

**INDUCCIÓN AL DESOVE DE LA ALMEJA ESTUARINA AMENAZADA,  
*Polymesoda arctata* (DESHAYES, 1854).**

**GUSTAVO ANTONIO ESPITIA RODRIGUEZ**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ACUICOLAS  
PROGRAMA DE ACUICULTURA  
MONTERIA, CÓRDOBA  
2021**

**INDUCCIÓN AL DESOVE DE LA ALMEJA ESTUARINA AMENAZADA,  
*Polymesoda arctata* (DESHAYES, 1854).**

**GUSTAVO ANTONIO ESPITIA RODRIGUEZ**

**Trabajo de grado modalidad pasantía  
presentado como requisito para optar  
el título de Profesional en Acuicultura.**

**Directores**

**LUZ ADRIANA VELASCO CIFUENTES, Phd. En Ciencias con mención  
Zoología**

**LUZ MARINA ARIAS REYES, Ing. Pesquero, Esp. En Acuicultura**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ACUICOLAS  
PROGRAMA DE ACUICULTURA  
MONTERÍA, CÓRDOBA**

**2021**

El jurado del trabajo no será responsable de las ideas emitidas por los autores (Artículo 46, acuerdo 006 del 29 de mayo de 1997 del Consejo superior).

NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

## DEDICATORIA

A Dios, que me ha permitido alcanzar este logro. Este triunfo es para mi familia, en especial a mis padres Manuela Rodriguez y Mariano Espitia, por brindarme su apoyo incondicional durante toda la carrera y a lo largo de mi vida; a mis hermanos Maria Isabel Espitia y Carlos Andrés Espitia, que siempre me animaron a seguir adelante, a las personas del grupo de investigación MOLMARCOL por ser mi luz; a ellos les dedico este paso.

Al resto de mi familia, que sin dudarlo siempre me brindaron lo mejor da cada uno, para poder alcanzar este triunfo.

A cada persona que se cruzó en mí camino, y me ayudaron con una voz de aliento y consejos que, sin duda, hoy se ven reflejados en felicidad al alcanzar este peldaño.

A mis profesores, que siempre brindaron lo mejor de sí, para que fuera profesional, comprometidos con nuestro entorno; a mis compañeros de trabajo y cada una de las personas del laboratorio la Universidad del Magdalena, sede Taganga, Santa Marta y la familia Rodriguez Hernandez de Tanganga – Santa Marta, por no abandonar este sueño y estar siempre para mí, gracias. Al resto de compañeros y colegas, que de algún modo siempre me colaboraron en todo.

GUSTAVO ESPITIA RODRIGUEZ

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por haberme permitido llegar hasta este momento, donde es mostrada su voluntad, en permitirme conseguir mi título como profesional.

A los Directores de trabajo de grado, Luz Marina Arias Reyes y Luz Adriana Velasco Cifuentes, por sus valiosas y oportunas orientaciones, su confianza, gran amabilidad, motivación, y apoyo durante toda la investigación.

A la Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Programa de Acuicultura y su cuerpo de docentes, quienes nos ayudaron con su orientación en el transcurso de la carrera y permitirnos formar como profesionales. A los jurados del estudio por la dedicación y aporte oportuno en este estudio de investigación.

A la Universidad del Magdalena, Laboratorio de moluscos y microalgas, el cuerpo de personas, trabajadores, vigilantes, profesores del laboratorio de la Universidad del Magdalena sede Taganga quienes me ayudaron con su conocimiento.

A la familia Rodriguez en Taganga – Santa Marta los cuales me ayudaron mucho con su apoyo, para poder realizar este trabajo.

A las personas Liliana Sinning Ramos, Cindy Guettes, Andrea Bernal, Laura Lobo, Yuli Caro, Juditn Barrios, Luz Adriana Velasco, Ivan Villamizar, Zamir Benitez y los profesores del laboratorio de Taganga por su gran apoyo en este trabajo.

## CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	13
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo general.....	14
2.2 Objetivos específicos .....	14
3. JUSTIFICACIÓN .....	15
4. MARCO TEÓRICO.....	15
5. MATERIALES Y METODOS.....	17
6. RESULTADOS.....	20
6.1 Análisis de la madurez gonadal y tamaño de las almejas por sexo.....	20
6.2 Ensayos de inducción al desove .....	21
7. DISCUSIÓN .....	23
8. CONCLUSIONES.....	27
9. RECOMENDACIONES .....	28
10. BIBLIOGRAFÍA .....	28
ANEXOS.....	35

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estadío de madurez de hembras (A) y machos (B) de <i>P. arctata</i> colectados en la CGSM entre diciembre de 2020 y mayo de 2021. ....	20
Figura 2. Porcentaje de hembras y machos de <i>P. arctata</i> desovados luego de suministrar estimulación física o química. ....	21
Figura 3. Tiempo de inicio de la respuesta del desove de los machos y hembras de <i>P. arctata</i> inducidos al desove con serotonina y KCl. ....	22
Figura 4. Porcentaje acumulado de mortalidad, (A) Perforados e inyectados con serotonina 2 mM, (B) inyectados en el pie con serotonina 2 mM, (C) inyectados en el pie con agua de mar, (D) inyectados en el pie con serotonina 20 $\mu$ m y (E) expuestos a estímulos exógenos. ....	23
Figura 5. Lugar de recolección de reproductores ciénaga grande de santa marta sector pajarales.....	35
Figura 6. Nevera plástica de transporte de almejas y zona de aclimatación de almejas (canaletas blancas de 200 L). ....	35
Figura 7. Abrasión de almejas.....	36
Figura 8. Suministro de estímulos químicos. ....	36
Figura 9. Herramienta de velocidad variable (Mototol) para la perforación de concha. ....	37

## RESUMEN

Con el fin de promover conocimiento en conservación y aprovechamiento sostenible de moluscos amenazados a nivel mundial, está la obtención de juveniles en laboratorio para repoblación y producción por acuicultura. *P. arctata* tiene un alto potencial para la acuicultura debido a que se alimentan de la productividad primaria, tiene una madurez temprana, fertilización externa, hermafroditismo y posibilidad de encontrar organismos maduros todo el año, a pesar de estas características, en el año 2002 esta especie fue incluida en el listado de especies amenazadas en Colombia dentro de la categoría vulnerable (Ardila et al., 2002).

Esta investigación busca la ampliación del conocimiento de *P. arctata* en cuanto a su biología reproductiva y reproducción inducida, Evaluando la eficiencia de diferentes estímulos para inducir el desove de la almeja estuarina *Polymesoda arctata* en condiciones de laboratorio, sexualmente maduros. Para ello entre diciembre de 2020 y marzo de 2021 se hicieron colectas mensuales de 100 ejemplares adultos (mayores a 35 mm de longitud) en la Ciénaga Grande de Santa Marta (10°43'-11°00' N y 74°16'-74°38' W) y se transportaban al laboratorio de Moluscos y Microalgas de la Universidad del Magdalena, Taganga, Santa Marta (11° 16' N, 74° 11' W), donde se aclimataron a las condiciones de laboratorio. se encontró una representación de hembras completamente maduras o en estadio IV de entre 7 y 57%, exceptuando en el mes de febrero, cuando estas no se hallaron (Figura 1). Contrariamente, solo se hallaron machos completamente maduros (entre 33 y 80%) para los meses de marzo y mayo. Pese a esto, se obtuvieron desoves de ejemplares en todos los meses de estudio, exceptuando las hembras para el mes de febrero. Los machos presentaron una longitud de concha promedio de  $35,5 \pm 0,8$  mm, mientras que para las hembras esta fue de  $39,0 \pm 0,8$  mm, presentándose mayores tallas en las hembras que en los machos ( $g_l = 1$ ,  $F = 8,09$ ,  $p = 0,0057$ ).

Se comprobó la efectividad de todos los métodos aplicados, encontrándose desove en *P. arctata*, demostrándose que la serotonina a una concentración de 20  $\mu$ M y el KCL (solo desoves en machos), fueron los métodos con resultados positivos. En cuanto a desoves, El porcentaje promedio de almejas desovadas osciló entre 0 y 16%. Con la inyección de serotonina colocada en el pie a una baja concentración 20  $\mu$ M, se obtuvo el desove de los dos sexos. Contrariamente, con la inyección de KCl solo desovaron los machos, mientras que no se obtuvieron desoves con los

estímulos suministrados al agua (flujo de agua irradiada con UV, cambios de temperatura y salinidad). Mayores porcentajes de animales desovados fueron hallados en los tratados con serotonina a baja concentración en comparación con los demás tratamientos (gl =9, F = 5,71, p < 0,0001). Entre los métodos, el tiempo del inicio de la respuesta de desove luego de suministrar el estímulo de serotonina estuvo entre 22 y 37 minutos, siendo más rápida la respuesta en los machos que en las hembras en los organismos estimulados con serotonina (gl =1, F = 18,43, p = 0,0002). La mortalidad post estimulación de los ejemplares inducidos al desove osciló entre 4 y 51%, siendo mayor cuando se empleó una concentración de serotonina alta, ya sea perforando la concha o sin perforarla, en comparación con la obtenida para los restantes tratamientos (gl = 4, F = 3,83, p = 0,0388). el mejor porcentaje de desove, tiempo de respuesta y sobrevivencia se obtuvo con la serotonina 20  $\mu$ M.

**PALABRAS CLAVE:** bivalvos, moluscos, acuicultura, reproducción, fertilización, gametos, serotonina.

## ABSTRACT

In order to promote knowledge in conservation and sustainable use of globally threatened mollusks, juveniles are being obtained in the laboratory for restocking and aquaculture production. *P. arctata* has a high potential for aquaculture because they feed on primary productivity, have early maturity, external fertilization, hermaphroditism and the possibility of finding mature organisms all year round. Despite these characteristics, in 2002 this species was included in the list of endangered species in Colombia in the vulnerable category (Ardila et al., 2002).

This research seeks to expand the knowledge of *P. arctata* in terms of its reproductive biology and induced reproduction, evaluating the efficiency of different stimuli to induce spawning of the estuarine clam *Polymesoda arctata* in laboratory conditions, sexually mature. For this purpose, between December 2020 and March 2021, monthly collections of 100 adult specimens (greater than 35 mm in length) were made in the Ciénaga Grande de Santa Marta (10°43'-11°00' N and 74°16'-74°38' W) and transported to the laboratory of Molluscs and Microalgae of the Universidad del Magdalena, Taganga, Santa Marta (11°16' N, 74°11' W), where they were acclimatized to laboratory conditions. A representation of fully mature or stage IV females was found between 7 and 57%, except in the month of February, when no females were found (Figure 1). In contrast, only fully mature males (between 33 and 80%) were found for the months of March and May. In spite of this, spawning specimens were obtained in all months of the study, except for females in February. Males had an average shell length of  $35.5 \pm 0.8$  mm, while females had an average shell length of  $39.0 \pm 0.8$  mm, and females were larger than males ( $g_l = 1$ ,  $F = 8.09$ ,  $p = 0.0057$ ).

The effectiveness of all the methods applied was tested, finding spawning in *P. arctata*, demonstrating that serotonin at a concentration of 20  $\mu$ M and KCL (only spawning in males), were the methods with positive results. As for spawning, the average percentage of clams spawned ranged from 0 to 16%. With the injection of serotonin placed in the foot at a low concentration of 20  $\mu$ M, spawning was obtained in both sexes. In contrast, with KCl injection, only males spawned, while no spawning was obtained with the stimuli supplied to the water (UV-irradiated water flow, temperature and salinity changes). Higher percentages of spawned animals were found in those treated with serotonin at low concentration compared to the other

treatments ( $gl = 9$ ,  $F = 5.71$ ,  $p < 0.0001$ ). Among the methods, the time of onset of the spawning response after serotonin stimulation was between 22 and 37 minutes, with males responding faster than females in serotonin-stimulated organisms ( $gl = 1$ ,  $F = 18.43$ ,  $p = 0.0002$ ). Post-stimulation mortality of spawning-induced specimens ranged from 4 to 51%, being higher when a high serotonin concentration was used, either by piercing the shell or without piercing, compared to that obtained for the remaining treatments ( $gl = 4$ ,  $F = 3.83$ ,  $p = 0.0388$ ). The best spawning percentage, response time and survival was obtained with 20  $\mu$ M serotonin.

**KEY WORDS:** bivalves, mollusks, aquaculture, reproduction, fertilization, gametes, serotonin.

## 1. INTRODUCCIÓN

*Polymesoda arctata* (Deshayes, 1854), es una de las especies de moluscos comerciales más importantes en la costa del Caribe colombiano (INPA, 1996). Debido a los altos niveles de sobreexplotación y pérdida de hábitat, en el año 2002 esta especie fue incluida en el listado de especies amenazadas en Colombia dentro de la categoría vulnerable (Ardila et al., 2002). Para el año 2005 se reportaron capturas anuales solo en la Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM) de alrededor de 1000 ton, las cuales descendieron a aproximadamente a 400 ton en el 2008, y a alrededor de 200 ton entre los años 2013 y 2017, sin que se registraran capturas oficiales entre el 2018 y 2020 (INVEMAR, 2018; 2021). No obstante, para lo que lleva el año 2021, se ha registrado una comercialización de 480 kg en Santa Marta (SEPEC, 2021).

Entre las medidas adoptadas para promover la conservación y aprovechamiento sostenible de moluscos amenazados a nivel mundial, está la obtención de juveniles en laboratorio para repoblación y producción por acuicultura (Clarke et al., 2003, Preston et al., 2007, Purcell y Cheng 2010, Thomas et al., 2010). *P. arctata* tiene un alto potencial para la acuicultura debido a que se alimentan de la productividad primaria (Gómez, 2020), tiene una madurez temprana (el primer año de vida, entre los 15 y 30 mm de longitud; Severeyn et al., 1988; De La hoz, 2009), fertilización externa (De Severeyn et al., 1996), hermafroditismo y posibilidad de encontrar organismos maduros todo el año (Rueda y Urban, 1998). Así mismo, es un organismo tolerante a las amplias fluctuaciones de temperatura, salinidad, concentración de oxígeno y de sedimento que se dan en su hábitat estuarino (Von Cosel, 1986; Rueda y Urban, 1998; De La hoz, 2009; Benítez, 2021).

El primer paso para la producción de juveniles de bivalvos en laboratorio es la obtención de desoves controlados, para lo cual es necesario determinar los estímulos exógenos o endógenos que inducen más eficazmente a los organismos maduros a liberar los gametos (Velasco, 2008). En *P. artacta*, se ha logrado la obtención de oocitos en laboratorio a partir de adultos colectados en el medio natural estimulados usando cambios de salinidad en el agua, inyecciones del neurotransmisor, serotonina (De Severeyn et al., 1994) y aplicando “stripping” o

extracción de gametos a partir de organismos disectados (Revilla-Ramírez et al., 2016). Sin embargo, no se reportan datos de la eficiencia comparada de estos desoves y no se ha estandarizado un protocolo de desove de esta especie. Además, como estos organismos cierran su concha herméticamente, es necesario en la mayoría de los casos perforar la concha para aplicar la serotonina (Gibbons et al., 1984), siendo un estímulo costoso, estresante para el animal, de difícil aplicación y que además puede ser tan intenso que provoca la expulsión de gametos inmaduros (Velasco et al., 2007). Así mismo, el “stripping” resulta ser una técnica inapropiada para una especie que se considera amenazada, dado que obliga a sacrificar a los animales usados como reproductores y su uso contribuye a la disminución de su densidad poblacional. Por estas razones, evaluar la factibilidad de la utilización de otros estímulos inductores al desove menos invasivos y costosos resulta de gran utilidad.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Evaluar la eficiencia de diferentes estímulos para inducir el desove de la almeja estuarina *Polymesoda arctata* en condiciones de laboratorio.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la madurez gonadal, tamaño y sexo de los ejemplares de la almeja estuarina colectados para llevar a cabo los ensayos de desove.
- Comparar los porcentajes de organismos desovados y la mortalidad post-estimulación de la almeja estuarina expuesta a diferentes estímulos
- Estimar el tiempo de respuesta de desove de la almeja estuarina sometida a diferentes estímulos de desove, así como su fecundidad real.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación busca la ampliación del conocimiento de *P. arctata* en cuanto a su biología reproductiva y reproducción inducida, campos en el que actualmente existe un vacío de información. La información que se genere será la base para la producción de juveniles de esta almeja en laboratorio, de forma que sea viable su uso en repoblación y acuicultura. El conocimiento producido permitirá la creación de un plan de repoblación con juveniles producidos en laboratorio que garantice su conservación y uso sostenible a través del manejo responsable de sus poblaciones. Así mismo, de ser económicamente viable el cultivo de la almeja estuarina, puede convertirse un nuevo bionegocio en las zonas estuarinas del Caribe. Todas estas acciones redundarán en un aumento en la producción de este recurso de importancia ecológica y económica que brinde un soporte a la seguridad alimentaria de las poblaciones locales, al emprendimiento sostenible rural y a la conservación del recurso.

### 4. MARCO TEÓRICO

*P. arctata* (Deshayes, 1854) es un molusco bivalvo de la familia Cyrenidae (antes Corbiculidae; Bieler et al., 2010), que posee una concha crema con tintes purpúreos o grisáceos, redondeada anteriormente y angulosa posteriormente, con una superficie externa con cordones concéntricos bien definidos (Poutiers y Cipriani, 1992). Esta especie se distribuye entre la parte sur del Caribe y costa norte de Suramérica, entre Costa Rica y el Golfo de Venezuela, mientras que en Colombia se ha reportado en las ecorregiones Darién, Morrosquillo, Magdalena, Palomino y Guajira (Díaz y Puyana, 1994).

La almeja estuarina es endobentónica, se entierra en fondos blandos de zonas pantanosas salobres (entre 3 y 20‰) de estuarios y lagunas costeras (Poutiers y Cipriani 1992). Sus densidades en la CGSM han oscilado entre 0 y 153 ind. m<sup>-2</sup> (De la Hoz, 2009). Esta especie alcanza una longitud de hasta 40 mm en un tiempo estimado entre 7 y 8 años (Severeyn 1988; Rueda y Urban, 1998). Su mejor condición fisiológica en laboratorio ha sido obtenida alimentándola con la

microalga planctónica flagelada *I. galbana* a una concentración constante en el tanque de  $9 \text{ mg L}^{-1}$  ó  $230.000 \text{ células mL}^{-1}$  (Gómez, 2020) y manteniéndola a temperaturas entre 27 y 29°C, salinidad de 15 ‰, concentraciones de amoníaco menores o iguales a  $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  y de oxígeno mayores o iguales a 90% de saturación (Benitez, 2021). Carece de dimorfismo sexual externo, en su mayoría son machos cuando son menores a 30 mm de longitud y hermafroditas por encima de esta talla, presentan varios eventos de desove durante el año relacionados con la disminución de la salinidad y su fecundación es externa (Rueda y Urban, 1998). Los mayores picos de desove coinciden con el inicio de las lluvias, entre abril y junio, cuando baja bruscamente la salinidad (de 17 a 2‰), y con el final de la época lluviosa, entre noviembre y enero (Severeyn et al., 1988). Su desove ha sido logrado en laboratorio previamente, induciendo ejemplares de tamaños entre 20 mm y 25 mm durante los meses de mayo y julio, inyectando 0,4 mL de serotonina a una concentración de 2 mM, cambios rápidos de salinidad entre 0 y 35 ‰ (De Severeyn et al., 1994) y por “stripping” (Revilla-Ramírez et al., 2016). Estos autores encontraron porcentajes de organismos desovados entre 44 y 55%, siendo mayores con la estimulación química y en las hembras. También pudieron determinar una fecundidad de 50 oocitos por hembra y que su desarrollo es de tipo indirecto, formándose la larva trocófora a las 30 horas post fertilización y la larva D luego de 48 horas bajo condiciones de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , salinidad a  $5 \pm 1 \text{ } \text{‰}$ .

El desove de almejas maduras se ha llevado a cabo a nivel mundial mediante el uso de estímulos como el suministro de cambios de temperatura del agua (Stephenson, 1979; Castagna y Craeuter, 1981; Utting et al., 1997; Komaru et al., 1998; Kent et al., 1999; Ishibasi et al., 2002; 2003; 2006; Hur y Hur, 2005; Narita et al., 2006; Ojea et al., 2008; Matías et al., 2009; Rengel et al., 2009; Jagadis, 2011; Nava y De Severeyn, 2010; Aranda et al., 2014; Xu et al., 2016), salinidad (De Severeyn et al., 1994; Maru et al., 2005; Nava y De Severeyn, 2010), concentración de microalgas (Chung et al., 2001; Eversole, 2001; Aranda et al., 2014), flujo de agua irradiada con UV o sin irradiar (Kent et al., 1999; Zhang y Yan, 2006; Nava y De Severeyn, 2010), adición al agua de hidróxido de amonio (Kim et al., 2002) y de gametos de congéneres (Castagna y Craeuter, 1981; Baba et al., 1999; Kent et al., 1999; Reverol et al., 2004; Matias et al., 2009; Singh y Azam,

2013; Aranda et al., 2014); manipulación física fuerte (Nicolini y Penry, 2000); inyección de serotonina (Castagna y Craeuter, 1981; Gibbons y Castagna, 1984; 1985; Hirai, 1988; Braley, 1985; De Severeyn et al., 1994; Nell et al., 1995; Fong et al., 1996; Rengel et al., 2009, Lora-Vilchis et al., 2003, González et al., 2014) y de KCl (Nava y De Severeyn, 2010); y “stripping” (Breese y Robinson, 1981; Alvarado-Alvarez et al., 1996; Eversole, 2001; Revilla-Ramírez et al., 2016). De acuerdo con estos estudios, el éxito de la inducción al desove depende de la especie, pero en general, mayores valores de velocidad de respuesta de desove, porcentaje de almejas desovadas y de oocitos inmaduros han sido obtenidos con la inyección de químicos en comparación con los cambios fisicoquímicos del medio.

## **5. MATERIALES Y METODOS**

Entre diciembre de 2020 y marzo de 2021 se hicieron colectas mensuales de 100 ejemplares adultos (mayores a 35 mm de longitud) en la Ciénaga Grande de Santa Marta (10°43'-11°00' N y 74°16'-74°38' W). Esta zona estuarina es caracterizada por una escasa profundidad (de hasta 1,8 m), alta influencia del Río Magdalena y del mar Caribe en diferentes épocas del año y una muy alta productividad primaria; los valores promedio de oxígeno disuelto oscilan entre 0,65 y 11,5 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, el pH entre 7,04 y 9,33, los sólidos suspendidos totales entre 0,5 y 524 mg L<sup>-1</sup>, la concentración de amonio entre 1 y 70 µg L<sup>-1</sup>, la salinidad entre 0,5 y 36,0‰ y la temperatura entre 25 y 32°C (INVEMAR, 2018). Las almejas colectadas se transportaron al laboratorio de Moluscos y Microalgas de la Universidad del Magdalena, Taganga, Santa Marta (11° 16' N, 74° 11' W), dentro de neveras plásticas entre esponjas humedecidas con agua de la zona de colecta a una temperatura de 20°C de acuerdo a Velasco (2008). A una muestra de 20 ejemplares tomados al azar se les hizo una evaluación de su madurez gonadal siguiendo los criterios cualitativos de Eversole (2001), a partir de su sacrificio y observación de una biopsia gonadal bajo el microscopio de luz. El resto de los animales se colocaron en canastas plásticas suspendidas en tanques rectangulares de 200 L con agua filtrada a 1 µm, provista de aeración y mantenida a 27 ± 1 °C y salinidad de 15 ± 1 ‰. La densidad fue aproximadamente del 30% de cobertura del fondo y sin alimento. Luego de un

día de aclimatación de las almejas al laboratorio, su concha fue limpiada por abrasión para dar inicio a los experimentos de desove.

Se evaluaron 8 estímulos inductores al desove: 1) flujo de agua de mar irradiada con luz UV, 2) cambios de temperatura (20°C por 30 min - 35°C en 30 min y viceversa), 3) cambios en la salinidad del agua (0 a 25‰ y viceversa), 4) alta concentración de alimento, 5) inyección intrapedal e intragonadal de 0,4 mL de serotonina a 0,2 mM (Gibbons y Castagna, 1984), 6) inyección intrapedal de 0,4 mL de serotonina a 20 µM (Fong et al., 1996), 7) inyección intrapedal de 0,5 mL de KCl 0,1 N (Nava y García, 2010) y 8) adición de gametos al agua. Cada estímulo se suministró en 4 ocasiones diferentes a grupos experimentales de 20 animales teniendo un grupo control del mismo tamaño, los cuales fueron mantenidos en recipientes plásticos de fondo oscuro (20 L) provistos de agua fresca con la calidad antes descrita. Para la aplicación de los estímulos y controles inyectados se perforó un agujero en la concha (diámetro de 0,3 mm) mediante un mototool a un lado de la concha a la altura de la gónada (Svärdh et al., 2003, Castagna y Craeuter 1981) y también se inyectó en el pié esperando a que los animales abrieran su concha y colocando el dedo para impedir su cierre. Los estímulos se aplicaron hasta que los animales desovaron o hasta un máximo de 4 horas más.

Una vez los reproductores liberaron gametos estos se individualizaron en recipientes de 2 L, con agua fresca. Se identificó el tipo de gameto producido por cada animal observando una muestra de agua bajo el microscopio. Los oocitos y espermatozoides obtenidos en cada estímulo fueron fertilizados (antes de 1 hora de diferencia entre desoves) añadiendo 5 mL de agua con espermatozoides al agua con oocitos de cada hembra y mezclando suavemente con una paleta de acrílico. Transcurridos 15 min, se verificó bajo el microscopio la fertilización obtenida (número de oocitos dividiéndose en relación al total de oocitos en una muestra), y se añadieron más espermatozoides hasta que se obtener valores cercanos al 100%. Los oocitos fertilizados provenientes de cada tratamiento se mezclaron y lavaron con agua microfiltrada con ayuda de un tamíz de 40 µm. Estos se distribuyeron en tanques cilíndricos de 500 L a una densidad de 5 embriones mL<sup>-1</sup> y empleando agua de la misma calidad antes descrita. Luego de 24 horas de

vida de las larvas, el agua de los tanques se drenó a través de un desagüe lateral inferior y las larvas recuperadas sobre tamices inmersos en recipientes con agua que actuaron como un colchón de agua para evitar el daño de las mismas.

Los adultos estimulados fueron retornados a las mismas condiciones previas a su estimulación, pero suplementando por goteo la microalga *Isochrysis galbana*, manteniendo una concentración constante de 250.000.000 células L<sup>-1</sup> en los tanques. Luego de dos semanas se evaluó su mortalidad como el porcentaje de animales muertos en relación a los vivos inicialmente.

La eficacia de los estímulos para inducir al desove se evaluó de acuerdo con el tiempo de la respuesta del desove desde que se empieza la estimulación, la fecundidad o número de oocitos producidos por cada hembra, así como con los porcentajes de organismos desovados (número de animales desovados / número de animales inducidos al desove x100). Para ello, se tomaron muestras triplicadas de agua (1 mL) de los gametos producidos por cada hembra, las cuales se colocaron en una cámara Sedgewick Rafter y se contaron bajo un microscopio.

Se llevaron a cabo análisis de varianza a una vía seguidos de un test de Tukey para comparar los tamaños y tiempos de desove de los machos y hembras desovados, así como los porcentajes de animales desovados y muertos entre los tratamientos aplicados, previa comprobación de los supuestos de homocedastidad y normalidad de los datos. Para todas las decisiones de significancia se empleó un alfa de 0.05 y se empleó el programa Statgraphics Centurion XVII X64.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Análisis de la madurez gonadal y tamaño de las almejas por sexo

Entre diciembre de 2020 y febrero de 2021 se encontró una representación de hembras completamente maduras o en estadio IV de entre 7 y 57%, exceptuando en el mes de febrero, cuando estas no se hallaron (Figura 1). Contrariamente, solo se hallaron machos completamente maduros (entre 33 y 80%) para los meses de marzo y mayo (Figura 1). Pese a esto, se obtuvieron desoves de ejemplares en todos los meses de estudio, exceptuando las hembras para el mes de febrero. Los machos presentaron una longitud de concha promedio de  $35,5 \pm 0,8$  mm, mientras que para las hembras esta fue de  $39,0 \pm 0,8$  mm, presentándose mayores tallas en las hembras que en los machos ( $gl = 1$ ,  $F = 8,09$ ,  $p = 0,0057$ ).

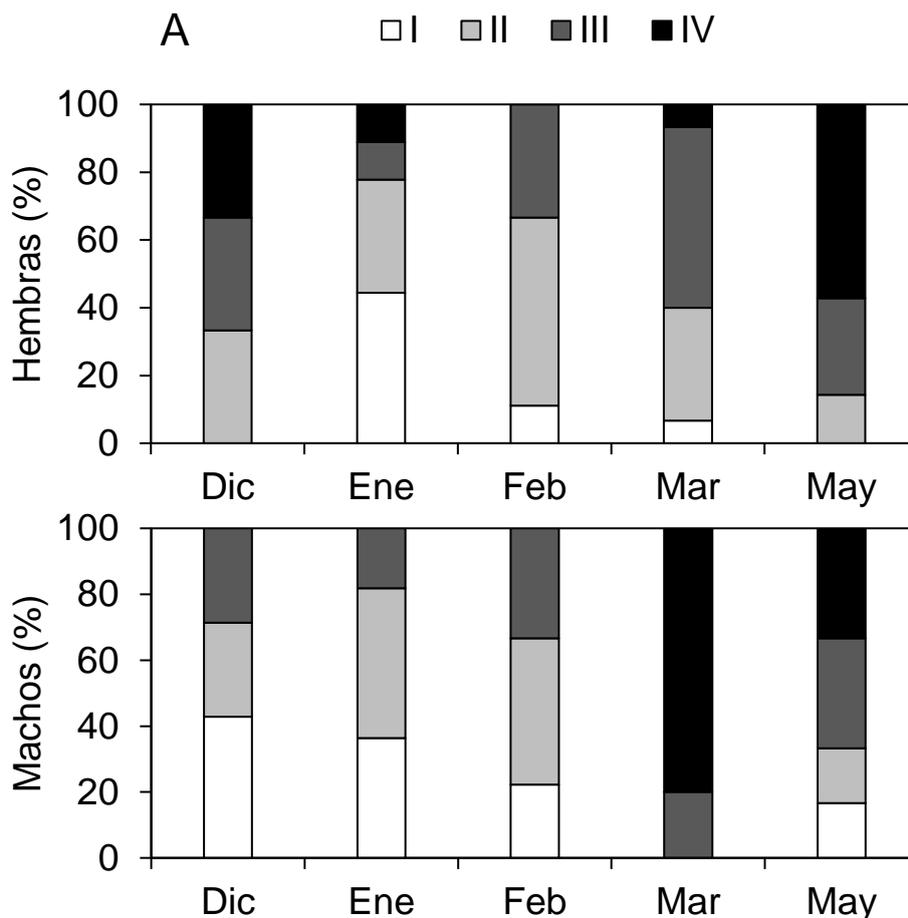


Figura 1. Estadio de madurez de hembras (A) y machos (B) de *P. arctata* colectados en la CGSM entre diciembre de 2020 y mayo de 2021.

## 6.2 Ensayos de inducción al desove

El porcentaje promedio de almejas desovadas osciló entre 0 y 16% (Figura 1). Con la inyección de serotonina colocada en el pie a una baja concentración 20  $\mu\text{M}$ , se obtuvo el desove de los dos sexos. Contrariamente, con la inyección de KCl solo desovaron los machos, mientras que no se obtuvieron desoves con los estímulos suministrados al agua (flujo de agua irradiada con UV, cambios de temperatura y salinidad). Mayores porcentajes de animales desovados fueron hallados en los tratados con serotonina a baja concentración en comparación con los demás tratamientos (gl =9, F = 5,71, p < 0,0001).

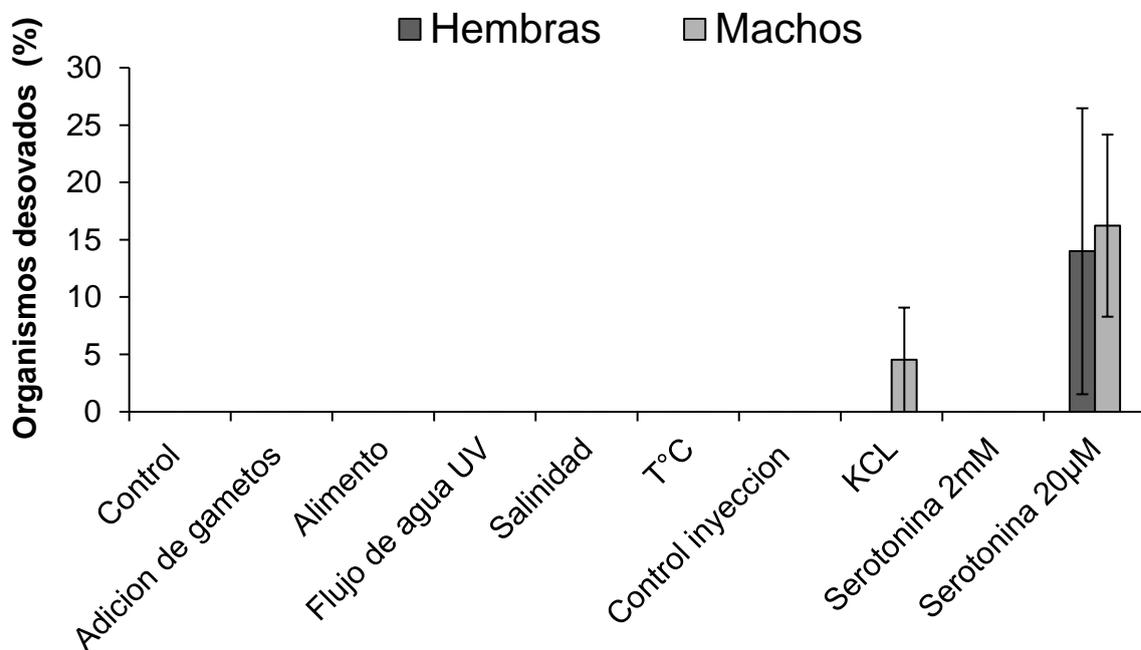


Figura 2. Porcentaje de hembras y machos de *P. arctata* desovados luego de suministrar estimulación física o química.

El tiempo del inicio de la respuesta de desove luego de suministrar el estímulo de serotonina estuvo entre 22 y 37 minutos (Figura 3), siendo más rápida la respuesta en los machos que en las hembras en los organismos estimulados con serotonina ( $gl = 1$ ,  $F = 18,43$ ,  $p = 0,0002$ ).

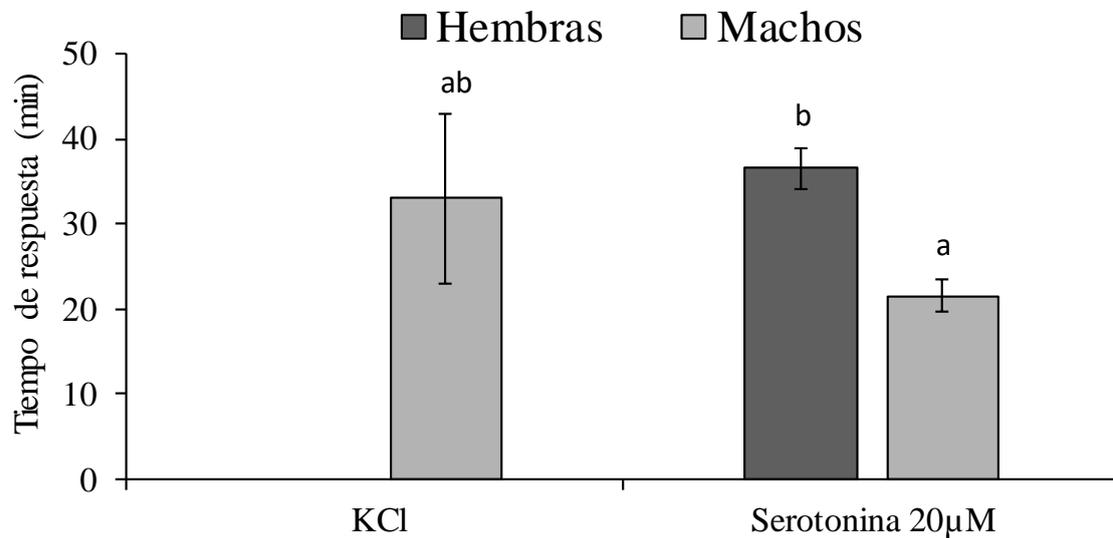


Figura 3. Tiempo de inicio de la respuesta del desove de los machos y hembras de *P. arctacta* inducidos al desove con serotonina y KCl.

Cada hembra con un tamaño promedio de  $41 \pm 1$  mm, en promedio desovó  $3,2 \pm 0,3 \times 10^6$  ovocitos.

La mortalidad promedio post-estimulación de los ejemplares inducidos al desove osciló entre 4 y 51% (Figura 3), siendo mayor cuando se empleó una concentración de serotonina alta, ya sea perforando la concha o sin perforarla, en comparación con la obtenida para los restantes tratamientos ( $gl = 4$ ,  $F = 3,83$ ,  $p = 0,0388$ ).

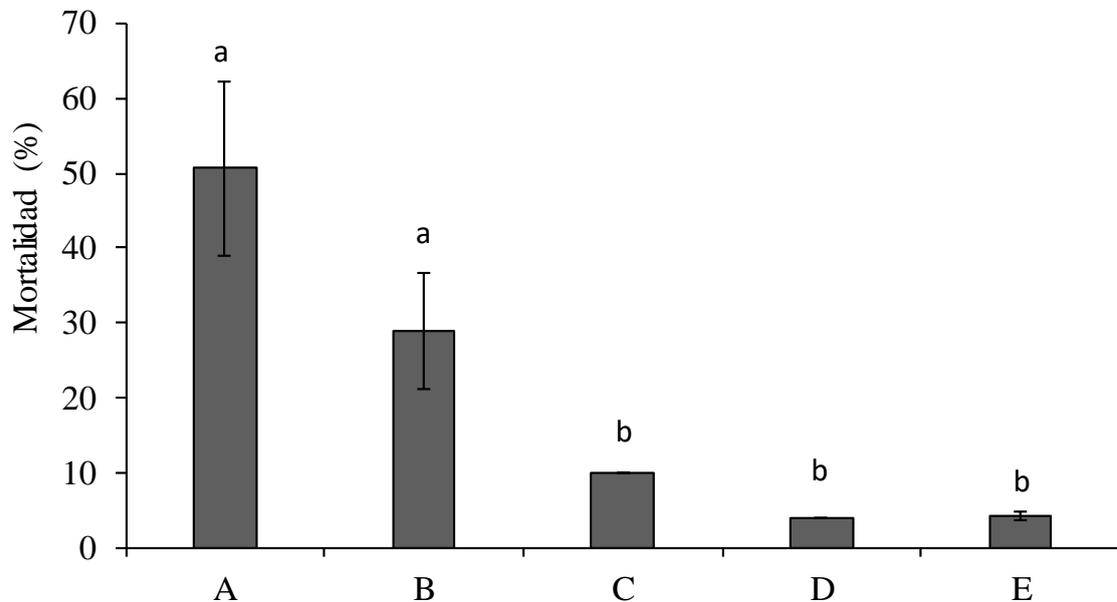


Figura 4. Porcentaje acumulado de mortalidad, (A) Perforados e inyectados con serotonina 2 mM, (B) inyectados en el pie con serotonina 2 mM, (C) inyectados en el pie con agua de mar, (D) inyectados en el pie con serotonina 20  $\mu$ m y (E) expuestos a estímulos exógenos.

## 7. DISCUSIÓN

Los porcentajes de ejemplares maduros de *P. arctata* colectados en Pajarales (CGSM) entre los meses de diciembre de 2020 y mayo de 2021 (0 - 45%), así como los mayores valores observados en el mes de mayo, relacionándose a lo que se reportó previamente para la Isla de Salamanca (CGSM) para la misma época del año (25 - 45%; Rueda y Urban, 1998). Contrariamente en el lago de Maracaibo, Venezuela, se han registrado mayores porcentajes de organismos maduros (41 - 100%) a todo lo largo del año (Severeyn, 1988). Estos resultados sugieren que las variaciones espacio-temporales de la CGSM respecto a los principales factores que regulan la gametogénesis de las almejas, tales como la temperatura, el alimento disponible y la salinidad (Eversole, 2001, Clemente e Ingole, 2009), no han sido tan

grandes como para alterar en mayor grado el ciclo reproductivo de esta especie en época de sequía. Contrariamente, parece claro que si hay variaciones endógenas o exógenas entre poblaciones de localidades geográficamente separadas, que redundan en ciclos reproductivos y porcentajes de ejemplares maduros diferentes, como se ha reportado para otras almejas de zonas subtropicales (Eversole, 2001).

Los mayores tamaños promedio de las hembras de *P. arctata* y de aquellas completamente maduras en comparación con los de los machos, sugieren que hay un dimorfismo sexual externo por tamaño en esta especie debido a una mortalidad diferencial y/o que en esta zona esta especie tiene una estrategia de hermafroditismo protándrico, en la cual primero desarrolla gametos masculinos y posteriormente los femeninos (Heller, 1993). Una estrategia similar ha sido descrita para otras almejas como *Panopea zelandica* (Gribben et al., 2003), *P. generosa* (Calderon A. et al., 2014) y *Tridacna máxima* (Menoud et al., 2016).

La ausencia de hermafroditas en los ejemplares provenientes del sector de Pajarales (CGSM), contradice los altos valores de los mismos (60%) para ejemplares con longitudes promedio de 36 mm hallados en Poza Verde, CGSM (Rueda y Urban, 1998), pero coincide con lo hallado para esta especie en el Lago de Maracaibo en Venezuela (Severeyn, 1988). Se ha postulado que el hermafroditismo es una estrategia sexual que puede surgir en los moluscos como mecanismo temporal para garantizar la conservación de la especie frente a situaciones de estrés por condiciones ambientales adversas, pequeño tamaño poblacional, aislamiento o dificultad para encontrar ejemplares del otro sexo (Heller, 1993). Por ejemplo, en poblaciones de *Anodonta woodiana* los machos están maduros durante todo el año, mientras que las hembras solo en una época, por lo que algunos machos desarrollan gametos femeninos (Dudgeon y Morton, 2009). El sector de Poza Verde en la Isla de Salamanca tiene una baja salinidad durante todo el año, a diferencia de los sectores de Pajarales y del lago de Maracaibo, donde hay mayores fluctuaciones de la salinidad (0 – 30‰; Severeyn et al., 1988), luego es posible que el hermafroditismo ocurra en esta especie en asocio a las condiciones de baja salinidad a todo lo largo del año, como fue sugerido por Rueda y Urban (1988).

La obtención de desoves de almejas en la mayoría de los meses que abarcó este

estudio, muestra una asociación positiva con la presencia de hembras con gónadas completamente maduras (estadio IV) y machos con gónadas madurando o completamente maduras (estadios III y IV). Luego las hembras requieren alcanzar una completa madurez gonadal para que ocurra su desove, pero en los machos este ocurre sin necesidad de que su gónada esté completamente madura, luego es la madurez de las hembras la que determina la época de mayor desove. Resultados similares han sido reportados en otras almejas como *Anodonta woodiana* (Dudgeon y Morton, 2009).

La respuesta positiva de desove de *P. arctata* estimulada con serotonina a 20  $\mu$ M coincide con lo hallado (Fong et al., 1996) previamente suministrado mayores concentraciones de este neurotransmisor (2 mM) en esta especie (Severeyn et al., 1988, De Severeyn et al., 1994) y en otras almejas como *Mactra chinensis* (Fong et al., 1996), *Meretrix lusoria* (Numaguchi, 1997), *Mercenaria mercenaria*, *Spisula solidissima* (Gibbons y Castagna, 1985; Hirai, 1988), *Rangia cuneata* (Nava y De Severeyn, 2010), *Tridacna gigas*, *T. derasa*, *T. maxima*, *T. crocea*, *T. squamosa* e *Hippopus hippopus* (Braley, 1985). La serotonina es una neurosecreción que activa la maduración final de los oocitos en los bivalvos (Wang, 2000). Los resultados obtenidos sugieren que *P. arctata* es una especie sensible a este químico, produciendo el efecto de desove a concentraciones menores a las usadas regularmente en almejas.

El menor tiempo de respuesta de desove obtenido en los machos en comparación con las hembras estimulados con serotonina es similar a lo reportado en otras almejas como *T. gigas*, *T. derasa*, *T. maxima*, *T. crocea*, *T. squamosa*, *Hippopus hippopus* (Braley, 1985), *Mercenaria mercenaria* (Eversole, 2001), *Spisula solidissima* (Gibbons y Castagna, 1984), *Ruditapes largillietii* (Kent et al., 1999), *Meretrix lusoria* (Numaguchi, 1997). Estos resultados sugieren que la activación de la expulsión de los espermatozoides es más simple que la de los oocitos, posiblemente debido a que en estos últimos debe ocurrir su maduración final al romperse la vesícula germinal y reiniciarse la meiosis II antes de ser liberados (Román et al., 2001).

La ausencia de desoves de *P. arctata* expuesta a estímulos exógenos, es similar a

lo hallado previamente en esta especie (Severeyn, 1988; De Severeyn et al., 1994) y en otras almejas como *Chione stutchburyi* (Stephenson, 1979) y *Spisula sachalinensis* (Lee et al., 1996). Los estímulos exógenos hacen que las células receptoras activen la producción de neurosecreciones (serotonina, dopamina y/o noradrenalina) en los ganglios nerviosos de los bivalvos, las cuales desencadenan su maduración; así como la contracción de la gónada, que permite la salida de los gametos (Román et al., 2001). Considerando las amplias variaciones diarias en las condiciones ambientales del hábitat de la almeja estuarina, es posible que ésta sea insensible a estas variaciones, siendo más importantes los inductores endógenos.

El porcentaje promedio de ejemplares de *P. arctata* desovados (15%) con serotonina, fué bajo en comparación con los valores obtenidos previamente en la misma especie (44%; Severeyn et al., 1988; De Severeyn et al., 1994), así como en otras almejas como *T. gigas*, *T. derasa*, *T. maxima*, *T. crocea*, *T. squamosa* e *Hippopus hippopus* (47-100%; Braley, 1985), *Spisula solidissima* (44%; Gibbons y Castagna, 1984), pero es mayor al reportado en *Mercenaria mercenaria* (10%; Gibbons y Castagna, 1985). La baja respuesta de desove obtenida en este estudio puede obedecer a los reducidos porcentajes de almejas estuarinas hembras completamente maduras en la mayor parte de la época en la que se realizó el presente estudio.

La fecundidad promedio de *P. arctata* ( $3,2 \times 10^6$  oocitos hembra<sup>-1</sup>), es el primer reporte para esta especie, el cual resulta similar o inferior al reportado para otras almejas como *Polymesoda erosa* ( $0,3 - 4,4 \times 10^6$ ; Clemente e Ingole, 2009), *Siliqua patula* ( $4 - 13 \times 10^6$  oocitos hembra<sup>-1</sup>; Breese y Robinson 1981) y *Mercenaria mercenaria* ( $5 - 30 \times 10^6$ ; Castagna y Craeuter, 1981), pero es mayor al reportado para *Ruditapes philippinarum* ( $0,2 - 1,6 \times 10^6$ ; Chung, 2001) y *Ruditapes largillierti* ( $0,4 - 0,8 \times 10^6$  oocitos hembra<sup>-1</sup>; Kent et al., 1999). Luego esta especie tiene un buen potencial para producir descendencia, lo que la hace apta para ser usada en acuicultura.

La mayor mortalidad de los adultos de *P. arctata* luego de ser inyectados con una alta concentración de serotonina, ya sea perforando la concha o sin perforarla, en comparación con la obtenida posterior a los demás tratamientos, concuerda con lo reportado previamente para *Tridacna crocea* (Mies et al., 2011). Este resultado

sugiere que la serotonina resulta tóxica para la almeja estuarina cuando es suministrado a concentraciones tan altas como 2 mM.

## 8. CONCLUSIONES

Aunque se obtuvieron desoves de ejemplares de *P. arctata* colectados de la CGSM para la mayoría de los meses de época seca que abarcó el estudio (entre diciembre de 2020 y mayo de 2021), los valores fueron relativamente bajos (< 15%), en asociación con la reducida representación de hembras y machos en estado de madurez máximo.

Pese a no hallarse organismos hermafroditas simultáneos en las almejas usadas en este estudio, si se registraron mayores tamaños promedio para las hembras en comparación a los machos, sugiriendo la existencia de hermafroditismo sucesivo de tipo protándrico.

El desove de machos y hembras de la almeja estuarina en condiciones de laboratorio solo fue obtenido suministrando el estímulo de inyección de serotonina, la inyección de KCl produjo solo el desove de machos, mientras que los estímulos exógenos (cambios de temperatura, salinidad, alimento y flujo de agua) no desencadenaron respuesta de desove.

Los tiempos de respuesta de desove de la almeja estuarina fueron relativamente bajos (menores a 40 min), siendo menor en los machos en comparación a las hembras.

La inyección de serotonina a una alta concentración (2 mM) causó una considerable mortalidad de las almejas estuarinas dentro de las dos semanas siguientes a haber sido tratadas, contrario a lo registrado luego de aplicar este estímulo en una menor concentración (20 µM), así como el resto de inductores exógenos.

Se presenta por primera vez la estimación real de fecundidad promedio de la almeja estuarina, siendo esta de  $3,2 \times 10^6$  oocitos hembra<sup>-1</sup>.

## 9. RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar este tipo de ensayos de inducción al desove en otras épocas del año donde haya una mayor representación de machos y hembras completamente maduros, así como llevar a cabo experimentos de acondicionamiento reproductivo para lograr obtener un mayor porcentaje de animales completamente maduros, aptos para ser desovados.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado-Alvarez, R., Gould, M. C. y Stephano, J. L. 1996. Spawning, in vitro maturation, and changes in oocyte electrophysiology induced by serotonin in *Tivela stultorum*. *The Biological Bulletin* 190(3): 322-328.
- Alcazar, S., Solis, E., y Alcala, A. 1987. Serotonin-induced spawning and larval rearing of the China clam, *Hippopus porcellanus* Rosewater (Bivalvia: Tridacnidae). *Aquaculture*, 66(3-4): 359–368.
- Aranda-B, J. A., Da Costa, F., Nóvoa, S., Ojea, J. y Martínez-Patiño, D. 2014. Embryonic and larval development of *Ruditapes decussatus* (Bivalvia: Veneridae): a study of the shell differentiation process. *Journal of Molluscan Studies* 80(1): 8-16.
- Ardila E, N., Navas S, G. y Reyes F, J. 2002. Libro Rojo De Invertebrados Marinos De Colombia. Bogotá, Colombia: INVEMAR, 92p.
- Blake, N., y Sastry, A. 1979. Neurosecretory regulation of oogenesis in the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* (Lamarck). In *Cyclic phenomena in marine plants and animals* 181-190.
- Braley, R. D. 1985. Serotonin-induced spawning in giant clams (Bivalvia: Tridacnidae). *Aquaculture* 47(4): 321-325.
- Braley, R. 1984. Reproduction in the giant clams *Tridacna gigas* and *T. derasa* in situ on the north-central Great Barrier Reef, Australia, and Papua New Guinea. *Coral Reefs*, 3(4): 221–227
- Breese, W. P., y Robinson, A. 1981. Razor clams, *Siliqua patula* (Dixon): gonadal development, induced spawning and larval rearing. *Aquaculture* 22: 27- 33.
- Castagna, M., y Craeuter, J. N. 1981. Manual for growing the hard clam

- Mercenaria. Virginia Institute of Marine Science, College of William and Mary.
- Calderon A., Aragón N., Morales B., Alcántara R., y Chávez V. 2013. Reproductive cycle of the geoduck clam *Panopea generosa* at its southernmost distribution limit. *Marine Biology Research*, 10(1): 61–72.
- Clemente, S., y Ingole, B. 2009. Gametogenic development and spawning of the mud clam, *Polymesoda erosa* (Solander, 1876) at Chorao Island, Goa. *Marine Biology Research*, 5(2), 109–121.
- Chung, E. Y., Hur, S. B., Hur, Y. B., y Lee, J. S. 2001. Gonadal Maturation and Artificial Spawning of the Manila Clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae), in Komso Bay, Korea. *Fisheries and aquatic sciences* 4(4): 208-218.
- Clarke, P. J., Komatsu, T., Bell, J. D., Lasi, F., Oengpepa, C. P., y Leqata, J. 2003. Combined culture of *Trochus niloticus* and giant clams (Tridacnidae): benefits for restocking and farming. *Aquaculture* 215(1-4): 123-144.
- De la Hoz-Aristiábal, M. V. 2009. Densidad, estructura de tallas y explotación pesquera del bivalvo *Polymesoda solida* en un sistema lagunar del Caribe colombiano. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 43(1): 1-27.
- De Severeyn, Y., Severeyn, H. y 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.
- Díaz, J. M. y M. Puyana H. 1994. Moluscos del Caribe Colombiano. Un catálogo ilustrado. Colciencias - Fundación Natura-INVEMAR.
- Dudgeon, D., y Morton, B. 2009. The population dynamics and sexual strategy of *Anodonta woodiana* (Bivalvia: Unionacea) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. *Journal of Zoology*, 201(2), 161–183.
- Drummond, L., Mulcahy, M., & Culloty, S. 2006. The reproductive biology of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, from the North-West of Ireland. *Aquaculture*, 254(1-4): 326–340.
- Eversole, A. G. 2001. Reproduction in *Mercenaria mercenaria*. In *Developments in aquaculture and fisheries science*, Elsevier 31: 221-260.
- Fong, P. P., Deguchi, R. y Kyojuka, K. 1996. Serotonergic ligands induce spawning but not oocyte maturation in the bivalve *Macra chinensis* from central Japan. *The Biological Bulletin* 191(1): 27-32.
- Gibbons, M. C. y Castagna, M. 1984. Serotonin as an inducer of spawning in six

- bivalve species. *Aquaculture* 40(2): 189-191.
- Gómez 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. Trabajo de grado. Universidad de Antioquia.
- González, R. R., Vélez, P. P. y Cárdenas, J. V. 2014. Inducción al desove de la Concha Prieta *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) en condiciones de laboratorio. *La Técnica: Revista de las Agrociencias* (12): 56-63.
- Gribben, P., y Creese, R. 2003. Protandry in the New Zealand geoduck, *Panopea zelandica* (Mollusca, Bivalvia). *Invertebrate Reproduction & Development*, 44(2-3): 119–129.
- Hirai, S., Kishimoto, T., Kadam, A. L., Kanatani, H. y Koide, S. S. 1988. Induction of spawning and oocyte maturation by 5-hydroxytryptamine in the surf clam. *Journal of Experimental Zoology* 245(3): 318-321.
- Houki, S., Yamada, M., Honda, T., y Komaru, A. 2011. Origin and Possible Role of Males in Hermaphroditic *Androgenetic Corbicula Clams*. *Zoological Science*, 28(7): 526–531.
- Heller, J. 1993. Hermaphroditism in molluscs. *Biological Journal of the Linnean Society*, 48(1): 19–42.
- Hur, Y. B., Bae, J. H., y Hur, S. B. 2005. Comparison of development and larval growth of four venerid clams. *Journal of the World Aquaculture Society* 36(2): 179-187.
- INPA. Instituto nacional de pesca y acuicultura. 1996. Boletín estadístico pesquero 41p.
- INVEMAR. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés. 2017. Informe del estado de los ambientes y recursos marinos y costeros de Colombia 3: 76p.
- INVEMAR. 2021. 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 2020, Volumen 19. Santa Marta 193p.
- Ishibashi, R., Komaru, A., Ookubo, K. y Kiyomoto, M. 2002. The second meiosis occurs in *cytochalasin D*-treated eggs of *Corbicula leana* even though it is not observed in control androgenetic eggs because the maternal chromosomes

- and centrosomes are extruded at first meiosis. *Developmental biology* 244(1): 37-43.
- Ishibashi, R., Ookubo, K., Aoki, M., Utaki, M., Komaru, A., y Kawamura, K. 2003. Androgenetic reproduction in a freshwater diploid clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae). *Zoological Science* 20(6): 727-732.
- Ishibashi, R., y Komaru, A. 2006. Abortive second meiosis detected in cytochalasin-treated eggs in androgenetic diploid *Corbicula fluminea*. *Development, growth & differentiation* 48(4): 277-282.
- Jagadis, I. 2011. Spawning, larval development and spat settlement in the Venus clam *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) from south-east coast of India. *Indian Journal of Fisheries* 58(2): 1-5.
- Kent, G., Maguire, G. y 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.
- Kim, W. K., Lee, C. S., Lee, J. Y. y Hur, S. B. 2002. Production of Artificial Seedling of the Brackish water Clam, *Corbicula jeponica*. *Journal of Aquaculture* 15(1): 23-29.
- Komaru, A., Kawagishi, T. y Konishi, K. 1998. Cytological evidence of spontaneous androgenesis in the freshwater clam *Corbicula leana* Prime. *Development Genes and Evolution* 208(1): 46-50.
- Lee, J., Park, J., Shin, Y., Lee, Y., y Park, J. 2013. Sequential hermaphroditism in Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae). *Invertebrate Reproduction & Development*, 57(3): 185–188.
- Lee, J., Chang, Y., & Park, Y. 1996. Spawning induction and egg development of surf clam, *Spisula sachalinensis*. *Journal of Aquaculture*, 9(4): 419-427.
- Lora-Vilchis, M. C., Saucedo, P., Rodríguez-Jaramillo. y Maeda-Martínez, A. N. 2003. Histological characterization of the spawning process in the catarina scallop, *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842) induced by thermal shock and serotonin injection. *Invertebrate reproduction & development* 44(2-3): 79-88.
- Maru, K., Yamazaki, M. Y Nakai, J. 2005. Favorable salinity for spawning by the brackish water bivalve, *Corbicula japonica* Prime. *Aquaculture Science* 53(3): 251-255.
- Matias, D., Joaquim, S., Leitão, A. y Massapina, C. 2009. Effect of geographic

- origin, temperature and timing of broodstock collection on conditioning, spawning success and larval viability of *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758). *Aquaculture International* 17(3): 257-271.
- Menoud, M., Wynsberge, S., Moullac, G., Levy, P., Andréfouët, S., Remoissenet, G., y Gaertner-Mazouni, N. 2016. Identifying Robust Proxies of Gonad Maturation for the Protandrous Hermaphrodite *Tridacna máxima* (Röding, 1798, Bivalvia) from Individual to Population Scale. *Journal of Shellfish Research*, 35(1): 51–61.
- Mies, M., Braga, F., Scozzafave, M. S., Sumida, P. Y. G., & Lemos, D. 2011. Successful spawning and a possible solution for broodstock mortality in giant clams (Tridacnidae): a neurotransmitter injection through the byssal orifice. *Aquaculture Research*, 44(4): 671–676.
- Narita, T., Hosoi, T., Nagasaki, M. Y Komaru, A. 2006. Spawning possibility of *Corbicula japonica* under low salinity condition in Lake *Ogawara*, *Aomori*, Japan. *Aquaculture Science* 54(2): 201-208.
- Nava, D., y De Severeyn, Y. G. 2010. Desove inducido en moluscos bivalvos del sistema de Maracaibo. *Ciencia* 18 (3).
- Nell, J. A., O'Connor, W. A., Hand, R. E. y McAdam, S. P. 1995. Hatchery production of diploid and triploid clams, *Tapes dorsatus* (Lamarck 1818): a potential new species for aquaculture. *Aquaculture* 130(4): 389-394.
- Nicolini, M. H. y Penry, D. L. 2000. Spawning, fertilization, and larval development of *Potamocorbula amurensis* (Mollusca: Bivalvia) from San Francisco Bay, California.
- Numaguchi, K. 1997. A Preliminary Trial to Induce Maturity and Spawning of the Common Oriental Clam *Meretrix Zuesoria* Out of Spawning Season. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(1): 118–120
- Ojea, J., Pazos, A., Martínez, D., Novoa, S., García-Martínez, P., Sánchez, J. L., y Abad, M. 2008. Effects of temperature regime on broodstock conditioning of *Ruditapes decussatus*. *Journal of shellfish research*, 27(5): 1093-1100.
- Osada, M., Mori, K. y Nomura, T. 1992. In vitro effects of estrogen and serotonin on release of eggs from the ovary of the scallop *Nippon suisan gakkaiishi*, 58(2): 223–227.
- Poutiers, J. M. y R. Cipriani. 1992. *Gastropodos y Bivalvos* 29-76 en: Cervigón, F., R Cipriani, W. Fischer, L. Garibaldi, M. Hendrickx, A. J. Lemus, R. Márquez,

- Preston, S. J., Keys, A., y Roberts, D. 2007. Culturing freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*: a breakthrough in the conservation of an endangered species. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 17(5): 539-549.
- Purcell, S. W. y Cheng, Y. W. 2010. Experimental restocking and seasonal visibility of a coral reef gastropod assessed by temporal modelling. *Aquatic Biology* 9(3): 227-238.
- Rengel J., Guelmelit L., Torres L., y Marin C. 2009. Inducción al Desove y Desarrollo Larval del Molusco Bivalvo *Chione cancellata*. Proceedings of the 62nd Gulf and Caribbean Fisheries Institute November 2 - 6, 2009 Cumana, Venezuela, 475-480.
- Reverol Y., Delgado J., De Severeyn Y. y Severeyn J. 2004. Embrionary and larval development of the marine clam *Tivela mactroides* (Bivalvia: Veneridae) in Zulia State, Venezuela. *Rev. biol. Trop* 52(4).
- Revilla, D.R., Báez, C. F., García Y., Severeyn, H. y Villamediana, M. P. 2016. inducción química de poliploidía en el molusco bivalvo *Polymesoda solida* (philippi, 1846) (bivalvia: corbiculidae). en: boletín del centro de investigaciones biológicas. revista internacional de biología, universidad del zulia, venezuela 50 (2). *Ruditapes decussatus*. *Journal of shellfish research* 27(5): 1093-1100.
- Román, G., Acosta, C., Campos, M., y Cano, J. 2001. Biología y cultivo de pectínidos. En *Los moluscos bivalvos: aspectos citogenéticos, moleculares y aplicados*. 213-240. Servicio de Publicacións.
- Rueda, M. y Urban, H. 1998. Population dynamics and fishery of the fresh-water clam *Polymesoda solida* (Corbiculidae) in Ciénaga Poza Verde, Salamanca Island, Colombian Caribbean. *Fisheries Research* 39(1): 75-86.
- Severeyn, H. 1988. El ciclo de vida de la almeja *Polymesoda arctata* (Bivalvia: Corbiculidae) en el Lago de Maracaibo. Trabajo de Ascenso. Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias, Departamento de Biología, 66p.
- Severeyn, H. J., García, Y., Ewald, J. J. y Morales, F. 1996. Efectos de parámetros ambientales y la talla inicial sobre el crecimiento de la almeja comercial *Polymesoda solida* (Philippi 1846) (Bivalvia: Corbiculidae) en condiciones naturales. *Revista de la Facultad de Agronomía* (13): 341-356.
- SEPEC. Sistema del Servicio Estadístico Pesquero Colombiano. (25/09/2021).

Volúmenes comercializados por especie. Calle 40A N° 13 - 09 Edificio UGI  
pisos 6 y 14, Bogotá:  
[http://sepec.aunap.gov.co/InformesComercializacion/VolumenComercializa  
doEspecie#ContainerMenu](http://sepec.aunap.gov.co/InformesComercializacion/VolumenComercializa<br/>doEspecie#ContainerMenu)

- Singh, N. K. y Azam, K. 2013. Comparative study of available spawning methods of the giant clam *Tridacna squamosa* (Bivalvia: Tridacnidae) in Makogai, Fiji. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 5(3): 353-357.
- Stephenson, R. L. y Chanley, P. E. 1979. Larval development of the cockle *Chione stutchburyi* (Bivalvia: Veneridae) reared in the laboratory. *New Zealand Journal of Zoology* 6(4): 553-559.
- Svärdh, L. 2003. Tissue sampling from live blue mussels, *Mytilus edulis*. A field study from the Swedish west coast. *Journal of Sea Research* 49(3): 221-225.
- Thomas, G. R., Taylor, J. y de Leaniz, C. G. 2010. Captive breeding of the endangered freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*. *Endangered Species Research* 12(1): 1-9.
- Utting, S. D., Millican, P. F. y Laing, I. 1997. The breeding potential and biochemical composition of triploid Manila clams, *Tapes philippinarum* Adams and Reeve. *Oceanographic Literature Review* 2(44): 147.
- Velasco, L. A., Barros, J. y Acosta, E. 2007. Spawning induction and early development of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquaculture* 266(1-4): 153-165.
- Von Cosel, R. 1986. Moluscos de la región de la Ciénaga Grande de Santa Marta (Costa del Caribe colombiano). *An. Inst. Inv. Mar. Punta Betin* (15-16): 79-370.
- Wang, C., 2000. Roles of sex steroids on reproduction of the sea scallop. PhD thesis, Department of Physiology and Biophysics, pp. 274. Halifax: Dalhousie University.
- Xu, X., Yang, F., Zhao, L. y Yan, X. 2016. Seawater acidification affects the physiological energetics and spawning capacity of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* during gonadal maturation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 196: 20-29.

Zhang, G. y Yan, X. 2006. A new three-phase culture method for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, farming in northern China. *Aquaculture* 258(1-4): 452- 461.

## ANEXOS



Figura 5. Lugar de recolección de reproductores ciénaga grande de santa marta sector pajarales.



Figura 6. Nevera plástica de transporte de almejas y zona de aclimatación de almejas (canaletas blancas de 200 L).



Figura 7. Abrasión de almejas.



Figura 8. Suministro de estímulos químicos.



Figura 9. Herramienta de velocidad variable (Mototol) para la perforación de concha.