

Control de la reproducción y producción de semillas de bivalvos en sistemas controlados

Gloria Martínez Guzmán

Departamento de Biología Marina, Universidad Católica del Norte

Coquimbo, Chile

E-mail: gmartine@ucn.cl

Martínez-Guzmán, G. 2008. Control de la reproducción y producción de semillas de bivalvos en sistemas controlados. En A. Lovatelli, A. Farías e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. *FAO Actas de Pesca y Acuicultura*. No. 12. Roma, FAO. pp. 267–275.

RESUMEN

Se describen brevemente los factores ambientales o exógenos que afectan el proceso reproductivo de los moluscos bivalvos, profundizando luego en aquellos factores, de naturaleza endógena, que determinan la respuesta reproductiva ante las variables ambientales. Se resumen resultados de estudios referentes a la regulación de la reproducción en el pectínido *Argopecten purpuratus*, especie modelo usada por los autores, considerando que es uno de los moluscos de mayor producción en Chile y que es un hermafrodita funcional. Los conocimientos generados acerca del control del desove llevaron a desarrollar una metodología para eliminar la auto-fecundación en este pectínido y se presentan los resultados más relevantes al respecto. De esta forma se pone a disposición de los cultivadores de esta especie y de otros moluscos, también hermafroditas funcionales, una tecnología que puede aportar al mejoramiento de su producción.

ABSTRACT

This document briefly describes the exogenous factors affecting the reproductive process of bivalves. It also examines, in depth, the endogenous factors determining the reproductive answer to those environmental variables. Studies on the reproduction control of the pectinid *Argopecten purpuratus* are summarized. This species, one of the most commercially important molluscs in Chile, has been used by the author for this study due to its reproductive strategy. The author knowledge of spawning control led her to develop a method to eliminate self-fertilization of this pectinid, the most relevant results of which are presented herein. An enhanced hatchery technology is available to farmers for this species and another functional hermaphrodites, which may lead to improved production levels.

INTRODUCCIÓN

El éxito en la industria de la acuicultura depende en gran medida de la disponibilidad de juveniles de alta calidad que puedan crecer rápidamente hasta un tamaño comercial. Existen muchos factores, tanto endógenos como exógenos, que afectan tanto el

desempeño de las larvas como el de los juveniles tempranos y tardíos. Son tres etapas principales en las cuales puede manifestarse el efecto de esos factores:

- Desarrollo de las gónadas y gametos
- Desove y fecundación
- Desarrollo y crecimiento de la progenie

Considerando que los factores endógenos son más difíciles de manejar experimentalmente, los esfuerzos destinados a controlar la producción de semillas se han dirigido a los de naturaleza exógena, principalmente a aquellos que se refieren a la dieta y temperatura.

FACTORES EXÓGENOS QUE AFECTAN EL CICLO REPRODUCTIVO

Entre los factores exógenos más significativos se pueden nombrar: la temperatura, el alimento, fotoperíodo, salinidad, etc.

Efecto del alimento

Numerosos estudios han sido enfocados a analizar el efecto de las dietas y sus diferentes componentes nutricionales tanto sobre la maduración gonadal como sobre el desarrollo larval en los bivalvos. Aunque estos aspectos serán revisados en otra presentación podemos señalar que nuestro grupo ha realizado estudios para mejorar el acondicionamiento de reproductores de *Argopecten purpuratus* en los cuales hemos demostrado que una dieta mixta de microalgas y enriquecida en lípidos insaturados permite mejorar los resultados en la maduración y porcentajes de desove (Martínez *et al.*, 2000a).

Efecto de la temperatura

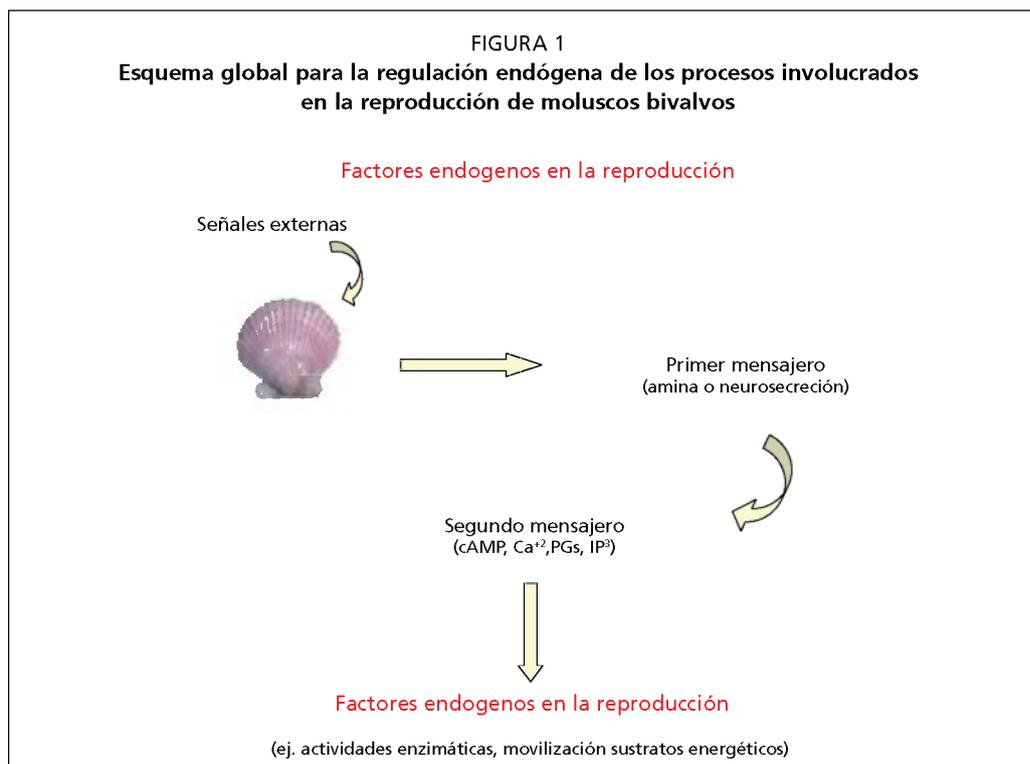
La temperatura del agua es el factor ambiental que se cita más frecuentemente afectando la reproducción de los bivalvos. El patrón de ciclo reproductivo y los cambios que lo acompañan son afectados por la temperatura dependiendo de la historia térmica de las especies y de su distribución regional. Sastry (1979), ha establecido que el crecimiento gonadal y la gametogénesis en varias especies de bivalvos, se correlacionan positivamente con cambios estacionales de la temperatura, en algunos casos con la declinación de la temperatura en el otoño o con su incremento en primavera y verano.

Se ha discutido por mucho tiempo, la validez del concepto «día-grado» (D°) (Grubert y Ritar, 2005) utilizado para predecir la duración del período de acondicionamiento reproductivo. Sin embargo, el número de días-grados, por sí solo, no es un buen predictor del tiempo requerido para alcanzar una condición apta para desovar pues es dependiente de la condición fisiológica inicial de los reproductores (Lannan *et al.*, 1980), de la disponibilidad y calidad del alimento durante el acondicionamiento y de otros factores ambientales (Sastry, 1979). Existen estudios que muestran que aumentos en la temperatura del agua no dan por resultado necesariamente una mejoría en el desempeño reproductivo de los bivalvos. En *Ostrea chilensis*, temperaturas bajas mostraron ser importantes en estimular tanto la ovogénesis temprana como la espermatogénesis (Jeffs *et al.*, 2002). Sin embargo, Chavez-Villalba *et al.* (2002) examinando el efecto de esta variable sobre el acondicionamiento reproductivo de *Crassostrea gigas*; detectaron que efectivamente se acelera el crecimiento de los ovocitos entre 16 y 22 °C pero, a 25 °C decrece significativamente. En los estudios en ostión *A. purpuratus*, citados anteriormente (Martínez *et al.*, 2000a), además de probar dietas, se ensayaron dos temperaturas para el acondicionamiento de reproductores, y se encontraron mejores resultados, tanto en porcentaje de maduración como en respuesta a estímulos desovantes, en aquellos individuos mantenidos a 16 °C que en aquellos a 20 °C. Con el fin de profundizar acerca de este efecto positivo, observado a temperatura más baja, se realizó otro estudio en el que se evaluó la influencia de cambios en la temperatura, aplicados durante el proceso de acondicionamiento reproductivo, sobre

el desarrollo gonadal y calidad de la progenie en este bivalvo (Martínez y Pérez, 2003). Los individuos fueron acondicionados bajo diferentes regímenes de temperatura: 15 °C constante (15 °C), 19 °C constante (19 °C), a 15 °C en una primera etapa y luego 19 °C (15 ⇌ 19 °C) y finalmente a 19 °C en la primera etapa y luego 15 °C (19 ⇌ 15 °C). Los resultados obtenidos mostraron que los reproductores de *Argopecten purpuratus*, mantenidos a la menor temperatura, durante todo el proceso de acondicionamiento, presentaron el mayor porcentaje de desove, liberaron más gametos y de mayor tamaño, de todos los tratamientos experimentales.

Factores endógenos que afectan la gametogénesis

En última instancia, son factores endógenos los que determinan la respuesta a las variables ambientales en las distintas etapas del ciclo reproductivo en los bivalvos. Estos ciclos son el resultado de interacciones complejas entre factores endógenos y exógenos y para asegurar un buen desempeño reproductivo no sólo se requiere tener conocimiento acerca de las múltiples variables ambientales en juego sino también en cómo afectan o se ven afectadas por factores propios de los individuos. Entre dichos factores endógenos debemos considerar aquellos inherentes a la biología de la especie, como serían su estrategia reproductiva, su genética misma y los relacionados con la regulación de sus funciones. Luego de alcanzar cierto estado fisiológico, en un organismo expuesto a las condiciones ambientales adecuadas, se inicia el crecimiento de la gónada y la gametogénesis. Aunque se conoce bastante menos respecto a los factores endógenos que regulan el proceso reproductivo, no podemos ignorar que los seres vivos son sistemas estructurales, funcionales y autorregulados que poseen mecanismos de adaptación frente a señales que reciben del medio externo o interno. Esas señales pueden traducirse en otros (primeros mensajeros) que lleguen hasta el tejido cuya función será regulada (Figura 1). Este primer mensajero puede tratarse de hormonas o neurotransmisores. En las respuestas a esos mensajes se manifiestan tres elementos básicos: el receptor, un elemento transductor y el elemento efector o amplificador que originará la respuesta intracelular. El receptor, componente macromolecular ubicado en la membrana plasmática de la célula blanco, es un elemento bifuncional que actúa discriminando entre determinadas señales o mensajes.



Al producirse la interacción con el receptor, éste sufre un cambio conformacional que inicia la respuesta celular posibilitando su unión al elemento transductor. Este último es ahora capaz de transducir la información a un sistema enzimático que genera un segundo mensajero intracelular, el cual puede regular la actividad de las proteínas (enzimas u otras) y afectar así funciones celulares específicas. Los segundos mensajeros más conocidos son los nucleótidos cíclicos (Adenosín monofosfato cíclico [cAMP] y Guanosín monofosfato cíclico [cGMP]), el ion calcio, las prostaglandinas, el inositol trifosfato y el diacilglicerol. En nuestro interés de conocer el control del ciclo reproductivo en los moluscos bivalvos, hemos tomado este esquema como base. Dado que no existen órganos endocrinos diferenciados en moluscos marinos se ha partido de la base que el sistema nervioso participa en la regulación central de la función reproductiva. Se sabe que el tejido nervioso mantiene el control y la regulación a través de compuestos biológicamente activos. Estas moléculas, de diferentes estructuras químicas, además de cumplir su función en la transmisión de impulsos nerviosos estarían regulando funciones de otra naturaleza, una de las cuales sería la reproducción. Así, hemos estudiado los distintos niveles de las aminas dopamina, noradrenalina y serotonina en distintos momentos del ciclo reproductivo de *A. purpuratus*, especie que siempre hemos usado como modelo para estudiar el control endógeno de la reproducción en moluscos bivalvos. También hemos estudiado los segundos mensajeros descritos en el esquema de la Figura 1, entre ellos el AMP cíclico (cAMP), las prostaglandinas (PGs), el inositol trifosfato (IP₃). De estos estudios podemos decir que los niveles de estos compuestos cambian durante dicho ciclo confirmando nuestra hipótesis que uno de los mecanismos de control posibles es a través de la regular la movilización de sustratos que aportan energía para el desarrollo de los gametos. Estos resultados han sido publicados y están resumidos en Román *et al.* (2001).

ESTUDIOS DEL DESOVE

En esta presentación profundizaremos en algunos puntos de la regulación del desove de *A. purpuratus* porque nuestros estudios del control de esta etapa del ciclo reproductivo nos han llevado a proponer un método de fecundación que podría incidir positivamente en el cultivo de este bivalvo y otros de características reproductivas similares. Respecto al desove, hemos demostrado que las monoaminas: serotonina, dopamina y noradrenalina cambian su contenido en la gónada durante este proceso como también sucede con los segundos mensajeros medidos. Existen numerosos estudios indicando que la serotonina es en general un inductor efectivo del desove. No obstante, esta inducción en pectínidos gonocóricos, requiere mayores dosis para liberar gametos femeninos que para la expulsión de los masculinos (Matsutani, 1990) y en los hermafroditas funcionales *A. irradians* (Gibbons y Castagna, 1984), *P. ziczac* (Vélez *et al.*, 1990), y *A. purpuratus* (Martínez *et al.*, 1996) sólo induce liberación de espermatozoides y no de ovocitos. Con respecto a otras aminas, no se han logrado resultados exitosos excepto en casos aislados usando dosis muy altas de ellas. Nuestros ensayos en *A. purpuratus* (Martínez *et al.*, 1996) mostraron que noradrenalina y dopamina al igual que la serotonina, no inducen liberación de ovocitos pero, si se las inyecta mezcladas con prostaglandina E₂, logran en un porcentaje significativo esta liberación.

Se sabe que la gametogénesis en el ovario de moluscos bivalvos se detiene con la formación de ovocitos en profase I de la meiosis y se reinicia posteriormente, una vez que se rompe la vesícula germinativa. Esta ruptura de la vesícula (germinal vesicle break down – GVBD), dependiendo de la especie, puede ser antes o después que los gametos son liberados al medio. Nuestros estudios en *A. purpuratus* (Martínez *et al.*, 2000b) demostraron que los ovocitos, rompen su vesícula germinativa, alcanzando metafase-I, antes de ser liberados al exterior. Este reinicio de meiosis es parte del proceso de maduración del ovocito y en general, es gatillado por señales extracelulares o, en algunos casos, por contacto con espermatozoides. Entre las señales competentes

más estudiadas está la serotonina que, en experimentos *in vitro*, se ha demostrado que induce la ruptura de la vesícula germinativa en algunos bivalvos marinos y de agua dulce. En *A. purpuratus*, serotonina y las prostaglandinas E_2 y $F_{2\alpha}$ incrementan el porcentaje de ovocitos que sufren esta ruptura (Martínez *et al.*, 2000b) alcanzando metafase, estado en el cual pueden ser fecundados. Al romperse la vesícula germinativa, la mayoría de los ovocitos de invertebrados marinos vuelven a detener la meiosis, esta vez en metafase-I y de este nuevo bloqueo son liberados por los espermatozoides o por algún compuesto químico que pueda imitar el efecto.

A. purpuratus, al igual que otros pectínidos que se cultivan, es un hermafrodita funcional, sus gametos femeninos y masculinos se desarrollan simultáneamente y cuando están maduros, son liberados unos a continuación de los otros, ante un estímulo adecuado. Esta estrategia reproductiva da por resultado altas probabilidades de autofecundación. El conducto de evacuación de ambos tipos de gametos es común y, al salir los ovocitos luego de ser evacuados los espermatozoides, muchos de ellos pueden ser fecundados por espermatozoides remanentes en el gonoducto. En casos de desoves inducidos en el laboratorio (caso de cultivos) esta probabilidad es mayor. En algunos pectínidos con igual estrategia reproductiva se ha planteado que en desoves de laboratorio la autofecundación es más bien la regla que la excepción (Castagna y Duggan, 1971 para *Argopecten irradians*; Beaumont, 1986 para *Pecten maximus*). Para *A. purpuratus*, Winkler y Estévez (2003) demostraron una autofecundación espontánea promedio de 9.9 por ciento, siendo mayor de 18 por ciento para el primer pulso de ovocitos y decreciendo en los posteriores. En la práctica, para controlar el incremento de la consanguinidad causada en los cultivos por este alto grado de autofecundación, se ha planteado utilizar los últimos pulsos de liberación de gametos para realizar las fecundaciones (Winkler y Estévez, 2003). Esta estrategia tiene la desventaja que reduce drásticamente la cantidad de ovocitos disponibles para ser fecundados, y no previene completamente la autofecundación.

En sistemas de reproducción controlada en cultivos, la autofecundación no es la única fuente de incremento de la consanguinidad. El uso de un número limitado de reproductores, diferencias en el número de machos y hembras empleados en los eventos de reproducción, diferencias en los tamaños de las familias, entre otros factores, pueden afectar negativamente el número efectivo de la población y causar un incremento en los niveles de consanguinidad de ellas (Falconer y Mackay, 1996). Debido a la alta fecundidad de *A. purpuratus*, en los procesos de reproducción en laboratorio se utiliza un número restringido de reproductores, y es previsible que el número efectivo sea aún menor que el de reproductores empleados, de modo que la consanguinidad tenderá a incrementarse progresivamente por este factor, además de la autofecundación que se produce normalmente.

CONSECUENCIAS DE LA AUTOFECONDACIÓN

La consecuencia más importante de la autofecundación, es el aumento de la consanguinidad. Esta condición ha sido generalmente relacionada con disminuciones en valores de la adecuación y de caracteres productivos en especies con reproducción cruzada. La causa de este fenómeno, conocido como depresión por consanguinidad, se relaciona con un incremento en la homocigosidad, lo que causa que genes recesivos con efectos deletéreos que, en una población grande con reproducción al azar, se presentan preferentemente al estado heterocigoto y no se expresan; sí lo hacen al encontrarse en condición homocigota en una población consanguínea, afectando negativamente el valor promedio de los caracteres en la población (Falconer y Mackay, 1996).

Entre los trabajos más conocidos en pectínidos, están los de Beaumont (1986) en *Pecten maximus*, en los que se concluye que el crecimiento de las larvas véliger de esta especie es afectado por la auto fecundación. Con la intención de comparar grupos de ostiones con diferentes grados de consanguinidad, Ibarra *et al.* (1995) en experimentos con el pectínido *Argopecten circularis*, especie que presenta características reproductivas

similares a *A. purpuratus*; compararon los resultados de auto-fecundación y fecundación cruzada encontrando depresión tanto en el crecimiento como en la supervivencia de las larvas obtenidas por auto-fecundación. Si bien en *A. purpuratus* no se han detectado efectos significativos sobre la supervivencia ni crecimiento asociados al incremento de la consanguinidad en un 50 por ciento (Winkler y Estévez, 2003), Astorga y Galleguillos (1991) describieron una correlación positiva entre heterocigosidad y tamaño en adultos de esta especie. Otros estudios han mostrado efectos positivos de la heterocigosidad en loci que controlan la expresión de aloenzimas sobre la tolerancia a metales pesados por juveniles de este ostión (Troncoso *et al.*, 2000) y en distintos aspectos relativos a la fisiología y vinculados con la adecuación de los individuos (Brokordt, 2003). En otros aspectos, en *A. purpuratus* se ha encontrado que los reproductores con mayores niveles de heterocigosidad poseen gónadas con un mayor contenido tanto de proteínas como de carbohidratos (Brokordt *et al.*, 2007), lo que podría incidir directamente en la calidad de sus huevos y larvas. Además se observó que los ejemplares más heterocigotos poseen un mayor contenido de carbohidratos (Brokordt *et al.*, 2007), principal sustrato a ser usado como apoyo energético para la reproducción en pectínidos.

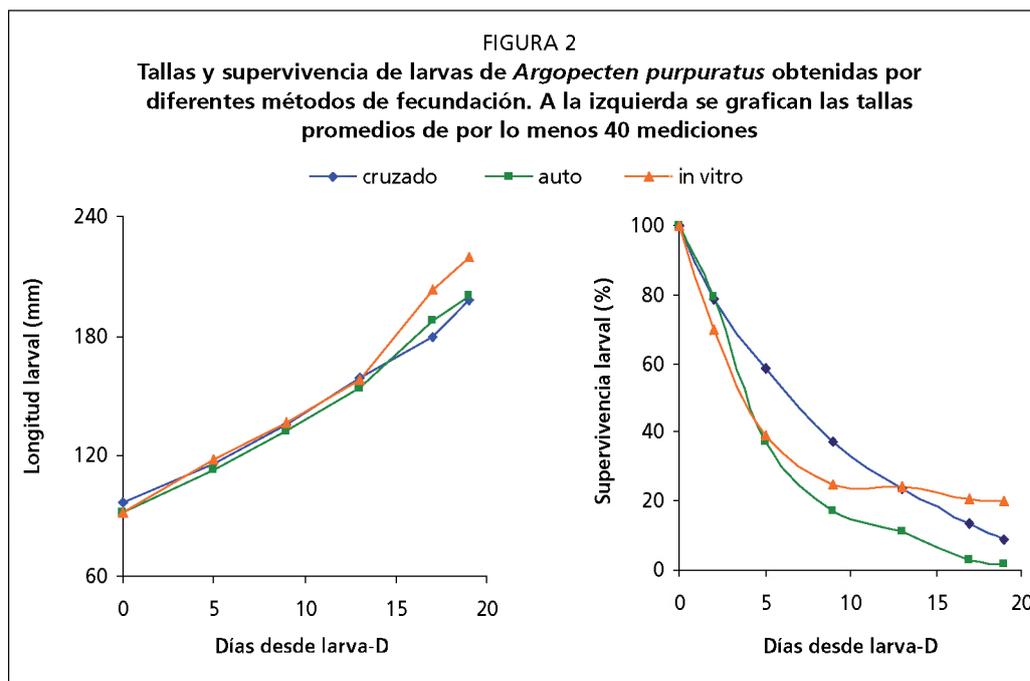
Tenemos entonces que tanto en el caso de *A. purpuratus* como en el de otros pectínidos que son hermafroditas funcionales, se producirían grados considerables de auto-fecundación dando por resultado altos niveles de consanguinidad. Cuando la reproducción es en laboratorio, con un número limitado de parentales, esta consanguinidad sería aún mayor. Si nos planteamos que cierto porcentaje de las larvas resultantes de auto-fecundación sobreviven hasta individuos en edad reproductiva y coexisten con los resultantes de exo-fecundación, se mantendría cierto nivel de consanguinidad en las poblaciones, produciendo algunos de los efectos negativos discutidos. Se ha planteado, y están en ejecución, proyectos para aplicar mejoramiento genético de *A. purpuratus* a través de la selección de reproductores para obtener semillas mejor adaptadas al cultivo para la industria, pero aunque anteriormente se ha tratado de reducir al mínimo la auto-fecundación, no se ha sido exitoso en ello.

Frente a este problema, surge como una de las mejores alternativas la posibilidad de realizar fecundación *in vitro*. Es decir, obtener gametos por cortes y raspado de la gónada y fecundarlos controladamente. Este método ha sido ensayado por varios investigadores y a pesar de que obtuvieron larvas, éstas no fueron viables (Ibarra *et al.*, 1995; Alvarado-Alvarez *et al.*, 1996). El análisis de esos trabajos nos hicieron pensar que el problema de ellos para no tener éxito en la “fecundación *in vitro*” fue el no tener los ovocitos en estado de metafase antes de intentar fecundarlos. Entonces, a través de un proyecto FONDECYT (Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico) recientemente terminado, desarrollamos una técnica de fecundación *in vitro* para *A. purpuratus*. El desarrollo de esta técnica se basó en nuestras investigaciones previas sobre aspectos de la fisiología reproductiva del ostión del norte y específicamente, sobre los procesos que regulan el desove (Martínez *et al.*, 2000b). Como dijimos, durante el desove, los ovocitos de *A. purpuratus* rompen su vesícula germinativa, entrando a metafase, después de la liberación de espermatozoides y antes de salir ellos al medio externo. También sabemos que algunos compuestos pueden liberar ovocitos desde pequeños trozos de gónada femenina y hacer que se produzca el reinicio de meiosis al incubar en un medio adecuado (Martínez *et al.*, 2000b).

El procedimiento se llamó «fecundación *in vitro*» y se controló contra otros dos procedimientos, llamados “auto-fecundación” y “fecundación cruzada”. Los detalles de la técnica y de sus resultados están descritos en un trabajo a ser publicado en revista *Aquaculture* (Martínez *et al.*, 2007).

Los porcentajes de fecundación obtenidos con los tres procedimientos utilizados fueron semejantes pero la supervivencia de embriones que llegaron a larva-D, fue más baja en el caso de fecundación *in vitro* que la obtenida por los otros dos tratamientos. No obstante, a lo largo del desarrollo larval, las tallas alcanzadas y la supervivencia

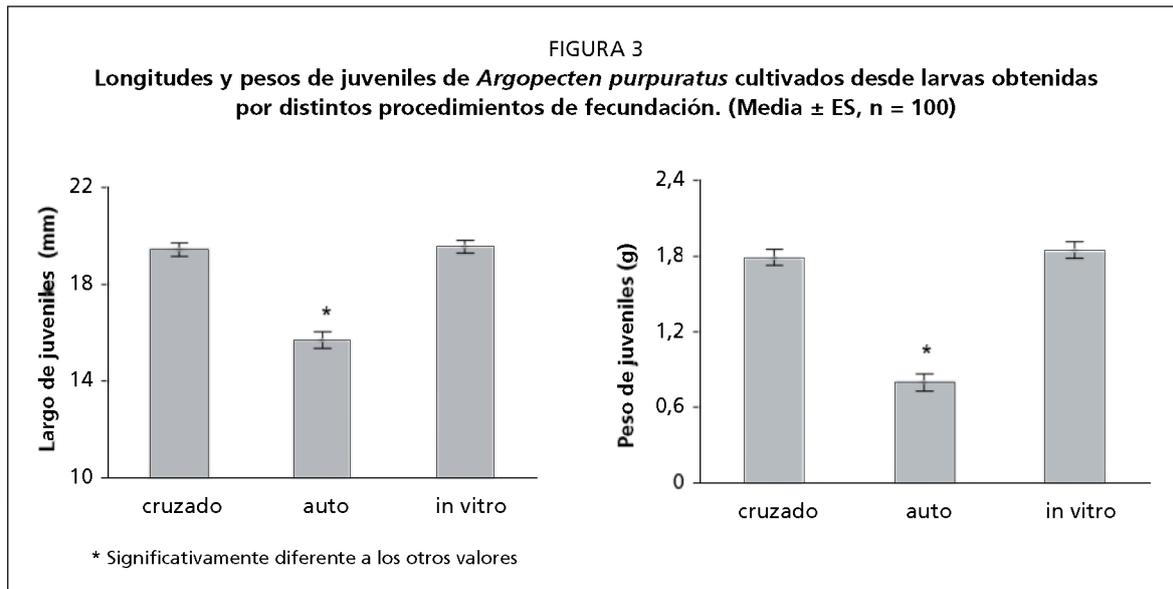
larval, por el método *in vitro* fueron mayores (Figura 2). Este resultado nos sugiere que este proceso de fecundación permite hacer una selección temprana de los individuos, antes de alcanzar éstos el estado de desarrollo en que debe iniciarse la alimentación exógena (larva-D), con todo el costo económico asociado a ella. Posteriormente, el porcentaje de recuperación de los juveniles provenientes de los gametos fecundados *in vitro* fue superior al de los obtenidos por los otros dos procedimientos (Cuadro 1). Este resultado es importante de considerar porque los cultivadores de esta especie de pectínido, informan que es en esta etapa, entre fijación e inicio de la fase juvenil, cuando a ellos se les producen las mayores mortalidades de individuos. El estudio de crecimiento de los juveniles (en largo y peso), mostró que aquellos obtenidos por autofecundación, crecen menos que los obtenidos por los otros métodos (Figura 3). Adicionales a estos análisis de los caracteres productivos (crecimiento y supervivencia) se realizaron estudios comparativos fisiológicos y genéticos en los juveniles (de tallas mayores de 3 cm) provenientes de los distintos tratamientos; no encontrándose diferencias significativas entre los grupos. Esto último lo interpretamos como consecuencia de las mortalidades previas pues suponemos que los animales con menores grados de heterocigosidad murieron antes de realizar estas mediciones.



CUADRO 1

Supervivencia de juveniles de *Argopecten purpuratus* crecidos desde larvas obtenidas por tres métodos de fecundación. Se presentan los valores obtenidos en dos estudios realizados. Los valores expresan porcentajes remanentes en distintas fechas desde el inicio del asentamiento larval

Procedimiento de fecundación	% supervivencia	
	Primer muestreo (70 días en el mar)	Segundo muestreo (140 días en el mar)
Primer estudio		
Fecundación cruzada	0.40	0.35
Auto-fecundación	0.23	0.12
Fecundación <i>in vitro</i>	2.42	2.01
Segundo estudio	(40 días en el mar)	(80 días en el mar)
Fecundación cruzada	1.68	0.85
Auto-fecundación	1.01	0.52
Fecundación <i>in vitro</i>	2.25	1.31



CONCLUSIONES

Hemos realizado una pequeña revisión de los conocimientos que hemos generado respecto a los mecanismos de regulación de la reproducción de moluscos bivalvos. Para generar estos conocimientos se ha usado como especie modelo, el pectínido *Argopecten purpuratus*, en consideración a sus características reproductivas y al hecho que es una de las especies más cultivadas en Chile. No conocemos trabajos publicados, relacionados con los mecanismos de regulación endógena de la reproducción, que se hayan realizado en otra especie de molusco bivalvo, cultivado en algún otro país de América Latina. Sabemos que en México se están realizando algunos estudios para analizar el rol de segundos mensajeros, tipo prostaglandinas, y que también se ha ensayado la serotonina como inductora del desove.

Presentamos acá algunos resultados de nuestro último estudio en el cual, aplicando los conocimientos generados previamente desarrollamos una metodología que permitiría mejorar el rendimiento del cultivo del ostión *Argopecten purpuratus* al eliminar la autofecundación. Esta metodología se ensayó dos veces en laboratorio, con resultados semejantes y se espera sea probada prontamente en cultivos masivos en las Empresas del rubro.

Por otro lado, tenemos conocimiento que los problemas de auto-fecundación y sus consecuencias, no sólo afectan el cultivo de *A. purpuratus* sino también el de otros pectínidos hermafroditas funcionales, que se cultivan en otros países latinoamericanos y sabemos que esta metodología puede ayudar a solucionarlos y mejorar su producción.

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*. *Biol. Bull.*, 190: 322–328.
- Astorga, M. y Galleguillos, R.** 1991. Relación heterocigosidad, tasa de crecimiento y tasa metabólica en *Chlamys (Argopecten) purpurata* (L.). Resumen XI Jornadas de Ciencias del Mar, Valparaíso, Chile.
- Beaumont, A.R.** 1986. Genetic aspects of hatchery rearing of the scallop, *Pecten maximus* (L.). *Aquaculture*, (57): 99–110.
- Brokordt, K.B.** 2003. Integración genética y ecofisiología: efecto del grado de heterocigosidad sobre la adecuación biológica de bivalvos marinos. En: Francisco Bozinovic, ed. *Fisiología Ecológica y Evolutiva*, pags. 45–67. Santiago, Chile. Universidad Católica de Chile.

- Brokordt, K., Winkler, F., Tremblay, I. y Guderley, H. 2007. Bioenergetics and genetic variability of wild and domesticated *Argopecten purpuratus*. *Physiol Biochem Zool* (submitted).
- Castagna, M. y Duggan, W. 1971. Rearing of the bay scallop, *Aequipecten irradians*. *Proc. Natl. Shell. Ass.*, (61): 80–85.
- Chavez-Villalba, J., Pommier, J., Andriamiseza, J., Pouvreau, S., Barret, J., Cochard, J.C. y Le Pennec, M. 2002. Broodstock conditioning of the oyster *Crassostrea gigas*: origin and temperature effect. *Aquaculture*, (214): 115–130.
- Falconer, D.S. y Mackay, T.F.C. 1996. Introduction to Quantitative Genetics, 4th ed. London, Longman Group.
- Gibbons, M.C. y Castagna, M. 1984. Serotonin as an inducer of spawning in six bivalve species. *Aquaculture*, (40): 189–191.
- Grubert, M.A. y Ritar, A.J. 2005. The effect of temperature and conditioning interval on the spawning success of wild-caught blacklip (*Haliotis rubra*, Leach 1814) and greenlip (*H. laevigata*, Donovan 1808) abalone. *Aquacult. Res.*, (36): 654–665.
- Ibarra, A.M., Cruz, P. y Romero, B.A. 1995. Effects of inbreeding on growth and survival of self-fertilized catarina scallop larvae, *Argopecten circularis*. *Aquaculture*, (134): 37–47.
- Jeffs, A.G., Dunphy, B.J. y Wells, M.G. 2002. Experimental effects of water temperature on the gametogenic development of broodstock in the oyster, *Ostrea chilensis*. *J Shellfish Res.*, (21): 743–747.
- Lannan, J.E., Robinson, A. y Bresse, W.P. 1980. Broodstock management of *Crassostrea gigas*: II. Broodstock conditioning to maximal survival. *Aquaculture*, (21): 337–345.
- Martínez, G., Garrote, C., Mettifogo, L., Pérez, H. y Uribe, E. 1996. Monoamines and prostaglandin E₂ as inducers of the spawning of the scallop, *Argopecten purpuratus* Lamarck. *J. Shell. Res.*, (15): 245–249.
- Martínez, G., Aguilera, C. y Mettifogo, L. 2000a. Interactive effects of diet and temperature on reproductive conditioning of *Argopecten purpuratus* broodstock. *Aquaculture*, (183): 149–159.
- Martínez, G., Olivares, A.Z. y Mettifogo, L. 2000b. In vitro effects of monoamines and prostaglandins on meiosis reinitiation and oocyte release in *Argopecten purpuratus* Lamarck. *Inv. Reprod. Dev.*, (38): 61–69.
- Martínez, G. y Pérez, H. 2003. Effect of different temperature regimes on reproductive conditioning in the scallop *Argopecten purpuratus*. *Aquaculture*, (228): 153–167.
- Martínez, G., Mettifogo, L., Pérez, M.A. y Callejas, C. 2007. A method to eliminate self-fertilization in a simultaneous hermaphrodite scallop. 1. Effects on growth and survival rates of larvae and juveniles. *Aquaculture* (In press).
- Matsutani, T. 1990. Endogenous factors controlling spawning in marine bivalves. En: M. Hoshi y O. Yamashita, eds. *Advances in Invertebrate Reproduction*, vol. 5, pp. 231–37. Amsterdam, Netherlands, Elsevier Science.
- Román, G., Martínez, G., García, O. y Freitas, L. 2001. Reproducción, En: A.N. Maeda-Martínez, ed. *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*, pags. 27–29. México, Editorial Limusa.
- Sastry, A.N. 1979. Pelecypoda (Excluding Ostreidae). En: Giese, A.C., Pearse, J.S., eds. *Reproduction of Marine Invertebrates*, vol. V, pags. 113–192. New York, Academic Press.
- Troncoso, L., Galleguillos, R. y Larraín, A. 2000. Effects of cooper on the fitness of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Mollusca: Bivalvia). *Hydrobiologia*, (420): 185–189.
- Vélez, A., Alifa, A. y Aguaje, O. 1990. Induction of spawning by temperature and serotonin in the hermaphroditic tropical scallop, *Pecten ziczac*. *Aquaculture*, (84): 307–313.
- Winkler, F.M. y Estévez, B.F. 2003. Effects of self-fertilization on growth and survival of larvae and juveniles of the scallop *Argopecten purpuratus* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, (292): 93–102.