

Seasonal variation in the reproductive and larval performance of the winged pearl oyster *Pteria sterna* associated with anomalous environmental conditions

Variaciones estacionales en el desempeño reproductivo y larvario de la concha nácar *Pteria sterna* asociadas con condiciones ambientales anómalas

Eliana Gómez-Robles, [Héctor Acosta-Salmón](#), [José M Mazón-Suástegui](#), [Pedro E Saucedo*](#)

CIBNOR, 23096 La Paz, Baja California Sur, Mexico.

* Corresponding author. E-mail: psaucedo04@cibnor.mx

ABSTRACT. The reproductive and larval performance of *Pteria sterna* associated with anomalous environmental factors was evaluated, testing the hypothesis that the transition from La Niña to El Niño in 2008–2009 affected the “normal” periods in which ripe broodstock are collected and larvae are reared in a hatchery. Seasonal sampling included 2 reproductive periods (February and April 2009), 1 pre-reproductive period (November 2008), and 1 post-reproductive period (June 2009). Of the 40 oysters collected in each period, 20 were used for induced spawning and larval culture, while 20 were used to evaluate indices of reproductive performance. Water temperature, salinity, and seston content were monitored in each period. Sea surface temperature (SST) data associated with anomalous environmental conditions were obtained from the Aqua-MODIS satellite. Variations in SST affected reproductive performance more than larval performance in *Pteria sterna*. Spawning induction failed in November 2008 and succeeded in February, April, and June 2009, although only the larvae from April completed metamorphosis and settled, given the riper broodstock, larger oocytes, and favorable environmental conditions (21.80 °C; 31 mg·L⁻¹ total seston; +0.50 °C SST). Positive SST anomalies (+0.50 to +1.10 °C) from August to December 2008 resulted in longer summer conditions that affected spawning in February 2009. In June 2009 (22.50 °C; 29.50 mg·L⁻¹ total seston; +0.40 °C SST), when the percentages of ripe gonads and mature oocytes were small, the larvae were not viable, and few spat settled. In addition to collecting ripe broodstock in winter-spring for optimal larval and spat viability, we recommend including a brief conditioning period at the hatchery following the spawning peak and a second conditioning period in late autumn to promote nutrient recycling and natural gamete recovery.

Key words: aquaculture, broodstock condition, larval culture, environmental conditions, ENSO.

RESUMEN. Se estudió el desempeño reproductivo y larvario de *Pteria sterna* en relación a factores ambientales anómalos, hipotetizando que la transición entre los eventos de La Niña y El Niño 2008-2009 afectó los periodos “normales” para recolectar reproductores maduros y cultivar larvas en laboratorio. Se realizaron muestreos estacionales en 2 periodos reproductivos (febrero y abril 2009), 1 periodo pre-reproductivo (noviembre 2008) y 1 periodo post-reproductivo (junio 2009). De las 40 ostras recolectadas en cada periodo, 20 se utilizaron para evaluar el desove y cultivo larvario y 20 para determinar indicadores de condición reproductiva. La temperatura, salinidad y contenido de seston se monitorearon en cada periodo. Los datos de temperatura superficial del mar (TSM) asociados a condiciones ambientales anómalas se obtuvieron del satélite Aqua-MODIS. Las variaciones en la TSM afectaron más el desempeño reproductivo que el desempeño larvario de *Pteria sterna*. La inducción al desove falló en noviembre 2008 y fue exitosa en febrero, abril y junio 2009, aunque solo en abril las larvas completaron la metamorfosis y se fijaron, a partir de reproductores más maduros, ovocitos más grandes y condiciones ambientales favorables (21.80 °C; ~31 mg·L⁻¹ seston total; +0.50 °C TSM). Las anomalías positivas de TSM (+0.50 a +1.10 °C) de agosto a diciembre 2008 favorecieron un verano más largo que afectó el desove de febrero 2009. En junio 2009 (22.50 °C, 29.50 mg·L⁻¹ seston total, +0.40 °C TSM), cuando los porcentajes de gónadas y ovocitos maduros eran bajos, las larvas no fueron viables y pocas semillas se fijaron. Además de recolectar reproductores maduros en invierno-primavera para una viabilidad óptima de las larvas y semillas, recomendamos incluir un breve periodo de acondicionamiento en el laboratorio después del pico de desove y un segundo a finales del otoño para promover el reciclaje de nutrientes y la recuperación natural de gametos.

Palabras clave: acuicultura, condición de reproductores, cultivo larvario, factores ambientales, ENSO.



INTRODUCTION

In bivalve mollusks, broodstock energy reserves notably influence gamete development and maturation as well as the viability and vigor of the embryos and larvae (Chávez-Villalba et al. 2003, Wassnig and Southgate 2012a). These reserves are important during early larval development, when veligers have a limited ability to feed on exogenous sources, and during the late development stage, when these larvae undergo energetically demanding metabolic processes related to metamorphosis and the transition from a pelagic to benthic existence (Gagné et al. 2010, Angel-Dapa et al. 2015). Internal mechanisms of nutrient storage and mobilization that first sustain gametogenesis and then embryonic and larval development are regulated by endogenous and exogenous factors such as disease, stress, and environmental conditions (Saucedo and Southgate 2008, Gireesh et al. 2009). Poor physiological condition of the broodstock can also result in spawning failure, gamete reabsorption, and sub-optimal larval performance, which affect all subsequent steps related to spat production (Gómez-Robles et al. 2013, Mazón-Suástegui et al. 2021). Finally, the presence of anomalous environmental conditions associated with the everchanging relationship between the atmosphere and upper ocean can increase or decrease sea surface temperature (SST; Pastor 2021). This may favor events like La Niña or El Niño, which can also affect the reproductive success of many intertidal bivalve mollusks.

In pearl oysters used for pearl production, studies related to larval cultivation in the laboratory are necessary to complement the erratic collection of spat in the wild (Southgate 2008, 2011; Hoyos-Chairez et al. 2020). However, these types of studies are insufficient for pearl oysters of the genus *Pteria* and do not guarantee a continuous supply of spat. Studies with *Pteria penguin* (Röding, 1798), a species of relatively large size that is mostly used for mabé pearl culture in many Pacific Island nations, have focused on evaluating embryonic and larval developmental stages (Wassnig and Southgate 2012a), physical and chemical traits that induce spat settlement (Wassnig and Southgate 2012b), stocking densities and microalgal rations (Wassnig and Southgate 2016), and hatchery culture of larvae without living microalgae (Southgate et al. 2016).

In the Gulf of California, *Pteria sterna* (Gould, 1851) is the only species that is currently used in the commercial culture of pearls, which exhibit a multicolored pattern that is clearly different from those of the pearls produced by *Pinctada* species (Kiefert et al. 2004, Ruiz-Rubio et al. 2006). Previous studies have reported that the species breeds multiple times during the winter and spring seasons (January to May) when water temperatures decrease and primary productivity increases (Saucedo and Monteforte 1997, Vite-García and Saucedo 2008, Cáceres-Puig et al. 2009). Hatchery rearing experiments with *Pteria sterna* larvae are scarce (Araya-Núñez et al. 1991, 1995; Saucedo 2017; Hoyos-Chairez et al. 2020) and still represent the main bottleneck hindering the controlled

INTRODUCCIÓN

En moluscos bivalvos, las reservas energéticas de los reproductores juegan un papel clave en el desarrollo y madurez de los gametos, así como en la viabilidad y vigor de los embriones y larvas (Chávez-Villalba et al. 2003, Wassnig y Southgate 2012a). Estas reservas son importantes durante el desarrollo temprano, cuando la habilidad de las larvas veliger para alimentarse de fuentes exógenas es limitada, así como durante el estadio tardío cuando éstas experimentan procesos energéticos demandantes asociados a la metamorfosis y la transición entre la vida pelágica y bentónica (Gagné et al. 2010, Angel-Dapa et al. 2015). Los mecanismos internos de almacenamiento y movilización de nutrientes para sustentar primero la gametogénesis y más adelante el desarrollo embrionario y larvario están regulados por factores endógenos y exógenos, tales como enfermedades, estrés y factores ambientales (Saucedo y Southgate 2008, Gireesh et al. 2009). Una mala condición fisiológica de los reproductores puede también derivar en un desove fallido, la reabsorción de gametos y un pobre desempeño larvario, afectando todos los pasos secuenciales de la producción de semilla (Gómez-Robles et al. 2013, Mazón-Suástegui et al. 2021). Finalmente, la ocurrencia de condiciones ambientales anómalas asociadas con la cambiante relación entre la atmósfera y el océano somero, pueden incrementar o disminuir la temperatura superficial del mar (TSM; Pastor 2021). Esto puede favorecer eventos como La Niña o El Niño, los cuales también pueden afectar el éxito reproductivo de muchas especies de moluscos bivalvos intermareales.

En ostras perleras utilizadas para producción de perlas, los estudios relacionados con el cultivo de larvas en laboratorio son necesarios para complementar la errática recolecta de semilla del campo (Southgate 2008, 2011; Hoyos-Chairez et al. 2020). Sin embargo, este tipo de estudios son aún insuficientes en ostras perleras del género *Pteria* y no garantizan un abasto continuo de semilla. Estudios con *Pteria penguin*, una especie de mayor tamaño utilizada mayormente para cultivo de medias perlas (mabé) en muchos países del Pacífico sur, se han enfocado en evaluar los estadios de desarrollo embrionario y larvario (Wassnig y Southgate 2012a), los inductores físicos y químicos de la fijación larvaria (Wassnig y Southgate 2012b), densidades de siembra y raciones alimenticias (Wassnig y Southgate 2016) y el cultivo de larvas en laboratorio sin microalgas vivas (Southgate et al. 2016).

En el golfo de California, *Pteria sterna* (Gould, 1851) es la única especie que sustenta actualmente el cultivo comercial de perlas, las cuales poseen un patrón multicolor claramente diferenciado de las perlas producidas por los miembros del género *Pinctada* (Kiefert et al. 2004, Ruiz-Rubio et al. 2006). Estudios previos reportan que la especie se reproduce múltiples veces durante las temporadas de invierno y primavera (enero a mayo), cuando la temperatura del agua disminuye y la productividad primaria aumenta (Saucedo y Monteforte 1997, Vite-García y Saucedo 2008, Cáceres-Puig

production of this species. Consequently, the factors exerting the greatest influence on larval development must be determined, especially to understand the relationship between larval performance, broodstock condition, and the environment. This relationship has been analyzed in other bivalve species such as the scallops *Pecten maximus* (Le Pennec et al. 1990, Gagné et al. 2010), *Argopecten purpuratus* (Nevejean et al. 2003), *Placopecten magellanicus* (Pernet et al. 2003), and *Argopecten ventricosus* (Mazón-Suástegui et al. 2021); the Japanese oyster *Crassostrea gigas* (Chávez-Villalba et al. 2003); and the penshell *Atrina maura* (Angel-Dapa et al. 2015).

This study evaluated the seasonal variation in reproductive and larval performance of *Pteria sterna* due to the influence of environmental factors, evaluating the hypothesis that the transition between La Niña and El Niño events during 2008–2009 would result in a series of anomalies in SST, which would generate warmer conditions that prolonged the summer. We believe that these conditions affected the “normal” timing to collect ripe broodstock in the wild and rear the *Pteria sterna* larvae under hatchery conditions.

MATERIALS AND METHODS

Origin of broodstock and experimental design

The hypothesis of this study of *Pteria sterna* larvae was based on the findings of Gómez-Robles et al. (2013) with the same species, which suggest that the internal management of energy reserves associated with gonad maturation and reproductive success in *Pteria sterna* during 2008–2009 was also affected by the transition from La Niña to El Niño in Bahía de La Paz in the Gulf of California.

Forty adult *Pteria sterna* (94.4 ± 1.2 mm shell height) were collected from a submarine trestle placed at 10 m depth in Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico ($24^{\circ}16' N$, $110^{\circ}19' W$). To test our hypothesis, sampling took place during 2 periods that had been previously reported as reproductive peaks (February and April 2009) as well as a pre-reproductive period (November 2008) and a post-reproductive period (June 2009; Saucedo and Monteforte 1997, Vite-García and Saucedo 2008, Cáceres-Puig et al. 2009). After collection in the field, the oysters were taken to the hatchery, cleaned, and separated into 2 groups with 20 oysters in each group. The first group was used for spawning induction and larval culture, and the second group was used to evaluate indices of broodstock condition. Environmental variables were also monitored during each sampling period.

Spawning induction and larval rearing

Larval rearing was conducted following the protocol of Saucedo (2017) for *Pteria sterna*. Broodstock were induced to spawn by thermal shock (20 – 27 °C; 3 periods of 30 min each). After gamete fertilization, the larvae were reared in 3

et al. 2009). Los ensayos sobre cultivo en laboratorio de larvas de *Pteria sterna* son escasos (Araya-Núñez et al. 1991, 1995; Saucedo 2017; Hoyos-Chairez et al. 2020) y aún representan el principal cuello de botella para la propagación controlada de la especie. Por ello, es necesario determinar los factores que ejercen mayor influencia en el desarrollo larvario, particularmente para entender la relación de la viabilidad de las larvas con la condición de los reproductores y el ambiente. Esta relación ha sido analizada para otras especies de bivalvos, como las almejas *Pecten maximus* (Le Pennec et al. 1990, Gagné et al. 2010), *Argopecten purpuratus* (Nevejean et al. 2003), *Placopecten magellanicus* (Pernet et al. 2003) y *Argopecten ventricosus* (Mazón-Suástegui et al. 2021); el ostión japonés *Crassostrea gigas* (Chávez-Villalba et al. 2003); y el hacha china *Atrina maura* (Angel-Dapa et al. 2015).

En este estudio se evaluaron las variaciones estacionales en el desempeño reproductivo y larvario de *Pteria sterna* por influencia de factores ambientales, probando la hipótesis de que la transición entre los eventos de La Niña y El Niño en el ciclo 2008-2009 ocasionaron una serie de anomalías en la TSM, las cuales generaron condiciones cálidas que prolongaron el verano. Se piensa que estas condiciones afectaron los tiempos “normales” para recolectar reproductores maduros en el campo y cultivar larvas de *Pteria sterna* en el laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de los reproductores y diseño experimental

La hipótesis de este trabajo con larvas de *Pteria sterna* fue sustentada en los resultados de las investigaciones de Gómez-Robles et al. (2013) con la misma especie, las cuales sugieren que el manejo interno de reservas energéticas asociadas con la maduración gonadal y el éxito reproductivo de *Pteria sterna* durante el ciclo 2008-2009 también se vieron afectados por la transición entre los eventos de La Niña y El Niño en la bahía de La Paz, golfo de California.

Se recolectaron 40 adultos de *Pteria sterna* (94.4 ± 1.2 mm de altura de la concha) de una plataforma de cultivo submarina ubicada a 10 m en la bahía de La Paz, Baja California Sur, México ($24^{\circ}16' N$, $110^{\circ}19' O$). Para comprobar la hipótesis de trabajo, los muestreos se realizaron en 2 periodos reportados previamente como picos reproductivos de la especie (febrero y abril 2009), así como en un periodo identificado como pre-reproductivo (noviembre 2008) y otro post-reproductivo (junio 2009; Saucedo y Monteforte 1997, Vite-García y Saucedo 2008, Cáceres-Puig et al. 2009). Después de cada muestreo en campo, las ostras fueron llevadas al laboratorio, limpiadas y separadas en 2 grupos de 20 ostras cada uno. El primer grupo se utilizó para la inducción del desove y el cultivo de larvas y el segundo grupo para la determinación de los índices de condición de los reproductores. El seguimiento de los factores ambientales también se realizó de forma paralela en cada muestreo.

conical fiberglass tanks (1,500 L) with filtered (1 μm) and UV-irradiated seawater at 22 °C and 35–36 salinity. The larvae were stocked at 5–7 larvae·mL⁻¹ and fed a 1:1:1 mixture of the microalgae *Isochrysis galbana*, *Pavlova salina*, and *Chaetoceros calcitrans* at 15×10^3 cell·mL⁻¹ (day 1 to 10) and 25×10^3 cell·mL⁻¹ (day 11 onward). The tanks were drained, washed, and refilled with fresh seawater every third day.

Each time the tanks were drained, larvae samples (1 mL) were collected in triplicate and fixed in a 3% formalin solution. The larvae were then counted under a microscope (10 \times) on a Sedgewick-Rafter chamber to estimate the mean survival rate (%). Groups of 20 larvae were photographed and processed with Image Pro Plus v. 9.0 (Media Cybernetics, Bethesda, MD, USA) to estimate the increase in shell height (0.1 μm) and mean growth rate ($\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$). Larval samples (0.5 mL) were also taken in triplicate at the beginning (veliger stage) and end (pediveliger stage) of the larval culture period and stored at -80 °C for further biochemical analyses.

The preserved larval samples were filtered, rinsed with ammonium formate, and decalcified in acetic acid to eliminate the shell as much as possible. The samples were weighed (± 0.001 g), lyophilized, re-hydrated in 3.5% cold saline solution, and homogenized to obtain crude extracts. Total carbohydrates were determined following the anthrone-sulfuric acid method (Leyva et al. 2008) using a dextrose solution as the standard (G8270, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Total proteins were determined by the Bradford (1976) method using Coomassie reagent (B6916, Sigma-Aldrich) and bovine serum albumin (A7906, Sigma-Aldrich) as the standard. Total lipids were estimated with the method of Bligh and Dyer (1959) with modifications, using 20 μL supernatant, 200 μL reagent (Randox Laboratories, Antrim, UK), and lipid Lin-Trol solution (L2648, Sigma-Aldrich) as the standard. Results are expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{larvae}^{-1}$. Finally, energy equivalents were calculated for veliger and pediveliger larvae using the conversion factors of Brett and Groves (1979): proteins (20.0 $\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}$), carbohydrates (17.5 $\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}$), and lipids (39.5 $\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}$). Data are reported as $\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{larvae}^{-1}$.

When approximately half of the population reached the pediveliger stage, the larvae were transferred to settlement tanks that were identical to the culturing tanks. The settlement tanks contained artificial collectors made from dark-colored onion bags, including both the outer bag and inner substrate (Saucedo 2017). After 2 weeks, the spat that had settled on the collectors and on the bottom and walls of the settlement tanks were recovered to estimate total recruitment for each larval trial run. During this time, the spat were fed the same mixture of *Isochrysis galbana*, *Pavlova salina*, and *Chaetoceros calcitrans* but at $70\text{--}80 \times 10^3$ cell·mL⁻¹.

Indices of broodstock condition

Oysters of the second group were separated by sex, and only the females were used in the analyses, as eggs are the best indicator of gamete quality and larval viability. The

Inducción al desove y cultivo de larvas

El cultivo de larvas se llevó a cabo siguiendo el protocolo de Saucedo (2017) para *Pteria sterna*. Los reproductores fueron inducidos al desove mediante choque térmico (20–27 °C; 3 periodos de 30 min cada uno). Después de la fertilización de gametos, las larvas se cultivaron en 3 tanques (1,500 L) cónicos de fibra de vidrio con agua de mar filtrada (1 μm) e irradiada con luz UV a 22 °C y salinidad de 35–36. Las larvas se sembraron a 5–7 larva·mL⁻¹ y se alimentaron con una mezcla 1:1:1 de las microalgas *Isochrysis galbana*, *Pavlova salina* y *Chaetoceros calcitrans* a 15×10^3 célula·mL⁻¹ (días 1 a 10) y 25×10^3 célula·mL⁻¹ (día 11 en adelante). Los tanques se drenaron, lavaron y rellenaron con agua de mar fresca cada tercer día.

Durante el lavado de tanques, se tomaron muestras (1 mL) de larvas por triplicado que se fijaron en una solución de formol al 3%. Las larvas se contaron bajo el microscopio (10 \times) en una cámara Sedgewick-Rafter para estimar la tasa promedio de supervivencia (%). Grupos de 20 larvas se fotografiaron y se procesaron con el *software* Image Pro Plus v. 9.0 (Media Cybernetics, Bethesda, MD, EE. UU.) para estimar el incremento en la altura de la concha (0.1 μm) y la tasa promedio de crecimiento ($\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$). También se tomaron muestras de larvas (0.5 mL) por triplicado al principio (etapa veliger) y final (etapa pediveliger) del cultivo larvario y se almacenaron a -80 °C para los análisis bioquímicos posteriores.

Las muestras preservadas de larvas se filtraron, enjuagaron con formiato de amonio y se descalcificaron en ácido acético para eliminar al máximo la concha. Las muestras se pesaron (± 0.001 g), liofilizaron, rehidrataron en solución salina fría al 3.5% y se homogeneizaron para obtener los extractos crudos. Los carbohidratos totales se determinaron siguiendo el método de antrona-ácido sulfúrico (Leyva et al. 2008) utilizando una solución de dextrosa como estándar (G8270, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). Las proteínas totales se determinaron por el método de Bradford (1976), empleando el reactivo de Coomassie (B6916, Sigma-Aldrich) y albúmina de bovino (A7906, Sigma-Aldrich) como estándar. Los lípidos totales se estimaron con una versión modificada del método de Bligh y Dyer (1959) utilizando 20 μL del sobrenadante, 200 μL del reactivo (Randox Laboratories, Antrim, Reino Unido) y solución lipídica Lin-Trol (L2648, Sigma-Aldrich) como estándar. Los resultados se expresaron en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$. Finalmente, se calcularon los equivalentes energéticos para larvas veliger y pediveliger a partir de los factores de conversión de energía propuestos por Brett y Groves (1979): proteína (20.0 $\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}$), carbohidratos (17.5 $\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}$) y lípidos (39.5 $\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}$). Los datos se reportan como $\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{larva}^{-1}$.

Cuando aproximadamente la mitad de la población alcanzó el estadio de pediveliger, las larvas se transfirieron a tanques de fijación idénticos a los de cultivo. Los tanques de fijación contenían colectores artificiales hechos a base de costales cebolleros de color oscuro, tanto la bolsa exterior como el sustrato interior (Saucedo 2017). Después de 2 semanas, la

oysters were measured (± 0.1 mm) and weighed (± 0.1 g) to first determine a general condition index according to the equation of Gómez-Robles et al. (2013):

$$\text{General condition index} = \frac{\text{soft body weight}}{\text{oyster wet weight}} \times 100 \quad (1)$$

In addition, the female oysters were dissected to extract gonad samples. The first section was preserved in Davidson's solution for 48 h for histological and histochemical analyses, and the second section was preserved at -80 °C for biochemical analysis.

The gonad samples used for histological analyses were dehydrated, embedded in Paraplast-TX (SPI Supplies, West Chester, PA, USA), and thin-sectioned to 4 μm in duplicate. The first set of slides was stained with haematoxylin-eosin (Kim et al. 2006) and examined under a microscope to identify the stages of gonad development (inactive, development, ripe, spawning, and spent) and calculate mean oocyte area ($0.1 \mu\text{m}^2$) according to the methods of Vite-García and Saucedo (2008). This information served as the basis to determine the seasonal changes in broodstock condition and its influence on larval performance (Gómez-Robles et al. 2013). A second set of slides was stained with Sudan Black B (Bayliss 1984) to identify lipid and triglyceride droplets in the gonads, which ranged from dark grey to black. Then, the slides were digitized at high resolution and processed with Image Pro Plus to determine the lipid index of the oocytes (%) according to the equation of Rodríguez-Jaramillo et al. (2008):

$$\text{Lipid index} = \frac{\text{area covered by lipid droplets}}{\text{oocyte area}} \times 100 \quad (2)$$

For the biochemical analyses, the preserved female gonad samples were weighed (~ 100 mg), lyophilized, rehydrated in 3.5% saline solution, and homogenized to obtain crude extracts. The total composition of proteins, carbohydrates, and lipids was determined following the procedures previously described for the larvae.

Environmental variables

Water temperature (± 0.01 °C) and salinity (± 0.01) were recorded *in situ* with a 6920 portable meter (YSI, Yellow Springs, OH, USA). To test the hypothesis, water temperature and SST data for pre-sampling (2006–2007) and post-sampling (2010–2011) periods were obtained from the Aqua MODIS database of the National Oceanic and Atmospheric Association (NOAA; <http://coastwatch.pfeg.noaa.gov>) and processed following the methods of Reynolds et al. (2002). In addition, water samples were also collected in quadruplicate *in situ* to determine food content and availability. The first 2 L of the water samples were filtered through Whatman GF/C filters (47-mm diameter), washed with distilled water, dried at 100 °C, burned at 450 °C (4 h), weighed (± 0.001 g),

semilla asentada en los colectores, el fondo y paredes de los tanques se recuperó para estimar el reclutamiento total en cada corrida larvaria. Durante este tiempo la semilla se alimentó con la misma mezcla de *Isochrysis galbana*, *Pavlova salina* y *Chaetoceros calcitrans*, pero ahora a $70\text{--}80 \times 10^3$ células mL^{-1} .

Indicadores de condición de reproductores

Las ostras del segundo grupo se separaron por sexo y se consideraron únicamente las hembras para los análisis, por ser los huevos el mejor indicador de calidad de gametos y viabilidad larvaria. Las ostras se midieron (± 0.1 mm) y pesaron (± 0.1 g) para determinar primeramente un índice de condición general según la ecuación de Gómez-Robles et al. (2013):

$$\text{Índice de condición general} = \frac{\text{peso blando tejidos}}{\text{peso húmedo de la ostra}} \times 100 \quad (1)$$

Adicionalmente, las hembras se sacrificaron para extraer muestras de gónadas. La primera sección se fijó en solución Davidson durante 48 h para los análisis histológicos e histoquímicos y la segunda sección a -80 °C para análisis bioquímicos.

Las muestras de gónadas utilizadas para los análisis histológicos se deshidrataron, se incluyeron en Paraplast-TX (SPI Supplies, West Chester, PA, EE. UU.) y se cortaron por duplicado a 4 μm . Un primer juego de laminillas se tiñó con hematoxilina-eosina (Kim et al. 2006) y se examinó bajo el microscopio para identificar las etapas del desarrollo gonadal (inactivo, desarrollo, madurez, desove y post-desove) y calcular el área promedio de los ovocitos ($0.1 \mu\text{m}^2$), según los métodos de Vite-García y Saucedo (2008). Esta información sirvió como base para determinar los cambios estacionales en la condición de los reproductores y su influencia en el desempeño larvario (Gómez-Robles et al. 2013). Un segundo juego de laminillas se tiñó con Sudan Black B (Bayliss 1984) para identificar las gotas de lípidos y triglicéridos en la gónada, las cuales se marcan de color gris oscuro a negro. Luego, las laminillas se digitalizaron a alta resolución y se procesaron con el programa Image Pro Plus para determinar el índice lipídico de los ovocitos (%) de acuerdo a la ecuación de Rodríguez-Jaramillo et al. (2008):

$$\text{Índice lipídico} = \frac{\text{área cubierta de gotas lipídicas}}{\text{área ovocito}} \times 100 \quad (2)$$

Para los análisis bioquímicos, las muestras de gónadas femeninas se pesaron (~ 100 mg), liofilizaron, rehidrataron en solución salina al 3.5% y homogeneizaron para obtener los extractos crudos. La composición total de proteínas, carbohidratos y lípidos se determinó siguiendo los procedimientos descritos previamente para las larvas.

Factores ambientales

La temperatura (± 0.01 °C) y salinidad (± 0.01) del agua se registraron *in situ* con un medidor portátil (mod. 6920, YSI,

and preserved at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Seston composition was determined according to the methods of Luna-González et al. (2000). The other seawater samples were filtered, oven-dried at $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 24 h, weighed (0.001 g), burned to ash at $475\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 4 h, and re-weighed to determine inorganic seston content. Organic seston content was determined by the difference in weight between total and inorganic seston content. Data are expressed as $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Data related to primary productivity and the concentration of chlorophyll *a* ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) for each of the 4 sampling periods were also obtained from the NOAA Aqua MODIS database.

Statistical analysis

Data of broodstock (condition index, biochemical composition, oocyte size, and lipid index) and larvae (growth rate) condition were checked for normality with the Kolmogorov-Smirnov test. The presence of significant differences in these data over time were evaluated with a one-way analysis of variance (ANOVA; Sokal and Rohlf 1981). Due to the small size of pooled samples ($n = 5$), data of the biochemical composition of larvae were assessed for significant differences between the April and June 2009 trial runs (superscript letters in Table 2) and veliger and pediveliger stages (superscript numbers) with a Kruskal-Wallis test. As needed, post hoc multiple range comparisons were conducted with the Tukey (HSD) test. Pearson correlation coefficients and Spearman rank correlations were used to evaluate the relationship between broodstock condition, larvae, and environmental variables. When required, the data were *arcsin* transformed. Analyses were conducted in STATISTICA v. 8.0 (Statsoft, Tulsa, OK, USA).

RESULTS

Spawning response in relation to broodstock condition and environmental factors

The spawning response related to broodstock condition and environmental factors is shown in Table 1. The oysters collected in November 2008 did not respond to induced spawning. During this time, the water temperature was the highest, total seston content was the lowest, and only 63% of the broodstock had ripe gonads. Conversely, oysters successfully spawned in February 2009 (4 males, 2 females), April 2009 (2 males, 1 female), and June 2009 (2 males, 1 female). However, the gonads were only of optimal condition for reproduction in April 2009 (20% ripe, 63% spawned, largest oocytes; Fig. 1) when favorable environmental conditions were present (lowest water temperatures, highest total seston content; Table 1). The seasonal relationship between water temperature and total seston content was inverse ($r = -0.87$). The relationship between total seston and chlorophyll *a* content was not significant ($r = -0.44$).

Yellow Springs, OH, EE. UU.). Para comprobar la hipótesis de trabajo, los datos de temperatura del agua y TSM para ciclos anteriores (2006-2007) y posteriores (2010-2011) se obtuvieron de la base de datos Aqua MODIS de la Oficina Nacional de Administración Oceánica y Atmosférica (NOAA; <http://coastwatch.pfeg.noaa.gov>) y se procesaron según los métodos de Reynolds et al. (2002). Adicionalmente, se recolectaron muestras de agua *in situ* por cuadruplicado para determinar la disponibilidad y contenido del alimento. Los primeros 2 L de agua se filtraron a través de filtros Whatman GF/C (47 mm diámetro), lavaron con agua destilada, secaron a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, quemaron a $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4 h), pesaron ($\pm 0.001\text{ g}$) y conservaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. La composición de seston se determinó de acuerdo a los métodos de Luna-González et al. (2000). Los otros 2 L de agua se filtraron, secaron en horno a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h, pesaron (0.001 g), quemaron a $475\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 4 h y se volvieron a pesar para determinar el contenido de seston inorgánico. El contenido de seston orgánico se determinó por la diferencia de peso entre el seston total y el seston inorgánico. Los datos se expresaron como $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los datos relativos a la productividad primaria y la concentración de clorofila *a* ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) para cada uno de los 4 muestreos se obtuvieron también de la base de datos Aqua MODIS de la NOAA.

Análisis estadístico

Los datos de la condición de reproductores (índice de condición, composición bioquímica, talla de ovocitos, índice lipídico) y larvas (tasa de crecimiento) se verificaron para fines de normalidad con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se evaluó la presencia de diferencias significativas en estos datos a lo largo del tiempo con un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía (Sokal y Rolf 1981). Debido a que el tamaño de muestra manejado fue pequeño ($n = 5$), se utilizó un análisis de Kruskal-Wallis para evaluar las diferencias significativas en la composición bioquímica de las larvas entre las corridas de abril y junio (letras superíndices en la Tabla 2) y las etapas veliger y pediveliger (números superíndices en la Tabla 2). Cuando fue necesario, se incluyeron comparaciones de rangos múltiples (diferencia significativa de honestidad [DSH]) con la prueba de Tukey. También se aplicaron coeficientes de correlación de Pearson y de correlación de rangos de Spearman para evaluar la relación entre los indicadores de la condición de reproductores, larvas y el ambiente. Los datos se transformaron con la función *arcsen* cuando se requirió. Los análisis se realizaron con el *software* STATISTICA 8.0 (Statsoft, Tulsa, OK, EE. UU.).

RESULTADOS

Respuesta al desove en relación a la condición de los reproductores y el ambiente

La respuesta al desove y su relación con la condición de los reproductores y los factores ambientales se presentan en

Larval performance in relation to broodstock and environmental conditions

The spawning of February 2009 failed to produce veliger larvae. Although the water temperature remained low and the oocyte size and lipid index ranked second among all periods, most of the broodstock exhibited developing gonads and the lowest condition index values of the study period (Fig. 1, Table 1). In April and June 2009, spawning yielded viable veliger larvae with no shell deformities and active swimming behavior. However, only

la Tabla 1. Las ostras recolectadas en noviembre de 2008 no respondieron al desove inducido. Durante este tiempo, la temperatura del agua fue la más alta, el contenido de seston el más bajo y solo el 63% de los reproductores tenían gónadas maduras. Por el contrario, las ostras desovaron con éxito en febrero (4 machos, 2 hembras), abril (2 machos, 1 hembra) y junio 2009 (2 machos, 1 hembra). No obstante, solo en abril 2009 las gónadas fueron óptimas para la reproducción (20% maduras, 63% desovadas, ovocitos más grandes; Fig. 1) y las condiciones ambientales favorables (temperatura del agua más baja, contenido de seston total más alto; Tabla 1). Las

Table 1. Reproductive and larval performance of the winged pearl oyster *Pteria sterna* associated with environmental variables during the pre-reproductive, reproductive, and post-reproductive periods of 2008–2009 in Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico.

Tabla 1. Desempeño reproductivo y larvario de la concha nácar *Pteria sterna* asociados con factores ambientales durante las temporadas pre-reproductiva, reproductiva y post-reproductiva 2008-2009 en la bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

Indicators	2008		2009	
	Nov (Autumn)	Feb (Winter)	Apr (Spring)	Jun (Summer)
Spawning and larvae (num)				
Spawning response	Unsuccessful	Successful	Successful	Successful
Spawned oysters	–	4 Males; 2 Females	2 Males; 1 Female	2 Males; 1 Female
Pooled veliger larvae	–	None	28 × 106	1 × 106
Broodstock (female)				
Main gonad development stage	Ripeness (58%) (Fig. 1b)	Development (63%) (Fig. 1a)	Spawned (83%) (Fig. 1c)	Ripeness (42%) (Fig. 1b)
General condition index (%)	12.5 ± 0.6 ^b	11.4 ± 0.6 ^b	11.6 ± 0.7 ^b	20.3 ± 0.8 ^a
Mean size of oocytes (µm ²)	3,935.9 ± 48.1 ^b	3,453.3 ± 99.5 ^b	4,597.4 ± 97.2 ^a	3,786.2 ± 64.3 ^b
Mean lipid index of oocytes (%)	9.7 ± 0.6 ^b	8.3 ± 1.1 ^{bc}	13.1 ± 1.2 ^a	6.7 ± 0.8 ^c
Mean protein content (mg·g ⁻¹)	238.6 ± 23.3 ^a	199.6 ± 11.8 ^a	230.5 ± 20.0 ^a	92.0 ± 8.5 ^b
Mean carbohydrate content (mg·g ⁻¹)	17.8 ± 2.4 ^c	29.2 ± 1.8 ^b	60.1 ± 5.3 ^a	30.7 ± 2.7 ^b
Mean lipid content (mg·g ⁻¹)	30.8 ± 3.5 ^b	28.1 ± 1.9 ^b	39.8 ± 3.2 ^b	93.6 ± 11.4 ^a
Environment				
Temperature (°C)	26.2	21.1	21.8	22.5
Sea Surface Temperature SST (°C)	0.71	0.43	-0.18	0.44
Salinity	35.8	36.3	36.4	36.1
Chlorophyll <i>a</i> (mg·m ⁻³)	1.4	1.9	1.3	0.8
Total seston (mg·L ⁻¹)	20.8	29.1	32.3	29.5
Organic seston (mg·L ⁻¹)	3.0	3.1	3.2	3.1
Inorganic seston (mg·L ⁻¹)	17.8	25.9	29.1	26.4

Mean ± standard errors are shown. Identical superscripts letters within columns denote lack of significant differences at $P < 0.001$

Table 2. Survival, growth, biochemical composition, and energy equivalents of veliger and pediveliger larvae of the winged pearl oyster *Pteria sterna* reared at the hatchery in April and June 2009.

Tabla 2. Supervivencia, crecimiento, composición bioquímica y equivalentes energéticos de larvas veliger y pediveliger de la concha nácar *Pteria sterna* cultivadas en el laboratorio en abril y junio de 2009.

Indicators	April		June	
	Veliger (day 3)	Pediveliger (day 21)	Veliger (day 3)	Pediveliger (day 21)
Overall performance of larvae and spat				
Mean survival of larvae (%)	95.4	7.7	60.1	0.1
Mean shell height of larvae (μm)	98.6 ± 3.5	199.2 ± 7.3	72.5 ± 1.5	181.5 ± 5.8
Mean growth rate of larvae ($\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$)	6.3 ± 0.6^a	4.9 ± 0.4^a	4.2 ± 0.6^b	2.6 ± 0.4^b
Pooled pediveliger larvae (num)	–	184×10^3	–	$< 16,000$
Settlement day	–	23	–	32*
Final settlement rate of spat (%)	–	6.6	–	< 0.1
Harvested spat (num)	–	17×10^3	–	< 150
Biochemical composition ($\text{mg}\cdot\text{larvae}^{-1}$)				
Mean protein content	$0.470 \pm 0.002^{a,2}$	$6.650 \pm 0.710^{a,1}$	$0.410 \pm 0.003^{a,2}$	$3.180 \pm 0.260^{b,1}$
Mean carbohydrate content	$0.0140 \pm 0.0001^{a,2}$	$0.7500 \pm 0.0010^{a,1}$	$0.0100 \pm 0.0001^{a,2}$	$0.2300 \pm 0.0010^{b,1}$
Mean lipid content	$0.0040 \pm 0.0002^{b,2}$	$0.1400 \pm 0.0020^{a,1}$	$0.0300 \pm 0.0002^{a,2}$	$0.0500 \pm 0.0010^{b,1}$
Energy equivalents ($\text{J}\ \mu\text{g}^{-1}\cdot\text{larvae}^{-1}$)				
Mean protein energy	$0.044^{a,1}$	$0.003^{b,2}$	$0.050^{a,1}$	$0.010^{a,1}$
Mean carbohydrate energy	$1.310^{a,1}$	$0.020^{b,2}$	$1.290^{a,1}$	$0.080^{a,2}$
Mean lipid energy	$10.700^{a,1}$	$0.300^{b,2}$	$12.000^{a,1}$	$0.800^{a,2}$

Mean \pm standard errors are shown. Identical superscripts letters within columns denote lack of significant differences between the April and June runs at each developmental stage; identical superscripts numbers denote lack of significant differences between veliger and pediveliger stages at each month; (*) larvae reached day 32 in culturing tanks, but most of them died and only a few of them settled

pediveliger larvae of the April run completed metamorphosis, settled at day 23, and developed into healthy spat (Table 2). These larvae originated from broodstock with low condition index values but high percentages of ripe-spawned gonads, the largest oocytes, and the highest lipid index values of all periods. These values also coincided with low water temperatures and the highest total seston values (but not chlorophyll *a* and the SST that showed no anomalies in April 2009). Even though the June trial run also resulted in a few viable larvae, most of them stopped growing between day 15 and 17, and only ~ 150 small spat were harvested on day 32 (Table 2). The broodstock in this period exhibited the highest condition index values, yet only 50% of their gonads were ripe (Fig. 1). In addition, their oocytes were small, and their lipid index values were the lowest in the study, although both water temperature and total seston values remained favorable.

relaciones estacionales entre la temperatura del agua y el contenido total de seston fueron inversas ($r = -0.87$). La relación entre el seston total y el contenido de clorofila *a* no fue significativa ($r = -0.44$).

Desempeño larvario en relación a la condición de los reproductores y el ambiente

El desove de febrero 2009 falló y no permitió obtener larvas veliger. Aunque la temperatura del agua se mantuvo baja y la talla de los ovocitos e índice lipídico ocuparon el segundo lugar de todos los periodos, los reproductores tenían gónadas mayormente en desarrollo y el índice de condición más bajo (Fig. 1, Tabla 1). En abril y junio 2009, las larvas veliger que se obtuvieron fueron viables, no mostraron deformidades y su comportamiento de natación fue activo. Sin embargo, solo las larvas pediveliger de la corrida de

Figure 2 shows the variation in water temperature and SST anomalies for the 2008–2009 cycle compared to those of previous (2006–2007) and subsequent (2009–2010) cycles. In general, the effects of the El Niño 2006–2007, La Niña 2007–2008, and El Niño 2008–2009 events were apparent in Bahía de La Paz, with temperatures during the 2008–2009 cycle being at least 1.5–2.0 °C warmer than those of the previous cycle. In 2009, the variation in SST anomalies ranged from 0.7 °C in February and –0.2 °C in April to 0.5 °C in June and continued to increase to 1.7 °C in January–February 2010. Thereafter, SST drastically decreased in 2009–2010 and favored another cold La Niña event.

The general condition index of the broodstock was significantly higher ($F = 41.4$, $P < 0.001$) in June 2009 than in February and April and maintained an inverse relationship with water temperature ($r = -0.75$) and a direct relationship with total seston content ($r = 0.90$). Significant increases in mean oocyte area ($F = 26.9$, $P < 0.001$) and the lipid index ($F = 9.9$, $P < 0.001$) were also found in April 2009 when compared to those of other months. Both indicators were significantly correlated with each other ($r^2 = 0.88$) and showed an inverse relationship with water temperature ($r = -0.71$) and a direct relationship with total seston content ($r = 0.62$). At the same time, significantly higher total protein, carbohydrate, and lipid content were found in November 2008 ($F = 13.5$, $P < 0.001$), April 2009 ($F = 18.6$, $P < 0.001$), and June 2009 ($F = 22.5$, $P < 0.001$), respectively. However, the lipid content of female gonads was inversely related with the lipid index ($r = -0.91$) and oocyte area ($r = -0.77$).

Larval survival, growth, and biochemical and energy composition

Larval survival and growth from the April and June 2009 trial runs are shown in Figure 3 and Table 2. At the veliger stage (day 3), survival was 95.4% in April 2009 and 60.1% in June 2009. At the umbonate stage (day 10–11), survival drastically decreased to 16.1% in April and 10.3% in June, whereas the final survival percentage of eyed pediveligers at day 21 was 7.7% in April and 0.1% in June.

On day 11, the mean growth rate of umbonate larvae was significantly higher ($F = 18.1$, $P < 0.001$) in April 2009 than in June 2009. At day 23, differences in the growth rate of pediveliger larvae were also significant ($F = 24.5$, $P < 0.001$) between April and June (Table 2, Fig. 3). The relationships between larval shell height and oocyte area and between shell height and the lipid index were not significant ($r = 0.30$ in both cases).

At the veliger stage, differences in larval protein and carbohydrate content were not significant between April and June 2009 ($H = 2.3$, $P > 0.050$), although these differences were significant at the pediveliger stage ($H = 6.8$, $P < 0.050$). Similarly, variations in protein and carbohydrate content were significant between the veliger and pediveliger stages in April ($H = 19.2$, $P < 0.001$) and June ($H = 20.5$; $P < 0.001$). The

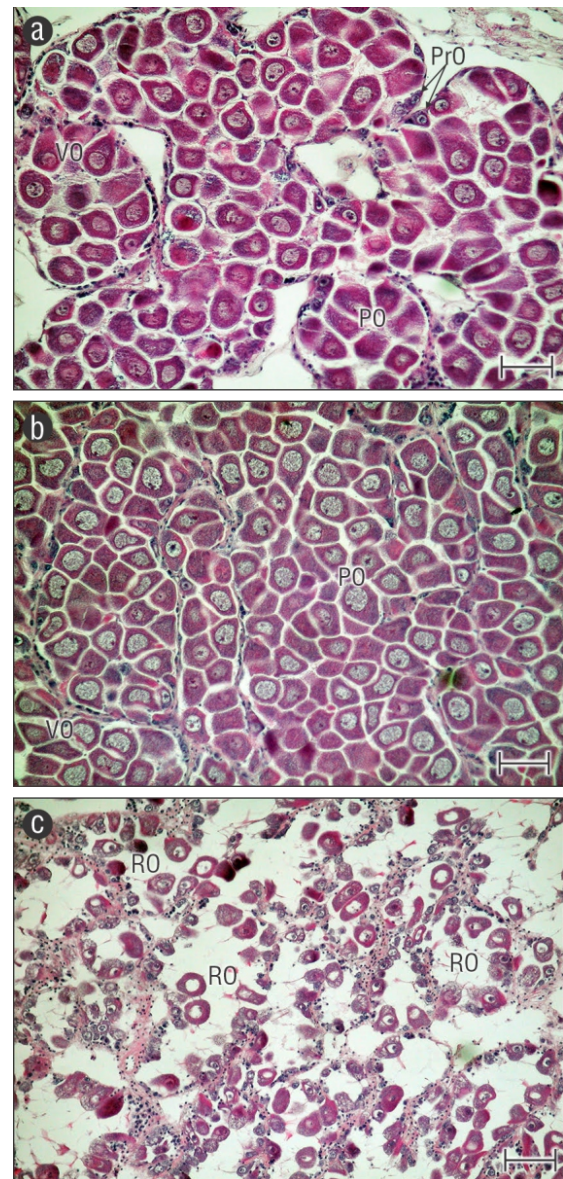


Figure 1. Photomicrographs of female gonads (10×) of the winged pearl oyster *Pteria sterna* stained with hematoxylin-eosin showing the stages of gametogenic cycle that prevailed during each sampling period: (a) development stage in February 2009, depicting pre-vitellogenic oocytes (PrO), vitellogenic oocytes (VO), and post-vitellogenic oocytes (PO) filling the acini; (b) ripeness stage in November 2008 and June 2009 that mostly show PO and a few VO; and (c) spawning stage in April 2009, in which only residual oocytes (RO) are observed within acini. Scale bar is 50 μm.

Figura 1. Microfotografías de gónadas femeninas (10×) de la concha nácar *Pteria sterna* teñidas con hematoxilina-eosina, mostrando las etapas del ciclo gametogénico que predominaron en cada uno de los muestreos del estudio: (a) etapa de desarrollo en febrero de 2009, con ovocitos pre-vitelogénicos (PrO), ovocitos vitelogénicos (VO) y ovocitos post-vitelogénicos (PO) llenando los acinos; (b) etapa de madurez en noviembre de 2008 y junio de 2009, mostrando en su mayoría PO y pocos VO; y (c) etapa de desove en abril de 2009, donde solo se observan ovocitos residuales (RO) al interior de los acinos. La barra de la escala es de 50 μm.

lipid content of the larvae varied significantly between runs in April and June in the veliger ($H = 24.1$, $P < 0.001$) and pediveliger ($H = 16.5$, $P < 0.001$) stages and between both developmental stages in April ($H = 20.3$, $P < 0.001$) and June ($H = 6.2$, $P < 0.050$). When compared to the energy equivalents of total proteins and carbohydrates, those obtained from lipid reserves significantly increased from April to June ($H = 11.3$, $P < 0.001$) and significantly diminished from the veliger to pediveliger stages ($H = 27.3$, $P < 0.001$; Table 2).

DISCUSSION

This study provides evidence that both confirms and contradicts the present working hypothesis based on the clear relationship that exists between reproductive condition, larval viability, and the environment (Chávez-Villalba et al. 2003, Mazón-Suástegui et al. 2021). In *Pteria sterna*, first we observe that environmental variations affected reproductive performance more than larval performance, as all trial runs were carried out under controlled temperature and diet conditions in the hatchery and not in the wild, which would expose the larvae to the prevailing conditions at the time of broodstock collection. For example, November is considered to be a pre-reproductive period for *Pteria sterna* (Saucedo and Monteforte 1997, Vite-García and Saucedo 2008, Cáceres-Puig et al. 2009), and the failure of the broodstock to spawn and produce larvae during this month appears to be directly related to the presence of the highest water temperatures, lowest seston content, and SST anomalies. These anomalies, which reflect cyclic oceanographic events that occurred during 2006–2007 (El Niño), 2007–2008 (La Niña), and 2008–2009 (El Niño), produced positive thermal oscillations (+0.5 to +1.0 °C) from August to December 2008 that prolonged warm summer conditions. In turn, this scenario likely resulted in the production of immature or over-ripe (atretic) oocytes that were unable to sustain larval development in November 2008 and February 2009 (Gómez-Robles et al. 2013). This is notable given that one of the main breeding peaks for *Pteria sterna* occurs during February. These SST anomalies continued to increase until reaching values of 1.7 °C in January–February 2010 (El Niño event) and then drastically dropped to –1.6 °C in July 2010 and –2.1 °C in February 2010 (La Niña event; Fig. 2). García-Cuellar et al. (2004) also reported an anomalously long summer caused by the 1997–1998 El Niño in Bahía de La Paz that extended the spawning season of the Panamic pearl oyster *Pinctada mazatlanica*, which unlike *Pteria sterna*, only breeds during summer.

The results of this study also indicate that the environmental conditions from February to June 2009 (low water temperature, high seston content, and SST anomalies between –0.5 to +0.5 °C) were favorable for gamete nutrition and larval development throughout the spring. However, April 2009 was the only period in which the larvae were viable and contained sufficient energy reserves (mostly lipids) to complete

abril lograron completar la metamorfosis, fijarse al día 23 y convertirse en semillas sanas (Tabla 2). Estas larvas se originaron de reproductores con un índice de condición bajo, pero con un alto porcentaje de gónadas maduras-desovadas, los ovocitos más grandes y el índice lipídico más alto de todos los periodos. Estos valores también coincidieron con bajas temperatura del agua y los valores máximos del seston total (no así la clorofila *a* ni la TSM que no mostró anomalías en abril 2009). Aunque la corrida de junio también resultó en pocas larvas viables, la mayoría de ellas dejó de crecer entre los días 15 y 17 y solo se lograron recolectar ~150 semillas pequeñas al día 32 (Tabla 2). Si bien los reproductores en este periodo tenían el índice de condición más alto, solo el 50% de las gónadas estaban maduras (Fig. 1). Además, sus ovocitos eran pequeños y sus valores de índice de lípidos fueron los más bajos del estudio, aunque tanto la temperatura del agua como los valores totales de seston se mantuvieron favorables.

La Figura 2 presenta las variaciones en la temperatura del agua y anomalías en la TSM del presente ciclo 2008–2009 en comparación con ciclos previos (2006–2007) y posteriores (2009–2010). En general, los efectos de los eventos de El Niño 2006–2007, La Niña 2007–2008 y El Niño 2008–2009 eran evidentes en la bahía de La Paz, con las temperaturas durante el ciclo 2008–2009 siendo al menos 1.5–2.0 °C más cálidas que las del ciclo anterior. En 2009 en particular, las variaciones en las anomalías en la TSM oscilaron de 0.7 °C en febrero y –0.2 °C en abril a 0.5 °C en junio, aunque continuaron incrementándose hasta alcanzar 1.7 °C en enero-febrero de 2010. Las TSM disminuyeron drásticamente en 2009–2010 para favorecer otro evento frío de La Niña.

El índice de condición general de los reproductores fue significativamente mayor ($F = 41.4$, $P < 0.001$) en junio 2009 y menor en febrero y abril y mantuvo una relación inversa con la temperatura del agua ($r = -0.75$) y directa con el seston total ($r = 0.90$). Se observaron incrementos significativos en el área promedio de los ovocitos ($F = 26.9$, $P < 0.001$) y el índice lipídico ($F = 9.9$, $P < 0.001$) en abril 2009 en comparación con otros meses. Ambos indicadores se correlacionaron significativamente entre sí ($r^2 = 0.88$) y mostraron una relación inversa con la temperatura del agua ($r = -0.71$) y directa con el seston total ($r = 0.62$). A su vez, el contenido de proteínas totales, carbohidratos y lípidos fueron significativamente más altos en noviembre 2008 ($F = 13.5$, $P < 0.001$), abril 2009 ($F = 18.6$, $P < 0.001$) y junio 2009 ($F = 22.5$, $P < 0.001$), respectivamente. Sin embargo, el contenido de lípidos de las gónadas femeninas mostró una relación inversa con el índice lipídico ($r = -0.91$) y el área de los ovocitos ($r = -0.77$).

Supervivencia, crecimiento y composición bioquímica y energética de las larvas

La supervivencia y el crecimiento de las larvas en las corridas de abril y junio 2009 se muestran en la Figura 3 y Tabla 2. En la etapa veliger (día 3), la supervivencia fue del 95.4% en abril 2009 y el 60.1% en junio 2009. En la etapa

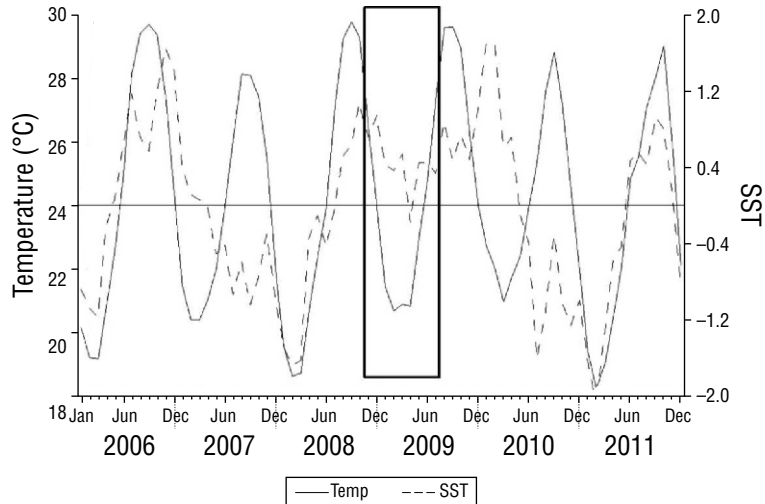


Figure 2. Variations in water temperature and sea surface temperature (SST) anomalies for the 2008–2009 reproductive cycle in Bahía de La Paz (solid rectangle) and those of the previous (2006–2007) and subsequent (2010–2011) cycles.

Figura 2. Variaciones en la temperatura del agua y anomalías en la temperatura superficial del mar (TSM) para el presente ciclo reproductivo 2008-2009 en la bahía de La Paz (rectángulo sólido), comparado con ciclos previos (2006-2007) y posteriores (2010-2011).

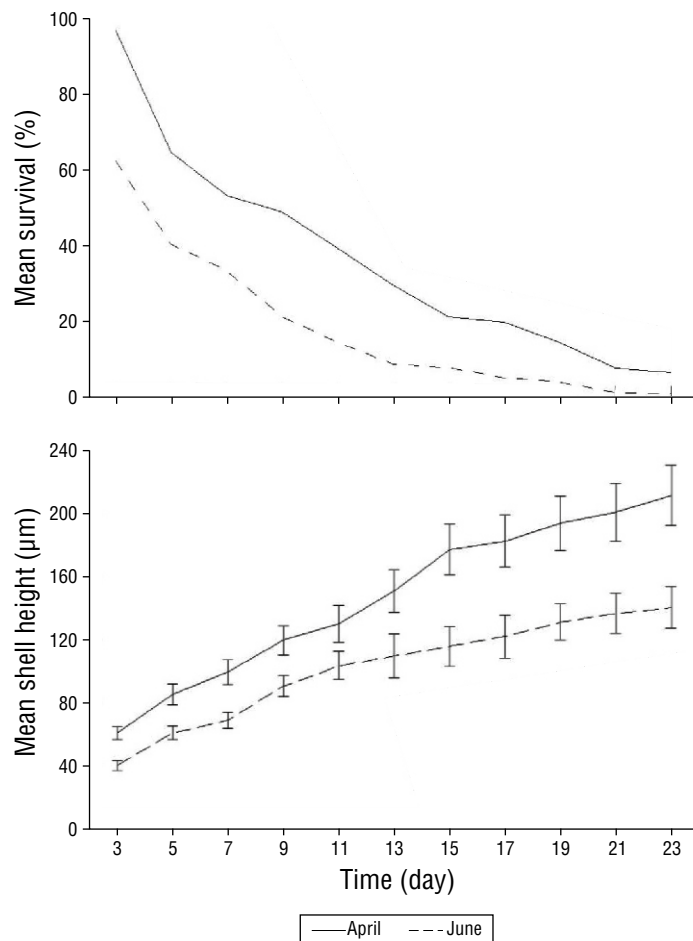


Figure 3. Survival and growth based on the shell height of larvae of the winged pearl oyster *Pteria sterna* reared at the hatchery in April and June 2009.

Figura 3. Crecimiento y supervivencia en altura de la concha de las larvas de la concha nácar *Pteria sterna* cultivadas en el laboratorio en abril y junio 2009.

metamorphosis and settle, which coincided with the highest percentages of ripe and spawning gonads, the largest oocytes, the highest lipid index values, low water temperatures, and the highest seston content. According to Saucedo and Monteforte (1997), Vite-García and Saucedo (2008), and Cáceres-Puig et al. (2009), April is another peak breeding period for *Pteria sterna*, which coincides with the optimal use of energy reserves during gametogenesis to maximize reproductive performance (Gómez-Robles et al. 2013). Finally, June is recognized as a post-reproductive period for *Pteria sterna*, which is mainly due to increasing temperatures and decreasing food availability (Saucedo and Monteforte 1997, Vite-García and Saucedo 2008, Cáceres-Puig et al. 2009). In this period, the thermal anomalies remained within a normal range (+0.5 °C), although temperatures above 24.0 °C from May onward once again resulted in adverse conditions for optimal gamete development (only 50% of gonads were ripe; oocytes were small; and lipid index values were the lowest of all periods). Thus, the oysters successfully spawned in June, yet the only viable larvae that survived and settled (<150) died when they were moved to the sea for the final growth phase.

Studies dealing with hatchery reared *Pteria sterna* larvae are scarce and report final survival rates that notably vary from 2–4% (Araya-Núñez et al. 1991, 1995) to 17% (Saucedo 2017). In this study, the final survival rates of pediveliger larvae were 7.70% in April and <0.10% in June. In particular, the final survival rate of larvae in April 2009 was higher than the value of 0.32% reported by Hoyos-Chairez et al. (2020) for *Pteria sterna* and the value of 4.70% reported by Southgate et al. (2016) for *Pteria penguin*, which is a species larger than *Pteria sterna* that begins settling on day 16–17 at a shell height of ~240 µm (Wassnig and Southgate 2012b, Wassnig and Southgate 2016). Similarly, the day and size at which *Pteria sterna* larvae settle vary greatly among studies: day 19 at ~218 µm (Saucedo 2017), day 23 at ~210 µm (this study), day 28 at ~290 µm (Hoyos-Chairez et al. 2020), and day 39 at ~252 µm (Araya-Núñez et al. 1995).

The delay or inability of bivalve larvae to complete metamorphosis may be due to 3 possible causes: (1) unsuitable rearing conditions, including poor seawater quality and diet, although the protocols for water supply, microalgae production, and larval culture were the same as those previously employed with *Pteria sterna* (Saucedo 2017, Hoyos-Chairez et al. 2020); (2) differences in settlement cues related to the material, surface, color, and nature of the substrate (Doroudi and Southgate 2002, Wassnig and Southgate 2012b), although all factors were consistent in our study; and (3) poor physiological condition of the wild broodstock at the moment of collection (Chávez-Villalba et al. 2003, Gómez-Robles et al. 2013), which was only suboptimal in November 2008. Several authors have highlighted the important relationship between egg size/composition and larval survival and vigor in bivalve species such as *Mercenaria mercenaria* and *Argopecten irradians* (Kraeuter et al. 1982), *Pecten maximus* (Le Pennec et al. 1990, Gagné et al. 2010), *Crassostrea gigas* (Chávez-Villalba

umbonada (días 10-11), la supervivencia disminuyó drásticamente en abril (16.1%) y junio (10.3%), en tanto que la supervivencia final de las larvas pediveliger con mancha ocular al día 21 fue del 7.7% en abril y 0.1% en junio.

Al día 11, la tasa promedio de crecimiento de las larvas umbonadas fue significativamente mayor ($F = 18.1$, $P < 0.001$) en abril 2009 que en junio 2009. Al día 23, las diferencias en la tasa de crecimiento de las larvas pediveliger también fueron significativas ($F = 24.5$, $P < 0.001$) entre los meses de abril y junio (Tabla 2, Fig. 3). Las relaciones entre la altura de la concha de las larvas y el área de los ovocitos y entre la altura de la concha y el índice lipídico no fueron significativas ($r = 0.30$ en ambos casos).

En la etapa veliger, las diferencias en el contenido de proteínas y carbohidratos de las larvas no fueron significativas entre abril y junio 2009 ($H = 2.3$, $P > 0.050$), aunque las diferencias si fueron significativas para la etapa pediveliger ($H = 6.8$, $P < 0.050$). Igualmente, las variaciones en el contenido de proteínas y carbohidratos fueron significativas entre las etapas veliger y pediveliger en abril ($H = 19.2$, $P < 0.001$) y junio ($H = 20.5$, $P < 0.001$). El contenido de lípidos de las larvas varió significativamente entre las corridas de abril y junio en las etapas veliger ($H = 24.1$, $P < 0.001$) y pediveliger ($H = 16.5$, $P < 0.001$), así como entre ambas etapas de desarrollo en abril ($H = 20.3$, $P < 0.001$) y junio ($H = 6.2$, $P < 0.050$). En comparación con los equivalentes energéticos de proteínas y carbohidratos totales, los obtenidos de las reservas lipídicas aumentaron significativamente de abril a junio ($H = 11.3$, $P < 0.001$) y se agotaron significativamente de la etapa veliger a la pediveliger ($H = 27.3$, $P < 0.001$; Tabla 2).

DISCUSIÓN

Este estudio aporta evidencias que tanto confirman como contradicen la presente hipótesis de trabajo, a partir de la clara relación que existe entre la condición reproductiva, viabilidad larvaria y el ambiente (Chávez-Villalba et al. 2003, Mazón-Suástegui et al. 2021). En *Pteria sterna*, se aprecia en primer lugar que las variaciones ambientales afectaron más el desempeño reproductivo que el desempeño larvario, ya que todos los cultivos se realizaron en el laboratorio bajo condiciones controladas de temperatura y dieta, y no en el medio exponiendo las larvas a las imperantes condiciones al momento de recolectar los reproductores. Por ejemplo, noviembre se considera un periodo pre-reproductivo para la especie (Saucedo y Monteforte 1997, Vite-García y Saucedo 2008, Cáceres-Puig et al. 2009), y la respuesta fallida de los reproductores para desovar y producir larvas este mes parece estar directamente relacionada con la temperatura del agua más alta, el contenido de seston más bajo y la ocurrencia de anomalías en la TSM. Estas anomalías, que son un reflejo de los eventos oceanológicos cíclicos que ocurrieron en 2006-2007 (El Niño), 2007-2008 (La Niña) y 2008-2009 (El Niño), provocaron oscilaciones térmicas positivas (+0.5 a +1.0 °C) de agosto a diciembre 2008 que prolongaron las

et al. 2003), *Agropecten purpuratus* (Nevejean et al. 2003), *Atrina maura* (Angel-Dapa et al. 2015), and *Pteria sterna* (Gómez-Robles et al. 2013).

The strategies of carbohydrate, protein, and lipid reserve utilization vary among bivalve mollusks based on location (i.e., tropical, subtropical, and temperate zones) and larval development stage (Nevejean et al. 2003, Pernet et al. 2003, Gireesh et al. 2009). In *Pteria sterna*, proteins represented the major constituent of veliger (~96%) and pediveliger (~90%) larvae in April and June 2009, which was likely related to the formation of the shell and vital organs from an early stage. Despite this, the energy equivalents calculated for proteins and carbohydrates were very low in both months and developmental stages ($<1.3 \text{ J } \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{larvae}^{-1}$), which indicates that energy expenditure associated with both energy sources is minimal in *Pteria sterna*. In contrast, the energy supplied from lipids not only was significantly greater (8 to 9 times) in April and June but decreased 10 times faster in the pediveliger stage than in the veliger stage. This indicates that lipids are far more important than proteins and carbohydrates when meeting the metabolic demands associated with the metamorphosis success of the pediveliger larvae. Several authors have confirmed that lipids provide between 70–90% of the total energy expenditure associated with larval development in bivalve mollusks. These authors have also used the lipid content of eggs as a reliable indicator of larval performance in species such as *M. mercenaria* and *Crassostrea gigas* (Gallager et al. 1986), *Pecten maximus* (Le Pennec et al. 1990; Gagné et al. 2010), *Agropecten purpuratus* (Nevejean et al. 2003), *Placopecten magellanicus* (Pernet et al. 2003), *Atrina maura* (Angel-Dapa et al. 2015), *Paphia malabarica* (Gireesh et al. 2009), and *Agropecten ventricosus* (Mazón-Suástegui et al. 2021).

Our results confirm that broodstock (egg) condition is vital during initial larval development, but it also has enduring effects until metamorphosis. Although the conditions for larval culture and the production of *Pteria sterna* spat were only optimal in April, it is likely that environmental anomalies associated with SST continued to occur, which affects the reproductive performance of this species. In addition to collecting ripe broodstock in winter-spring to ensure larval viability, we recommend including a brief conditioning period at the hatchery immediately following the main spawning event to promote nutrient recycling and natural gamete recovery, and another in late autumn to hasten final ripening. Both strategies could increase the chances of producing healthy spat outside of the main breeding season, thus supporting natural spatfall and pearl farming operations in the Gulf of California.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the following personnel of CIBNOR: Horacio Bervera, Juan José Ramírez, and Enrique Calvillo for their assistance during oyster collection in the field; Carmen Rodríguez and Roberto Hernández for their support in

condiciones cálidas de verano. A su vez, este escenario posiblemente resultó en la producción de ovocitos inmaduros o sobre-maduros (atrésicos) incapaces de sostener el desarrollo larvario en noviembre 2008 y febrero 2009 (Gómez-Robles et al. 2013). Esto es importante si se toma en cuenta que febrero se reporta como uno de los picos reproductivos principales de la especie. Las anomalías en la TSM continuaron incrementándose hasta alcanzar valores de $+1.7 \text{ }^\circ\text{C}$ en enero-febrero 2010 (evento El Niño) y luego disminuyeron drásticamente a $-1.6 \text{ }^\circ\text{C}$ en julio 2010 y $-2.1 \text{ }^\circ\text{C}$ en febrero 2011 (evento La Niña; Fig. 2). García-Cuéllar et al. (2004) también reportaron que un verano anómalamente más largo causado por el evento de El Niño en 1997-1998 en la bahía de La Paz extendió la temporada de desove de la ostra perlera *Pinctada mazatlanica* que, a diferencia de *Pteria sterna*, se reproduce únicamente en el verano.

La evidencia de este estudio sugiere en segundo lugar que las condiciones ambientales de febrero a junio 2009 (temperatura del agua baja, alto contenido de seston y anomalías de TSM entre -0.5 a $+0.5 \text{ }^\circ\text{C}$) fueron favorables para la nutrición de los gametos y el desarrollo de las larvas a lo largo de la primavera. Sin embargo, abril 2009 fue el único periodo en el que las larvas fueron viables y tuvieron las reservas energéticas suficientes (mayormente lípidos) para completar la metamorfosis y asentarse, en coincidencia con altos porcentajes de gónadas maduras-desovadas, los ovocitos más grandes, el índice lipídico más alto, baja temperatura y el mayor contenido de seston. De acuerdo a Saucedo y Monteforte (1997), Vite-García y Saucedo (2008) y Cáceres-Puig et al. (2009), abril es otro de los picos reproductivos principales de *Pteria sterna*, lo cual coincide con un óptimo manejo de reservas energéticas durante la gametogénesis para maximizar el desempeño reproductivo (Gómez-Robles et al. 2013). Finalmente, junio se reconoce como un periodo post-reproductivo para *Pteria sterna*, debido mayormente al incremento en la temperatura del agua y disminución en la disponibilidad de alimento (Saucedo y Monteforte 1997, Vite-García y Saucedo 2008, Cáceres-Puig et al. 2009). En este periodo, las anomalías térmicas seguían dentro de un rango normal ($+0.50 \text{ }^\circ\text{C}$); no obstante, la temperatura por encima de los $24.0 \text{ }^\circ\text{C}$ a partir de mayo ocasionó de nuevo condiciones adversas para el desarrollo gonadal (solo un 50% de las gónadas se encontraban maduras, los ovocitos eran pequeños y los valores del índice lipídico fueron los más bajos de todos los periodos). Por ello, aunque las ostras desovaron con éxito en junio, las únicas larvas viables que sobrevivieron y lograron fijarse (<150) murieron cuando se trasladaron al campo para la fase de crecimiento final.

Los estudios relacionados con el cultivo larvario de *Pteria sterna* en laboratorio son escasos y reportan tasas finales de supervivencia que varían notablemente desde el 2-4% (Araya-Núñez et al. 1991, 1995) hasta el 17% (Saucedo 2017). En este estudio, las tasas finales de supervivencia de larvas pediveliger fueron del 7.70% en abril 2009 y $<0.10\%$ en junio. El valor de supervivencia de las larvas en abril en particular es

processing tissue samples for histological and biochemical analyses; and Mario Osuna, Delfino Barajas, and Pablo Ormart for their technical support during the larval trail runs. We thank Ira Fogel of CIBNOR for editing the English manuscript. Funding was provided by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SEP-CONACYT 81249). EGR received a doctoral fellowship from CONACYT (17098).

English translation by authors.

Copyediting by MacTavish Scientific Editing.

REFERENCES

- Angel-Dapa MA, Arellano-Martínez M, Ceballos-Vázquez BP, Robles-Mungaray M, Robles-Rocha E, Camacho-Mondragón MA, Saucedo PE. 2015. Reproductive and larval performance of the pen shell *Atrina maura* in relation to the origin and condition of broodstock. *J Shellfish Res.* 34(2):401-408. <http://doi.org/10.2983/035.034.0223>
- Araya-Núñez O, Ganning B, Bückle-Ramírez F. 1991. Gonad maturity, induction of spawning, larval breeding and growth in the American pearl-oyster (*Pteria sterna* Gould). *Calif Fish Game.* 77:181-193.
- Araya-Núñez O, Ganning B, Bückle-Ramírez F. 1995. Embryonic development, larval culture, and settling of American pearl-oyster (*Pteria sterna*, Gould) spat. *Calif Fish Game.* 81:10-21.
- Bayliss HO. 1984. *Lipid histochemistry.* New York (NY): Oxford University Press. 68 p.
- Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 37(8):911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Bradford MM. 1976. A rapid method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye-binding. *Anal Biochem.* 72(1-2):248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brett JR, Groves TDD. 1979. Physiological energetics. In: Hoar WS, Randall DJ, Brett JR (eds.), *Fish Physiology.* New York (NY): Academic Press. p. 280-352.
- Cáceres-Puig JI, Cáceres-Martínez C, Saucedo PE. 2009. Annual reproductive effort of pacific winged pearl oyster *Pteria sterna* and its relation with the timing for planning pearl seeding operations. *J Shellfish Res.* 28(3):471-476. <https://doi.org/10.2983/035.028.0308>
- Chávez-Villalba J, Barret J, Mingant C, Cochard JC, Le Pennec M. 2003. Influence of timing of broodstock collection on conditioning, oocyte production, and larval rearing of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg), at six production sites in France. *J Shellfish Res.* 22:465-474.
- Doroudi MS, Southgate PC. 2002. The effect of chemical cues on settlement behaviour of blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae. *Aquaculture.* 209(1-4):117-124. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00736-0](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00736-0)
- Gagné R, Tremblay R, Pernet F, Miner P, Samain JF, Olivier F. 2010. Lipid requirement of the scallop *Pecten maximus* (L.) during larval and post-larval development in relation to addition of *Rhodomonas salina* in diet. *Aquaculture.* 309(1-4):212-221. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.040>
- Gallager SM, Mann R, Sasaki GC. 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture.* 56(2):81-103. [http://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90020-7](http://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90020-7)
- García-Cuellar JA, García-Domínguez FA, Lluch-Belda D, Hernández-Vázquez S. 2004. El Niño and La Niña effects on superior al 0.32% reportado por Hoyos-Chairez et al. (2020) para larvas de *Pteria sterna* y al 4.70% reportado por Southgate et al. (2016) para larvas de *Pteria penguin*, una especie de ostra perlera alada de mayor talla que comienza la fijación al día 16-17 a unos 240 μm de altura de la concha (Wassnig y Southgate 2012b, Wassnig y Southgate 2016). Igualmente, el día y talla de fijación de larvas de *Pteria sterna* varía considerablemente dependiendo del estudio: día 19 a $\sim 218 \mu\text{m}$ (Saucedo 2017), día 23 a $\sim 210 \mu\text{m}$ (presente estudio), día 28 a $\sim 290 \mu\text{m}$ (Hoyos-Chairez et al. 2020) y día 39 a $252 \mu\text{m}$ (Araya-Núñez et al. 1995).
- El retraso o incapacidad de las larvas de los moluscos bivalvos para completar la metamorfosis puede indicar una de 3 posibles causas: (1) condiciones de cultivo inadecuadas, incluyendo una deficiente calidad de agua de mar y dieta, aunque el protocolo de suministro de agua, producción de microalgas y cultivo larvario de este estudio es el mismo utilizado previamente con *Pteria sterna* (Saucedo 2017, Hoyos-Chairez et al. 2020); (2) diferencias en el material, superficie, color y naturaleza de los inductores de fijación del sustrato (Doroudi y Southgate 2002, Wassnig y Southgate 2012b), aunque todos estos factores fueron constantes en nuestro estudio; y (3) un pobre estado fisiológico de los reproductores al momento de la recolecta en campo (Chávez-Villalba et al. 2003, Gómez-Robles et al. 2013), el cual solo fue sub-óptimo en noviembre 2008. Diversos autores han subrayado la clara relación entre el tamaño/composición del huevo y la supervivencia y vigor de las larvas en algunas especies de bivalvos, como *Mercenaria mercenaria* y *Argopecten irradians* (Krauter et al. 1982), *Pecten maximus* (Le Pennec et al. 1990, Gagné et al. 2010), *Crassostrea gigas* (Chávez-Villalba et al. 2003), *Argopecten purpuratus* (Nevejean et al. 2003), *Atrina maura* (Angel-Dapa et al. 2015) y *Pteria sterna* (Gómez-Robles et al. 2013).
- Las estrategias de manejo de reservas de carbohidratos, proteínas y lípidos en moluscos bivalvos varían entre especies, dependiendo de su ubicación geográfica (i.e., zonas tropicales, subtropicales y templadas) y etapa de desarrollo larvario (Nevejean et al. 2003, Pernet et al. 2003, Gireesh et al. 2009). En *Pteria sterna*, las proteínas representaron el componente principal de las larvas veliger ($\sim 96\%$) y pediveliger ($\sim 90\%$) en abril y junio 2009, probablemente ligadas a la formación de la concha y órganos vitales desde la etapa temprana. A pesar de ello, los equivalentes energéticos calculados para las proteínas y carbohidratos fueron muy bajos en ambos meses y para ambas etapas de desarrollo ($< 1.3 \text{ J } \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{larva}^{-1}$), indicando que el gasto de energía asociado a ambos combustibles es mínimo en *Pteria sterna*. En contraste, la energía suministrada por los lípidos no solo fue significativamente mayor (8 a 9 veces) en abril y junio, sino que se agotó 10 veces más rápido en la etapa pediveliger que en la veliger. Este resultado indica que los lípidos son mucho más importantes que las proteínas y los carbohidratos para satisfacer las demandas metabólicas asociadas al éxito de la metamorfosis de las larvas pediveliger. Diversos autores han confirmado que los lípidos aportan entre

- reproductive cycle of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Pteriidae) at Isla Espíritu Santo in the Gulf of California. *J Shellfish Res.* 23:113-120.
- Gireesh R, Biju A, Muthiah P. 2009. Biochemical changes during larval development in the short neck clam, *Paphia malabarica* Chemnitz. *Aquacult Res.* 40(13):1510-1515. <http://doi.org/10.1111/J.1365-2109.2009.02251.X>
- Gómez-Robles E, Mazón-Suástegui JM, Acosta-Salmón H, Hawkyns-Martínez M, Saucedo PE. 2013. Internal nutrient management associated with gonad quality and successful reproduction in the winged pearl oyster *Pteria sterna*. *Aquaculture.* 412-413:45-51. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.010>
- Hoyos-Chairez F, Aragón-Noriega EA, Chávez-Villalba J. 2020. Modelling early growth of the pearl oyster *Pteria sterna* under pilot-commercial production. *Aquacult Res.* 51(12):5106-5117. <https://doi.org/10.1111/are.14849>
- Kiefert L, McLaurin-Moreno D, Arizmendi E, Hänni HA, Elen S. 2004. Cultured pearls from the Gulf of California, Mexico. *Gems Gemol.* 40(1):26-38. <https://doi.org/10.5741/GEMS.40.1.26>
- Kim Y, Ashton-Alcox KA, Powell EN. 2006. *Histological Techniques for Marine Bivalve Molluscs: Update.* NOS NCC OS 27. Silver Spring (MD): NOAA Technical Memorandum. p. 76.
- Krauter JN, Castagna M, Van Dessel R. 1982. Egg size and larval survival of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Argopecten irradians* (Lamarck). *J Exp Mar Biol Ecol.* 56(1):3-8. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(81\)90003-4](https://doi.org/10.1016/0022-0981(81)90003-4)
- Le Pennec M, Gueguen F, Cochard JC, Paulet YM, Dorange G. 1990. Relations entre contenu lipidique des ovocytes de *Pecten maximus* (Mollusque, Bivalve) et les performances des larves en élevage. *Haliotis.* 10:101-113.
- Leyva A, Quintana A, Sánchez M, Rodríguez EN, Cremata J, Sánchez JC. 2008. Rapid and sensitive anthrone-sulfuric acid assay in microplate format to quantify carbohydrate in biopharmaceutical products: Method development and validation. *Biologicals.* 36(2):134-141. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2007.09.001>
- Luna-González A, Cáceres-Martínez C, Zúñiga-Pacheco C, López-López S, Ceballos-Vázquez BP. 2000. Reproductive cycle of *Argopecten ventricosus* (Sowerby 1842) (Bivalvia: Pectinidae) in the Rada del puerto de Pichilingue, B.C.S., México and its relation to temperature, salinity, and quantity of available food. *J Shellfish Res.* 19(1):107-112.
- Mazón-Suástegui JM, López-Carvallo JA, Tovar-Ramírez D, Arcos-Ortega GF, Saucedo PE, Lodeiros C, Freitas L. 2021. Growth of catarina scallop (*Argopecten ventricosus*, Sowerby II, 1842) larvae from broodstock collected at different seasons. *Aquacult Res.* 52(11):5903-5907. <https://doi.org/10.1111/are.15412>
- Nevejean N, Saez I, Gajardo G, Sorgeloos P. 2003. Energy vs. essential fatty acids: what do scallop larvae (*Argopecten purpuratus*) need most? *Comp Biochem Physiol Part B Biochem Mol Biol.* 134(4):599-613. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(03\)00020-4](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(03)00020-4)
- Pastor F. 2021. Sea surface temperature: from observation to applications. *J Mar Sc Eng.* 9(11):1284. <https://doi.org/10.3390/jmse9111284>
- Pernet F, Tremblay R, Bourget E. 2003. Biochemical indicator of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) quality based on lipid class composition. Part II: larval rearing, competency and settlement. *J Shellfish Res.* 22:377-388.
- Reynolds RW, Rayner NA, Smith TM, Stokes DC, Wang W. 2002. An improved *in situ* and satellite SST analysis for climate. *J Climate.* 15(13):1609-1625. [https://doi.org/10.1175/1520-0442\(2002\)015<1609:aiisas>2.0.co;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(2002)015<1609:aiisas>2.0.co;2)
- el 70% y el 90% del gasto energético total asociado al desarrollo larvario en moluscos bivalvos. Estos autores también han utilizado el contenido de lípidos de los huevos como un indicador confiable de desempeño larvario en especies como *M. mercenaria* y *Crassostrea gigas* (Gallager et al. 1986), *Pecten maximus* (Le Pennec et al. 1990, Gagné et al. 2010), *Argopecten purpuratus* (Nevejean et al. 2003), *Placopecten magellanicus* (Pernet et al. 2003), *Atrina maura* (Angel-Dapa et al. 2015), *Paphia malabarica* (Gireesh et al. 2009) y *Argopecten ventricosus* (Mazón-Suástegui et al. 2021).
- Los resultados de este estudio confirman que la condición de los reproductores (huevos) es vital durante la etapa inicial del desarrollo larvario, pero también tiene efectos duraderos hasta la metamorfosis. Aunque las condiciones para el cultivo larvario y producción de semilla de *Pteria sterna* fueron óptimas solo en abril, es probable que se sigan presentando anomalías ambientales asociadas a las TSM, afectando el desempeño reproductivo de la especie. Además de recolectar reproductores maduros en invierno-primavera para asegurar la viabilidad larvaria, se recomienda un breve periodo de acondicionamiento gonadal en laboratorio justo después del desove para promover el reciclaje de nutrientes y la recuperación natural de los gametos, así como a finales de otoño para acelerar su maduración. Ambas estrategias podrían aumentar las posibilidades de producir semillas sanas fuera de la temporada principal de reproducción, apoyando con ello las operaciones de recolecta de semilla del campo y cultivo de perlas en el golfo de California.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al siguiente personal del CIBNOR: Horacio Bervera, Juan Ramírez y Enrique Calvillo por su asistencia durante la recolecta de reproductores en el campo; Carmen Rodríguez y Roberto Herrera por su apoyo en el procesamiento de muestras de tejido para análisis histológicos y bioquímicos y Mario Osuna, Delfino Barajas y Pablo Ormart por su asistencia técnica durante las corridas larvarias. Ira Fogel (también en CIBNOR) editó el inglés de este manuscrito. El financiamiento fue proporcionado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del proyecto SEP-CONACYT 81249). EGR fue beneficiaria de una beca doctoral de CONACYT (No. 17098).

Rodríguez-Jaramillo MC, Hurtado MA, Romero-Vivas E, Manzano M, Palacios E. 2008. Gonadal development and histochemistry of the tropical oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) during and annual reproductive cycle. *J Shellfish Res.* 27:1129-1141.

Ruiz-Rubio H, Acosta-Salmón H, Olivera A, Southgate PC, Rangel-Dávalos C. 2006. The influence of culture method and culture period on quality of half-pearls ('mabé') from the winged pearl oyster *Pteria sterna*, Gould, 1851. *Aquaculture.* 254(1-4):269-274. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.09.030>

- Saucedo PE. 2017. Advances in hatchery production of the winged pearl oyster. *World Aquacult.* (March):31-33.
- Saucedo PE, Monteforte M. 1997. Breeding cycle of pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae) at Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. *J Shellfish Res.* 16(1):103-110.
- Saucedo PE, Southgate PC. 2008. Reproduction, development and growth. In: Southgate PC, Lucas JS (eds.), *The Pearl Oyster: Biology and Culture*. Amsterdam (The Netherlands): Elsevier. p. 131-186.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52976-3.00005-X>
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1981. *Biometry, the principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco (CA): W. H. Freeman. 859 p.
- Southgate PC. 2011. Overview of the cultured pearl industry. In: Bondad-Reantaso MG, McGladdery SE, Berthe FCJ (eds.), *Pearl Oyster Health Management: A manual*. Rome (Italy): FAO Fisheries Technical Paper No. 503. p. 7-15.
- Southgate PC. Pearl oyster culture. 2008. In: Southgate PC, Lucas JS (eds.), *The Pearl Oyster: Biology and Culture*. Amsterdam (The Netherlands): Elsevier Science. p. 231-272.
- Southgate PC, Beer AC, Ngaluafé P. 2016. Hatchery culture of the winged pearl oyster, *Pteria penguin*, without living micro-algae. *Aquaculture*. 451:121-124.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.09.007>
- Vite-García MN, Saucedo PE. 2008. Energy storage and allocation during reproduction of pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) at Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico. *J Shellfish Res.* 27(2):375-383.
[https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2008\)27\[375:ESAADR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2008)27[375:ESAADR]2.0.CO;2)
- Wassnig M, Southgate PC. 2012a. Embryonic and larval development of *Pteria penguin* (Röding, 1798) (Bivalvia: Pteriidae). *J Molluscan St.* 78(1):134-141.
<https://doi.org/10.1093/mollus/eyr051>
- Wassnig M, Southgate PC. 2012b. Effects of settlement cues on behaviour and substrate attachment of hatchery reared winged pearl oyster (*Pteria penguin*) larvae. *Aquaculture*. 344-349:216-222.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.03.020>
- Wassnig M, Southgate PC. 2016. The effects of stocking density and ration on survival and growth of winged pearl oyster (*Pteria penguin*) larvae fed commercially available micro-algae concentrates. *Aquacult Rep.* 4:17-21.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.05.004>