de alimento óptima en la almeja catarina y otros moluscos, se recomienda el uso de un método **que mantenga la concentración de microalgas constante, mientras se monitorea el consumo** del alimento.

## CAPITULO 10

## BIBLIOGRAFIA

AVILES-QUEVEDO, M.A., 1990. Crecimiento de la almeja **catarina** (*Argopecten circularis*) en función del alimento, con anotaciones sobre su biología y desarrollo. **Tesis de Maestría, CICIMAR**, La Paz, B.C.S. Méx. 81 pp.

AVILES-QUEVEDO, M.A. y MUCIÑO-DIAZ, M.O., 1988. Gonad conditioning and spawning of *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) under laboratory conditions. **Rev. Latinoam. Acuicult.** 38:13-21.

AVILES-QUEVEDO, M.A. y MUCIÑO-DIAZ, M.O., 1990. Acondicionamiento gonádico y desove de *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) en condiciones de laboratorio. **Ciencia Pesquera. Inst. Nal. Pesca. México.** 7:9-15.

BAQUEIRO, C. E., PEÑA, R.I. y MASSO, J.A., 1981. Análisis de una población sobreexplotada de *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) en la Ensenada de La Paz, B.C.S., México. **Ciencia pesquera**, 1(2): 1-85.

BAYNE, B.L., 1985. Growth and the **delay** of metamorphosis of the **larvae** of *Mytilus edulis* (L.). **Ophelia 2: 1-47**

BAYNE, B.L., 1976. The biology of mussel larvae. In: Bayne, B.L. (ed) **Marine mussels: Their Ecology and Physiology**. pp. 81-120. Cambridge University Press. London,

BAYNE, B.L., 1983. Feeding and growth in mollusc larvae. In: Verdonk, N.H., J.A.M. Van Der Viggelaar y A.S. Tompa (eds.). **The mollusca, vol. 3**, pp. 299-352. Academic Press N.Y.

BLAKE, N.J. y SASTRY, A.N., 1979. Neurosecretory regulation of oogenesis in the bay scallop *Argopecten irradians irradians* (Lamarck). In: E. Naylor and R.G. Hartnoll (Editors), **Cyclic Phenomena in Marine Plants and Animals**, Pergamon Press, New York, pp. 181-190.

CACERES-MARTINEZ, C., RAMIREZ-FILIPPINI, H. D y

CHAVEZ-VILLALVA, J., 1986. Cultivo en parques de la almeja *Argopecten circularis*. **Primer Congreso de Acuicultura AMAC**. Pachuca, Hgo., México, Diciembre de 1986 (Resumen).

**CACERES-MARTINEZ, C., RUIZ-VERDUGO, C. y RODRIGUEZ-JARAMILLO, M.C.**, 1990. Variaciones estacionales del índice gonádico y muscular de *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) en la Ensenada de La Paz, B.C.S.; México. **Inv. Mar. CICIMAR**, 5(1):1-6.

**CASTAGNA, M. y DUGGAN, W.**, 1971. Rearing the bay scallop, *Aequipecten irradians*. **Proceeding National Shellfish Association**, Maryland, U.S.A. 61:80-85.

**CORONEL-SOLORZANO, J.S., PORRAS, C.S. y ORMART, P.**, 1987. Metodología para la cría de larvas de almeja catarina (*Argopecten circularis*) en laboratorio. **Segundo Congreso de la Asociación Mexicana de Acuicultores AMAC'87**. La Paz, B.C.S. México (resumen)

CUMMING, W.C., 1961. Maturation and spawning of the pink shrimp *Penaeus duorarum*, Burkenroad. **Trans. Am. Fish. Soc.** 90:462-468.

**DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACION**, 1987. Acuerdo de regularización sobre la explotación de la almeja catarina (*Argopecten circularis*) en los litorales del Estado de Baja California Sur. México, D.F. 1 jul. 1987. 2 pp.

DUPUY, D. L., WINDSOR, N. T. y SUTTON, C.E., 1977. Manual for the design and operation of an oyster seed hatchery for the **American** oyster *Crassostrea virginica*. **Special Report No. 142. V.I.M.S., 104 pp.**

EBERT, E.E., y HOUK., J.L., 1984. Element and innovations in the cultivation of red abalone *Haliotis rufescens*. **Aquaculture 39:375-392.**

FELIX-PICO, E.F., 1975. Informe del Programa de Estudios Ecológicos de Bahía Concepción, Estero San Lucas y Bahía de La Paz. Residencia de acuicultura. **Secretaría de Recursos Hidráulicos, La Paz, B.C.S., 22 pp.**

FELIX-PICO, E.F., 1978. Cultivo de almeja catarina. Inf. Técnico Anual. Oficina de Desarrollo Acuacultural. **Departamento de Pesca. La Paz, B.C.S., 12pp.**

FELIX-PICO, E.F., 1985. Cultivo de *Argopecten circularis* en Baja California Sur, México. **5th International Pectínid Workshop**, La Coruña, Spain; 6-10 de mayo de 1985, 12 pp.

FELIX-PICO, E.F., 1991a. México. In: S.E. Shumway S.E.(Ed.), **Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture**. Elsevier, Amsterdam, pp. 943-980.

ICO, E.F., 1991 b. Reproductive cycle of *Argopecten circularis* in na Bay. **8th International Pectinid Workshop**. Cherbourg : May 22-29, 1991, 151-153 pp

CO, E.F., TRIPP-QUEZADA, A. y SINGH-CABANILLAS, J., 1989. entes en el cultivo de *Argopecten circularis* (Sowerby), en Baja a Sur, México. **Inv. Mar. CICIMAR**. 4(1):73-92

ICO, E.F., MORALES, R., COTA-ABAROA, M.T., SINGH-LLAS, J. y VERDUGO, J., 1980. Cultivo piloto de almeja catarina (*ten circularis*) en la Ensenada de La Paz, B.C.S. En:Secretaria de México (Editor). **Memorias del segundo simposio de acuicultura**, D.F., Noviembre 1978, 823-844.

R, V. y GRAHAM, A., 1964. Reproduction. pp 127-164. In: K.M. and C. M. Yonge (eds.) **Physiology of Mollusca**. vol. 1. Academic ew York.

TT, P.A., 1975. Storage cycles in marine bivalve molluscs: A isis concerning the relationships between glycogen metabolism and enesis. In: H. Barnes (editor) **Ninth European Marine Biology sium**, Aberdeen University Press, Aberdeen Scotland, pp191-211.

GALTSOFF, P.S., 1961. Physiology of reproduction in molluscs. **Am. Zool.** 1:273-289.

GALTSOFF, P.S., 1969. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. U.S. Fish. Wild. Serv., **Fish. Bull.** 64:1-480.

GIBBONS, M.C. y CASTAGNA, M., 1984. Serotonin as an inducer of spawning in six bivalve species. **Aquaculture** 40: 189-191

GIESE, A. C., 1959. Comparative physiology: annual reproductive cycles of marine invertebrates. **Annu. Rev. Physiol.** 21:547-546.

GIESE, A.C. y PEARSE, J.S., 1974. Introduction: general principles. pp 1-49. In: A.C. Giese and J.S. Pearse (eds.). **Reproduction of Marine Invertebrates. Vol. 1.** Academic Press, New York.

GOMEZ-DEL PRADO ROSAS, MA\_ C., 1982. Hallazgo de una forma larvaria de *Echinocephalus* sp. (Nematoda:Gnathostomidae) en *Argopecten circularis* y *Lyropecten subnodosus* (Mollusca:Lamellibranchia) de la Laguna Ojo de Liebre, Guerrero Negro, B.C.S. **An. Inst. Biol. Univ. Nat. Autón. de Méx., Ser. Zool.** 53(1):421-431.

GOMEZ-DEL PRADO ROSAS, MA. C., ALVAREZ-TORRES, S. y PEREZ-URBIOLA, J.C., 1992. Algunos parásitos de almeja "catarina", *Argopecten circularis*, en Bahía Concepción, B.C.S., México. **Anales Inst. Biol. Univ. Autón. México, Ser. Zool.** 63(2):265-271.

GRUFFYDD, LI. D. y BEAUMONT, A.R., 1970. Determination of the optimum concentration of eggs and spermatozoa for the production of normal larvae in *Pecten maximus* (Mollusca, Lamellibranchia). **Helgolander Wiss. Meeresunters** 20, 486-497.

GRUFFYDD, LI. D. y BEAUMONT, A.R., 1972. A method for rearing *Pecten maximus* in the laboratory. **Mar. Biol.** 15,350-355.

HERNANDEZ-LLAMAS, A. y SINGH, J., 1988. Rendimientos de producción de "almeja catarina" (*Argopecten circularis*) a diferentes densidades de cultivo. **Rev. Lat. Acuicult.** Lima, Perú. 36:49-55.

HERNANDEZ-LLAMAS, A y GOMEZ-MUÑOZ, V.M., 1996. Growth and survival response of the catarina scallop *Argopecten circularis* (Sowerby) to stocking density and length of culture period. **Aquaculture Research**, 27:101-109.

IWATA, K. S., 1951. Spawning of *Mytilus edulis*. Discharge by KCL injection. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.**, 16:393-394.

JØRGENSEN, C.B., 1960. Efficiency of particle retention and rate of water transport in undisturbed lamellibranchs. **Journal du Conseil. Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer**, 26, 94-1 16.

KING, J.E., 1948. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus setiferus* (L.). **Biol. Bull.**, 94(30):244-262.

LANGTON, R.W., ROBINSON, W.E. y SCHICK, D., 1987. Fecundity and reproductive effort of sea scallops *Placopecten magellanicus* from the Gulf of Maine. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 37:19-25.

LOOSANOFF, V.L., 1954. New advances in the study of bivalve larvae. **Am. Sci.** 42:602-604

LOOSANOFF, V.L., 1971. Development of shellfish culture techniques. **Proc. Conf. Artif. Propag. Commer. Valuable Shellfish-Oysters. Coll. Mar. Stud., Univ. Delaware** 9-40.

LOOSANOFF, V.L. y DAVIS, H.C., 1963. Rearing of bivalve mollusks. **Adv. Mar. Biol.**, 1:1-1 36.

LORA-VILCHIS, M.C. y MAEDA-MARTINEZ, A.N., 1997. Ingestion and digestion index of catarina scallop *Argopecten ventricosus-circularis*, Sowerby II, 1842, veliger larvae with ten microalgae species. **Aquaculture Research**, Vol. 28 (en prensa).

MAEDA-MARTINEZ, A.N. y ORMART-CASTRO, P., 1995. Sistema marino para el crecimiento y engorda hasta la fase adulta de almeja catarina. **Patente no. 180211, I.N.P.I, México.** .

MAEDA-MARTINEZ, A.N., MONSALVO-SPENCER, P. y REYNOSO-GRANADOS, T., 1989. Tecnología para la producción intensiva de semillas de almeja catarina (*Argopecten circularis*). **Publicación interna, Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur, México.**

MAEDA-MARTINEZ, A.N., MONSALVO-SPENCER, P. y REYNOSO-GRANADOS, T., 1995. Sistema para la crianza intensiva en su etapa juvenil de almeja catarina. **Patente No. 180212 I.N.P.I., México.**

MAEDA, A., ORMART, P., POLO, V., REYNOSO, T., MONSALVO, P., AVILA, S., ESPINOSA, M., 1992. The potential predator impact, on bottom cultured mexican catarina scallops (*Argopecten circularis*). **Book of Abstracts. Aquaculture Conference & Exposition. World Aquaculture Society Meeting** Orlando FL.

MAEDA-MARTINEZ, A.N., REYNOSO-GRANADOS, T., MONSALVO-SPENCER, P., SICARD, M.T., MAZON-SUASTEGUI, J.M., HERNANDEZ, O., SEGOVIA, E. y MORALES, R., 1997. Suspension culture of catarina scallop *Argopecten ventricosus* (=circularis)( Sowerby II, 1842), in Bahia Magdalena, Mexico, at different densities. **Aquaculture**, 158, 235-246

MAEDA-MARTINEZ, A.N., REYNOSO-GRANADOS, T., SOLIS-MARIN, F., LEIJA-TRISTAN, A., AURIOLES-GAMBOA, D., SALINAS-ZAVALA, C., LLUCH-COTA, D., ORMART-CASTRO, P. y FELIX-PICO, E.F., 1993. A model to explain the formation of catarina scallop, *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835), 'beds, in Magdalena Bay, México. **Aquaculture and Fisheries Management**, 24, 399-415.

MARTINEZ, W.S., 1988. Algunos aspectos del cultivo de larvas de almeja catarina (*Argopecten circularis*), Tesis, ITMAR, Veracruz, México, 36 pp.

MARTINEZ, G., GARROTE, C., METTIFOGO, L., PEREZ, H. y URIBE, E., 1996. Monoamines and prostaglandin  $E_2$  as inducers of the spawning of the scallop, *Argopecten purpuratus* Lamark. **J. Shellfish Res.** 15:245-249.

MATSUTANI, T. y NOMURA, T., 1982. Induction of spawning by serotonin in the scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay). **Mar. Biol. Lett.** 3:353-358.

MAZON-SUASTEGUI, J. M., 1986. Acondicionamiento y desove de cuatro especies de moluscos bivalvos, alimentados con dietas artificiales. **1er. Congreso Nacional de Acuicultura.** Pachuca, Hgo., Mexico, Diciembre de 1986, 18pp.

MAZON-SUASTEGUI, J.M., AVILES-QUEVEDO, M.A., RIVERA-LUCERO, R.R. y RIOS-ARIAS, V., 1991. **Advances on the pilot production of "catarina" scallop (*Argopecten circularis*) seed, in a Mexican shellfish hatchery.** **World Aquaculture Society Conference and Exposition WAS'91**, S.J., Puerto Rico, Jun 16-20, 14 pp.

MORALES, V. V. y MUÑIZ, J. L., 1992. **Diagnóstico de la acuicultura de moluscos bivalvos en Panamá.** Cooperación Internacional de la Agencia Española con Panamá., Panamá, 150 pp.

MORTON, B., 1983. Feeding and digestion in bivalvia. En: Saleuddin, A.S.M. y K.M., Wilbur (eds.) **The mollusca**. Vol. 5 Phisiology, part 2 Academic Press. 65-1 47.

PECHENIK, J.A., 1980. Growth and energy balance during the larval lives of three prosobranch gastropods. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 44:1-28.

REYES-SOSA, C.F., 1985. Experimental spat collection of the catarina scallop, *Argopecten circularis* in Bacoichampo Bay, Guaymas, Sonora, Mexico. **A thesis of Master of Sciences**, The University of Miami, Coral Gables , Florida. 68 pp.

REYES-SOSA, C., 1988. Crecimiento en cultivo suspendido de escalopa catarina *Argopecten circularis* en la Bahía de Bacoichampo, Guaymas, Sonora, México. **Memorias del VII Simposio Internacional de Biología Marina, U.A,B,C.S.**, La Paz, B.C.S. 26pp.

ROBLES-MUNGARAY, M. y SERRANO-GUZMAN, S.J., 1995. Larval growth, survival and spat production of *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) in a mexican commercial hatchery. **Rivista Italiana Acquacoltura**, 30: 187-1 93.

RUIZ-VERDUGO, C.A y CACEREZ-MARTINEZ, C., 1991. Experimental spat collection of scallops *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) and *Pecten vogdesi* (Arnold, 1906) on a filament substrate in Falsa Bay, B.C.S. México. In: **Scallops Biology and Culture**, (S.E. Shumway and P.A. Sandifer, eds.), World Aquaculture Workshop, Number 1, Baton Rouge, LA, USA, pp 21-27.

SAINZ, J.C., MAEDA-MARTINEZ, A.N. y ASCENCIO, F., 1997. Experimental vibriosis induction with *Vibrio alginolyticus* of larvae of the catarina scallop (*Argopecten ventricosus=circularis*) (Sowerby II, 1842). **Microbial Ecology** (en prensa).

SASTRY, A.N., 1963. Reproduction of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. Influence of temperature on maturation and spawning. **Biol. Bull.**, 125: 146-I 53.

SASTRY, A.N., 1966. Temperature effects in reproduction of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. **Biol. Bull. (Woods Hole, Mass)**, 130: 118-I 34.

SASTRY, A. N., 1979. Pelecypoda (excluding ostreidae). In: A.C. Giese and J.S. Pearse (eds.), **Reproduction of marine Invertebrates. Vol. V.** Academic Press, New York, pp. 113-290.

SHAFEE, M.S. y LUCAS, A., 1980. Quantitative studies on the reproduction of black scallop, *Chlamys varia* (L.) from Lanveoc area (Bay of Brest). **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 42:171-186.

SHUMWAY, E.S., 1991. **Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture**. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, 21. Ed. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York, U.S.A. 1095 pp.

SIEWERS, A.K., 1983. Commercial mariculture of a bay scallop *Argopecten circularis* (Sowerby) in the Ensenada of La Paz, Baja California Sur, Mexico. **J. Shellfish Res.** 3, 114.

SINGNORET-BRAILOVSKY, G., MAEDA-MARTINEZ, A.N., REYNOSO-GRANADOS, T., SOTO-GALERA, E., MONSALVO-SPENCER, P. y VALLE-MEZA, G., 1996. Salinity tolerance of the catarina scallop *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835). **J. Shellfish Res.** 15(3):623-626.

TANAKA, Y. y MURAKOSHI, M., 1985. Spawning Induction of the hermaphroditic scallop, *Pecten albicans*, by injection with serotonin. **Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture**, 7:9-12

THOMPSON, D., BOURNE, N., y MANSON, C., 1985. Scallop breeding studies. **Department of Fisheries and Oceans. Nanaimo, British Columbia V9R 5K6**, 97-107pp.

TRIPP, Q. A., 1985. Explotación y cultivo de la almeja catarina *Argopecten circularis* en Baja California Sur. Tesis de Maestría. **CICIMAR, IPN, La Paz, B.C.S., México**, 164 pp.

TRIPP-QUEZADA, A., 1991. Spawning and spat settlement of the catarina scallop *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) in Bahia Magdalena, B.C.S. México. In: **Scallops Biology and Culture**, (S.E. Shumway and P.A. Sandifer, eds.), World Aquaculture Workshop, Number 1, Baton Rouge, LA, USA, pp 43-46

VELEZ, A., ALIFA, A. y AZUAJE, O., 1990. Induction of spawning by temperature and serotonin in the hermaphroditic tropical scallop *Pecten ziczac*. **Aquaculture** 84:307-313.

VILLALAZ, J. R., 1992. Laboratory study of reproduction in *Argopecten circularis*. **Natl. Shellfish. Assoc.** (abstract). p. 208. Orlando Fl.

VILLALAZ, J.R., 1993. Laboratory study of reproduction in *Argopecten ventricosus*. **Natl. Shellfish. Assoc.** (abstract). pp 134-135. Portland, Oregon.

VILLALAZ, J.R., 1994. Laboratory study of food concentration and temperature effect on the reproductive cycle of *Argopecten ventricosus*. **J. Shellfish Res.** 13:2:513-519.

VILLALAZ, J.R., 1996. Histological study of reproduction in *Argopecten ventricosus*. **Natl. Shellfish. Assoc.** (abstract). p 510. Baltimore, Maryland.

VILLALEJO-FUERTE, M., 1995. Fecundidad en *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) (Bivalvia:Pectinidae) de Bahía Concepción, Baja California Sur, México. **An. Inst. Invest. Mar. Punta Betín**, 24: 185-189.

VILLALEJO-FUERTE, M. y OCHOA BAEZ, R.I., 1993. The reproductive cycle of the scallop *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) in relation to temperature and photoperiod, in Bahia Concepcion, B.C.S., Mexico. **Cienc. Mar.** 19:181-202.

WADA, S.K., 1954. Spawning in the tridacnid clams. **Jpn. J. Zool.** 11:273-278.

WALNE, P.R., 1970. Present problems in the culture of the larvae of *Ostrea edulis*. **Helgolander Wiss. Meeresunters** 20, 514-525.

WALNE, P. R., 1974. **Culture of bivalve molluscs, 50 years experience at Conwy**. Fishing News (Books) Ltd., England, 173pp.

WALLER, R.T., 1995. The misidentified holotype of *Argopecten circularis* (Bivalvia:Pectinidae). **The Veliger** 38:4:298-303.

WINTER, J.E., 1973. The filtration rate of *Mytilus edulis* and dependence on algal concentration, measured by a continuous automatic recording apparatus. **Marine Biology** 22:317-328.

WOLFF, M., 1987. Population dynamics of the Peruvian scallop *Argopecten purpuratus* during the El Nino phenomenon of 1983. **Can J. Fish. Aquat. Sci.**, 44(10):1684-1691.

YAMAMOTO, G., 1950. Ecological note of the spawning cycle of the scallop *Pecten yessoensis* (Jay) in Mutsu Bay. **Sci. Rep. Tohoku Univ. (Ser. 4 Biol.)**, 18:477-481.

YOSHIDA, Y. N. y DE ALVA, P.C., 1977. Densidad y distribución de la almeja catarina en la Ensenada de La Paz, B.C.S. **Informe General de Labores**. Cen. de Invest. Biol. de B.C.S., A.C. 1:91-109.

YOUNG, R.T., 1945. Stimulation of spawning in the mussel *Mytilus californianus*. **Ecology** 26:50-69.

## GLOSARIO

**Acuicultura** [del lat. aqua, agua; y cultura, cultivo]. Actividad del cultivo en el agua de especies orgánicas (vegetales, animales, bacterias, etc.).

La producción derivada de la acuicultura es la obtenida como consecuencia del manejo físico y genético del organismo durante su ciclo vital.

**Blastómero.**- Una de las células formadas durante las primeras divisiones de un ovocito; clivaje celular.

**Desarrollo embrionario.**-Cambios progresivos que ocurren en un organismo multicelular debido a su crecimiento desde la fecundación del ovocito hasta el momento en que puede llevar una vida autónoma (término de reservas vitelinas y/o obtención de la estructura general del progenitor).

**Desove.**-Liberación de los gametos sexuales. Los huevos se liberan cuando el ovario está maduro y por lo tanto ha culminado el proceso de vitelogénesis y maduración, por acción endócrina se presenta la etapa de ovulación y puesta. La descarga o emisión de los huevos puede ser de manera natural o bien inducida artificialmente.

**Especie.**- Unidad de clasificación taxonómica de los organismos, para designar una población de individuos similares, con estructura y función idénticas que en la naturaleza son capaces de reproducirse entre si y tener descendencia fértil y un antecesor común.

**Espermatozoide.**- Gameto masculino, caracterizado por la autonomía de movilidad, proporcionada por la posesión de uno o más flagelos; en el extremo anterior del espermatozoide, se encuentra el núcleo y el acrosoma cuya función parece ser la de perforar la membrana del óvulo para facilitar la fecundación, la pieza intermedia contiene las mitocondrias que proporciona la energía para el movimiento del espermatozoide.

**Fecundación** [del lat. fecunditas, fecundidad]. Unión o singamia de los gametos masculino y femenino. En organismos acuáticos es común la expulsión de huevos y espermatozoides simultáneamente, lo que asegura la fecundación.

**Fecundidad** [del lat. fecunditas, fecundidad]. Representa el potencial reproductor de una especie y la supervivencia desde la fase de huevo hasta el reclutamiento. Fertilidad potencial, esto es, la capacidad de producir

gametos funcionales medida por la cantidad de gametos producidos, particularmente de huevos (ovocitos).

**Gameto** [ del gr. gametes, cónyuge]. Célula reproductiva madura, capaz de fusionarse con otra de tipo similar del sexo opuesto para dar un cigoto.

**Gametogénesis.**- Proceso en las gónadas que conduce a la transformación de ciertas células de los progenitores en células especializadas llamadas gametos: los óvulos en las hembras y los espermatozoides en los machos (o en los órganos femeninos y masculinos en los animales hermafroditas). El proceso involucra la proliferación de células goniales y su diferenciación en gametos, acumulación de gametos maduros, liberación de los gametos. El óvulo y el espermatozoide, conjuntamente, constituyen el sistema material que contiene los factores esenciales y poseen la información codificada de las características específicas del futuro organismo.

**Gónada** [del gr. gone, semilla; trophe, alimento]. Organismo sexual, productor de gametos masculinos y/o femeninos, **espermatozoides** y óvulos respectivamente, que también funciona como glándula **endócrina** que sintetiza esteroides ováricos o testiculares, según el sexo.

Hermafroditismo.-Estado caracterizado por la presencia de órganos sexuales masculinos y femeninos en el mismo individuo.

Hermafrodita funcional.- Organismos cuyas gónadas producen gametos masculinos y femeninos en zonas distintas, separadas de tal manera que una parte de la gónada funciona como un testículo y la otra parte como ovario. Los gametos masculinos y femeninos maduran al mismo tiempo.

**Índice gonádico.**-Indicador que determina el estado de madurez de los órganos reproductores del individuo y se obtiene al dividir el peso de la gónada entre la longitud total elevada al cubo.

**Inducción al desove.**-Técnica que consiste en aplicar un estímulo que propicia la maduración sexual y/o expulsión de gametos sexuales (óvulos; espermatozoides). El estímulo puede ser físico (ejem. cambio de las condiciones ambientales del organismo), químico (ejem. aplicación de peróxido de hidrógeno al agua) o biológico (**aplicación de** hormonas, gametos, etc).

**Juvenil.**- Etapa del ciclo de vida de una especie en la cual ha adquirido la morfología del adulto, pero aún no es capaz de reproducirse.

**Manto.**-Tejido especializado que contiene estructuras sensoriales; este tejido secreta la concha de los moluscos bivalvos.

**Metamorfosis.**-Cambio de la forma y estructura de un organismo durante su desarrollo postembrionario.

**Ovocito.**- Gameto femenino completamente formado, sin la presencia del primer cuerpo polar.

**Semilla.**- Término utilizado en acuicultura para denominar a los pequeños moluscos de 2 a 5 mm de talla, cuando son más fáciles de manipular, cuantificar y transportar.

**Zootecnia.**-Término utilizado para designara las tecnologías de crianza de animales. Se considera el mantenimiento y mejora de la condición general de la especie bajo la aplicación multidisciplinaria de la investigación como alimentación, genéticos, nutrición, conducta, etc.

**ANEXO**

## REPRODUCTIVE MATURITY AND SPAWNING INDUCTION IN THE CATARINA SCALLOP *ARGOPECTEN VENTRICOSUS* (= *CIRCULARIS*) (SOWERBY II, 1842)

P. MONSALVO-SPENCER, A. N. MAEDA-MARTINEZ, AND  
T. REYNOSO-GRANADOS

División de Biología Marina  
Centro de Investigaciones Biológicas  
del Noroeste, S.C.

P. O. Box 128

Lo Paz, B.C.S.

Mexico, 23,000

**ABSTRACT** Reproductive maturity and spawning induction were studied in the hermaphroditic catarina scallop *Argopecten ventricosus*. A closed system with seawater recirculation (3 L/min), constant temperature ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ), and salinity (37 ppt) was used. The scallops were fed  $3.9 \times 10^9$  cells/animal per day of a 6:3:1 mixture of the microalgae *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp., and *Tetraselmis suecica*. Ninety-five percent of the scallops reached reproductive maturity in 27 days. For spawning induction, several methods were used. Thermostimulation combined with the addition of sexual products produced spawning in 50% of the animals and was the only method from which both gametes were obtained. Male spawning was initiated in a higher proportion than female spawning. Serotonin (5-hydroxytryptamine) was very effective, inducing sperm spawning only. The rest of the methods (electric shocks and KCl injections) failed as spawning inducers.

**KEY WORDS:** Reproductive maturation, spawning induction, *Argopecten ventricosus* (= *circularis*), scallops

### INTRODUCTION

The catarina scallop *Argopecten ventricosus* is commercially exploited along the Pacific Coast from Mexico to Peru (Keen 1971). This species has a great potential for intensive culture, as in Mexico where some companies are successfully producing it commercially by specific methods for hatchery (Maeda-Martínez et al. 1995) and growout (Maeda-Martínez and Ormart-Castro 1995) phases. However, key factors of hatchery seed production, such as the capability to mature broodstock and to induce them to spawn throughout the year, need further attention. Sastry (1963) has suggested that gamete development to maturity in *Argopecten irradians* can be accelerated after gametogenesis has been initiated and that the rate of development to maturation is dependent on temperature. In *Mercenaria mercenaria* and *A. irradians*, gametogenesis has been induced several times in a year by controlling environmental conditions, providing the animals can recuperate from each of the postspawning activities (Loosanoff and Davis 1963, Sastry 1966). The Alligator Harbor population of *A. irradians* that spawns in late summer and autumn has been induced to maturation and stimulated to spawn throughout most of the year (Sastry 1963). Oocyte growth and spawning have been advanced by exposing animals with developing oocytes to  $25^\circ\text{C}$  and to  $30^\circ\text{C}$  (Sastry 1966). Sastry (1963) developed a reproductive maturity scale for *A. irradians*, based on the morphochromatic appearance of the gonads. Stages I to III are immature, IV is mature, and V and VI are partially spent and spent conditions. A specific five-stage scale was proposed by Villalejo-Fuerte and Ochoa-Baez (1993) for *A. ventricosus*, based on histologic observations. Some aspects of the reproductive biology of *A. ventricosus*, such as gonad index variation and gonad maturation by histologic methods, have been studied by Villalaz (1992, 1993, 1994, 1996), Villalejo-Fuerte and Ochoa-Baez (1993), and Felix-Pico et al. (1991). Artificial reproductive maturation and spawning induction in *A. ventricosus* were studied by Aviles-Quevedo and Muciño-Díaz (1988). Those authors found that adult scallops with undif-

ferentiated gonads mature in only 20 days at  $18^\circ\text{C}$  and 35 ppt salinity and on a diet of  $4.0 \times 10^9$  to  $5.0 \times 10^9$  cells/scallop per day of *Isochrysis galbana*.

The factors inducing spawning in pelecypods have been discussed in reviews by Giese (1959), Loosanoff and Davis (1963), Galtsoff (1961, 1969), Frettet and Graham (1964). Loosanoff (1954, 1971), Giese and Pearce (1974), and Sastry (1979). Temperature changes, salinity, light, mechanical shock, and chemicals have been reported to induce spawning. Temperature has been considered one of the important factors in stimulating spawning in a number of pelecypods. It has been reported that serotonin-creatinine-sulfate complex induces sperm spawning in *Argopecten irradians* (Gibbons and Castagna 1984), *Pecten albicans* (Tanaka and Murakoshi 1985), *Pecten ziczac* (Vélez et al. 1990), and *Argopecten purpuratus* (Martínez et al. 1996). In the dioecious scallop *Patinopecten yessoensis*, this neurotransmitter is effective in both males and females (Matsutani and Nomura 1982). The precise role of this complex still remains unknown. In this article, we report a method for artificial reproductive maturation for *A. ventricosus* and the efficacy of different spawning methods.

### MATERIALS AND METHODS

Ripe, Stage IV (Sastry 1963) *A. ventricosus* were collected by diving at 2 to 3-m depth in Ensenada de La Paz ( $24^\circ 07' \text{N}$ – $110^\circ 24' \text{W}$ ), Mexico, with only those measuring over 45 mm in shell length selected for the reproductive maturity and spawning induction experiments. At the time of collection, temperature and salinity were  $28^\circ\text{C}$  and 37 ppt. Each individual was cleaned and tagged with a plastic label tied to the dorsal auricular lobe of the shell and then left undisturbed in 1,100-L tanks with filtered seawater at  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  and 37 ppt. This procedure induced massive spawning within the following 5 h. Once spawning stopped, 300 completely spent scallops (pale brown gonads with no differentiation between testicular and ovarian regions) were selected for the reproductive conditioning experiments. Reproductive conditioning was done in a closed system with a constant seawater flow (3

L/min). Temperature and salinity remained constant at  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  and 37 ppt. The scallops were fed with a mixture of *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp., and *Tetraselmis suecica* (6:3:1). The amount of food provided was  $3.5 \times 10^9$  cells/scallop per day. Every 4 days, gonadal condition was visually checked. When reproductive maturity was again reached, the following spawning induction methods were tested in 20 individuals for each method: sudden  $12^\circ\text{C}$  thermal shock ( $18\text{--}30^\circ\text{C}$ ); fast thermal change from 18 to  $30^\circ\text{C}$  over 4 min ( $3^\circ\text{C}/\text{min}$ ); gradual thermal change over 12 min ( $1^\circ\text{C}/\text{min}$ ); gradual thermal change ( $1^\circ\text{C}/\text{min}$ ) with sexual product addition (Loosanoff and Davis 1963); 0.025, 0.25, and 2.5 mM intragonadal serotonin (5-hydroxytryptamine) injections (Tanaka and Murakoshi 1985); 0.5, 1.0, and 2.0 mM intragonadal KCl injections (Young 1945); and electric shocks (20 V for 1 sec) (Iwata 1951). Thermal shock experiments were done in 70-L tanks. Initially, each tank contained seawater at the same temperature and salinity as in the reproductive maturation experiment. Then, warm seawater was siphoned into the tanks at a rate that produced the desired temperature change until  $30^\circ\text{C}$  was reached. Spawning response was considered fast, medium, or slow if gamete release began in  $<3$  h, from 3 to 5 h, or  $>5$  h from the stimulus application.

## RESULTS

Tagging techniques allow an exact observation of the gonad behavior and good control to avoid using the same animal in different experiments, although there is no damage. In Figure 1, the development of the *A. ventricosus* gonad is shown during the experiment. In Stage I or the indifferent stage, gonadal tissue was transparent and it was not possible to distinguish the portion corresponding to each sex. On the second conditioning day, a few follicles of the gonads on 5% of the animals had developed spermatogonia and oogonia, as seen by microscopic examination (Stage II). Between days 7 and 9, 85% of the individuals were Stage III. After day 18, 85% of the animals were Stage III, char-

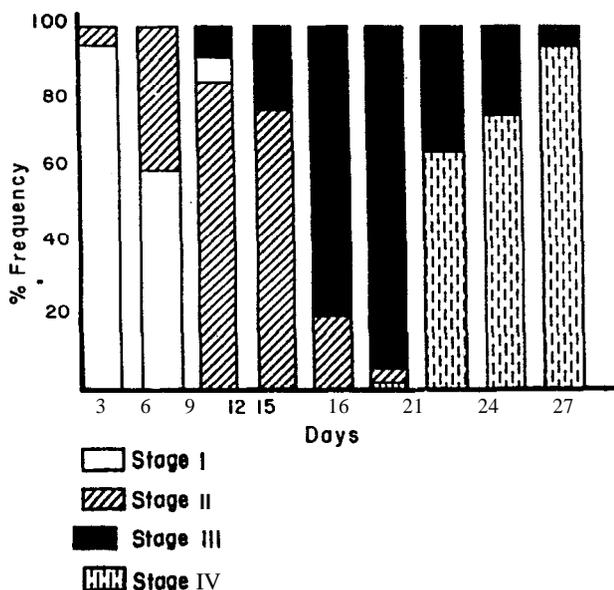


Figure 1. Temporal change in gonad maturation of 45-mm-shell-length *A. ventricosus*, fed with  $3.9 \times 10^9$  cells/scallop per day of a mixture of *I. galbana*, *Chaetoceros* sp., and *T. suecica* (6:3:1) at  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  and 37 ppt salinity.  $n = 300$  scallops.

TABLE 1.

Spawning response of ripe (Stage IV; Sastry 1963) *A. ventricosus* to different stimuli ( $n = 20$  individuals per treatment).

Method	Response (% of Group Spawning)			% Initial Spawn	
	Fast <3 h	Medium 3-5 h	Slow >5 h	Female	Male
Sudden thermal shock, $18\text{--}30^\circ\text{C}$ in 1 sec		20		25	75
Fast thermal change, $3^\circ\text{C}/\text{min}$ increase ( $18\text{--}30^\circ$ )			10	50	50
Gradual thermal change, $1^\circ\text{C}/\text{min}$ increase ( $18\text{--}30^\circ\text{C}$ )		30		35	65
Gradual thermal change (as above) plus gamete addition		50		40	60
Average % spawn using thermal stimuli				37.5	62.5
Serotonin injection (0.025, 0.25, or 2.5 mM)	100				100

acterized by a uniform pigmentation of the cream-colored testicle and the orange ovary. Gonadal volume was considerably increased at this time. Stage IV, the mature stage, showed brilliant colors in both gonadal portions, dark cream for male and red-orange for female. Pigmentation was very smooth, and gonadal volume increased as compared with somatic tissue. On day 27, 95% of the animals were in Stage IV.

Table 1 presents the results of the spawning induction experiments. Sudden thermal shock ( $18\text{--}30^\circ\text{C}$ ) induced spawning in only 20% of the individuals. With this treatment, a medium response was obtained (between 3 and 5 hours from the stimulus application), and in most cases (75%), sperm was released first. In the fast and gradual thermal change treatments, (3 and  $1^\circ\text{C}/\text{min}$  from 18 to  $30^\circ\text{C}$ ), only 10 and 30% of the individuals spawned. Response in these treatments was slow and medium, respectively. When the latter treatment was applied with the addition of sexual products from another scallop, response improved 10 50%. Time of response remained at a medium level. An average of female and male initial-spawn percentages from our thermal treatments (Table 1) showed that only 37% of spawning began with ova release whereas 63% were male spawnings. Those scallops that spawned continued to do so, switching from one sexual product to the other, following a random pattern. Serotonin induced sperm spawning in 100% of scallops injected. For the three concentrations tested, the response was the same and fast. Sperm was released  $9 \pm 1$  min after injection. However, this method seemed to be very stressful because the animals opened and closed their valves violently. Because of this movement, there was even a loss of gill fragments. Ejaculation ceased at about the third hour after injection. Ova release after serotonin injections was not observed during this time. There was no response to electric discharge or intragonadal KCl injection at any of the concentrations tested.

## DISCUSSION

In the *Pectinidae*, visual examination of the gonad is a direct method of distinguishing the sex and maturity stage on the basis of morphochromatic appearance. Our results show that Sastry's scale developed for *A. irradians* could be applied in *A. ventricosus*. In a production hatchery, the morphochromatic method is a fast and reliable alternative in selecting the broodstock for spawning.

The reproductive maturity method described in this article produces ripe broodstock in only 27 days at 25°C and  $3.9 \times 10^9$  cells/scallop per day of a mixture of microalgae. It is not known, however, if this treatment accelerates reproductive maturation when compared with the wild. Aviles-Quevedo and Muciño-Díaz (1988) achieved full maturation in this species in less time (20 days), in colder (18°C) conditions, and with a higher ration ( $4.0 \times 10^9$  to  $5.0 \times 10^9$  cells/scallop per day). The 7-day difference with our results could be caused by a lack of precision in the selection of the broodstock by Aviles-Quevedo and Muciño-Díaz (1988). Those authors used undifferentiated scallops, meaning that Stage II animals could have been used. With the naked eye, it is not possible to distinguish the portion corresponding to each sex in this stage, but maturation is already well advanced. In contrast, in our experiments, the whole cycle from spawning to spawning was considered. If those authors actually matured Stage VI scallops, two alternatives could explain the 7-day difference: (a) scope for activity measurements indicate that in *A. ventricosus*, there is higher energy available for growth and reproduction at 19°C than at 25°C (M. T. Sicard pers. comm.) and (b) Aviles-Quevedo and Muciño-Díaz used a higher food ration, which probably promoted faster gonad maturation. In a similar scallop (*A. irradians*), maturity under laboratory conditions is reached in 26–30 days at 18°C (Castagna and Duggan 1971) and in 35 days at  $29 \pm 1.0^\circ\text{C}$  (Sastry 1963), when held in running raw marine water.

Thermostimulation is one of the common methods to induce spawning in molluscan species (Loosanoff and Davis 1963). Of the methods used for spawning induction, temperature shock seems to be the alternative to obtain sperm and ova from ripe *A.*

*ventricosus*. The efficiency of this inducer is improved if sexual products from another scallop is added to the spawning tank. Enhanced effectiveness of thermal stimulation combined with the addition of gametes of the opposite sex has been reported for a number of species (Loosanoff and Davis 1963, Bayne 1965). Wada (1954) has reported that the addition of an egg water suspension or a sperm suspension stimulates spawning in *Tridacna*.

Even if our temperature treatments seem to be stressful, there appears to be no negative effect on development because the resultant larvae were cultured in the laboratory. Another spawning alternative in this work proved to be the combination of handling (mechanical shock) with a temperature change. Although this method was not evaluated, it produced an unwanted spawning shortly after scallop collection. In *A. ventricosus*, male spawning was initiated in a higher proportion than female spawning. This also occurs in *A. irradians*, where spermatozoa are released more readily than are ova (Sastry 1966). No explanation was found for this.

In *A. ventricosus*, serotonin is a very effective inducer of sperm spawning, as it is in *A. irradians* (Gibbons and Castagna 1984), *P. albicans* (Tanaka and Murakoshi 1985), *P. zizac* (Vélez et al. 1990), and *A. purpuratus* (Martínez et al. 1996). Serotonin, however, fails to induce ova spawning in these hermaphroditic species, whereas in a dioecious species such as *P. yessoensis* (Matsutani and Nomura 1982), it induces spawning in females. Martincz et al. (1996) have recently found that injections of dopamine and prostaglandin  $E_2$ , with a 30-min lapse between them, successfully induced ova and sperm spawning in *A. purpuratus*. This is a promising alternative to be tested in *A. ventricosus* and other hermaphroditic scallops.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Francisco Cardoza-Velasco for his critical review of the manuscript and Dr. Ellis Glazier for his editing of the English language manuscript.

## LITERATURE CITED

- Aviles-Quevedo, M. A. & M. O. Muciño-Díaz. 1988. Gonad conditioning and spawning of *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) under laboratory conditions. *Rev. Latinoam. Acuicult.* 38:13–21.
- Bayne, B. L. 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). *Ophelia* 2: 1–47.
- Castagna, M. & W. Duggan. 1971. Rearing of the bay scallop, *Argopecten irradians*. *Proc. Natl. Shellfish. Assoc.* 61:86–92.
- Félix-Pico, E. F., M. T. Ibarra-Cruz, R. E. Merino-Marquez, V. A. Levy-Perez, F. A. Garcia-Domiguez & R. Morales-Hernandez. 1991. Reproductive cycle of *Argopecten circularis* in Magdalena Bay, B.C.S., Mexico. *IFREMER. Actes Colloques.* 17:151–155.
- Fretter, V. & A. Graham. 1964. Reproduction. pp. 127–164. In: K. M. Wilbur and C. M. Yonge (eds.). *Physiology of Mollusca*. vol. 1. Academic Press, New York.
- Galtsoff, P. S. 1961. Physiology of reproduction in molluscs. *Am. Zool.* 1:273–289.
- Galtsoff, P. S. 1969. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *U.S. Fish. Wildl. Serv., Fish. Bull.* 64:1–480.
- Gibbons, M. C. & M. Castagna. 1984. Serotonin as an inducer of spawning in six bivalve species. *Aquaculture* 40:110–191.
- Giese, A. C. 1959. Comparative physiology: annual reproductive cycles of marine invertebrates. *Annu. Rev. Physiol.* 21:547–576.
- Giese, A. C. & J. S. Pearse. 1974. Introduction: general principles. pp. 1–49. In: A. C. Giese and J. S. Pearse (eds.). *Reproduction of Marine Invertebrates*. vol. 1. Academic Press, New York.
- Iwata, K. S. 1951. Gonad development, spawning and rearing of *Mytilus* sp. larvae in the laboratory. *Stud. Rev. GFCM* 52:53–65.
- Keen, A. M. 1971. Sea shells of Tropical West American Marine Molluscs from Baja California to Peru. California Stanford Press, Stanford, CA. 1025 pp.
- Loosanoff, V. L. 1954. New advances in the study of bivalve larvae. *Am. Sci.* 42:607–624.
- Loosanoff, V. L. 1971. Development of shellfish culture techniques. *Proc. Conf. Artif. Propag. Commer. Valuable Shellfish-Oysters*. Coll. Mar. Stud., Univ. Delaware 9–40.
- Loosanoff, V. L. & H. C. Davis. 1963. Rearing of bivalve molluscs. *Adv. Mar. Biol.* 1:1–136.
- Maeda-Martínez, A. N. & P. Ormart-Castro. 1995. Sistema marino para el crecimiento y engorda hasta la fase adulta de almeja catatina. Patent No. 180211. I.N.P.I. México.
- Maeda-Martínez, A. N., P. Monsalvo-Spencer & T. Reynoso-Granados. 1995. Sistema para la crianza intensiva en su etapa juvenil de almeja catarina. Patent No. 180212. I.N.P.I. México.
- Martínez, G., C. Garrote, L. Muttifogo, H. Pérez & E. Uribe. 1996. Monoamines and prostaglandin  $E_2$  as inducers of the spawning of

- the scallop, *Argopecten purpuratus* Lamark. *J. Shellfish Res.* 15:245-249.
- Matsutani, T. & T. Nomura. 1982. Induction of spawning by serotonin in the scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay). *Mar. Biol. Lett.* 3:353-358.
- Sastry, A. N. 1963. Reproduction of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. Influence of temperature on maturation and spawning. *Biol. Bull.* 125:146-153.
- Sastry, A. N. 1966. Temperature effects in reproduction of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Biol. Bull.* 130:118-134.
- Sastry, A. N. 1979. Pelecypoda (excluding Ostroideae). Pp. 113-292. In: A. C. Giese and J. S. Pearse (eds.). *Reproduction of Marine Invertebrates*. Academic Press, New York.
- Tanaka, Y. & M. Murakoshi. 1985. Spawning induction of the hermaphroditic scallop *Pecten albicans*, by injection with serotonin. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture* 7:9-12.
- Vélez, A., A. Alifa & O. Azuaje. 1990. Induction of spawning by temperature and serotonin in the hermaphroditic tropical scallop *Pecten ziczac*. *Aquaculture* 84:307-313.
- Villalaz, J. R. 1992. Laboratory study of reproduction in *Argopecten circularis*. *Natl. Shellfish. Assoc. Abstracts*. p. 208. Orlando FL.
- Villalaz, J. R. 1993. Laboratory study of reproduction in *Argopecten ventricosus*. *Natl. Shellfish. Assoc. Abstracts*. pp. 134-135. Portland, Oregon.
- Villalaz, J. R. 1994. Laboratory study of food concentration and temperature effect on the reproductive cycle of *Argopecten ventricosus*. *J. Shellfish Res.* 13:513-519.
- Villalaz, J. R. 1996. Histological study of reproduction in *Argopecten ventricosus*. *Natl. Shellfish. Assoc. Abstracts*. p. 510. Baltimore, Maryland.
- Villalajo-Fuertes, M. & R. I. Ochoa-Bac. 1993. The reproductive cycle of the scallop *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) in relation to temperature and photoperiod, in Bahia Concepcion, B.C.S., Mexico. *Cienc. Mar.* 19:181-202.
- Wada, S. K. 1954. Spawning in the tridacnid clams. *Jpn. J. Zool.* 11: 273-278.
- Young, R. T. 1945. Stimulation of spawning in the mussel *Mytilus californianus*. *Ecology* 26:50-69.