



Asentamiento larvario de la almeja estuarina amenazada *Polymesoda arctata* con fines de repoblación

Jorge Andrés González González

Universidad Magdalena

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

Santa Marta, Colombia

2021



Asentamiento larvario de la almeja estuarina amenazada *Polymesoda arctata* con fines de repoblación

Jorge Andrés González González

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de:

Biólogo

Director (a):

Luz Adriana Velasco Cifuentes, Ph.D.

Codirector (a):

Judith Margarita Barros Gómez, Ph.D.

Línea de Investigación:

Biología Marina y acuicultura

Grupo de Investigación:

Moluscos Marinos

Universidad del Magdalena

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

Santa Marta, Colombia

2021

Nota de aceptación:

Aprobado por el Consejo de Programa
en cumplimiento de los requisitos
exigidos por el Acuerdo Superior N° 11
de 2017 y Acuerdo Académico N° 41 de
2017 para optar al título de Biólogo

Jurado

Jurado

Santa Marta, ____ de ____ de ____

A Dios a quien debo todo lo que soy, a mis padres Edelvis y Jorge que con su amor y apoyo me ayudaron a cumplir este sueño y en especial a mi abuela Luisa que creyó en mi mucho antes de que yo lo hiciera, a ellos este logro e infinitas gracias.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios quien me dio la sabiduría y la paciencia para llevar a cabo este proyecto sin Él nada de esto habría sido posible.
- A mis padres Edelvis y Jorge por apoyarme en todas las áreas de mi vida siendo un motor en mi vida impulsándome a seguir adelante aun en los momentos más difíciles, a mi abuela Luisa que gracias a su amor y respaldo pude avanzar cuando todo parecía en contra, los amo con todo mi corazón.
- A mis tutoras las Dras. Luz Adriana Velazco y Judith Barros, por la oportunidad de ser su tesista y brindarme incondicional apoyo en cada una de las etapas de este proceso, su paciencia y dedicación fueron pilares fundamentales en la elaboración de este trabajo de grado.
- Al grupo Moluscos Marinos, en especial a sus integrantes: Cindy Guete, Dayana Páez, Iván Villamil, Zamir Benítez y Adrián Barrios, por su completa disposición y apoyo en todo el tiempo empleado para la elaboración de este proyecto, sin su incondicional apoyo nada de esto habría sido posible.
- A la Universidad del Magdalena, por brindarme una formación integral y regalarme unos grandes amigos considerados como familia: Dayana Pez, Andrea Noreña, José Barras, María Maya. Y en especial a la Dra. Constanza Ricaurte. Por ser una docente integral que me alentó y ayudo en mi formación académica y ética.
- A mi amor Margie Silva por su amor y apoyo en todo este proceso, por muchos años e investigaciones juntos.

Contenido

1. Introducción	11
2. Materiales y Métodos	14
2.1 Obtención de larvas competentes	15
2.2 Diseño experimental.....	17
2.3 Análisis estadístico	18
3. Resultados.....	20
3.1 Experimento 1	19
3.2 Experimento 2.....	22
3.3 Asentamiento y mortalidad total.....	25
4. Discusión.....	29
5. Conclusiones.....	33
6. Recomendaciones.....	34
7. Referencias Bibliográficas.....	35

Lista de figuras

Figura 1. Especie en estudio <i>Polymesoda arctata</i> -----	12
Figura 2. Mapa de Ciénaga de Pajarales, zona de colecta de organismos de <i>P. arctata</i>	15
Figura 3. Diagrama de flujo experimento 1.....	20
Figura 4. Diagrama de flujo experimento 2.....	20
Figura 5. Sistemas de asentamiento experimento 1 (A), sistemas de asentamiento experimento 2 (B), acuarios provistos con diferentes estímulos de asentamiento (C), recipientes de asentamiento biologizados.....	20
Figura 6. Larvas de <i>P. arctata</i> asentadas aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y los asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) -----	22
Figura 7. Mortalidad larval de <i>P. arctata</i> aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$).....	23
Figura 8. Larvas de <i>P. arctata</i> asentadas aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y los asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) -----	25
Figura 9. Mortalidad larval de <i>P. arctata</i> aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$).....	26
Figura 10. Porcentaje de asentamiento de <i>P. arctata</i> (A) y mortalidad total en los experimentos 1 (B) y 2 (C), luego de 72 horas de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y las letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).....	28

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
mg	Miligramos
GABA	Acido γ -aminobutirico
mm	Milímetro
μm	Micrómetro
‰	Salinidad
h	Horas
mL	Mililitros
L	Litros
Mol	Moles
cm²	Centímetro cuadrado
dm²	Decímetro cuadrado
cm	Centímetros

Resumen

La almeja estuarina *Polymesoda arctata* es uno de los bivalvos más importantes en la pesquería del Caribe Colombiano, pero la sobreexplotación y destrucción de su hábitat la ha llevado a estar considerada en riesgo de conservación. En este proyecto se evaluó su asentamiento larvario bajo condiciones de laboratorio, de tal forma que a futuro permita la producción de juveniles en laboratorio con fines de acuicultura o repoblación. Con larvas pediveliger obtenidas en laboratorio, se llevaron a cabo dos experimentos de asentamiento, en los que se probó por triplicado el efecto de diferentes estímulos suministrados al agua (epinefrina, serotonina, GABA y baja temperatura), sustratos de asentamiento (arena, sedimento, bioflim de microalgas y artificial) y tiempos post-estimulación (6, 24, 48 y 72 h) sobre el asentamiento y mortalidad larvaria. Mayores valores de asentamiento larvario fueron obtenidos sin suministrar estímulos al agua, sobre sustratos de biofilm artificial y a las 24 horas de estimulación. Así mismo, la mortalidad larvaria fue mayor sobre este sustrato, especialmente cuando se aplicaron agentes químicos al agua y luego de 24 h de estimulación. Los altos valores promedio de asentamiento (40 y 73%) y bajos valores de mortalidad (0 y 27%) durante el estudio le confieren a *P. arctata* un alto potencial para ser producida en laboratorio y ser usada en acuicultura o repoblación para contribuir a su uso sostenible y conservación.

Palabras clave: estímulos del asentamiento, sustratos de asentamiento, tiempo de asentamiento, mortalidad larvaria.

ABSTRACT

The estuarine clam *Polymesoda arctata* is one of the most important bivalves in the Colombian Caribbean fishery, but overexploitation and loss of habitat has led it to be considered at risk of conservation. In this project, its larval settlement was evaluated under laboratory conditions, in such a way that in the future it allows the production of juveniles in the laboratory for aquaculture or repopulation purposes. With pediveliger larvae obtained in the laboratory, two settlement experiments were carried out, in which the effect of different stimuli supplied to water (epinephrine, serotonin, GABA and low temperature), settlement substrates (sand, sediment, microalgal and artificial biofilm) and post-stimulation times (6, 24, 48 and 72 h) on settlement and larval mortality. Higher values of larval settlement were obtained without supplying stimuli to the water, on artificial biofilm substrates and at 24 hours of stimulation. Likewise, larval mortality was higher on this substrate, especially when chemical agents were applied to the water and after 24 h of stimulation. The high average settlement values (40 and 73%) and low mortality values (0 and 27%) during the study give *P. arctata* a high potential to be produced in the laboratory and used in aquaculture or restocking to contribute to its sustainable use and conservation.

Keywords: settlement stimuli, settlement substrates, settlement time, larval mortality.

1. Introducción

Polymesoda arctata es un bivalvo de la familia Cyrenidae que alcanza hasta los 40 mm en un rango de tiempo de entre 7 a 8 años, posee una concha color blanco crema redondeada en la parte anterior y angulosa en la región posterior, provista con tres dientes cardinales y dos laterales (Poutiers y Cipriani, 1992; De La Hoz, 2009; Figura 1). Se encuentra distribuida en la parte sur del Caribe y la costa norte de Suramérica, desde México hasta las Antillas mayores y Venezuela; siendo reportada, para Colombia en las ecorregiones de Darién, Morrosquillo, Magdalena, Palomino y Guajira (Severeyn 1988; Cosel, 1984; Díaz y Puyana, 1994; Rueda y Urban, 1998). Se encuentra en aguas salobres con rangos de salinidad entre los 3 y 20‰, sobre fondos de cascajo o enterrada en fondos blandos hasta 3 cm (von Cosel, 1986; Díaz y Puyana, 1994). Se caracterizan por no presentar dimorfismo sexual externo, pueden ser hermafroditas secuenciales o gonocóricas dependiendo la población se consideran machos con un tamaño menor a 30 mm y hermafroditas cuando superan los 30 mm (Severeyn 1988; Rueda y Urban, 1998; De La Hoz et al., 2006). Presenta desoves a lo largo de todo el año, especialmente en asocio con cambios de salinidad (Severeyn et al., 1988; Rueda y Urban, 1998). Es considerada como uno de los bivalvos más importantes para la economía pesquera en el Caribe Colombiano (INPA, 1996). En zonas como la Ciénaga Grande de Santa Marta, su captura llegó a representar del 12 al 16 % del peso total de las capturas de invertebrados comerciales entre el 2004 y 2009 (INVEMAR, 2010). La sobreexplotación y la pérdida de hábitat han reducido considerablemente sus poblaciones, viéndose afectada su captura en un 75%, por lo que esta especie fue introducida en el listado de invertebrados amenazados de Colombia, dentro de la categoría vulnerable (Ardila et al., 2002; INVEMAR, 2017).



Figura 1. Especie en estudio *Polymesoda arctata*. Imagen tomada por el grupo de investigación Moluscos Marinos de la Universidad del Magdalena.

La producción de juveniles en laboratorio con fines de repoblación y acuicultura es una de las acciones más utilizadas para promover la conservación de moluscos amenazados (Purcell y Cheng, 2010). *P. arctata* tiene un alto potencial para ser producida por acuicultura dada su madurez precoz, fertilización externa, hermafroditismo y tolerancia a diferentes fluctuaciones ambientales (Severeyn et al., 1996; Rueda y Urban, 1998; De La Hoz, 2009). Aunque ya se ha logrado producir larvas de *P. arctata* en condiciones de laboratorio (De Severeyn et al., 1994; Páez, 2022), no se ha estudiado su asentamiento.

La obtención de desoves en condiciones de laboratorio ha sido posible usando cambios de la salinidad en el agua e inyecciones del neurotransmisor serotonina (De Severeyn et al., 1994; Espitia, 2021). Su desarrollo es indirecto, pasando por la formación de una larva trocófora a las 14 h, veliger en aproximadamente 24 h y pediveliger en 11 días (Páez, 2022). Bajo condiciones de laboratorio, su mejor desempeño fisiológico ocurre suministrando como alimento la microalga *Isochrysis galbana* en una concentración de 9

mg L⁻¹ (Gómez, 2020), y manteniéndolos a 15 ‰ de salinidad, entre 27 y 29°C de temperatura (Benítez, 2021).

El asentamiento larvario en los bivalvos endobentónicos consiste en el proceso de cambio de forma de vida planctónica de las larvas pediveliger o competentes a una bentónica sobre un sustrato, lo cual va seguido de un proceso de metamorfosis que da lugar a las post-larvas, que puede durar entre horas a varios días (Uriarte et al., 2001; Sarkis y Lovatelli, 2007). Este proceso comienza con un comportamiento de reptación alternado con nado, donde la larva pediveliger explora diferentes sustratos con su pie hasta encontrar un sustrato, cuando lo selecciona, se fija a él y experimenta cambios morfológicos irreversibles (Sastry, 1979; Bonar et al., 1990; Helm et al., 2006). Esta es una de las etapas más críticas donde ocurren altas mortalidades dado que además de cambiar su forma de vida, cambian también su alimentación larval a través del velo, dejan de alimentarse, adoptan una alimentación pedal y posteriormente una branquial, requiriendo suficientes reservas energéticas para superar esta etapa (Beninger et al., 1994; García-Lavandeira et al., 2005; Schartum et al., 2017). Este proceso requiere de una activación exógena por parte de estímulos químicos o físicos en el agua, que son específicos para cada especie (Pérez-Bustamante y García-Esquivel, 2017; Joyce y Vogeler, 2018; Dumas et al., 2014).

A fin de activar el proceso de asentamiento larvario y minimizar el tiempo que toma la metamorfosis, es importante identificar los estímulos químicos o físicos que desencadenan esta respuesta, así como los sustratos y condiciones que provean alimento y protección a las post-larvas (Labarta et al., 1999; Aji, 2011; Dumas et al., 2014; Monsalvo et al., 2015). Entre los estímulos utilizados exitosamente para inducir el asentamiento de larvas competentes de almejas está la baja temperatura (Helm et al., 2004; Da Costa et al., 2010; Tezuka et al., 2013), la adición al agua de ácido α -aminobutírico GABA (García-Lavandeira et al., 2005), epinefrina (Kent et al., 1999; García-Lavandeira et al., 2005), serotonina (Pérez-Bustamante y García-Esquivel, 2017; Huo et al, 2018).

Otro factor influyente en el asentamiento y metamorfosis de los bivalvos es el sustrato, el cual debe proveer alimento, refugio y espacio apropiado para los requerimientos de cada especie (Helm et al., 2004; Acosta et al., 1999; Narvarte y Pascual, 2003; De la Roche et al., 2005; Clements et al., 2016). Entre los sustratos sobre los cuales se ha llevado a cabo el asentamiento de las almejas están la arena con diámetro de grano entre 125 y 2000 μm o una mezcla de ella con sedimento con diámetro mayor a 64 μm y una profundidad entre 1 y 2 mm (Lee et al., 2005; Tezuka et al., 2013), así como sobre la superficie de los tanques contenedores de las larvas (Mouëza et al., 1999). En el presente estudio se evaluó el asentamiento y mortalidad de las larvas competentes de la almeja estuarina amenazada *P. arctata*, aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de exposición a estos, bajo condiciones de laboratorio.

2. Materiales y Métodos

2.1 Obtención de larvas competentes

Un total de 200 ejemplares mayores a 25 mm fueron recolectados en la Ciénaga Grande de Santa Marta ($10^{\circ}43'$ - $11^{\circ}00'$ N y $74^{\circ}16'$ - $74^{\circ}38'$ W) (Fig. 2) entre los meses de marzo y abril de 2021. En esta zona el oxígeno disuelto oscila entre 0,65 y 11,5 $\text{mg O}_2\text{L}^{-1}$, el pH entre 7,04 y 9,33, los sólidos suspendidos totales entre 0,5 y 524 mg L^{-1} , la concentración de amonio entre 1 y 70 $\mu\text{g L}^{-1}$, la salinidad entre 0,5 y 36,0‰ y la temperatura entre 25 y 32°C (INVEMAR, 2018). Las almejas colectadas fueron transportadas al laboratorio de Moluscos y Microalgas de la Universidad del Magdalena (Taganga, Santa Marta; $11^{\circ} 16'$ N, $74^{\circ} 11'$ W), dentro de neveras plásticas entre esponjas humedecidas con agua de la zona de colecta a una temperatura de 20°C de acuerdo con Velasco (2008). Allí se colocaron en canastas plásticas suspendidas en tanques rectangulares de 200 L a una densidad del 30% de cobertura del fondo de las canastas, con agua filtrada a 1 μm ,

provista de aeración y mantenida a 28 ± 1 °C y salinidad de 15 ± 1 ‰, oxígeno disuelto $\geq 90\%$ y sin suministro de alimento. Luego de 24 h, los ejemplares fueron extraídos de los tanques para limpiar los epibiontes de su concha, así como las paredes de los tanques para el recambio de la totalidad del agua de estos. Posteriormente, las almejas fueron retornadas a los tanques bajo las mismas condiciones antes descritas para inducir al desove.

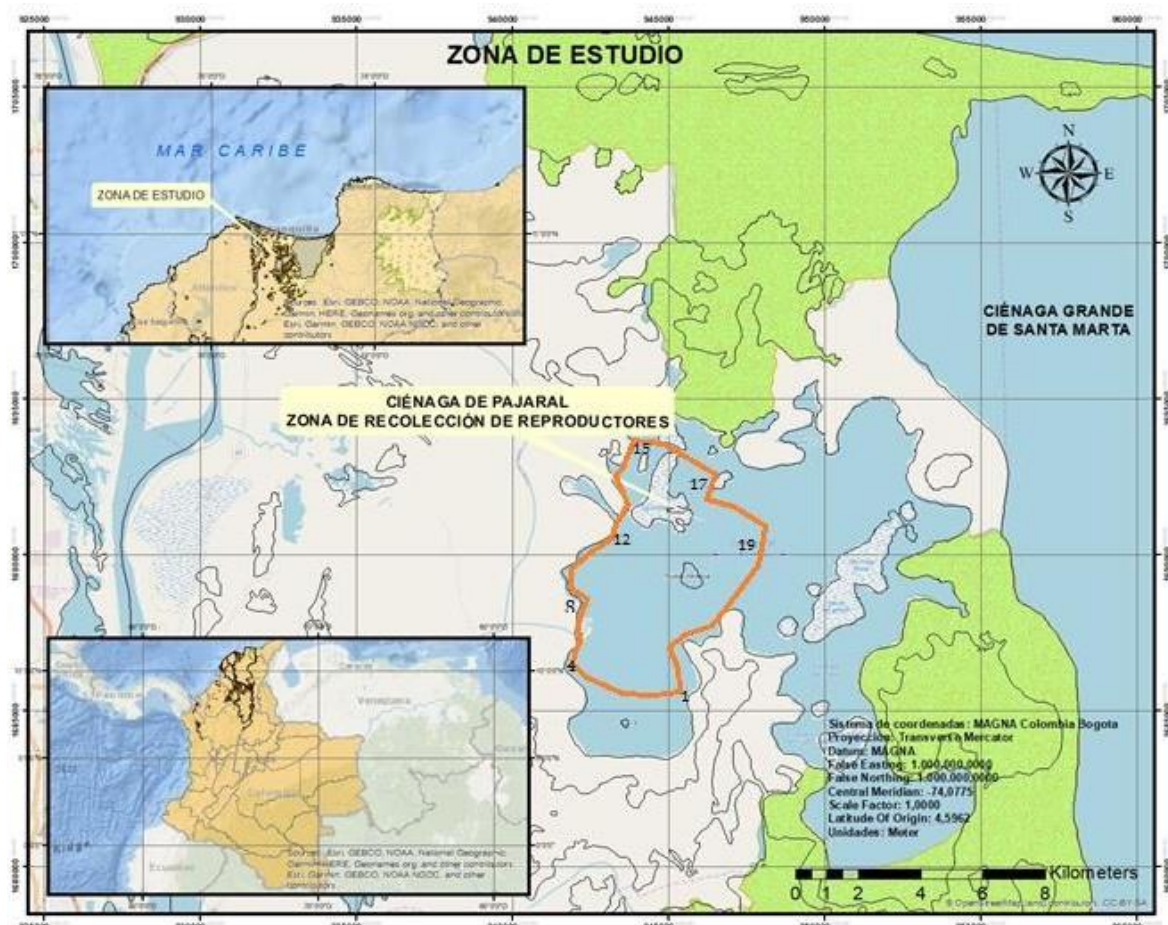


Figura 2. Mapa de Ciénaga de Pajarales, zona de colecta de organismos de *P. arctata*. Mapa elaborado por el grupo de investigación Moluscos Marinos de la Universidad del Magdalena

A las almejas que se relajaron y sacaron el pie de su concha, se les suministró una inyección intrapedal de 0,4 mL de serotonina 20 μ M (Espitia, 2021), tras lo cual se

aislaron individualmente en beakers de 500 mL provistos con agua de la misma calidad antes descrita y fueron monitoreadas hasta que desovaran o hasta un máximo de 1 h, cuidando de recambiar el agua cada 15 minutos. Una vez culminó la liberación de gametos, se homogenizó el agua de cada beaker, se tomó una muestra (1 mL) y se depositó sobre una cámara Sedgwick Rafter para ser analizada bajo un microscopio. Se identificó el tipo de gameto producido por cada animal (oocitos y/o espermatozoides), y los oocitos de cada hembra fueron fertilizados (antes de 1 h de haber sido emitidos) adicionando 10 mL de agua con espermatozoides tras lo cual fueron agitados suavemente con una paleta plástica. Cuando se presentaron valores de fertilización por debajo del 80% se procedió a adicionar 5 mL más de agua con espermatozoides, hasta obtener valores cercanos al 90%. Los oocitos fertilizados fueron concentrados en un recipiente de 4 L tras lo cual se colocaron en tanques cilíndricos de 500 L a una densidad, de 2 cigotos mL⁻¹, provistos de agua de la misma calidad antes descrita. Luego de 24 horas de post-fertilización y posteriormente cada 48 h, el agua de los tanques fue drenada a través de un desagüe lateral inferior y las larvas fueron recuperadas sobre tamices inmersos en recipientes con agua que actuó como un colchón para evitar el daño de estas, para ser luego colocadas en tanques limpios provistos de agua con las mismas características fisicoquímicas descritas para los animales usados como reproductores. Las larvas fueron alimentadas con microalgas *I. galbana* a una ración diaria de 40.000 células mL⁻¹. Luego de 11 días post-fertilización las larvas alcanzaron su madurez (estadio de larva pedivéliger), caracterizada por la presencia de una mancha ocular (estatocisto) y de un pie conspicuo reptante.

2.2 Diseño experimental

Con las larvas pedivéliger obtenidas en dos desoves diferentes se llevaron a cabo dos experimentos de asentamiento. En el primero se evaluó el efecto factorial del suministro de 4 estímulos inductores en el agua, 3 sustratos y 3 tiempos de exposición a estos factores (Fig. 3). Los estímulos aplicados en el agua fueron: 1) epinefrina 10⁻⁵ M (García-Lavandeira et al., 2005), 2) GABA 10⁻³ M (García-Lavandeira et al., 2005), 3) serotonina

10^{-7} M (Pérez-Bustamante y García-Esquivel 2017), 4) temperatura baja 20°C (Velasco et al., 2007) teniendo un control sin estimulación. Los sustratos de asentamiento fueron: 1) arena de 2 mm de diámetro (Lee et al., 2005; Tezuka et al., 2013), 2) sedimento menor a $40\ \mu\text{m}$ de diámetro, 3) la mezcla 1:1 de los dos anteriores, y se tuvieron controles sin sustrato (Fig. 5A). Los tiempos de exposición fueron: 6, 24 y 72 h (Fig. 3).

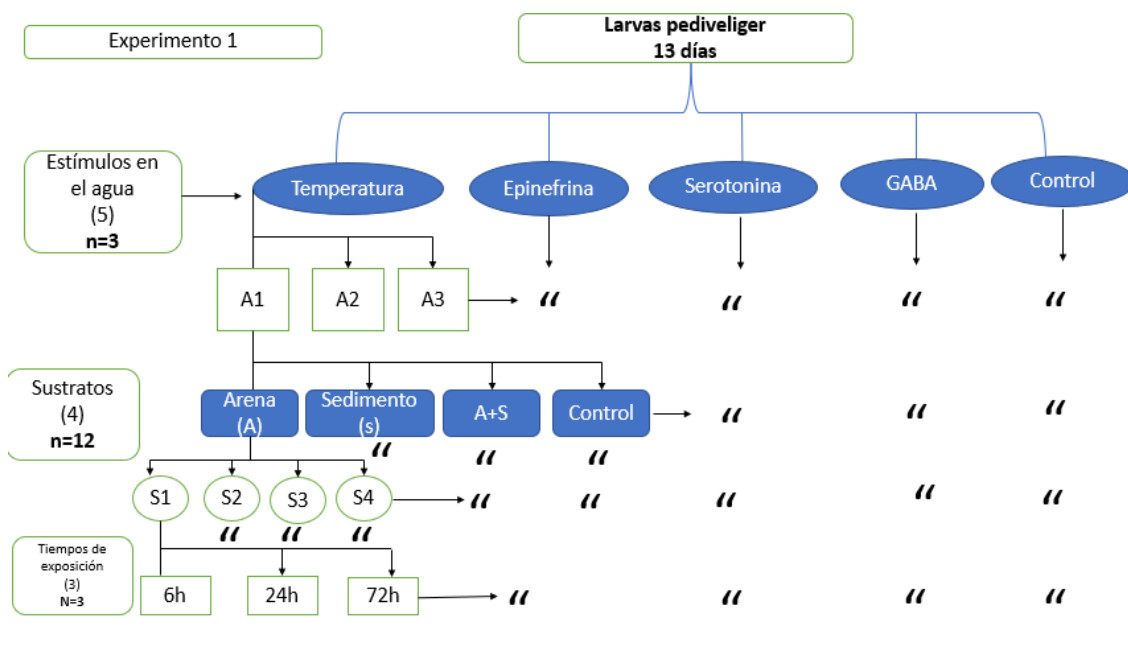


Figura 3. Diagrama de flujo primer experimento de asentamiento larvario de *P. arctata*. A = acuario réplica, S = sustrato réplica, n = número de réplicas.

En el segundo experimento se aplicó también un diseño factorial probando los mismos estímulos inductores y controles en el agua y sustrato usados previamente, pero empleando diferentes sustratos de asentamiento y tiempos de exposición a los mismos (Fig. 3). Los sustratos probados fueron: 1) biofilm de la microalga *Tetraselmis* (Guete-Salazar et al., 2021a), 2) biofilm artificial con microalgas y macroalgas secas (Guete-Salazar et al., 2021b) (Fig. 5B); mientras que los tiempos de exposición a los mismos fueron: 6, 12, 24 y 48 h (Fig. 4).

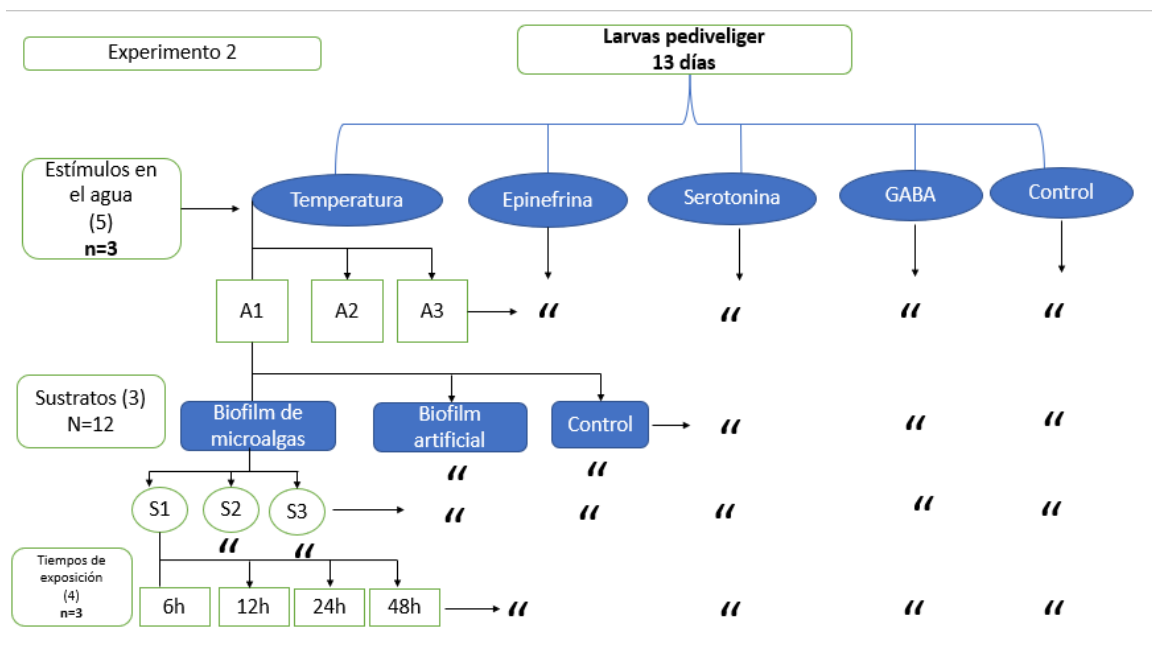


Figura 4. Diagrama de flujo primer experimento de asentamiento larvario de *P. arctata*. A = acuario réplica, S = sustrato réplica, n = número de réplicas.

Cada tratamiento y control de los estímulos inductores, sustratos y tiempos de exposición fue suministrado por triplicado en acuarios plásticos de 9 L (15 x 20,5 x 13 cm), usando la misma densidad larvaria inicial (1 larva mL^{-1}), cada uno provisto con un total de 12 recipientes circulares de polipropileno (50 mL, diámetro de 39 mm y altura de 29 mm) sumergidos completamente en el acuario, conteniendo 3 réplicas de cada sustrato o control (sin sustrato) para cada tiempo de exposición (Fig. 5C). Los recipientes con sustrato fueron llenados a una altura de 2 mm de alto y los de los controles estaban vacíos. Exceptuando los acuarios de los tratamientos de baja temperatura, todos los acuarios fueron mantenidos en un sistema estático usando el alimento y la calidad del agua indicados para los reproductores y larvas.

Los sustratos de arena y sedimento fueron elaborados con arena de sílice usada para filtros de piscina y con sedimento de río colectado en la parte media baja del Río Gaira ($11^{\circ}09' - 34.5^{\circ}00' \text{ N}$ y $74^{\circ}10' 19.6 \text{ W}$). La arena fue lavada con agua de mar microfiltrada y posteriormente se esterilizó con calor (90°C por 2 horas). El sedimento utilizado fue el

que pasó lavando el sedimento con agua de mar microfiltrada a través de un tamíz de 40 μm , el cual fue concentrado y guardado en frío (temperatura 5°C) hasta ser utilizado. Cuarenta y ocho horas antes de iniciar el experimento, los sustratos fueron biologizados colocándolos dentro de tanques (9 L) con un cultivo de la microalga *Tetraselmis chuii* (Fig. 5D). Para cada tiempo de exposición, de cada acuario se extrajeron 3 recipientes réplica con sustratos y sin sustrato (uno de cada tipo) y con la ayuda de un pincel fino y cajas Petri se contó bajo un microscopio la cantidad de larvas asentadas y las muertas en cada recipiente réplica, diferenciando a estas últimas por su color traslúcido y sus valvas abiertas. Al final de cada experimento, las larvas asentadas y muertas sobre las paredes de los acuarios fueron también cuantificadas y se pudo estimar el porcentaje de larvas asentadas y muertas en cada tratamiento de estimulación en el agua, totalizando las larvas muertas y asentadas en los recipientes réplica y sobre las paredes de cada acuario.

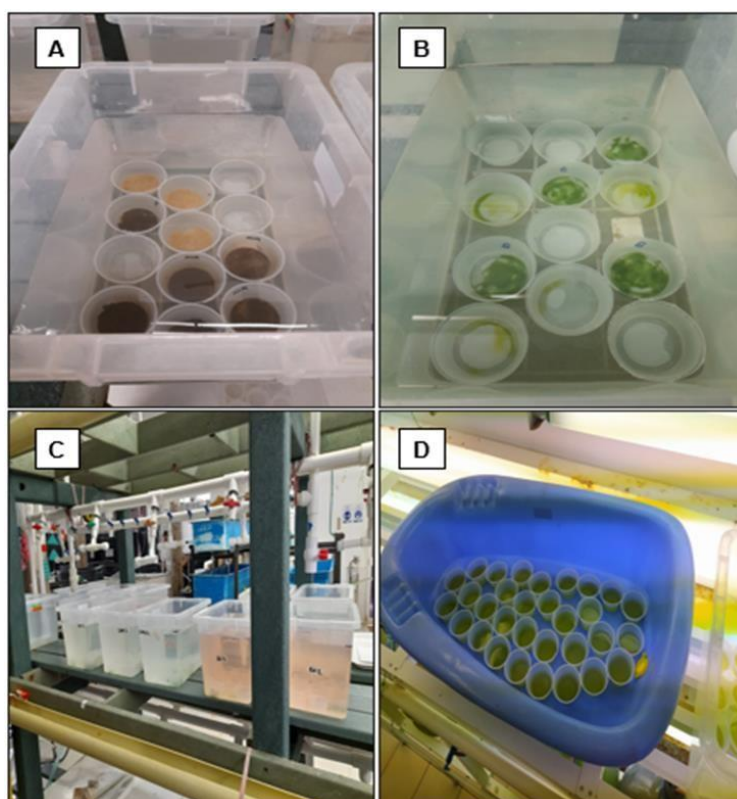


Figura 5. Sistemas de asentamiento experimento 1 (A), sistemas de asentamiento experimento 2 (B), acuarios provistos con diferentes estímulos de asentamiento (C), recipientes de asentamiento luego del proceso de biologización (D).

2.3 Análisis estadístico

Para determinar el efecto de los diferentes tiempos de exposición, estímulos y sustratos de asentamiento sobre el número y porcentaje de larvas asentadas y muertas, se llevaron a cabo análisis de varianza factoriales seguidos de pruebas de Tukey. Previo a su realización se comprobaron los supuestos de homocedastidad y normalidad de los datos, siendo necesaria su transformación logarítmica para las variables del experimento 1 y de raíz cuadrada para las variables del experimento 2, fue necesario el uso de Kruskal-Wallis para el análisis de la mortalidad durante el asentamiento en ambos experimentos. Para todas las decisiones de significancia se empleó un alfa de 0,05 con el programa Statgraphics Centurión XVII X64.

3. Resultados

3.1 Experimento 1

El número promedio de larvas asentadas estuvo entre 0 y 7 larvas cm^{-2} (Fig. 6). No se encontraron diferencias significativas entre los valores obtenidos suministrando diferentes estímulos en el agua ($gl = 4$, $F = 0,90$, $p = 0,4679$), pero fueron mayores a las 6 horas sin proveer sustrato, y a las 24 o 72 h independientemente del sustrato ($p < 0,05$). De otro lado, la mortalidad osciló entre 0 y 31 larvas por dm^2 (Fig. 7). Los mayores valores de

larvas muertas se registraron a las 72 horas de experimentación, especialmente en el tratamiento de GABA sobre los controles sin sustrato y los sustratos de arena ($p < 0,05$).

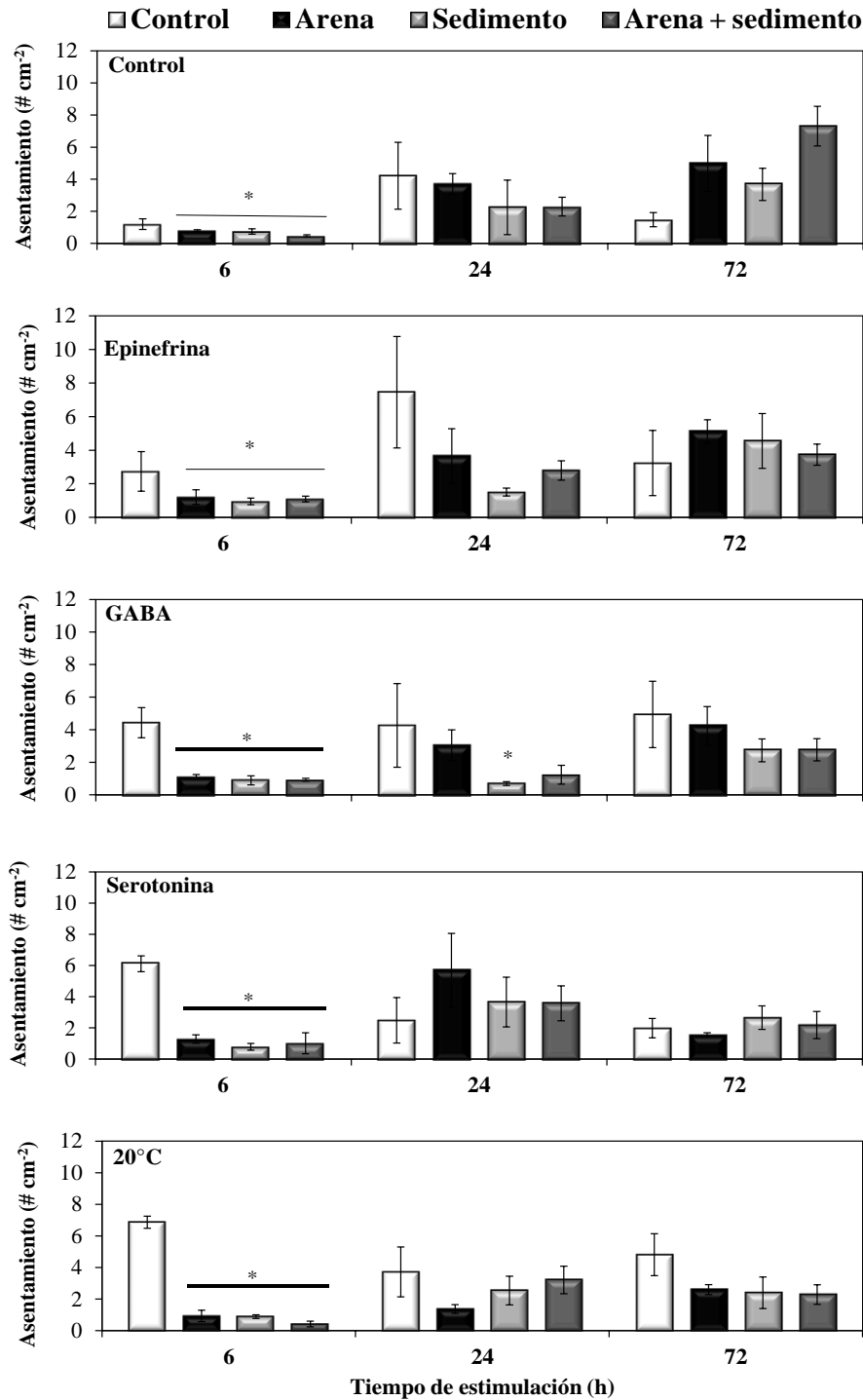


Figura 6. Larvas de *P. arctata* asentadas aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y los asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

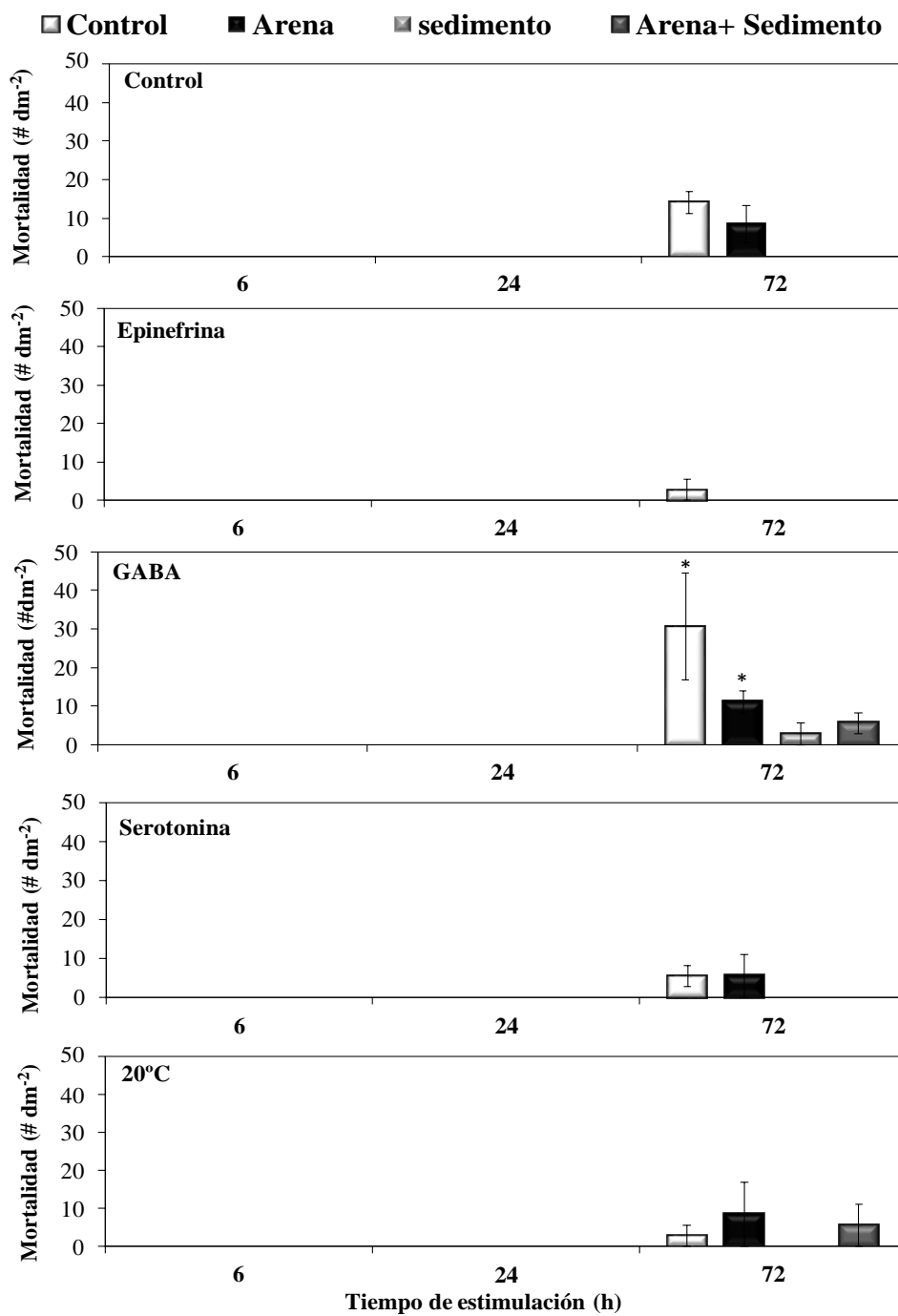


Figura 7. Mortalidad larval de *P. arctata* aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

3.2 Experimento 2

El número promedio de larvas asentadas estuvo entre 0 y 136 larvas cm^{-2} (Fig. 8). Se encontraron efectos significativos tanto del estímulo ($\text{gl} = 4$, $F = 3,85$, $p = 0,0056$), como del sustrato ($\text{gl} = 2$, $F = 11,87$, $p < 0,0001$), tiempo de exposición ($\text{gl} = 3$, $F = 33,10$, $p < 0,0001$) y de la interacción entre estos factores ($\text{gl} = 24$, $F = 9,92$, $p < 0,0001$). Mayores valores fueron observados a las 24 h de experimentación sin suministrar estímulos en el agua y usando el sustrato de biofilm artificial, así como suministrando serotonina o GABA en el agua y usando sustratos de biofilm de microalgas ($p < 0,0500$). De otro lado, el número de larvas muertas osciló entre 0 y 102 larvas cm^{-2} (Fig. 9). Se encontraron mayores valores de larvas muertas a las 48 h de estimulación sobre los sustratos de biofilm, especialmente cuando se usaron estímulos químicos ($p < 0,0010$), mientras que los menores se hallaron en los tratamientos de baja temperatura, en los que la mortalidad no fue significativa ($p < 0,05$).

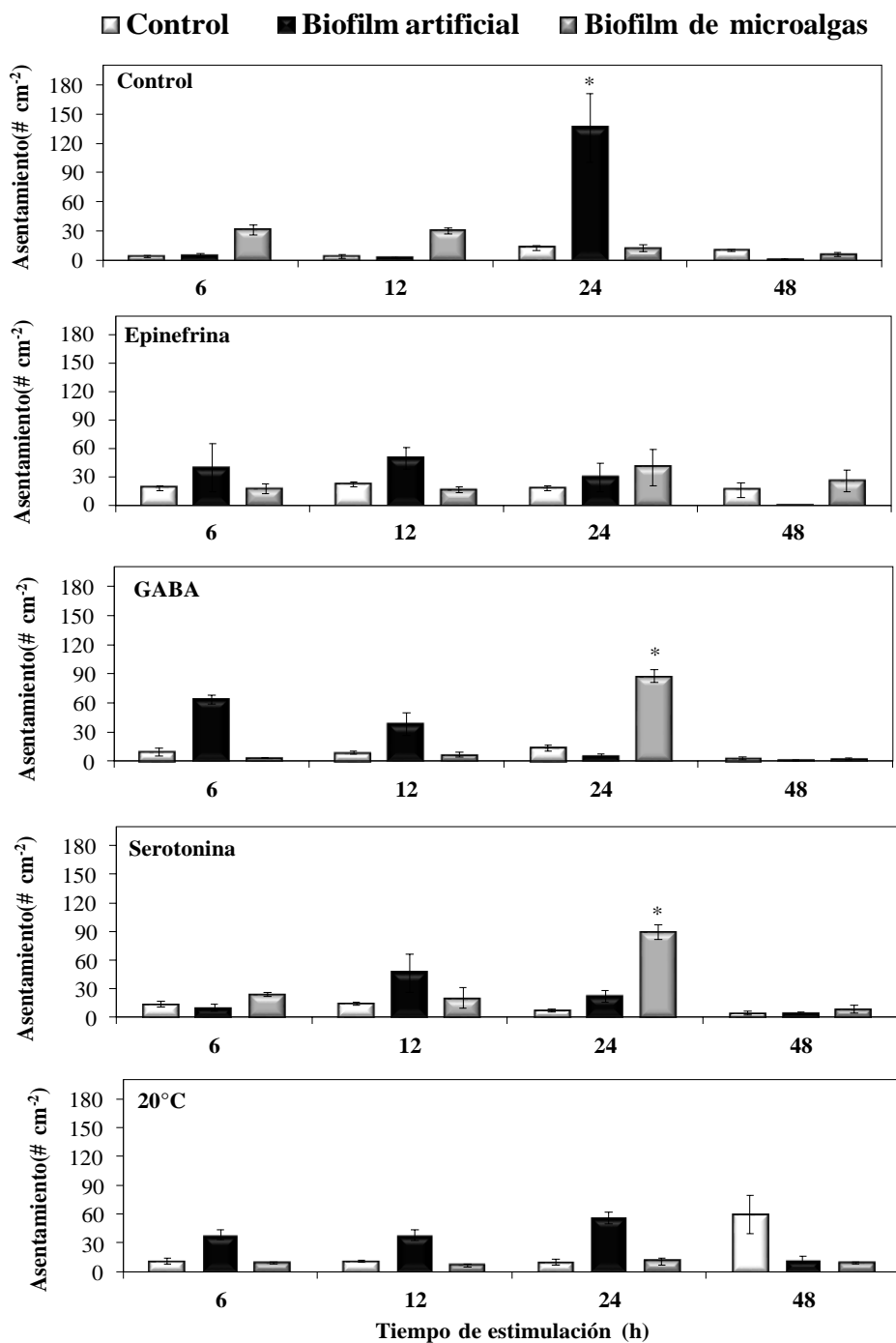


Figura 8. Larvas de *P. arctata* asentadas aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y los asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

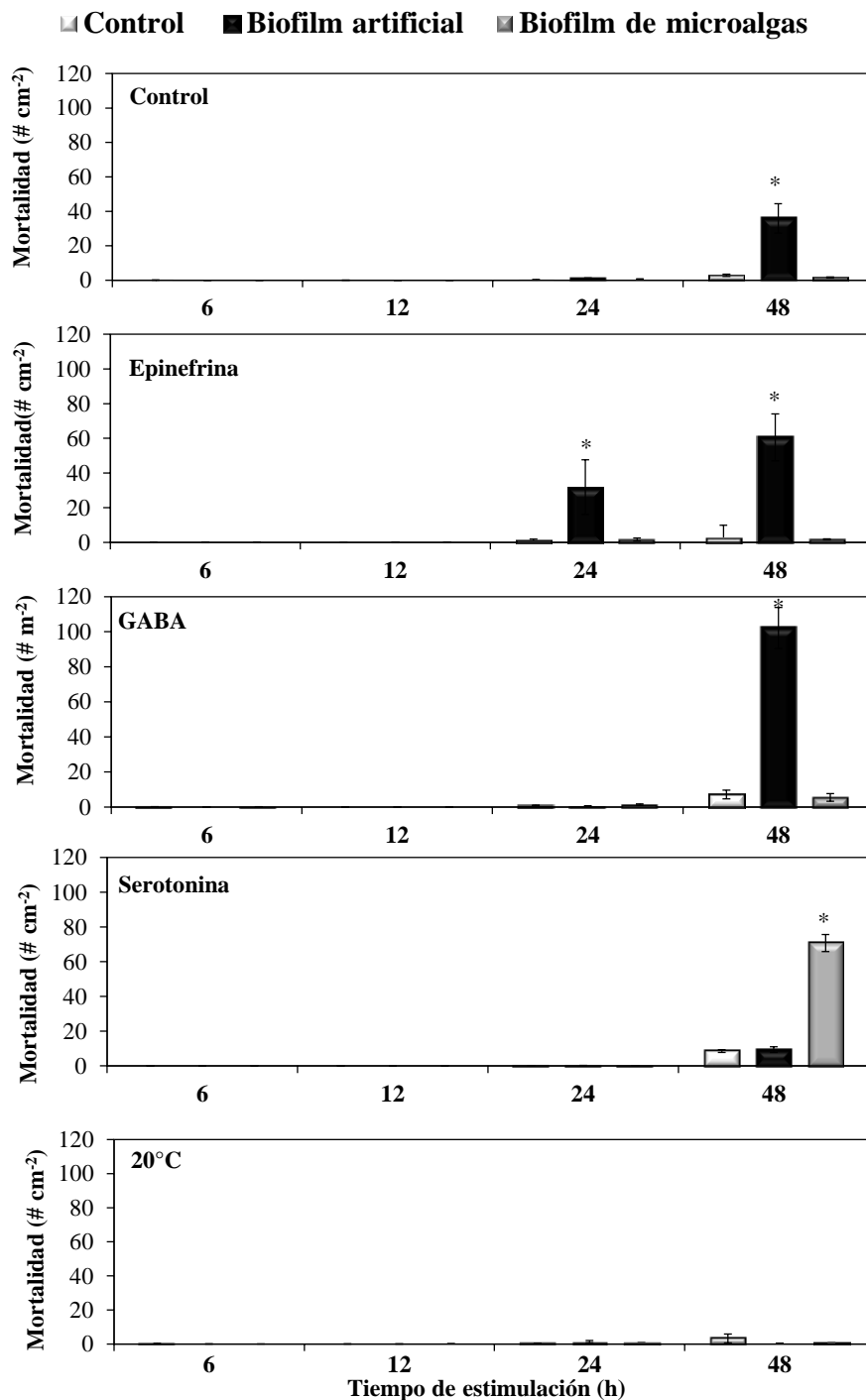


Figura 9. Mortalidad larval de *P. arctata* aplicando diferentes estímulos, sustratos y tiempos de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

3.3 Asentamiento y mortalidad total

El porcentaje promedio de larvas asentadas luego de 72 h de exposición, incluyendo aquellas localizadas sobre los sustratos y paredes de los acuarios osciló entre 40 y 73% (Fig. 10A). No se registraron diferencias significativas entre los valores obtenidos en los dos experimentos ($gl = 1$, $F = 0,05$, $p = 0,8252$), ni entre los estímulos probados ($gl = 4$, $F = 1,20$, $p = 0,3412$). De otro lado, el porcentaje de mortalidad larvaria final estuvo entre 0 y 27% (Fig. 10B), registrándose los mayores valores en el segundo experimento con relación al primero ($gl = 4$, $F = 3,86$, $p = 0,0176$). Para el primer experimento no se encontraron diferencias significativas en los valores hallados entre los estímulos aplicados ($p > 0,0500$), mientras que, para el segundo experimento, mayor mortalidad se encontró en el tratamiento de epinefrina en comparación con el de frío y el control ($p < 0,0500$). Se evidenció una relación positiva entre el asentamiento y la mortalidad ($n = 360$, $r = 0,1713$, $p = 0,0012$).

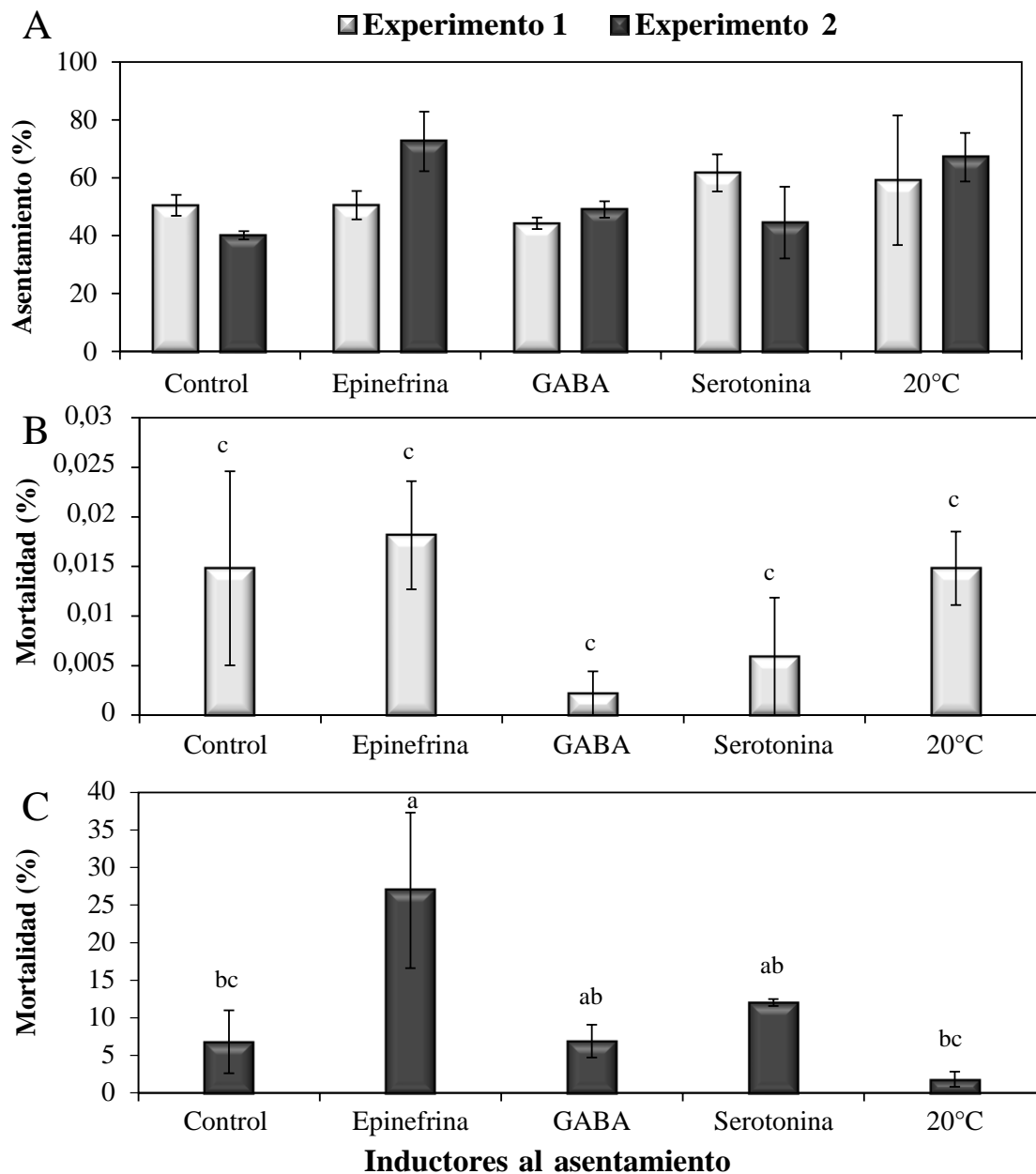


Figura 10. Porcentaje de asentamiento de *P. arctata* (A) y mortalidad total en los experimentos 1 (B) y 2 (C), luego de 72 horas de estimulación. Las barras verticales representan el error estándar y las letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

4. Discusión

Las respuestas de falta de efecto de los estímulos aplicados al agua sobre el asentamiento larvario de la almeja estuarina en el experimento 1, así como los mayores valores de asentamiento obtenidos en el experimento 2 cuando no se suministraron estímulos en el agua, sugieren que las larvas de esta especie no activan el asentamiento en respuesta a los cambios químicos y físicos del agua probados. Resultados similares han sido reportados para otras almejas como *Ruditapes largillierii* (Kent et al., 1999) y *Panopea zelandica* (Le et al., 2017). Es posible que las almejas al vivir enterradas en el bentos, no estén tan bien adaptadas para reconocer los cambios fisicoquímicos del agua como si lo están bivalvos epibentónicos que se asientan con tales estímulos (Doroudi y Southgate, 2002; García-Lavandeira et al., 2005).

Contrariamente, la influencia significativa de los diferentes sustratos sobre el asentamiento de la almeja estuarina indica que las larvas pediveliger de esta especie sí tienen la capacidad para percibir y diferenciar la calidad del fondo, así como escoger asentarse sobre una superficie que provea condiciones adecuadas para su futura forma de vida, tales como disponibilidad de alimento y espacio físico adecuados. Para el experimento 1, los altos valores de asentamiento de la almeja estuarina sin el suministro de sustratos a las 6 h de experimentación sugieren que los sustratos de arena y/o sedimento pudieron ocasionar una obstrucción del velo de las larvas pediveliger que todavía no estaban completamente maduras (provistas de mancha ocular y pie completamente desarrollado) y por tanto interferir en su alimentación y respiración, prefiriendo asentarse sobre fondos libres de estos materiales en estas etapas tempranas. Un fenómeno similar ha sido reportado para *Crassostrea iredalei* (Devakie y Ali, 2002) y *Ruditapes philippinarum* (Tezuka et al., 2013). Contrariamente, los valores de asentamiento observados a las 24 y 72 h de experimentación independientemente de los sustratos, sugieren que, las larvas expuestas a los sustratos por un mayor tiempo se asientan sobre cualquier superficie. A medida que aumenta el tiempo de permanencia de los sustratos en el agua, empieza a desarrollarse sobre los mismos, bacterias y

microalgas que se convierten en una fuente de alimento importante en la fase pre y post-metamórfica (Satuito et al., 1997). Las larvas pediveliger, así como las post-larvas son capaces de llevar a cabo alimentación pedal, que consiste en capturar el detrito y las diatomeas bénticas por medio del pie ciliado y llevarlos a la cavidad del manto donde son depositados en los palpos labiales (O`Foighil et al., 1990; Cragg, 2016).

Los mayores números de larvas de *P arctata* hallados sobre los biofilms artificial y de microalgas en el experimento 2, así como los mayores valores obtenidos en este experimento en comparación con el primero, sugieren que estos biofilm son más apropiados que la arena y el sedimento como sustratos de asentamiento para la almeja estuarina. Resultados positivos de los biofilms artificiales y algales sobre el asentamiento ha sido reportado para otros bivalvos (Satuito et al., 1997; Devakie y Ali., 2002; Yu et al., 2010), así como en gasterópodos marinos y erizos (Guete-Salazar et al., 2021a; 2021b). Aparentemente, la alta cantidad de proteínas y energía que contienen estos biofilms (Tritar et al., 1992; Parsons et al., 1993; Devakie y Ali., 2002, Stott et al., 2004; Yu et al., 2010; Silveira et al., 2011; Velasco et al., 2019; Guete-Salazar et al., 2021a; 2021b) actuaron como atractantes y fuente de nutrientes para las larvas pediveliger de la almeja estuarina, desencadenando una mayor respuesta de asentamiento. Luego estos resultados ponen de manifiesto la importancia de la alimentación pedal en las larvas de la almeja estuarina durante el asentamiento, momento en el cual las larvas deben minimizar su alimentación suspensívora mientras ocurre la metamorfosis, en la cual reabsorben el velo y desarrollan las branquias filtrantes (Yamanaka et al., 2013; Soo y Todd, 2014; Braley et al., 2018).

Los mayores asentamientos verificados a las 24 h de estimulación coinciden con lo hallado en moluscos como *R. philippinarum* (Urrutia et al., 2004), *Haliotis diversicolor* (Bryan y Qian, 1998), *Mytilus galloprovincialis* (Sánchez-Lazo y Martínez-Pita, 2012). Es posible que las larvas hayan requerido de este lapso para explorar y desarrollar completamente los osfradios o quimiorreceptores, de forma que pudieran percibir los sustratos disponibles, así como para desencadenar la respuesta de permanencia sobre los mismos. Mayores tiempos de estimulación han sido reportado en otras almejas como *Venerupis pullastra*, *R. philippinarum* (48 h, García-Lavandeira et al., 2005), y

Saxidomus purpuratus (36 h; Lee et al., 2005). Tales diferencias pueden relacionarse con la menor tasa de desarrollo que tienen estas almejas propias de aguas subtropicales o frías (12 - 19 °C).

El promedio de asentamiento de *P. arctata* en este estudio (54%) es mayor al reportado para otras almejas como *V. pullastra*, *R. philippinarum* (5 - 39%; García-Lavandeira et al., 2005), pero es inferior al hallado en *Anadara trapezia* (80%; Gribben et al., 2009). Es posible que estas variaciones estén relacionadas con diferencias en las densidades de siembra de las larvas pedivéliger. Mientras que en este estudio y en los de *V. pullastra* y *R. philippinarum* se usaron densidades entre 1 y 20 larvas mL⁻¹, en *A. trapezia* esta fue más baja (0,10 larvas mL⁻¹). A mayor densidad larvaria, la calidad del agua disminuye debido a la mayor tasa de producción de heces y desechos metabólicos, ocurriendo una mayor competencia por el alimento y espacio, lo que se ha asociado a menores supervivencias (Fitt et al., 1984; Liu et al., 2006; Velasco y Barros, 2008; Liu et al., 2010).

La mayor mortalidad de las larvas tratadas con GABA en el primer experimento y adicionalmente con epinefrina y serotonina en el segundo experimento sugiere que estos químicos tuvieron un efecto tóxico sobre las larvas pedivéliger de la almeja estuarina. Resultados similares han sido reportados para otros bivalvos como *Aulocomya maoriana* (Alfaro et al., 2011), *Crassostrea gigas* (Coon et al., 1985) y *Pinctada margaritifera*, (Doroudi y Southgate., 2002). Se ha postulado que la toxicidad de algunos de estos químicos como el GABA pueden relacionarse con su efecto de hiperpolarización inhibitoria de las membranas neuronales o con la alteración de metabolitos en las células (Young et al., 2011), lo cual puede causar deficiencias en el control de sus funciones y su muerte.

El mayor número de larvas muertas hallado luego de un tiempo de experimentación superior a 24 h coincide con lo reportado para *P. margaritifera* (Doroudi y Southgate., 2002), *M. galloprovincialis* (Sánchez y Martínez, 2012), *P. penguin* (Wassing y Southgate., 2012), *Panopea globosa* (Pérez-Bustamante y García-Esquivel, 2017). El deterioro en la calidad del agua debido a la acumulación de materia en descomposición derivada de la muerte de las larvas y de las algas, así como la acumulación de amoníaco

producido por el catabolismo proteico de las larvas pudo causar su intoxicación y muerte (González-Estrada., 2001; Alfaro et al., 2011).

La asociación positiva hallada entre la mortalidad larvaria y el asentamiento de la almeja estuarina puede explicarse porque un mayor número de lavas asentadas pudo generar una mayor competencia por alimento pedal y espacio, así como un deterioro en la calidad del sustrato o del agua del acuario resultante de una mayor producción de heces y metabolitos. Resultados similares han sido reportados en *Hippopus hippopus* y *Tridacna gigas* (Fitt et al., 1984) y en *Meretrix meretrix* (Liu et al., 2006).

La mortalidad promedio de las larvas de *P. arctata* durante el asentamiento (5%) fue inferior a la reportada para otros bivalvos como *P. margaritifera* (32%; Doroudi y Southgate, 2002), *M. meretrix* (20%; Liu et al., 2006) y *Aulacomya maoriana* (60%; Alfaro et al., 2011). Es posible que este resultado esté relacionado con las menores densidades de siembra de las larvas pedivéliger ya que mientras en *P. arctata* se usó una densidad de 1 larva mL⁻¹ en los otros estudios se usaron densidades mayores (entre 2 y 60 larvas mL⁻¹). La escasa mortalidad de las larvas de la almeja estuarina durante el asentamiento sugiere que es una especie con una alta resistencia durante esta fase de desarrollo, característica que le confiere un alto potencial para ser producida en laboratorio y ser usada en acuicultura o repoblación.

5. Conclusiones

- Los estímulos físicos y químicos suministrados al agua no indujeron el asentamiento de las larvas pedivéliger de la almeja estuarina *P. arctata*, pero se observó para el caso de GABA como estimulante en el experimento 1, un aumento en la mortalidad de las larvas en comparación con los demás inductores.

El mayor asentamiento de las larvas pedivéliger de la almeja estuarina fue obtenido exponiéndolas a sustratos de biofilm artificial por 24 h y sin suministrar estímulos en el agua.

- La mortalidad larvaria de *P. arctata* durante el asentamiento fue mayor luego de 24 h de alcanzar el estado pedivéliger, y esta presentó una relación directa con el porcentaje de larvas asentadas en los sustratos.
- Los altos valores de asentamiento promedio (54%) y bajos niveles de mortalidad de las larvas asentadas (5%) corresponden a los primeros reportes para *P. arctata*, los cuales sugieren que esta especie tiene un alto potencial para ser producida en laboratorio con fines de acuicultura o repoblación.

6.Recomendaciones

- Se recomienda para futuros estudios o ensayos de producción de post-larvas en laboratorio con fines de acuicultura o repoblación de la almeja estuarina, usar para el asentamiento densidades de larvas pedivéliger menores a 1 larva por mL de agua, no aplicar ningún estímulo en el agua, proveer amplias superficies provistas con sustrato de biofilm artificial por un tiempo de exposición de 24 h, tras lo cual se recomienda colocarlas en un sistema de recambio continuo de agua para eliminar el lixiviado del biofilm artificial y evitar el deterioro de la calidad del agua.

7. Referencias Bibliográficas

- Ardila, N., Navas, G., Reyes, J., (eds.). (2002). Libro rojo de invertebrados marinos de Colombia. INVEMAR. Ministerio del Medio Ambiente. La serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Acosta, C, P., G. Román, M.J. Campos y J. Cano. (1999). On some factors affecting *Aequipecten* settlement. En: Books of Abstracts. 12th International Pectinid Workshop. Bergen, Norway, 5-11 May, pp. 68-69
- Alfaro, A. C., Young, T., Ganesan, A. M. (2011). Regulatory effects of mussel (*Aulacomya maoriana* Iredale 1915) larval settlement by neuroactive compounds, amino acids and bacterial biofilms. *Aquaculture*, 322, 158-168.
- Aji, L. P. (2011). Spawning Induction in Bivalve. *Jurnal Penelitian Sains*, 14(2).
- Bonar, DB, Coon, SL, Walch, M., Weiner, RM y Fitt, W. (1990). Control del asentamiento de ostras y metamorfosis por señales químicas endógenas y exógenas. *Boletín de Ciencias del Mar*, 46 (2), 484-498.
- Benítez, Z. (2020). Efecto de la salinidad, temperatura, concentración de amoníaco y oxígeno sobre la fisiología energética de *Polymesoda arctata* (Bivalvia: Cyrenidae), bajo condiciones de laboratorio. Tesis de maestría. Universidad del Magdalena. Santa Marta.
- Braley, R. D., Militz, T. A., Southgate, P. C. (2018). Comparison of three hatchery culture methods for the giant clam *Tridacna noae*. *Aquaculture*, 495, 881-887.
- Bryan, P. J., Qian, P. Y. (1998). Induction of larval attachment and metamorphosis in the abalone *Haliotis diversicolor* (Reeve). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 223(1), 39-51.
- Beninger, P. G., Dwiono, S. A. P., & Le Pennec, M. (1994). Early development of the gill and implications for feeding in *Pecten maximus* (Bivalvia: Pectinidae). *Marine Biology*, 119(3), 405-412.

- Benitez Polo, Z. (2021). Efecto de la calidad del agua sobre la fisiología energética de la almeja Estuarina, *Polymesoda Arctata* (DESHAYES, 1854).
- Cragg, S.M., Crisp, D.J. (1991). The biology of scallop larvae. In: S.E. Shumway (Ed.). Scallop: Biology, Ecology and Aquaculture. Develop. *Aquac. Fish. Sci.*, pp.75-122
- Coon, S.L., Bonar, D.B., Weiner, R.M., (1985). Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), by L-DOPA and catecholamines. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 94, 211 – 221.
- Clements, J. C., Woodard, K. D., Hunt, H. L. (2016). Porewater acidification alters the burrowing behavior and post-settlement dispersal of juvenile soft-shell clams (*Mya arenaria*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 477, 103-111.
- De la Roche, J.P., A. Louro G. Roman. (2005). Settlement of *Chlamys varia* (L.) in the hatchery. *J. Shellfish Res.* 34(2): 363-368.
- De La Hoz, M. V. (2009). Densidad, estructura de tallas y explotación pesquera del bivalvo *Polymesoda sólida* en un sistema lagunar del Caribe colombiano. *Boletín del centro de investigaciones biológicas.* 43: 1-27.
- Díaz, J.M., Puyana, M. (1994). Moluscos del Caribe colombiano. Un catálogo ilustrado. COLCIENCIAS, Fundación Natura, INVEMAR, Bogotá D. C., Colombia.
- Da Costa, F., Martínez, D. (2009). Culture potential of the razor clam *Solen marginatus* (Pennánt, 1777). *Aquaculture* 288: 57–64.
- De Severeyn, Y., Severeyn, H., Ewald, J. (1994). Early development of the estuarine mollusk *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) (Bivalvia:Corbiculidae) in Lake Maracaibo, Venezuela. *American Malacology Bulletin* 11: 51-56.
- Dumas, P., Tiavouane, J., Senia, J., Willam, A., Dick, L., Fauvelot, C. (2014). Evidence of early chemotaxis contributing to active habitat selection by the sessile giant clam *Tridacna maxima*. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 452, 63-69.

-
- Devakie, M. N., Ali, A. B. (2002). Effective use of plastic sheet as substrate in enhancing tropical oyster (*Crassostrea iredalei* Faustino) larvae settlement in the hatchery. *Aquaculture*, 212(1-4), 277-287.
- Doroudi, M. S., Southgate, P. C. (2002). The effect of chemical cues on settlement behaviour of blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae. *Aquaculture*, 209(1-4), 117-124.
- Espitia, G. Inducción al desove de la almeja estuarina *Polymesoda arctata* (Deshayes, 1854). Empre.
- Fitt, W. K., Fisher, C. R., & Trench, R. K. (1984). Larval biology of tridacnid clams. *Aquaculture*, 39(1-4), 181-195.
- Gómez, N. (2020). Efecto del tamaño del cuerpo y la concentración de alimento sobre la fisiología energética de la almeja estuarina *Polymesoda arctata*, bajo condiciones de laboratorio. Tesis (Biología), Universidad de Antioquia. Medellín, 32.
- García-Lavandeira, M., Silva, A., Abad, M., Pazos, A. J., Sánchez, J. L., Pérez-Parallé, M. L. (2005). Effects of GABA and epinephrine on the settlement and metamorphosis of the larvae of four species of bivalve molluscs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 316(2), 149-156.
- González- Estrada, F. 2001. Estudio de los efectos agudos y crónicos del amonio sobre la supervivencia, metabolismo y crecimiento de la almeja Catarina (*Argopecten ventricosus* Sowerby II, 1842), en relación a la temperatura. Tesis de pregrado, facultad de ingeniería pesquera, Universidad Autónoma de Nayarit, Mexico.
- Gribben, P. E., Wright, J. T., O'Connor, W. A., & Steinberg, P. (2009). Larval settlement preference of a native bivalve: the influence of an invasive alga versus native substrata. *Aquatic Biology*, 7(3), 217-227.
- Guete-Salazar, C. Barros, J; Velasco, L. A. (2021a). Settlement and culture of post-larvae, spat and juveniles of the West Indian topshell, *Cittarium pica* (Linne, 1758). *Aquaculture*, 737029.

- Guete-Salazar, C., Barros, J., Velasco, L. A. (2021 b). Spawning, larval culture, settlement and juvenile production of the west Indian Sea egg, *Tripneustes ventricosus* (Lamarck, 1816), under hatchery conditions. *Aquaculture*, 737059.
- Helm, M.M.; Bourne, N.; Lovatelli, A. (2004). Hatchery culture of bivalves. A practical manual. FAO Fisheries Technical Paper. No. 471. Rome, FAO. 177p
- Helm, M.M., N. Bourne y A. Lovatelli. (2006). Cultivo de bivalvos en criadero, un manual práctico. FAO Fisheries Technical paper 471, Rome. 182p
- Huo, Z., Li, Y., Rbbani, Md.G., Wu, Q., Yan X. 2018. Temperature challenge on larvae and juveniles of the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Aquaculture Research* 49: 1727-1731
- INPA. Instituto nacional de pesca y acuicultura. 1996. *Boletín estadístico pesquero* 41p.
- INVEMAR, 2017. Informe del estado de los ambientes y recursos marinos y costeros en Colombia, 2016. Serie de Publicaciones Periódicas No. 3. Santa Marta. 200 p.
- INVEMAR. (2018). Monitoreo de las condiciones ambientales y los cambios estructurales y funcionales de las comunidades vegetales y de los recursos pesqueros durante la rehabilitación de la Ciénaga Grande de Santa Marta. Informe *Técnico Final 2018. Volumen 17. 17, 178 p+ anexos.*
- Joyce, A., y Vogeler, S. (2018). Molluscan bivalve settlement and metamorphosis: neuroendocrine inducers and morphogenetic responses. *Aquaculture*, 487, 64-82.
- Kent, G., Maguire, G., Duthie, I. (1999). Spawning, settlement, and growth of the New Zealand venerid *Ruditapes largillierti* (Philippi 1849) in culture. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 33: 55-62
- Labarta, U., Fernández-Reiriz, M. J., Pérez-Camacho, A. (1999). Larvae of *Ostrea edulis* (L.) during starvation: growth, energy and biochemical substrates. *Hydrobiologia*, 405, 125-131.

- Le, D. V., Young, T., Alfaro, A. C., Watts, E., & King, N. (2017). Effect of neuroactive compounds on larval metamorphosis of New Zealand geoduck (*Panopea zelandica*). *Aquaculture Research*, 48(6), 3080-3090.
- Lee, C.H., Han, G.M., Choi, J.W. (2005); Substrate selection for larval settlement and spat growth in the purple clam, *Saxidomus purpuratus* (Sowerby) in laboratory culture. *Korean Journal of Malacology* 21: 65-70.
- Liu, B., Dong, B., Tang, B., Zhang, T., Xiang, J. (2006). Effect of stocking density on growth, settlement and survival of clam larvae, *Meretrix meretrix*. *Aquaculture* 258: 344-349.
- Liu, W., Gurney-Smith, H., Beerens, A., & Pearce, C. M. (2010). Effects of stocking density, algal density, and temperature on growth and survival of larvae of the basket cockle, *Clinocardium nuttallii*. *Aquaculture*, 299(1-4), 99-105.
- Monsalvo-Spencer, P., Reynoso-Granados, T., Robles-Villegas, G., Robles-Mungaray, M., & Maeda-Martínez, A. N. (2015). Cultivo de larvas y juveniles de almeja voladora *Euvola vogdesi* (Pteroida: Pectinidae). *Latin American journal of aquatic research*, 43(3), 514-525.
- Mouiza, M., Gros, O., Frenkiel, L. (1999). Embryonic, larval and postlarval development of the tropical clam, *Anomalocardia brasiliensis* (Bivalvia, Veneridae). *Journal of Molluscan Studies*, 65(1), 73-88.
- Narvarte M., M. Pascual. (2003). Fertilization, larval rearing and post-larval growth of the scallop *Aequipecten tehuelchus* D'Orb., 1846. *Aquaculture* 217: 259-274.
- O'Foighil, D., Kingzett, B., O'foighil, G., & Bourne, N. (1990). Growth and survival of juvenile Japanese scallops, *Patinopecten yessoensis*, in nursery culture. *J. Shellfish Res*, 9(1), 135-144.
- Parsons, G. J., Dadswell, M. J., Roff, J. C. (1993). Influence of biofilm on settlement of sea scallop, *Placopecten magellanicus*(Gmelin, 1791), in Passamaquoddy Bay, New Brunswick, Canada. *Journal of Shellfish Research*, 12(2), 279-283.

- Pérez-Bustamante, I. S., Garcia-Esquivel, Z. (2017). Effect of five chemical compounds on larval metamorphosis of the Cortez geoduck clam, *Panopea globosa*. *Aquaculture*, 477, 90-98.
- Poutiers, J. M., Cipriani, R. (1992). Gastropodos y Bivalvos. Pp 29-76 en: Cervigón, F., R. Cipriani, W. Fischer, L. Garibaldi, M. Hendrickx, A. J. Lemus, R. Márquez, J. M. Poutiers, G. Robaina y B. Rodríguez (eds.). Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca. Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América. Preparado con el financiamiento de la Comisión de Comunidades Europeas y de NORAD. Roma
- Purcell, S. W., Cheng, Y. W. (2010). Experimental restocking and seasonal visibility of a coral reef gastropod assessed by temporal modelling. *Aquatic Biology*, 9(3), 227-238.
- Paez, D. (2022). Desarrollo embrionario larval y post-larval de la almeja estuarina amenazada *Polymesoda arctata*, con fines de conservación y usos sostenible. Tesis de pregrado, Universidad del Magdalena.
- Rueda, M., Urban, H.J. (1998). Population dynamics and fishery of the fresh-water clam *Polymesoda solida* (Corbiculidae) in Ciénaga Poza Verde, Salamanca Island, Colombian Caribbean. *Fisheries Research* 39: 75-86.
- Sánchez-Lazo, C., Martínez-Pita, I. (2012). Induction of settlement in larvae of the mussel *Mytilus galloprovincialis* using neuroactive compounds. *Aquaculture*, 344, 210-215.
- Sarkis, S., Lovatelli, A. (2007). Installation and operation of a molecular bivalve hatchery. FAO, Roma (Italia).
- Sastry A.N (1979) Pelecypoda (Excluding ostreidae). En: A.C. Giese y J.S. Pearse (Eds). Reproduction of marine invertebrates, Mollusc: Pelecypods and lesser classes, pp.113- 292.
- Satuito, C. G., Shimizu, K., Fusetani, N. (1997). Studies on the factors influencing larval settlement in *Balanus 40m*phitrite and *Mytilus galloprovincialis*. *Hydrobiologia*, 358(1), 275-280.

-
- Schartum, E., Mortensen, S., Pittman, K., & Jakobsen, P. J. (2017). From pedal to filter feeding: ctenidial organogenesis and implications for feeding in the postlarval freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus, 1758). *Journal of Molluscan Studies*, 83(1), 36-42.
- Severeyn, H., de Severeyn, Y., Ewald, J., Morales, F. (1996). Efectos de parámetros ambientales y la talla inicial sobre el crecimiento de la almeja comercial *Polymesoda solida* *Polymesoda arctata* (Bivalvia: Corbiculidae) en el Lago de Maracaibo. Trabajo de Ascenso. Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias, Departamento de Biología, Maracaibo. 58.
- Silveira, R. C., Silva, F. C., Gomes, C. H. M., Ferreira, J. F., Melo, C. M. R. (2011). Larval settlement and spat recovery rates of the oyster *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819) using different systems to induce metamorphosis. *Brazilian Journal of Biology*, 71, 557-562.
- Soo, P., Todd, P. A. (2014). The behaviour of giant clams (Bivalvia: *Cardiidae*: *Tridacninae*). *Marine biology*, 161(12), 2699-2717.
- Stott, A. E., Takeuchi, T., Koike, Y. (2004). An alternative culture system for the hatchery production of abalone without using livefood. *Aquaculture*, 236(1-4), 341-360
- Tezuka, N., Kanematsu, M., Asami, K., Sakiyama, K., Hamaguchi, M., Usuki, H. (2013). Effect of salinity and substrate grain size on larval settlement of the asari clam (Manila clam, *Ruditapes philippinarum*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 439: 108–112.
- Tritar, S. (1992). Effects of bacterial films on the settlement of the oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) and *Ostrea edulis* Linnaeus, 1750 and the scallop *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758). *J. Shellfish Res.*, 11, 325-330.
- Uriarte, I., G.S. Rupp; A. Abarca. (2001), Producción de juveniles de pectinidos iberoamericanos bajo condiciones controladas. En: A.Maeda- Martinez (Ed), los moluscos pectinidos de Iberoamerica: Ciencia y Acuicultura, Limusa, México, pp. 147-171

- Urrutia, P. M., Okamoto, K., & Fusetani, N. (2004). Acetylcholine and serotonin induce larval metamorphosis of the Japanese short-neck clam *Ruditapes philippinarum*. *Journal of Shellfish Research*, 23(1), 93-101.
- Utting, S.D., Spencer, B.E. (1991). The hatchery culture of bivalve mollusk larvae and juveniles. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. *Directorate of Fisheries Research*. 32p.
- Velasco, L. A. (2008). Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia.
- Velasco, L. A., Barros, J. (2008). Cultivo de bivalvos en Colombia: ¿ utopía o apuesta de futuro. *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura*, 115.
- Velasco, L. A., Barros, J., Acosta, E. (2007). Spawning induction and early development of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquaculture*, 266(1-4), 153-165.
- Velasco, L. A., & Barros, J. (2019). Survival and growth of the Caribbean scallops, *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*, in suspended systems at different culture depths and net replacement frequencies. *Aquaculture Environment Interactions*, 11, 537-549.
- von Cosel, R. 1984. Moluscos marinos de la Isla Gorgona (costa del Pacífico colombiano). *An. Inst. Inv. Mar. Punta de Batín* 14: 175-257.
- Wassnig, M., & Southgate, P. C. (2012). Effects of settlement cues on behaviour and substrate attachment of hatchery reared winged pearl oyster (*Pteria penguin*) larvae. *Aquaculture*, 344, 216-222.
- Yu, X., He, W., Li, H., Yan, Y., Lin, C. (2010). Larval settlement and metamorphosis of the pearl oyster *Pinctada fucata* in response to biofilms. *Aquaculture*, 306(1-4), 334-337.

Yamanaka, T., Mizota, C., Maki, Y., Matsumasa, M. (2013). Assimilation of terrigenous organic matter via bacterial biomass as a food source for a brackish clam, *Corbicula japonica* (Mollusca: Bivalva). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 126, 87-92.

Young, T., Alfaro, A. C., Robertson, J. (2011). Effect of neuroactive compounds on the settlement of mussel (*Perna canaliculus*) larvae. *Aquaculture*, 319(1-2), 277-283.