

REPRODUCCIÓN Y LARVICULTURA DE LA CONCHA PATA DE BURRO *Larkinia grandis* (Broderip & G. B. Sowerby, 1829) EN CONDICIONES DE LABORATORIO. TUMBES, PERÚ

REPRODUCTION AND LARVICULTURE OF *Larkinia grandis* (Broderip & G. B. Sowerby, 1829) UNDER LABORATORY CONDITIONS. TUMBES, PERU

Johnny Robles^{1,*}  Beder Ramírez¹  Mervin Guevara Torres¹ 

¹ Instituto del Mar del Perú, Laboratorio Costero de Tumbes, Perú.

*Correspondencia. E-mail: jrobles@imarpe.gob.pe

Recibido: 10-10-2024, Aceptado: 26-06-2025, Publicado: 10-07-2025

RESUMEN

Larkinia grandis forma parte de los principales bivalvos del manglar que tienen importancia ecológica, económica, social y gastronómica en la costa norte del Perú y en otros países que comparten su distribución a lo largo del océano Pacífico. Ante la reducción de su índice de abundancia, causado por la presión pesquera, es necesario desarrollar metodologías de reproducción y cultivo en ambientes controlados para implementar estrategias que ayuden a recuperar el nivel poblacional de la especie. El objetivo del estudio fue evaluar el potencial reproductor, determinar la técnica de inducción para el desove, obtener gametos viables y efectuar pruebas de larvicultura, con la finalidad de conseguir semilla en ambiente controlado. Los reproductores fueron inducidos al desove mediante la combinación de estímulos de desecación - shock térmico. El 47,4% respondió al estímulo de inducción (44% machos y 56% hembras), presentando desove a las 23 ± 5 h como respuesta a la combinación de estímulos; en promedio se obtuvieron $23,1 \pm 5,8 \times 10^6$ óvulos por hembra. A los 15 minutos de la fertilización, el 65,7% de óvulos estaban fecundados. La primera larva veliger se observó 15 horas después de la fertilización; el cultivo larvario duró 16 días logrando larvas pediveliger de $264,5 \pm 48,4$ μ m de longitud valvar (LV). Se registró 48,7% de supervivencia en la fijación de post larvas recién fijadas, con medidas $425,9 \pm 58,4$ μ m de LV a los 20 días de cultivo después de la fertilización. Estos resultados permiten validar la reproducción controlada de *L. grandis* para desarrollar actividades acuícolas o de repoblamiento.

PALABRAS CLAVE: *Larkinia grandis*, acondicionamiento, estímulos, inducción al desove, larvicultura, semilla

ABSTRACT

Larkinia grandis is one of the key bivalve species inhabiting mangrove ecosystems, with significant ecological, economic, social, and culinary importance along the northern coast of Peru and in other countries within its distribution range across the Pacific Ocean. Due to the decline in its abundance index, mainly driven by fishing pressure, it is essential to develop controlled reproduction and cultivation methodologies to support population recovery strategies for the species. The aim of this study was to assess the reproductive potential of *L. grandis*, determine an effective spawning induction technique, obtain viable gametes, and conduct larviculture trials to produce seed in controlled environments. Spawning induction was achieved through a combination of desiccation and thermal shock stimuli. A total of 47.4% of broodstock responded to the induction protocol (44% males and 56% females), with spawning occurring on average 23 ± 5 hours after stimulation. Each female produced an average of $23.1 \pm 5.8 \times 10^6$ oocytes. Fifteen minutes after fertilization, 65.7% of oocytes were successfully fertilized. The first veliger larvae were observed 15 hours' post-fertilization. The larval culture period lasted 16 days, during which pediveliger larvae reached an average shell length (SL) of 264.5 ± 48.4 μ m. Post-larval settlement survival reached 48.7%, with newly settled post-larvae measuring an average SL of 425.9 ± 58.4 μ m after 20 days of cultivation post-fertilization. These results validate the feasibility of controlled reproduction of *L. grandis* and provide a foundation for aquaculture development and population enhancement initiatives.

KEYWORDS: *Larkinia grandis*, conditioning, stimuli, spawning induction, larviculture, seed

COMO REFERENCIAR ESTE ARTÍCULO (APA 7ed): Robles, J., Ramírez, B. & Guevara Torres, M. (2025). Reproducción y larvicultura de la concha pata de burro *Larkinia grandis* (Broderip & G. B. Sowerby, 1829) en condiciones de laboratorio. Tumbes, Perú. *Bol Inst Mar Perú*, 40(2), e435. <https://doi.org/10.53554/boletin.v40i2.435>

1. INTRODUCCIÓN

La concha pata de burro *Larkinia grandis* (Broderip & G. B Sowerby, 1829) es un molusco bivalvo que se distribuye desde el Golfo de California hasta Sechura, Perú (ALAMO & VALDIVIESO, 1997; KEEN, 1971) habita en playas areno fangosas de los canales de marea del ecosistema del manglar (FISHER *et al.*, 1995). Este bivalvo es una especie gonocórica, su talla mínima de madurez sexual ha sido reportada en 44,57 mm de longitud valvar (SOTELO-GONZÁLEZ *et al.*, 2019) presenta desoves parciales y desarrollo gametogénico asincrónico por lo que hay presencia de gametos en diferentes estadios en un mismo individuo (TITO *et al.*, 2022).

Junto a la concha negra (*Anadara tuberculosa*) y la concha huequera (*Anadara similis*), *L. grandis* forma parte de los principales bivalvos del manglar que tienen importancia ecológica, económica, social y gastronómica en la costa norte del Perú (INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ [IMARPE], 2022) así como también en otros países que comparten la distribución de este bivalvo a lo largo de la costa del Pacífico americano (SOTELO-GONZÁLEZ *et al.*, 2019). La presión pesquera causada por la demanda comercial de *L. grandis* ha incidido en la reducción de su índice de abundancia estimado (CPUE) que pasó de 93,9 a 68,9 ejemplares extraídos por faena, entre los años 2006 y 2020 en la Región Tumbes (IMARPE, 2022).

Como estrategia para la recuperación de las poblaciones naturales de *L. grandis*, en Perú se implementó la Resolución Ministerial N° 00107-2022-PRODUCE (2022) en la que se estableció la talla mínima de captura en 60 mm de longitud valvar (LV) y la veda extractiva por reproducción, crecimiento y reclutamiento del 1 febrero al 31 marzo de cada año (45 días). Si bien esta normativa ayuda a gestionar el cuidado de la población, es necesario complementar estas medidas con otras estrategias que permitan repoblar y mejorar las poblaciones silvestres (ARNOLD, 2008; BELL *et al.*, 2005) e incluso, exploren la viabilidad de convertirlas en especie utilizada en acuicultura.

Establecer una actividad acuícola de una nueva especie, requiere el suministro regular de semilla y, en el caso de los moluscos bivalvos, la producción de semilla en laboratorio es una estrategia atractiva debido a la alta fecundidad que presentan estas

1. INTRODUCTION

Larkinia grandis (Broderip & G. B Sowerby, 1829) is a bivalve mollusk distributed from the Gulf of California to Sechura, Peru (ALAMO & VALDIVIESO, 1997; KEEN, 1971). It inhabits sandy-muddy beaches along the tidal channels of mangrove ecosystems (FISHER *et al.*, 1995). This gonochoric species reaches sexual maturity at a minimum shell length of 44.57 mm (SOTELO-GONZÁLEZ *et al.*, 2019). It exhibits partial spawning and asynchronous gametogenic development, which means that gametes at different maturation stages can coexist within the same individual (TITO *et al.*, 2022).

Together with *Anadara tuberculosa* and *Anadara similis*, *L. grandis* is one of the most ecologically, economically, socially, and gastronomically important mangrove bivalves along the northern coast of Peru (INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ [IMARPE], 2022), as well as in other countries across its Pacific distribution (SOTELO-GONZÁLEZ *et al.*, 2019). However, fishing pressure driven by increasing commercial demand has led to a noticeable decline in its estimated abundance (CPUE), which fell from 93.9 to 68.9 individuals per fishing trip between 2006 and 2020 in the Tumbes Region (IMARPE, 2022).

To support the recovery of wild populations, the Peruvian government implemented Ministerial Resolution N° 00107-2022-PRODUCE (2022), which established a minimum catch size of 60 mm shell length and introduced a closed fishing season for reproduction, growth, and recruitment from February 1 to March 31 each year (45 days). While this regulation represents a positive step toward conservation, additional strategies are needed to enhance and restore natural populations (ARNOLD, 2008; BELL *et al.*, 2005). Further, it is important to explore the potential of this species for aquaculture development.

Successful aquaculture requires a steady and reliable supply of seed. For bivalve mollusks, hatchery-based seed production is particularly promising due to their high reproductive output

especies (DIRINGER *et al.*, 2019). Sin embargo, su reproducción y larvicultura en condiciones controladas, es afectada por diferentes factores, siendo la temperatura uno de los más importantes.

El método preferido para la inducción al desove en las diferentes especies de bivalvos es el shock térmico debido a que es menos invasivo y produce larvas de buena calidad; este método ha sido implementado en la reproducción controlada de pectínidos (DIONICIO-ACEDO *et al.*, 2021; MARTÍNEZ & PÉREZ, 2003) ostras (MAGAÑA-CARRASCO *et al.*, 2018; ROBLES *et al.*, 2020) y arcas (DIRINGER *et al.*, 2019; VERGARA MIRANDA & NUESTRO FERRIOLS, 2023).

En los laboratorios especializados en el cultivo de larvas de moluscos bivalvos, se emplea generalmente un régimen alimenticio basado en microalgas como alimento vivo. Este régimen incluye diversas especies entre las que destacan los géneros *Isochrysis* spp. y *Pavlova* spp., así como las diatomeas del género *Chaetoceros* (HELM *et al.*, 2006). Estas cepas son relevantes para la cría de larvas ya que su pequeño tamaño facilita la ingesta y digestión (MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ & SOUTHGATE, 2007) y por su perfil nutricional balanceado (BROWN *et al.*, 1989) particularmente rico en ácidos grasos altamente insaturados (EHTESHAMI *et al.*, 2011).

El objetivo de este estudio fue aplicar métodos de inducción para el desove, obtener gametos viables, efectuar ensayos de larvicultura y obtener semillas de *Larkinia grandis*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Colección y acondicionamiento de reproductores

Se colectaron ejemplares de *Larkinia grandis* con longitud valvar (LV) de $76,8 \pm 15,7$ mm, en los que se verificó el grado de madurez gonadal, utilizando la escala de madurez gonadal macroscópica descrita por TITO *et al.* (2022). Los reproductores seleccionados fueron acondicionados durante 25 días, en los que se alimentó con una combinación de microalgas (*Isochrysis galbana*, *Diacronema lutheri*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros gracilis*, *Nannochloropsis oculata* y *Thalassiosira weissflogii*) en una concentración superior a 340×10^4 cel/mL/día/reproductor, aplicada dos veces al día (mañana y tarde).

(DIRINGER *et al.*, 2019). However, controlled reproduction and larval rearing are influenced by several factors, with temperature being one of the most critical.

Among spawning induction methods, thermal shock is widely preferred for bivalves because it is less invasive and tends to yield high-quality larvae. This technique has been successfully applied in the controlled reproduction of pectinids (DIONICIO-ACEDO *et al.*, 2021; MARTÍNEZ & PÉREZ, 2003), oysters (MAGAÑA-CARRASCO *et al.*, 2018; ROBLES *et al.*, 2020), and ark clams (DIRINGER *et al.*, 2019; VERGARA MIRANDA & NUESTRO FERRIOLS, 2023).

In specialized bivalve hatcheries, larval feeding protocols typically rely on live microalgae, particularly species from the genera *Isochrysis* spp. and *Pavlova* spp., as well as diatoms from the genus *Chaetoceros* (HELM *et al.*, 2006). These microalgae are well-suited to larval culture due to their small cell size, which facilitates ingestion and digestion (MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ & SOUTHGATE, 2007), and their balanced nutritional profile (BROWN *et al.*, 1989), especially their high content of essential polyunsaturated fatty acids (EHTESHAMI *et al.*, 2011).

This study aims to apply spawning induction methods, obtain viable gametes, conduct larval culture trials, and produce *Larkinia grandis* seed under controlled laboratory conditions.

2. MATERIALS AND METHODS

Collection and Conditioning of Broodstock

Larkinia grandis specimens with an average shell length (SL) of 76.8 ± 15.7 mm were collected. Gonadal maturity was verified using the macroscopic gonadal maturity scale described by TITO *et al.* (2022). Selected broodstock were conditioned for 25 days and fed a mixed microalgae diet consisting of *Isochrysis galbana*, *Diacronema lutheri*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros gracilis*, *Nannochloropsis oculata*, and *Thalassiosira weissflogii*, provided at a concentration exceeding 340×10^4 cells/mL/day/breeder, administered twice daily (morning and afternoon).

Inducción al desove

La inducción fue desarrollada mediante una combinación de estímulos de desecación y shock térmico, (exposición al aire y al sol por una hora para desecación; inmersión en agua a 32 °C por ocho horas correspondiente al shock térmico); previamente, se realizó limpieza de los reproductores con ayuda de una escobilla para separar los restos de microalgas y epibiontes adheridos a las valvas. Los reproductores fueron colocados en tanques de fibra de vidrio que contenía agua de mar filtrada a 1 µm y esterilizada mediante luz ultravioleta (UV), a temperatura de 32 °C que fue regulada por termostatos de 500 watts (Fig. 1).

Los reproductores que empezaron a desovar fueron colocados individualmente en recipientes de 4 L, con agua de mar filtrada (1 µm) y esterilizada (UV) manteniendo la misma temperatura a la cual inició el desove. Se estimó el porcentaje de organismos desovados, el tiempo que tardaron en responder al estímulo inductor y el número de gametos (óvulos y espermatozoides) liberados. Para el conteo de gametos, se seleccionaron tres sub muestras de 1 mL en una cámara Sedgewick Rafter (óvulos) una placa Neubauer (espermatozoides) que fueron observados en un microscopio LEICA DM 1000.

Spawning Induction

Spawning was induced using a combination of desiccation and thermal shock. For desiccation, the broodstock were exposed to air and sunlight for one hour, followed by immersion in seawater at 32 °C for eight hours as the thermal shock. Prior to induction, the broodstock were thoroughly cleaned using soft brushes to remove residual microalgae and epibionts from the shell surface. Induction was performed in fiberglass tanks filled with seawater filtered to 1 µm and sterilized using ultraviolet (UV) light, maintained at 32 °C with 500-watt thermostats (Fig. 1).

Individuals that initiated spawning were transferred to 4-liter containers filled with similarly treated seawater at the same temperature at which spawning began. The spawning response rate, latency period, and number of gametes (oocytes and spermatozoa) released were recorded. Gamete counts were performed on three 1 mL subsamples using a Sedgewick Rafter chamber for oocytes and a Neubauer chamber for spermatozoa, observed under a LEICA DM 1000 microscope.

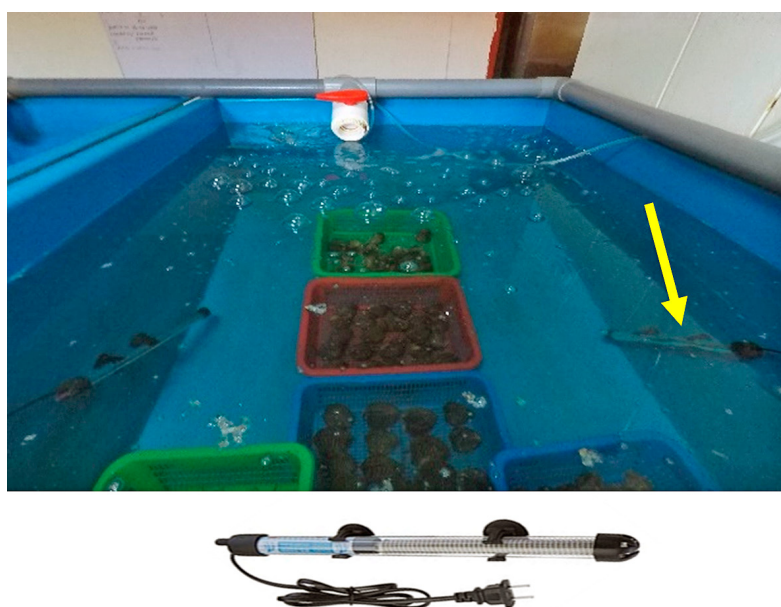


Figura 1.- Proceso para inducción al desove, tanques de fibra de vidrio con termostatos

Figure 1. Spawning induction process, fiberglass tanks with thermostats

Fertilización

Los óvulos fueron lavados utilizando tamices de 100 y 25 μm y posteriormente colocados en un recipiente de 20 L con agua de mar filtrada (1 μm) y esterilizada mediante UV. Se seleccionó la muestra de espermatozoides que presentó las mejores condiciones en cantidad y movilidad y se mezcló con los óvulos en una proporción de 10:1 (espermatozoides: óvulo); se mezclaron mediante agitación manual y se dejó reposar por 15 minutos. Se determinó el porcentaje de fecundación analizando 3 submuestras de 1 mL en una cámara Sedgewick Rafter, contando el número de cigotos (huevos con expulsión de cuerpo polar) en relación al número de óvulos producidos.

Desarrollo embrionario

Los óvulos fecundados fueron sembrados en tanques cilíndricos de fibra de vidrio de 1200 litros, sin alimento y con flujo de aire leve. Cada 30 minutos, se colectaron muestras de cada tanque de cultivo para observar el desarrollo embrionario. El agua de mar utilizada fue filtrada (1 μm) y esterilizada con luz ultravioleta UV, se registró temperatura de 26,47 °C, oxígeno disuelto de 4,03 mg/L, pH de 7,86 y salinidad de 30,95. A las 24 horas, cuando las larvas alcanzaron el estadio Veliger (larva D) los tanques se drenaron (Fig. 2) y las larvas en suspensión se recuperaron utilizando un tamiz de 45 μm , las que se colocaron en un recipiente de 20 L con agua de mar filtrada y esterilizada con UV. Se contó el número de larvas D con la misma metodología descrita para el conteo de cigotos y se determinó el porcentaje de larvas D en relación al número de cigotos inicialmente sembrados.

Fertilization

Oocytes were rinsed using 100 μm and 25 μm mesh sieves and transferred to 20-liter containers with UV-sterilized, 1 μm filtered seawater. The sperm sample with the highest concentration and motility was selected and mixed with oocytes at a ratio of 10:1 (sperm: oocyte). The gametes were gently stirred and allowed to fertilize for 15 minutes. Fertilization success was assessed by analyzing three 1 mL subsamples in a Sedgewick Rafter chamber, calculating the percentage of zygotes (eggs showing polar body extrusion) relative to the total oocytes.

Embryonic Development

Fertilized oocytes were transferred to 1200-liter cylindrical fiberglass tanks without food, under mild aeration. Samples were collected every 30 minutes from each tank to monitor embryonic development. The seawater used was filtered (1 μm), UV-sterilized, and maintained at 26.47 °C, with dissolved oxygen at 4.03 mg/L, pH 7.86, and salinity of 30.95. After 24 hours, when larvae reached the veliger (D-larva) stage, the tanks were drained (Fig. 2) and the free-swimming larvae were recovered using a 45 μm sieve. The larvae were then transferred to 20-liter containers with filtered, UV-sterilized seawater. D-larvae counts were performed using the same methodology described for zygote counts, and the percentage of D-larvae was calculated in relation to the initial number of zygotes.

Figura 2.- Drenado de tanques y colecta de larvas en tamices

Figure 2. Draining of tanks and collection of larvae in sieves



Desarrollo larval

Las larvas D fueron sembradas en tanques cilíndrico-cónicos a densidad de 4 larvas/mL con aireación moderada, empleando agua de mar filtrada (1 μ m) y esterilizada (UV), registrando temperatura de $25,40 \pm 0,36$ °C, oxígeno disuelto $4,29 \pm 0,28$ mg/L, pH $8,26 \pm 0,05$ y salinidad $30,40 \pm 0,36$.

En esta etapa se inició la alimentación, con una dieta de microalgas conformada por *Isochrysis galbana* (100%) hasta el día cuatro; luego se adicionó *Chaetoceros gracilis* en proporción ascendente conforme a la alimentación sugerida para el género *Anadara* por VÁSQUEZ *et al.* (2009). Los recambios de agua y limpieza de los tanques se efectuaron diariamente al 100% utilizando agua de mar filtrada (1 μ m) y esterilizada; las larvas fueron retenidas en tamices utilizando malla nytal que fueron cambiando a medida que la larva fue creciendo (45, 65, 75, 100, 120, y 150 μ m). Después de haber colectado las larvas en los tamices, se procedió al enjuague con agua de mar limpia y puestas en recipientes de 20 L.

Para determinar la supervivencia y crecimiento larvario, cada 24 horas se colectaron muestras (tres de 1 mL) del recipiente de 20 L, efectuando un conteo total de larvas; se empleó la misma metodología descrita para el conteo de óvulos. Además, se registró la longitud de la valva (LV) y altura de la valva (AV) de 15 larvas seleccionadas al azar. Las larvas fueron observadas y fotografiadas utilizando un microscopio LEICA DM 1000, con cámara digital ICC50W.

Fijación larval

Luego de verificar presencia de larvas pediveliger, éstas fueron sembradas en tanques de fibra de vidrio de 600 L, usando como sustrato para fijación valvas de *L. grandis* colocadas en el fondo del tanque, las que previamente fueron envejecidas y enriquecidas con microalgas durante dos semanas, antes de colocar las larvas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Acondicionamiento de reproductores

El acondicionamiento gonadal en moluscos bivalvos representa una etapa crítica para garantizar el éxito reproductivo en cultivo, ya que permite disponer de reproductores maduros y viables capaces de generar gametos de calidad en cualquier

Larval Development

D-larvae were stocked in conical-cylindrical tanks at a density of 4 larvae/mL under moderate aeration, using filtered (1 μ m), UV-sterilized seawater maintained at 25.40 ± 0.36 °C, dissolved oxygen 4.29 ± 0.28 mg/L, pH 8.26 ± 0.05 , and salinity 30.40 ± 0.36 .

Larval feeding began at this stage, initially with *Isochrysis galbana* (100%) until day four, after which *Chaetoceros gracilis* was gradually introduced, following the dietary protocols recommended for the genus *Anadara* by VÁSQUEZ *et al.* (2009). Daily water exchanges and tank cleaning were performed at 100% using filtered and UV-sterilized seawater. Larvae were retained on nylon mesh sieves, with mesh sizes progressively increased as larvae grew (45, 65, 75, 100, 120, and 150 μ m). After sieving, larvae were rinsed with clean seawater and transferred to 20-liter containers.

To assess larval survival and growth, samples were taken every 24 hours (three 1 mL subsamples) from each 20-liter container for total larval counts, following the same methodology used for oocyte counting. Additionally, shell length (SL) and shell height (SH) were measured for 15 randomly selected larvae. Observations and photographs were taken using a LEICA DM 1000 microscope equipped with an ICC50W digital camera.

Larval Settlement

Once the presence of pediveliger larvae was confirmed, they were transferred to 600-liter fiberglass tanks for settlement. *Larkinia grandis* shells, previously aged and enriched with microalgae for two weeks, were placed at the bottom of the tanks to serve as settlement substrate.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Broodstock Conditioning

Gonadal conditioning in bivalve mollusks is a critical step to ensure reproductive success in aquaculture, as it provides mature, viable broodstock capable of producing high-quality gametes year-round (VÁSQUEZ *et al.*, 2009). In

época del año (VÁSQUEZ *et al.*, 2009). En condiciones naturales, muchas especies del orden Arcida presentan asincronía reproductiva, con presencia de individuos en diferentes estadios de madurez gonadal a lo largo del año, como ocurre con *Anadara tuberculosa* y *A. similis* (ORDINOLA ZAPATA, 2022). En el caso de *Larkinia grandis*, se ha registrado actividad reproductiva continua durante el año, con un pico principal entre enero y mayo, coincidente con la temporada lluviosa (IMARPE, 2022), lo que sugiere un patrón de desove parcial asincrónico (TITO *et al.*, 2022).

Nuestros resultados experimentales confirman la importancia del acondicionamiento bajo condiciones controladas. Tras 25 días de mantenimiento en laboratorio, los ejemplares de *L. grandis* alimentados con una mezcla de seis especies de microalgas *Isochrysis galbana*, *Diacronema lutheri*, *Chaetoceros calcitrans*, *C. gracilis*, *Nannochloropsis oculata* y *Thalassiosira weissflogii* a una concentración superior a $3,4 \times 10^6$ células/mL/día/reproductor y bajo parámetros ambientales controlados (temperatura: $26,82 \pm 0,26$ °C; oxígeno disuelto: $4,31 \pm 0,30$ mg L; salinidad: $29,85 \pm 3,32$), se observó un incremento del 10 % en la proporción de individuos en fase madura (Fase III) y desovante (Fase IV). Además, se alcanzó el 95 % de supervivencia, lo que evidencia la tolerancia de la especie a condiciones de cautiverio y la eficacia de la dieta administrada.

Estos resultados concuerdan con lo señalado por VÁSQUEZ *et al.* (2009) quienes destacan la necesidad de un adecuado acondicionamiento para garantizar el éxito en la inducción al desove en especies de *Anadara*. Asimismo, estudios previos en *L. grandis* y especies afines han utilizado periodos variables de aclimatación, desde tres días a temperaturas cercanas a 20 °C (CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.*, 2007) hasta nueve días en *Anadara* spp. Sin embargo, aunque los individuos alcanzaron la madurez gonadal, es importante considerar que el estrés asociado al confinamiento puede inducir la reabsorción de los productos sexuales, afectando la viabilidad de los gametos y limitando el éxito del desove.

Inducción al desove

En esta investigación, se empleó una combinación de desecación (exposición al aire y al sol por una hora) seguida de un shock térmico (inmersión en agua a 32 °C por ocho horas), estrategia que ha sido previamente reportada como efectiva en bi-

natural environments, many species within the order Arcida exhibit reproductive asynchrony, with individuals found in various stages of gonadal maturity throughout the year, as seen in *Anadara tuberculosa* and *A. similis* (ORDINOLA ZAPATA, 2022). For *Larkinia grandis*, continuous reproductive activity has been recorded year-round, with a primary spawning peak between January and May, coinciding with the rainy season (IMARPE, 2022), suggesting a partially asynchronous spawning pattern (TITO *et al.*, 2022).

Our experimental results highlight the importance of controlled conditioning. After 25 days of laboratory maintenance, *L. grandis* specimens fed a mixed diet of six microalgae species (*Isochrysis galbana*, *Diacronema lutheri*, *Chaetoceros calcitrans*, *C. gracilis*, *Nannochloropsis oculata*, and *Thalassiosira weissflogii*) at concentrations exceeding 3.4×10^6 cells/mL/day/breeder, under controlled environmental conditions (temperature: 26.82 ± 0.26 °C; dissolved oxygen: 4.31 ± 0.30 mg/L; salinity: 29.85 ± 3.32), showed a 10% increase in the proportion of individuals reaching mature (Stage III) and spawning (Stage IV) phases. Survival reached 95%, indicating both the species' tolerance to captivity and the effectiveness of the administered diet.

These findings support the conclusions of VÁSQUEZ *et al.* (2009), who emphasized the need for adequate conditioning to achieve successful spawning in *Anadara* species. Previous studies on *L. grandis* and related species have reported variable acclimation periods, ranging from three days at approximately 20 °C (CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.*, 2007) to nine days in *Anadara* spp. Nevertheless, even when gonadal maturity is achieved, stress from captivity can lead to gamete resorption, reducing gamete viability and limiting spawning success.

Spawning Induction

Spawning was induced using a combination of desiccation (air and sun exposure for one hour) followed by thermal shock (immersion in water at 32 °C for eight hours), a method previously proven effective in tropical bivalves (VÁSQUEZ *et al.*, 2009 and LOOR MERA, 2012). This technique successfully induced spawning in 47.37% of

valvos tropicales por VÁSQUEZ *et al.* (2009) y LOOR MERA (2012). Esta combinación resultó ser efectiva para *L. grandis*, logrando inducir el desove en el 47,37 % de los 95 reproductores estimulados. El grupo desovante estuvo compuesto por 56 % de hembras y 44 % de machos, siendo estos últimos los primeros en liberar gametos, patrón también observado en otros bivalvos, posiblemente relacionado con las diferencias fisiológicas entre sexos en cuanto al umbral de activación.

El tiempo promedio de respuesta al estímulo fue de 23 ± 5 horas, y la producción de ovocitos alcanzó valores de $23,1 \pm 5,8 \times 10^6$ ovocitos por hembra, cifras mayores a las reportadas para otras especies de árcidos. Por ejemplo, PALMA PONCE (2022) informó tasas de inducción del 21 % en Puerto El Morro y del 11 % en San Lorenzo para *Anadara tuberculosa*, con una producción media de 0,41 millones de ovocitos por hembra en San Lorenzo y 0,33 millones en Puerto El Morro. Estas diferencias podrían atribuirse a factores como el tamaño y la condición fisiológica de los reproductores, la calidad del acondicionamiento previo y el grado de madurez de los gametos.

Los resultados obtenidos en *L. grandis* sugieren que esta especie posee alta capacidad reproductiva bajo condiciones controladas, cuando se le aplica una combinación adecuada de estímulos exógenos. Asimismo, se refuerza la hipótesis de que el desove en bivalvos no depende exclusivamente de factores endógenos, sino que responde a una interacción compleja entre señales internas (estado de madurez gonadal, reservas energéticas) y externas (temperatura, salinidad, disponibilidad de alimento, entre otras) como lo ha señalado LOOR MERA (2012).

Fertilización

La fertilización de óvulos de *L. grandis* se llevó a cabo en proporción de 10:1 (espermatozoides: óvulo) siguiendo las recomendaciones generales para bivalvos. Quince minutos después de la adición de los espermatozoides, se observó la formación del primer cuerpo polar, lo que confirmó el proceso de fertilización. El porcentaje de óvulos fecundados fue de 65,7 %, valor que se considera alto en comparación con otros estudios realizados en especies de la misma familia Arcidae.

Estos resultados superan los obtenidos por CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.* (2007) quienes reportaron una tasa de fertilización del 52 % para *Anadara grandis*, y PALMA PONCE (2022) quien obtuvo 56 %

the 95 broodstock tested. Of the spawning individuals, 56% were females and 44% were males, with males typically releasing gametes first—a common pattern in bivalves, possibly related to sex-specific physiological activation thresholds.

The average response time to induction was 23 ± 5 hours, and the average oocyte production reached $23.1 \pm 5.8 \times 10^6$ oocytes per female—substantially higher than reported for other arcid species. For example, PALMA PONCE (2022) recorded induction rates of 21% in Puerto El Morro and 11% in San Lorenzo for *Anadara tuberculosa*, with an average oocyte production of 0.41 million per female in San Lorenzo and 0.33 million in Puerto El Morro. These differences may reflect variations in broodstock size, physiological condition, the quality of pre-conditioning, and gamete maturity.

The results obtained for *L. grandis* indicate a high reproductive capacity under controlled conditions when appropriate exogenous stimuli are applied. They also support the hypothesis that spawning in bivalves is influenced by a complex interaction between endogenous factors (gonadal maturity, energy reserves) and exogenous cues (temperature, salinity, food availability), as noted by LOOR MERA (2012).

Fertilization

Fertilization was performed using a sperm-to-oocyte ratio of 10:1, consistent with standard practices for bivalves. Fifteen minutes after sperm addition, the formation of the first polar body was observed, confirming successful fertilization. The fertilization rate reached 65.7%, which is considered high compared to other studies within the family Arcidae.

These results surpass those reported by CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.* (2007) quienes reportaron una tasa de fertilización del 52 % para *Anadara grandis*, and PALMA PONCE (2022) who reported rates of 56% in San Lorenzo and 60% in Puerto El Morro for *A. tuberculosa*. This difference is likely related to the larger broodstock size in the present study (average shell length ≥ 60 mm), which exceeds the minimum size at sexual maturity for *L. grandis* (58.6 mm SL) as reported by IMARPE (2022).

en San Lorenzo y 60 % en Puerto El Morro para *A. tuberculosa*. Esta diferencia podría explicarse, al menos en parte, por el tamaño de los reproductores utilizados en el presente estudio, los cuales presentaron una longitud valvar promedio ≥ 60 mm, valor superior al reportado como longitud mínima de madurez sexual para *L. grandis* (58,6 mm LV) según datos de IMARPE (2022).

LOOR MERA (2012) señala que el tamaño de los reproductores es un factor crítico en el éxito de la fertilización, ya que está estrechamente relacionado con la madurez gonadal, la cantidad y calidad de los gametos, así como con la viabilidad de las larvas resultantes. Además, la calidad del acondicionamiento previo al desove, incluyendo la temperatura, salinidad, densidad de cultivo y especialmente la calidad y cantidad del alimento administrado influye significativamente en el desarrollo gametogénico y en la competencia fecundante de los gametos.

En este contexto, el elevado porcentaje de fertilización alcanzado en *L. grandis*, no solo indica un protocolo eficiente de inducción y manejo reproductivo, sino también, un adecuado acondicionamiento de los reproductores. Esto sugiere que, bajo condiciones controladas óptimas, esta especie puede alcanzar altos niveles de fertilización, lo cual es alentador para su potencial cultivo y programas de repoblamiento.

Desarrollo embrionario

El desarrollo embrionario se inició con la formación del cigoto aproximadamente 15 minutos después de la fertilización, marcando el inicio de una serie de divisiones celulares rápidas. La primera y segunda división del cigoto ocurrieron de manera secuencial, dando lugar a los estadios de mórula y blástula. A continuación, se desarrolló la larva trocófora, una etapa embrionaria característica de los moluscos bivalvos, hasta alcanzar el estadio de larva veliger (también denominada larva D) la cual se observó a las 15 horas post-fecundación.

Estas observaciones coinciden con lo reportado por CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.* (2007) para *A. grandis*. Del mismo modo, los tiempos y las fases descritas son congruentes con las observaciones realizadas por BAUTISTA (1989) en otros géneros de bivalvos, lo que sugiere que el patrón de desarrollo embrionario en *L. grandis* sigue una secuencia normal descrita dentro del grupo (Tabla 1).

LOOR MERA (2012) emphasized that broodstock size is a critical factor for fertilization success, as it is closely tied to gonadal maturity, gamete quality, and larval viability. Additionally, the success of fertilization is strongly influenced by the quality of pre-spawning conditioning, particularly environmental factors (temperature, salinity, stocking density) and nutritional management.

The high fertilization rates achieved in *L. grandis* demonstrate both the efficiency of the induction protocol and the suitability of the broodstock conditioning process. These results suggest that under optimized laboratory conditions, *L. grandis* can achieve consistently high fertilization success, which is promising for aquaculture development and stock enhancement initiatives.

Embryonic Development

Embryonic development began approximately 15 minutes after fertilization with the formation of the zygote, followed by rapid successive cell divisions. The first and second cleavages led to the morula and blastula stages, progressing to the trochophore larva, a typical stage in bivalve mollusks. The veliger (D-larva) stage was observed 15 hours post-fertilization.

These developmental timelines align with those reported by CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.* (2007) for *A. grandis* and are consistent with the descriptions provided by BAUTISTA (1989) for other bivalve genera, indicating that *L. grandis* follows the typical embryonic sequence established for the group (Table 1).

The rapid progression to the veliger stage within 15 hours suggests excellent gamete quality and optimal environmental conditions during incubation. Stable temperatures (26–28 °C), adequate dissolved oxygen levels (> 4 mg/L), and the absence of osmotic stress were critical to maintaining embryonic viability throughout this stage.

The successful production of viable veliger larvae within a relatively short timeframe has significant implications for seed production in aquaculture systems. This rapid development optimizes the initial larval rearing period and minimizes mortality risks associated with prolonged embryonic stages.

Tabla 1.- Desarrollo embrionario de *Larkinia grandis* (temperatura 26,47 °C, oxígeno disuelto 4,03 mg.L, pH 7,86 y salinidad 30,95)

Table 1. Embryonic development of *Larkinia grandis* (temperature 26.47 °C, dissolved oxygen 4.03 mg.L, pH 7.86, and salinity 30.95)

Etapas embrionarias observadas Embryonic stage observed	Tiempo post fertilización Time Post-Fertilization	Diámetro $\bar{x} \pm D$ S(μ m) Diameter $\bar{x} \pm S$ D(μ m)
Óvulo	-	58,5 $\pm$ 1,1
Cigoto	15 - 30 min	-
Primera división	30 - 45 min	-
Segunda división	45 - 70min	-
Mórula	2 - 4 h	-
Blástula	4 - 7 h	-
Larva trocófora	8 - 14 h	74,3 $\pm$ 1,6
Larva D	15 - 20 h	97,5 $\pm$ 3,8 *

D.S.=Desviación estándar / S.D. Standard deviation

* Longitud / Length

La rápida progresión del desarrollo embrionario en *L. grandis*, alcanzando el estadio veliger en tan solo 15 horas, indica un buen estado fisiológico de los gametos fecundados y condiciones ambientales favorables durante la incubación. Factores como la temperatura estable (26–28 °C), niveles adecuados de oxígeno disuelto (> 4 mg L) y ausencia de estrés osmótico durante este periodo, fueron claves para mantener la viabilidad embrionaria.

El éxito en la obtención de larvas veliger viables en un tiempo relativamente corto tiene implicaciones importantes para la producción de semilla en sistema de cultivo, ya que permite optimizar el tiempo de cultivo larvario inicial y reducir los riesgos de mortalidad asociados a etapas embrionarias prolongadas.

Desarrollo larval

Se obtuvo 49,7% de larvas veliger, lo que permitió iniciar el cultivo larvario bajo condiciones controladas. El crecimiento larval mostró progresión definida a través de los distintos estadios ontogenéticos, desde la larva D hasta la etapa pediveliger. La Tabla 2 resume los estadios larvarios observados y las tallas promedio alcanzadas. El crecimiento en longitud valvar (LV) evidenció un patrón exponencial, con tasas de incremento diario que variaron entre 6,4 μ m en la etapa inicial (larva D) hasta 15,6 μ m en la etapa umbonada tardía. En la fase final del cultivo, correspondiente a la larva pediveliger, se registró una tasa de crecimiento diario de 10 μ m (Fig. 3).

Larval Development

A veliger larval yield of 49.7% was obtained, enabling the initiation of larval culture under controlled conditions. Larval growth exhibited a clear progression through distinct ontogenetic stages, from D-larvae to the pediveliger stage. Table 2 summarizes the observed larval stages and corresponding mean sizes. Shell length (SL) growth followed an exponential pattern, with daily growth rates ranging from 6.4 μ m during the initial D-larva stage to 15.6 μ m during the late umbonate stage. In the final culture phase, corresponding to the pediveliger stage, the daily growth rate was 10 μ m (Fig. 3).

The cumulative survival from D-larva to the pediveliger stage was 48.5%, a figure comparable to survival rates reported for other bivalve species: 58.7% for *Anadara grandis* (CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.*, 2007), 64% for *A. tuberculosa* (DIRINGER *et al.*, 2019), and 53.1% for *Striostrea prismatica* (VÁSQUEZ *et al.*, 2009; ROBLES *et al.*, 2020). This survival rate may be attributed to several critical factors, including: a) the quality and proportional mix of microalgae provided as feed; b) sanitary management practices, including proper system disinfection and timely replacement of mesh screens to prevent organic matter buildup and protozoan proliferation. Overall, these results confirm that *L. grandis* exhibits efficient larval development under controlled culture conditions, with biological performance comparable to other bivalves cultivated in the Eastern Tropical Pacific.

Tabla 2.- Desarrollo larval de *Larkinia grandis* (temperatura $25,40 \pm 0,36$ °C, oxígeno disuelto $4,29 \pm 0,28$ mg/L, pH $8,26 \pm 0,05$, salinidad $30,40 \pm 0,36$)Table 2. Larval development of *Larkinia grandis* (Temperature: 25.40 ± 0.36 °C, Dissolved Oxygen: 4.29 ± 0.28 mg/L, pH: 8.26 ± 0.05 , Salinity: 30.40 ± 0.36)

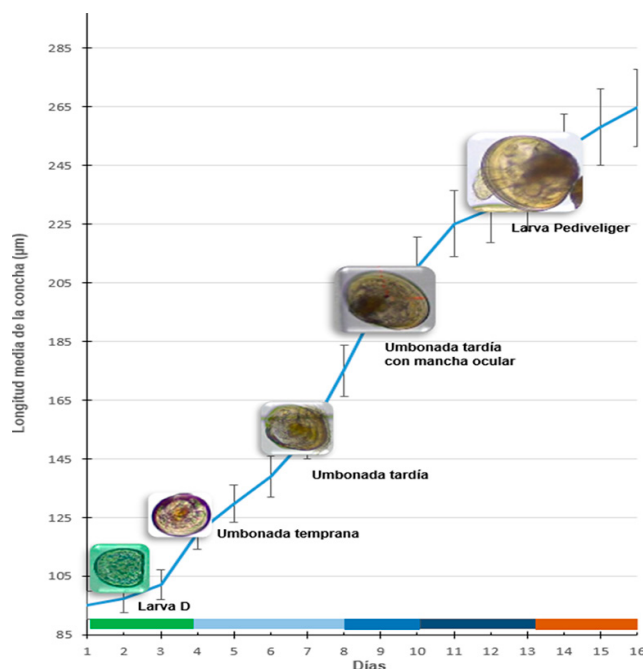
Días después de la fertilización	Estadio larval	Talla de la larva	
		Longitud valvar Promedio $\pm$ D.S.(μ m)	Altura valvar Promedio $\pm$ D.S.(μ m)
1	Larva D	97,5 $\pm$ 3,8	75,0 $\pm$ 4,2
4	Larva umbonada temprana	105,3 $\pm$ 2,8	83,8 $\pm$ 3,3
8	Larva umbonada tardía	127,2 $\pm$ 10,5	105,2 $\pm$ 9,1
10	Larva umbonada con mancha ocular	176,8 $\pm$ 9,5	139,1 $\pm$ 7,9
13	Larva Pediveliger	234,57 $\pm$ 12,5	168,66 $\pm$ 10,4
16	Larva Pediveliger	264,54 $\pm$ 48,4	183,84 $\pm$ 29,9
18 - 20	Larva recién fijada	425,88 $\pm$ 58,4	-

D.S. = Desviación estándar

La supervivencia acumulada desde la etapa de larva D hasta pediveliger fue de 48,5%, valor que se encuentra dentro del rango reportado para el cultivo de otras especies de bivalvos: 58,7% para *Anadara grandis* (CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.*, 2007), 64% para *A. tuberculosa* (DIRINGER *et al.*, 2019) y 53,1% para *Striostrea prismatica* (VÁSQUEZ *et al.*, 2009; ROBLES *et al.*, 2020). Esta supervivencia puede atribuirse a varios factores críticos durante el proceso, como: a) calidad y proporción de microalgas suministradas como alimento; b) las prácticas de manejo sanitario, incluyendo la adecuada desinfección de los sistemas y el cambio oportuno de tamices para evitar la acumulación de materia orgánica y la proliferación de protozoarios. En conjunto, estos resultados confirman que *L. grandis* presenta un desarrollo larval eficiente bajo condiciones adecuadas de cultivo, y que su desempeño biológico es comparable al de otros bivalvos cultivados en el Pacífico tropical oriental.

Fijación larval

En esta etapa a los 20 días de cultivo después de la fertilización, se registró supervivencia del 48,7% de post larvas recién fijadas, con longitud valvar promedio de $425,9 \pm 58,4$ μ m (Tabla 2, Fig. 4). Esta tasa de supervivencia es inferior a la reportada por CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.* (2007), quienes refieren supervivencia de 58,67% y tasa de fijación de 52,79% utilizando sustratos de valvas (VN) envejecidas durante tres meses, lo que permitió el desarrollo de biopelículas beneficiosas para la adhesión valvar ante la formación de microambientes favorables.

Figura 3.- Crecimiento larvario en longitud media (μ m) de *Larkinia grandis*. Barra de colores representa el tiempo de cada estadioFigure 3. Larval growth in mean length (μ m) of *Larkinia grandis*. Colored bar represents the time of each stage

Larval Settlement

After 20 days of culture post-fertilization, a settlement survival rate of 48.7% was recorded for newly settled post-larvae, with an average shell length of 425.9 ± 58.4 μ m (Table 2, Fig. 4). This survival rate is slightly lower than that reported by CASTILLO HENRÍQUEZ *et al.* (2007), who documented a 58.67% survival and a 52.79% settlement rate using aged shell substrates (VN) conditioned for three months, which promoted the development of beneficial biofilms that facilitated larval adhesion by creating favorable microenvironments.

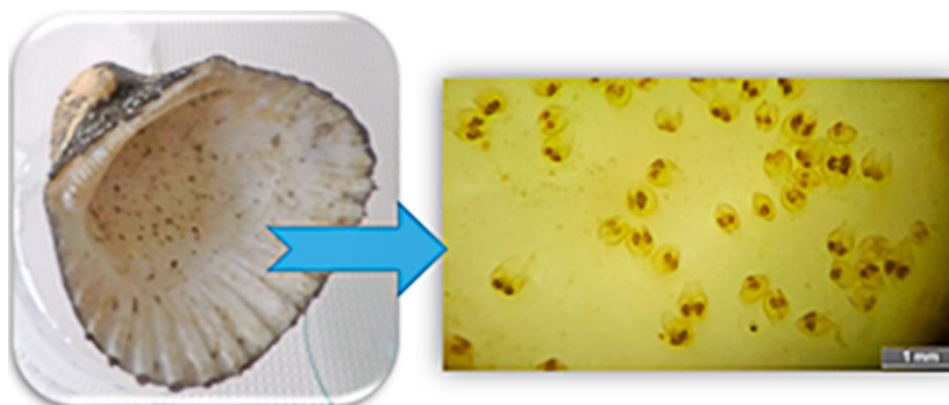


Figura 4.- Valvas utilizadas para la fijación, y a la derecha, post larvas recién fijadas de *Larkinia grandis*

Figure 4. Valvae used for settlement, and on the right, post-fixed *Larkinia grandis* larvae

Por otro lado, VÁSQUEZ *et al.* (2009) reportan que, en cultivos de árcidos sin presencia de sustratos, la supervivencia larval puede variar entre el 20 y 50%, destacando que, bajo estas condiciones, las larvas simplemente se asientan en el fondo del tanque, sin un estímulo físico para su fijación definitiva. De manera similar DIRINGER *et al.* (2019) documentaron tasas de supervivencia significativamente más bajas en *A. tuberculosa*, con valores entre 4% y 25%, con promedio de 11,8% desde la etapa pediveliger hasta semilla (0,6 a 1 mm) en un periodo de 20 a 25 días de cultivo.

En el presente estudio se favoreció intencionalmente la formación de biopelículas sobre las valvas utilizadas como sustrato, también conocidas con perifiton, con el objetivo de mejorar las condiciones de fijación larval. Esta estrategia ha sido informada por BALTAZAR *et al.* (1999) quienes señalan que la presencia de perifiton estimula la fijación al proporcionar señales químicas y físicas clave para el asentamiento larval exitoso.

4. CONCLUSIONES

El acondicionamiento de *Larkinia grandis* en condiciones controladas de temperatura, oxígeno, salinidad y con una dieta basada en una mezcla específica de microalgas, permitió alcanzar alta supervivencia (95%) de los reproductores e inducción de madurez gonadal en el 10% de los individuos. Estos resultados evidenciaron la efectividad de las técnicas empleadas, así como la factibilidad de inducir la madurez de los reproductores en un periodo relativamente corto, lo cual es crucial para el establecimiento de ciclos reproductivos artificiales eficientes.

VÁSQUEZ *et al.* (2009) reported that in arcid cultures without settlement substrates, larval survival can vary between 20% and 50%, noting that under these conditions, larvae simply settle on the tank bottom without any physical cue for definitive attachment. Similarly, DIRINGER *et al.* (2019) documented significantly lower survival rates in *A. tuberculosa*, ranging from 4% to 25%, with an average of 11.8% from the pediveliger stage to seed size (0.6 to 1 mm) over a 20 to 25-day culture period.

In this study, the intentional promotion of biofilm formation (periphyton) on the shell substrates was a deliberate strategy to improve larval settlement conditions. This approach has been previously reported by BALTAZAR *et al.* (1999), who noted that periphyton provides essential chemical and physical cues that stimulate larval settlement and enhance attachment success.

4. CONCLUSIONS

The conditioning of *Larkinia grandis* under controlled temperature, oxygen, and salinity conditions, combined with a specific microalgal diet, resulted in high broodstock survival (95%) and induced gonadal maturation in 10% of the individuals. These results demonstrate the effectiveness of the conditioning techniques and confirm the feasibility of inducing broodstock maturation within a relatively short period, which is essential for establishing efficient artificial reproductive cycles.

La técnica combinada de desecación y shock térmico resultó ser eficaz para inducir el desove, con una tasa de respuesta del 47,37%. La observación de que los machos liberan gametos antes que las hembras y la alta producción de ovocitos, sugieren la influencia significativa de factores endógenos (estado fisiológico) y externos (estímulo ambiental) en la sincronización del desove, destacando la necesidad de protocolos estandarizados para maximizar la eficiencia reproductiva.

La tasa de fertilización alcanzada (65,7%) con una proporción espermática de 10:1, y el uso de reproductores seleccionados por su tamaño y madurez gonadal, demuestra que la calidad en la selección y acondicionamiento de los reproductores impacta directamente en el éxito del proceso reproductivo. Esta relación confirma la importancia de criterios biométricos y fisiológicos en la selección de parentales para mejorar la viabilidad de los gametos.

El cultivo larvario bajo condiciones estandarizadas de densidad, alimentación y calidad del agua permitió obtener un crecimiento larvario sostenido, con tasas de desarrollo comparables a las reportadas para otros bivalvos de interés acuícola. La supervivencia larval acumulada del 48,5% desde larva D hasta larva pediveliger confirma la idoneidad de los protocolos implementados, especialmente en lo relativo al manejo alimentario, filtración y control sanitario.

Durante la fase de fijación larval, el uso de valvas envejecidas como sustrato permitió una tasa de fijación del 48,7%, confirmando que la presencia de biopelículas (perifiton) es un factor crítico en el éxito del asentamiento larval. A pesar de ser ligeramente inferior a estudios previos, esta tasa se encuentra dentro del rango esperado y reafirma la importancia del acondicionamiento del sustrato como estrategia para mejorar la fijación.

Los resultados obtenidos demostraron la factibilidad de controlar eficientemente las diferentes fases del ciclo de vida de *Larkinia grandis* en condiciones de laboratorio, desde la maduración gonadal hasta la producción de post larvas fijadas. Este logro representa un avance significativo para el desarrollo de tecnologías de cultivo en esta especie, con aplicaciones directas en programas de repoblamiento, conservación de poblaciones naturales y producción sostenible en acuicultura.

The combined desiccation and thermal shock technique proved effective for spawning induction, achieving a 47.37% response rate. The observation that males released gametes before females, along with the high oocyte production, underscores the significant influence of both endogenous (physiological status) and exogenous (environmental stimuli) factors in spawning synchronization, highlighting the importance of standardized protocols to maximize reproductive efficiency.

The fertilization rate achieved (65.7%) using a 10:1 sperm-to-oocyte ratio and carefully selected broodstock based on size and gonadal maturity confirms that selection and conditioning quality directly impact reproductive success. This finding emphasizes the importance of biometric and physiological criteria in parental selection to enhance gamete viability.

Larval culture under standardized density, feeding, and water quality conditions supported sustained larval growth, with developmental rates comparable to those reported for other aquaculture-relevant bivalves. The cumulative larval survival rate of 48.5% from D-larva to pediveliger stage validates the appropriateness of the implemented protocols, particularly regarding feed management, filtration, and sanitary control.

During the settlement phase, the use of aged shells as settlement substrates resulted in a settlement rate of 48.7%, confirming that the presence of biofilms (periphyton) is a critical factor for successful larval attachment. Although slightly lower than previous studies, this rate remains within expected ranges and reinforces the importance of substrate conditioning as a strategy to improve settlement efficiency.

The results of this study demonstrate the feasibility of effectively managing the entire life cycle of *Larkinia grandis* under laboratory conditions, from gonadal maturation to the production of settled post-larvae. This achievement represents a significant advance in developing aquaculture technologies for this species, with direct applications for stock enhancement programs, conservation of natural populations, and sustainable aquaculture production.

Agradecimientos

La investigación fue realizada con financiamiento del PpR de la Dirección General de Investigaciones en Acuicultura. Los autores agradecen al personal técnico del Área de Acuicultura y profesionales del Laboratorio Costero de Tumbes IMARPE, por el apoyo en la ejecución.

Acknowledgments

This research was funded by the Performance-Based Budget (PpR) of the Directorate-General for Aquaculture Research. The authors wish to thank the technical staff of the Aquaculture Division and the professionals at the IMARPE Coastal Laboratory in Tumbes for their valuable support in carrying out this study.

5. REFERENCIAS

- ALAMO, V. & VALDIVIESO, V. (1997). *Lista sistemática de moluscos marinos del Perú* (2ª ed.). Instituto del Mar del Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/1436>
- ARNOLD, W. S. (2008). Application of larval release for restocking and stock enhancement of coastal marine bivalve populations. *Reviews in Fisheries Science*, 16(1-3), 65-71. <https://doi.org/10.1080/10641260701678140>
- BALTAZAR, P., BERMÚDEZ, P. & RIVERA, W. (1999). Cultivo de ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) en un vivero artesanal, La Arena, Casma. *Rev. peru. biol.*, 6(2), 123-130. <https://doi.org/10.15381/rpb.v6i2.8306>
- BAUTISTA, C. (1989). *Moluscos. Tecnología de cultivo*. Ediciones Mundi-Prensa.
- BELL, J. D., ROTHLSBERG, P. C., MUNRO, J. L., LONERAGAN, N. R., NASH, W. J., WARD, R. D. & ANDREW, N. L. (Eds.). (2005). *Advances in Marine Biology. Restocking and stock enhancement of marine invertebrate fisheries* (Vol. 49). Academic Press.
- BROWN, M. R., JEFFREY, S. W. & GARLAND, C. D. (1989). *Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review* (Reporte 2005). CSIRO Marine Laboratories. <https://doi.org/10.25919/5bbb9b2e71b6e>
- CASTILLO HENRÍQUEZ, O. L., CORNEJO HENÁNDEZ, N. E. & RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ, C. J. (2007). *Determinación de la eficacia de adhesión en cuatro tipos de colectores utilizados en la producción artificial de larvas de Anadara grandis casco de burro en laboratorio húmedo la Pirrayita en la Bahía de Jiquilisco, Usulután*. [Tesis de Licenciatura, Universidad de El Salvador]. Repositorio Institucional EUS. <https://hdl.handle.net/20.500.14492/11676>
- DIONICIO-ACEDO, J., CABRERA-SIMON, A., ROSADO-SALAZAR, M. & AGUIRRE-VELARDE, A. (2021). Optimización del tratamiento térmico para la inducción al desove de *Argopecten purpuratus* (Mollusca: Bivalvia). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 56(2), 145-150. <https://doi.org/10.22370/rbmo.2021.56.2.3058>
- DIRINGER, B., MORENO, V., PRETELL, K., AVELLAN, R., SAHUQUET, M., VASQUEZ, R., GENTILE, G. & MIALHE, E. (2019). Production of specific pathogen-free larvae from genetically characterized populations of *Anadara tuberculosa* (Bivalvia), for stock enhancement and aquaculture in the Peru. Northeast Biosphere Reserve. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47(3), 547-558. <https://www.lajar.cl/index.php/rlajar/article/view/vol47-issue3-fulltext-16>
- EHTESHAMI, F., CHRISTIANUS, A., RAMESHI, H., HARMIN, S. A. & SAAD, C. R. (2011). Proximate and fatty acid composition of the gonads of wild versus hatchery-conditioned *Pinctada margaritifera* Broodstock. *Aquaculture Nutrition*, 17, e675-e682. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00821.x>
- FISHER, W., KRUPP, F., SCHNEIDER, W., SOMMER, C., CARPENTER, K. E. & NIEM, V. H. (1995). *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Volumen I. Plantas e Invertebrados*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). <https://www.fao.org/4/t0851s/t0851s00.htm>
- HELM, M. M., BOURLE, N. & LOVATELLI, A. (Eds.). (2006). *Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico*. (FAO Documento técnico de pesca N° 471). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/y5720s>
- INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ [IMARPE]. (2022). *Indicadores biológico pesqueros del recurso concha pata de burro (Larkinia grandis) en Puerto Pizarro, durante el periodo 2017-2021*. (Informe Técnico). <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2984584/R.M.%20N%C2%BA%20107-2022-PRODUCE.pdf.pdf>
- KEEN, A. M. (1971). *Sea Shells of Tropical West America. Marine Mollusks from Baja California to Peru* (2ª ed.). Stanford University Press.
- LOOR MERA, A. G. (2012). *Desarrollo de protocolos de manejo para la inducción al desove y larvicultura de la ostra nativa Crassostrea iridescens (Hanley, 1854)*. [Tesis de Licenciatura, Escuela Superior Politécnica del Litoral]. Research Gate. <https://www.researchgate.net/publication/266200618>
- MAGAÑA-CARRASCO, A., BRITO-MANZANO, N., GÓMEZ-VÁZQUEZ, A. & CRUZ HERNÁNDEZ, A. (2018). Effects of temperature and salinity on inducing spawning in the eastern oyster (*Crassostrea virginica*) under laboratory conditions. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5(14), 239-246. <https://doi.org/10.19136/era.a5n14.1236>
- MARTÍNEZ, G. & PÉREZ, H. (2003). Effect of different temperature regimes on reproductive conditioning in the scallop *Argopecten purpuratus*. *Aquaculture*, 228, 153-167. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00321-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00321-1)
- MARTÍNEZ - FERNÁNDEZ, E. & SOUTHGATE, P. C. (2007). Use of tropical microalgae as food for larvae of the black-lip pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Aquaculture*, 263, 220-226. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.040>
- ORDINOLA ZAPATA, E. (2022). *Pesquería de invertebrados marinos y de manglar, Tumbes, Perú, 2018*. *Inf Inst Mar Perú*, 49(1), 5-32. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/4050>

- PALMA PONCE, N. M. (2022). *Inducción al desove en concha prieta (Anadara tuberculosa) obtenidas en San Lorenzo, Provincia de Esmeraldas y Puerto El Morro, Provincia del Guayas mediante shock térmico en condiciones de laboratorio* [Tesis de Licenciatura]. Universidad Agraria del Ecuador.
- RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 00107-2022-PRODUCE. (2022). *Establecen temporada de pesca del recurso Larkinia grandis, precisan período de veda para el año 2022, y dictan diversas disposiciones*. Ministerio de la Producción. https://busquedas.elperuano.pe/api/visor_html/2052261-1
- ROBLES, J., CISNEROS, P. & SICCHA-RAMÍREZ, R. (2020). Reproducción y cultivo de ostra nativa *Striostrea prismatica* (Gray, 1825). Tumbes, Perú. *Inf Inst Mar Perú*, 47(1), 5-14. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3420>
- SOTELO GONZÁLEZ, M. I., SÁNCHEZ CÁRDENAS, R., GARCÍA ULLOA, M., GÓNGORA GÓMEZ A. M., SALCIDO GUEVARA L. A., ARZOLA GONZÁLEZ J. F. & SEPÚLVEDA, C. H. (2019). Las almejas pata de mula (Arcidae) de Sinaloa, México. *Ciencia y Mar*, 23(69), 45-50. <https://www.researchgate.net/publication/343391089>
- TITO, L., ORDINOLA, E., PEREA, Á. & ALEMÁN, S. (2022). Escala de madurez gonadal macroscópica de concha pata de burro *Larkinia grandis* (Broderip & G.B. Sowerby, 1829) validada histológicamente. *Bol Inst Mar Perú*, 37(1), 22-40. <https://doi.org/10.53554/boletin.v37i1.356>
- VÁSQUEZ, H. E., PACHECO, S. P., PÉREZ, I. M., CORNEJO, N. E., CÓRDOVA, M. F. & KAN, K. (2009). *Producción artificial de semilla y cultivo de engorde de moluscos bivalvos (Informe técnico)*. Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA). https://www.jica.go.jp/Resource/project/elsalvador/2271029E1/materials/pdf/2009/2009_1_1.pdf
- VERGARA MIRANDA, D. & NUESTRO FERRIOLS, V. M. E. (2023). Initial attempts on spawning and larval rearing of the blood cockle *Tegillarca granosa* (Linnaeus, 1758), in the Philippines. *Asian Fisheries Science*, 36, 59-67. <https://doi.org/10.33997/j.afs.2023.36.2.001>