

Short Communication

**Desarrollo embrionario y larval temprano de *Gari solida* (Gray, 1828)
(Bivalvia: Psammobiidae)**

Ramiro Contreras¹, Elisa Pacheco¹ & Claudia Puebla¹

¹Universidad Arturo Prat, Avenida Arturo Prat 2120, Iquique, Chile

RESUMEN. Se describe el desarrollo temprano del culengue (*Gari solida*) (Gray, 1828) hasta el estado inicial de larva velígera, a partir de dos desoves efectuados en el verano de 2009. El desove se indujo a 80 ejemplares maduros, entre 50-60 mm de longitud valvar, mediante desecación a temperatura ambiente por aproximadamente media hora y posterior choque térmico (12-14°C y 23-25°C). Los reproductores fueron previamente acondicionados durante 90 días a 14°C en promedio, alimentados con *Isochrysis* aff *galbana* (T-Iso), *Chaetoceros calcitrans* y *Tetraselmis suecica* en proporción 1:1:1, a una concentración de 300.000 cel mL⁻¹. Los ovocitos se fertilizaron en proporción de 10:1 espermatozoide/ovocito y se incubaron en estanques de 50 L, a 15 ± 0,8°C, sin aireación, con agua de mar filtrada a 1 µm e irradiada con luz ultravioleta. Se efectuaron observaciones y mediciones de los estados de embriogénesis y larva velígera tipo D, registrándose el tiempo de duración de cada fase. La embriogénesis se completó entre 23-24 h post- fecundación (pf) y el estado de larva velígera tipo D se alcanzó en 36-37 h pf, midiendo 78 ± 4,7 µm de longitud. Una cubierta gelatinosa rodea al ovocito y se mantiene hasta que se desarrolla completamente la larva D libre nadadora, en 50-52 h pf. Este trabajo constituye un primer reporte sobre el desarrollo temprano de *G. solida*. Para profundizar en este conocimiento sería deseable incluir técnicas de microscopía electrónica en futuros estudios.

Palabras clave: *Gari solida*, acondicionamiento, desove, embriogénesis, larvas D, acuicultura.

**Embryonic and early larval development of *Gari solida* (Gray, 1828)
(Bivalvia: Psammobiidae)**

ABSTRACT. Early development of the culengue (*Gari solida*) (Gray, 1828) to the initial stage of veliger larva from two spawning carried out in the summer of 2009. Spawning was induced in 80 mature specimens, between 50-60 mm of valve shell length, by drying at room temperature for about 30 min, followed by a thermal shock treatment (12-14°C and 23-25°C). These breeders were preconditioned for 90 days at 14°C on the average, and fed with *Isochrysis* aff *galbana* (T-Iso), *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis suecica*, in 1:1:1 ratio, at a concentration of 300.000 cell mL⁻¹. The oocytes were fertilized at a proportion of 10:1 sperm/oocyte, and incubated in 50 L-tanks at 15 ± 0.8°C, without aeration, containing 1µm-filtered and UV-irradiated seawater. Observations and measurements from embryogenesis to D-shaped veliger larva were made; the duration of each developmental stage was recorded. Embryogenesis was completed between 23 to 24 h post- fertilization (pf) and the D-shaped larval stage was achieved within 36-37 h pf, measuring 78 ± 4 µm in length. A gelatinous covering or jelly coat surrounds the oocyte and remains until fully developed free-swimming D-shaped larva, between 50-52 h pf. This work constitutes a first report on the early development of *G. solida*. To deepen this knowledge it would be desirable to include electron microscopy techniques in future studies.

Keywords: *Gari solida*, conditioning, spawning, embryogenesis, D larvae, aquaculture.

Corresponding author: Ramiro Contreras: (ramiro.contreras@unap.cl)

Gari solida (Gray, 1828), denominado comúnmente culengue y también conocido como almeja dulce o

Pacific clam, es un molusco bivalvo que se distribuye desde Perú (14°S) hasta el extremo sur de Chile

(54°S) (Urban, 1994), habita junto a otros bivalvos enterradores como *Semele solida* y *Protothaca thaca* (Urban & Campos, 1994) y presenta sexos separados, sin dimorfismo sexual (Ishyama & Chávez, 1990; Brown *et al.*, 2002).

Gari solida, sustenta una importante pesquería artesanal, principalmente en la zona sur-austral de Chile. El desembarque entre 1980-2011 presentó un máximo de 36.591 ton en 1991, cayendo posteriormente. Así, entre el 2000 y 2011, el promedio del desembarque fue de 3.836 ton (SERNAPESCA, 2013). La intensa explotación del recurso, basada además en un número reducido de zonas de extracción (Jeréz *et al.*, 1999), generó el interés por su cultivo.

Olavarría *et al.* (1996) analizan la morfometría y crecimiento larvario de *G. solida* a partir de dos cultivos, donde logran obtener postlarvas de 2 mm de longitud, no existiendo en la literatura otros registros sobre estadios tempranos de desarrollo de la especie. En consecuencia, este trabajo tiene por objetivo contribuir al conocimiento del desarrollo embrionario y de la larva velígera temprana de *G. solida*, cuantificando tiempos de desarrollo post-fecundación y biometría de los estados observados, utilizando microscopía óptica.

Las observaciones provienen de dos desoves efectuados en febrero de 2009, en el marco de ensayos para desarrollar el cultivo larvario. Para ello, se utilizaron 40 reproductores cada vez, de 50-60 mm de longitud valvar, provenientes de Carelmapu, Chile (41°44'S, 73°42'W). Estos adultos fueron previamente acondicionados por 90 días a 14°C en promedio, alimentados con una mezcla de *Isochrysis aff galbana* (T-Iso), *Chaetoceros calcitrans* y *Tetraselmis suecica*, en proporción de 1:1:1, a una concentración de 300.000 cel mL⁻¹. El estado de madurez de los reproductores fue evaluado al inicio, durante el acondicionamiento y antes de la inducción al desove, mediante un examen macroscópico a ejemplares sacrificados. El estado de madurez se determinó según el desarrollo observado de la gónada respecto a los restantes tejidos blandos de los animales, distinguiendo cuatro estados: 0: inmaduro; 1: madurez inicial o regresión, 2: madurez avanzada y 3: maduro, escala que ha resultado práctica, para el trabajo en cultivo de esta especie. Las escalas macroscópicas se utilizan frecuentemente en acuicultura de bivalvos, cuando los técnicos llevan tiempo trabajando con una especie (Helm *et al.*, 2006). El desove se indujo a los 90 días, mediante una combinación de las técnicas de desecación (Monsalvo-Spencer *et al.*, 1997) y de choque térmico (Helm *et al.*, 2006). Para ello los ejemplares se expusieron al aire por 30 a 45 min y luego se aplicó por cuatro veces, a intervalos de 30

min, agua de mar filtrada a 1 µm e irradiada con luz ultravioleta a 12-14°C y 23-25°C alternadamente.

Una vez iniciada la emisión de gametos, los ejemplares fueron colocados individualmente en recipientes de 1 L, con agua de mar a 16°C, filtrada e irradiada con luz ultravioleta, evaluándose al microscopio la movilidad de los espermatozoides y la turgencia de los ovocitos. Los ovocitos fueron fertilizados con una proporción de 10:1 espermatozoides/ovocito. Para su incubación, se depositaron en estanques de 50 L, sin aireación, con agua de mar filtrada a 1 µm e irradiada con luz ultravioleta a 15 ± 0,8°C, salinidad 33,2 y densidad de 20,7 embriones mL⁻¹.

Para controlar el tiempo de aparición de cada fase de desarrollo, se extrajeron 3 alícuotas de 1 mL, directamente desde este cultivo, cada 10 min durante las primeras 3 h, y luego cada 30 min hasta que los embriones alcanzaron el estado de larva velígera tipo D. El procedimiento de extracción de muestras siguió las recomendaciones mencionadas por Helm *et al.* (2006), respecto a la agitación del estanque, para no dañar los embriones y favorecer su distribución uniforme en el contenedor. Las muestras se observaron *in vivo* en un microscopio óptico. La fecundación se verificó por observación, conteo y expresión en porcentaje de los ovocitos que presentaron membrana de fecundación. El tiempo límite, entre las fases del desarrollo embrionario, fue establecido como aquel en el cual el 50% de la muestra había logrado una fase específica (Ruiz *et al.*, 2008).

Para describir la embriogénesis se utilizó la terminología descriptiva estándar para moluscos bivalvos (Loosanoff & Davis, 1963). Para la observación, conteo y medición de los distintos estados de desarrollo, las muestras de 1 mL fueron depositadas en una cámara Sedgwick Rafter bajo un microscopio óptico de campo, equipada con ocular graduado y cámara para el registro fotográfico. Las mediciones se efectuaron en 10 ind en cada estado del desarrollo (5 de cada desove).

Los reproductores ingresaron al cultivo en estado 1 (40%) y 2 (60%), es decir en madurez inicial o regresión y madurez avanzada, respectivamente. Al cabo de 90 días, el 15% de los ejemplares muestreados estaba en estado 1, 57% en estado 2 y 29% alcanzó el estado 3 (maduro), por lo que fue posible inducir el desove y se obtuvo gametos viables para iniciar los cultivos.

Los ovocitos se hidrataron completamente y adquirieron forma esférica a los 20 min de su emisión. Presentaron una amplia cubierta gelatinosa, con un diámetro total incluyendo la cubierta de 174 ± 10 µm y de 65 ± 3 µm sin esta cubierta (Fig. 1a). Los esper-

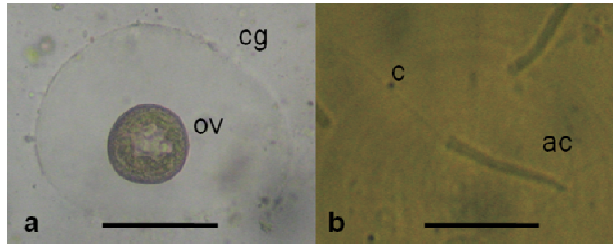


Figura 1. Gametos de *G. solida*. a) ovocito con su cubierta gelatinosa, barra escala = 100 µm, b) espermatozoide, barra escala = 10 µm. ac: cabeza, c: cola, cg: cubierta gelatinosa, ov: ovocito.

matozoides presentaron movilidad aproximadamente a los 5 min después de ser emitidos; de forma alargada y su cabeza representa aproximadamente un cuarto de su longitud total (Fig. 1b).

La formación del cigoto, indicado por la membrana de fecundación, se observó a los 10 min de ocurrida la fertilización; 1 h después se observó un corpúsculo polar indicando las reducciones meióticas (Fig. 2a, Tabla 1). El segundo corpúsculo polar, no fue detectado en las observaciones. Transcurridas 2-3 h post-fecundación (Tabla 1) se produjo la primera división mitótica, que segmentó al huevo en dos células (Fig. 2b). La segunda división se generó luego de 3-4 h post-fecundación (Tabla 1), es meridional y se formó una tétrada con dos macrómeros y dos micrómeros (Fig. 2c).

La tercera división formó ocho células, que fueron cortadas en el plano ecuatorial separando los macrómeros de los micrómeros (Fig. 2d). Luego de 5-6 h post-fecundación (Tabla 1), se formó una mórula irregular cuyos micrómeros recubrieron casi totalmente a los macrómeros (Fig. 2e). Catorce h post-fecundación (Tabla 1), el embrión alcanzó el estado de gástrula (Fig. 2f), durante el cual se observó movimiento rotatorio dentro de la cubierta gelatinosa.

Transcurridas 20-23 h post-fecundación (Tabla 1), se obtuvo la larva trocófora (Fig. 2g), que también presentó un movimiento rotatorio vigoroso al interior de la cubierta gelatinosa. Su dimensión máxima en el eje desde el ápice a la base fue de $78 \pm 4,7$ µm, sin cubierta gelatinosa (Tabla 1). El estado de velígera tipo D o de charnela recta, se observó a las 36-37 h post-fecundación (Tabla 1), siempre rodeada por una amplia cubierta gelatinosa, describiendo movimientos rotatorios en su interior. La longitud promedio, medida como la mayor distancia entre el borde anterior y posterior de la concha, fue de $78 \pm 4,7$ µm (Tabla 1). A las 43-47 h post-fecundación, la larva D alcanzó una longitud de $96 \pm 5,7$ µm (Tabla 1, Fig. 2 h), persistiendo los movimientos rotatorios dentro de

la cubierta gelatinosa, la cual se disolvió completamente pasadas 50-52 h post-fecundación (Tabla 1), emergiendo una larva D de $105 \pm 5,7$ µm de longitud (Tabla 1), que nadó activamente en el agua.

Este trabajo constituye un primer reporte sobre el desarrollo embrionario de *Gari solida*, donde la formación de una mórula irregular, cuyos micrómeros recubren casi totalmente a los macrómeros, permite inferir que la segmentación es en espiral y que los distintos estados de desarrollo embrionario siguen el patrón normal descrito para moluscos bivalvos (Pérez & Román, 1973; Cataldo *et al.*, 2005; Da Costa *et al.*, 2008).

El tiempo post-fecundación en que se alcanzó el estado de larva D temprana (36-37 h) es superior al reportado para otras especies de bivalvos de importancia comercial del orden Veneroidea, al que pertenece *G. solida*, como *Anomalocardia brasiliensis* (24 h) (Mouëza *et al.*, 1999); *Ruditapes decussatus* (26 h) (Aranda, 2010); *Venerupis pullastra* (30-32 h) (Cerviño, 2011) y *Ensis arcuatus* (30 h) (Da Costa *et al.*, 2008) (Tabla 2). La menor temperatura de los cultivos del presente trabajo ($15 \pm 0,8^\circ\text{C}$), pudo ser un factor incidente en estas diferencias, ya que *Anomalocardia brasiliensis* fue cultivada a 25°C (Mouëza *et al.*, 1999); *Ruditapes decussatus* a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ (Aranda, 2010) y tanto *Venerupis pullastra* (Cerviño, 2011) como *Ensis arcuatus* (Da Costa *et al.*, 2008) a $19 \pm 1^\circ\text{C}$ (Tabla 2).

El diámetro de los ovocitos de *G. solida* (65 ± 3 µm) es similar al reportado para los venéridos *Anomalocardia brasiliensis* (60 µm) (Mouëza *et al.*, 1999), *Ruditapes decussatus* ($67,43 \pm 3,62$ µm) (Aranda, 2010) y *Venerupis pullastra* (65-75 µm) (Cerviño, 2011) (Tabla 2).

Por otra parte, la longitud promedio de la larva velígera temprana en este estudio (78 ± 4 µm), es similar a la señalada por Olavarría *et al.* (1996) para un primer cultivo de *G. solida* (70,2 µm) y menor que la informada por los mismos autores para un segundo cultivo (109,2 µm) (Tabla 2). Con respecto a sus cultivos, Olavarría *et al.* (1996) indican que esta diferencia se debería en parte, a que en el primer caso el desove fue espontáneo, sin acondicionamiento, a diferencia del segundo en que los animales fueron mantenidos por un periodo de tiempo con alimentación en el cultivo. Además, agregan a que estos cultivos se efectuaron a similar temperatura ambiente (en noviembre), siendo conocido que un factor que puede influir en la variabilidad en el tamaño de las larvas en una misma especie, está relacionada con la temperatura de cultivo (Loosanoff & Davis, 1963 *vide* Olavarría *et al.*, 1996). En el presente estudio, los animales fueron acondicionados durante 90 días e

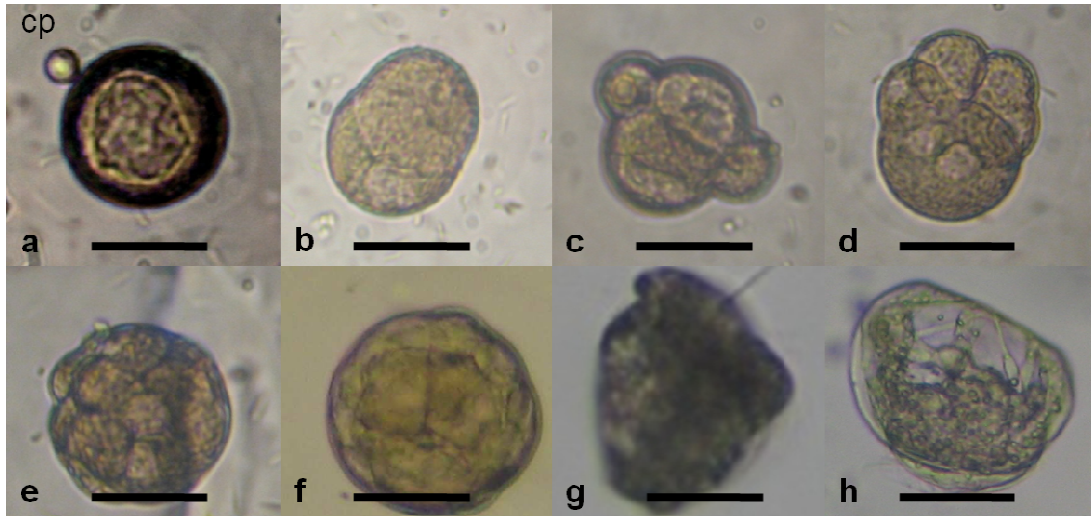


Figura 2. Desarrollo embrionario y larvario temprano de *G. solida*. a) Eliminación primer corpúsculo polar (cp), b) dos células, c) cuatro células, d) ocho células, e) mórula, f) gástrula, g) larva trocófora, h) larva velígera tipo D. Barra escala = 50 μm .

Tabla 1. Estadios embrionarios y larvarios tempranos de *G. solida*. Tiempos de aparición desde la fertilización y talla de cada estadio (n = 10). DE: desviación estándar.

Estado	Tiempo post-fertilización (h)	Talla (μm)	
		Promedio	DE
Huevo	0	65	3
Eliminación corpúsculo polar	1	63	5
Dos células	2 a 3	68	4
Cuatro células	3 a 4	69	3
Mórula	5 a 6	-	-
Gástrula ciliada	14	75	5
Larva trocófora	20 a 23	78	4
Larva velígera tipo D temprana	36 a 37	78	4
Larva velígera tipo D	43 a 47	96	5
Larva velígera tipo D nadadora	50 a 52	105	5

Tabla 2. Comparación del tamaño de ovocitos, longitud y tiempo de desarrollo a larva D de *G. solida* con algunas otras especies del Orden Veneroidea. s/i: sin información; (1) primer cultivo; (2) segundo cultivo (Olavarría *et al.*, 1996).

Especie	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Diámetro ovocito (μm)	Longitud larva D temprana (μm)	Tiempo post-fecundación a larva D temprana (h)	Referencia
<i>Gari solida</i>	$15 \pm 0,8$	65 ± 3	78 ± 4	36-37	Presente trabajo
<i>Gari solida</i>	Ambiente, (s/i)	-	$70,2^{(1)} - 109,2^{(2)}$	-	Olavarría <i>et al.</i> (1996)
<i>Venus antiqua</i>	Ambiente, (s/i)	-	$101,4^{(1)} - 109,2^{(2)}$	-	Olavarría <i>et al.</i> (1996)
<i>Anomalocardia brasiliana</i>	Ambiente, 25°C aprox.	60	64	24	Mouëza <i>et al.</i> (1999)
<i>Ruditapes decussatus</i>	20 ± 1	$67,43 \pm 3,62$	$89,87 \pm 6,65$	26	Aranda (2010)
<i>Venerupis pullastra</i>	19 ± 1	65-75	100-105	30-32	Cerviño (2011)
<i>Ensis arcuatus</i>	19 ± 1	$70,96 \pm 4,29$	$109 \pm 10,03$	30	Da Costa <i>et al.</i> (2008)

inducidos al desove en febrero, los cultivos se realizaron a similar temperatura ($15 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$), siendo el tamaño de la larva velígera temprana, más cercano

al del cultivo a partir del desove espontáneo informado por Olavarría *et al.* (1996). Así, variados factores pudieron incidir en la diferencia y semejanza

en la longitud de la larva D temprana entre nuestros cultivos y los de estos autores. Phillips (2007) analizando el efecto de la procedencia en dos épocas del año de adultos de *Mytilus californianus*, sobre la variabilidad y atributos de huevos y larvas tempranas, menciona que hubo diferencias significativas en el tamaño inicial de las larvas tempranas, entre cultivos, hembras, sitio o procedencia de los adultos y mes en que se efectuaron los desoves y cultivos; aún cuando estas fueron pequeñas, siendo más relevante aquella relacionada con las hembras, que indicó como máximo un 11% de diferencia en la longitud de las larvas.

En este estudio se observó que una amplia cubierta gelatinosa o jelly coat rodea al ovocito y permanece hasta el estado de larva D, de manera similar a lo descrito en el bivalvo lucínido *Codakia orbicularis*, en que la cubierta gelatinosa rodea al ovocito y se mantiene hasta 48 h post-fecundación, cuando emerge de ella el estado de larva D (Gros *et al.*, 1997). En el semélido *Scrobicularia plana*, esta cubierta también se mantiene hasta el estado de larva velígera, emergiendo de ella 48-56 h post-fecundación (Raleigh & Keegan, 2007). En otras especies como *Argopecten purpuratus* y *Solen marginatus*, la cubierta gelatinosa también es retenida hasta el estado de larva velígera D (Da Costa *et al.*, 2008).

En cuanto a la composición de esta cubierta, Gros *et al.* (1997), informan que en *Codakia orbicularis* corresponde a glicoproteínas sintetizadas por el propio ovocito durante la vitelogénesis. En otros invertebrados, particularmente en equinodermos, se ha descrito detalladamente. En el erizo *Strongylocentrotus purpuratus*, se ha observado que consiste en una especie de red o superestructura constituida por fibras de fucano rodeadas de glicoproteínas globulares (Bonell *et al.*, 1994), teniendo importancia el gasto de energía que conlleva su producción por parte de las hembras reproductoras (Bolton *et al.*, 2000). Estos autores, señalan que entre el 3 y 11% de la energía total invertida en cada huevo por el erizo *Arbacia punctulata*, es derivada a la formación de esta cubierta y que existe una relación significativa y positiva entre su volumen y la cantidad de energía contenida. Según esta relación, sugieren que la energía invertida en su formación puede variar entre distintas especies, impactando en sus historias de vida. La composición y función de esta cubierta se desconoce en *G. solida*.

Sería importante poder complementar las observaciones del presente estudio, efectuando otros trabajos, que incorporen técnicas de microscopía electrónica, para permitir conocer mayores detalles sobre el desarrollo temprano de *G. solida*.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al proyecto FONDEF D03I1156 “Desarrollo de la tecnología de cultivo del recurso culengue (*G. solida*), en la zona sur de Chile” por permitirnos dar los primeros pasos en la tecnología de cultivo de la especie y especialmente al proyecto D08I1011 “Optimización del cultivo de semilla de culengue (*Gari solida*), enfocada al cultivo de engorda”, en cuyo marco fue posible el desarrollo de este estudio.

REFERENCIAS

- Aranda, J. 2010. Desarrollo embrionario y larvario de la almeja fina *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758): Estudio al microscopio óptico y electrónico de barrido. Trabajo Fin Master (TFM). Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 26 pp.
- Bonell, B.S., S.H. Keller, V.D. Vacquier & D.E. Chandler. 1994. The sea urchin egg jelly coat consists of globular glycoproteins bound to a fibrous fucan superstructure. *Dev. Biol.*, 162(1): 313-324.
- Brown, D., B. Campos & H.J. Urban. 2002. Reproductive cycle of the bivalve clams *Semele solida* (Gray, 1828) (Semelidae) and *Gari solida* (Gray, 1828) (Psammobiidae) from Chile. *J. Shellfish Res.*, 21(2): 627-634.
- Bolton, T.F., F.I. Thomas & C.N. Leonard. 2000. Maternal energy investment in eggs and jelly coats surrounding eggs of the echinoid *Arbacia punctulata*. *Biol. Bull.*, 199(1): 1-5.
- Cataldo, D., D. Boltovkoy, J. Hermosa & C. Canzi. 2005. Temperature-dependent rates of larval development in *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae). *J. Mollus. Stud.*, 71(1): 41-46.
- Cerviño, A. 2011. Ciclo reproductivo, cultivo en criadero y en el medio natural de la almeja babosa *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803). Memoria, Universidad de Santiago de Compostela, 271 pp.
- Da Costa, F., S. Darriba & D. Martínez-Patino. 2008. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Bivalvia: Pharidae). *J. Mollus. Stud.*, 74(2): 103-109.
- Gros, O., L. Frenkiel & M. Mouëza. 1997. Embryonic, larval, and post-larval development in the symbiotic clam *Codakia orbicularis* (Bivalvia: Lucinidae). *Invertebr. Biol.*, 116(2): 86-101.
- Helm, M.M., N. Bourne & A. Lovatelli (comp/edit). 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Doc. Téc. Pesca, Roma, 471: 184 pp.

- Ishyama, V. & G. Chávez. 1990. Reproducción de *Gari solida* (Veneroidea: Psammobidae) Rev. Ciencia, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 75(1): 52-65.
- Jerez, G., N. Barahona, H. Miranda, V. Ojeda, D. Brown, C. Osorio, A. Olgún & J. Orensanz. 1999. Estudio biológico pesquero de los recursos tawera (*Tawera gayi*) y culengue (*Gari solida*) en la X Región. Informe Final, FIP 97-29: 149 pp.
- Loosanoff, V.L. & H.C. Davis. 1963. Rearing of bivalve mollusks. In: F.S. Rusell (ed.). Adv. Mar. Biol., 1: 1-136.
- Monsalvo-Spencer, A., A.N. Maeda-Martinez & T. Reynoso-Granados. 1997. Reproductive maturity and spawning induction in the Catarina scallop *Argopecten ventricosus* (= *circularis*) (Sowerby II, 1842). J. Shellfish Res., 16(1): 67-70.
- Mouëza, M., O. Gros & L. Frenkiel. 1999. Embryonic, larval and postlarval development of the tropical clam, *Anomalocardia brasiliiana* (Bivalvia, Veneridae). J. Mollus. Stud., 65: 73-88.
- Olavarría, E., A. Farías & I. Uriarte. 1996. Morfometría y tasas de crecimiento larvario y postlarvario de los bivalvos *Venus antiqua* (King & Broderip, 1835) y *Gari solida* (Gray, 1828) cultivadas en laboratorio. Rev. Biol. Mar., 31(2): 107-116.
- Phillips, N.E. 2007. High variability in egg size and energetic content among intertidal mussels. Biol. Bull., 212(1): 12-19.
- Peréz, A. & G. Román. 1973. Desarrollo larvario de *Venerupis pullastra*. Bol Inst. Esp. Oceanogr., 165: 1-35.
- Raleigh, J. & F. Keegan, 2007. Embryonic development in the bivalve *Scrobicularia plana* (Semelidae) using scanning electron microscopy. Invertebr. Reprod. Dev., 50(3): 139-144.
- Ruiz, M., E. Tarifeño, A. Llanos-Rivera, Ch. Padget & B. Campos. 2008. Efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario y larval del mejillón, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). Rev. Biol. Mar. Oceanogr., 43(1): 51-61.
- Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNA PESCA). 2013. Anuarios Estadísticos de Pesca 1980-2011, [http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_remository&Itemid=54&func=select&id=2]. Reviewed: 20 June 2013.
- Urban, H.J. 1994. Upper temperature tolerance of ten bivalve species off Peru and Chile related to El Niño. Mar. Ecol. Prog. Ser., 107: 139-145.
- Urban, H.J & B. Campos. 1994. Population dynamics of the bivalves *Gari solida*, *Semele solida* and *Protothaca thaca* from a small bay in Chile at 36°S. Mar. Ecol. Prog. Ser., 115: 93-102.

Received: 21 August 2013; Accepted: 7 January 2014