

EFFECTOS DE LA CONSANGUINIDAD EN LA VIEIRA *Euvola ziczac*.(L)

REINALDO J. BETANCOURT, JULIO E. PÉREZ, ANIBAL VELEZ, LUIS FREITES & MARÍA ISABEL SEGNINI

Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente. Cumaná. Venezuela.

RESUMEN: El presente trabajo analiza los resultados de dos generaciones de autofecundación en la vieira *E. ziczac*. Los ejemplares adultos fueron colectados del banco natural ubicado en la localidad de Chacopatoca en el Golfo de Cariaco. Los experimentos se realizaron en la Estación Experimental de Turpialito, Estado. Sucre, donde los reproductores se acondicionaron para la inducción al desove, y se realizó autofecundación y cruces para obtener la primera generación (F1). Los individuos de la F1 se autofecundaron para obtener la segunda generación (F2); en este caso también se usaron controles. El crecimiento de la biomasa (peso húmedo y seco), de la concha y la relación ARN/ADN se determinó mensualmente. A ejemplares adultos de 8 meses de edad, se les calculó la variabilidad genética. Los resultados señalan que en dos generaciones de autofecundación, la consanguinidad no determinó efectos negativos en cuanto a disminución de las tasas de crecimiento y de supervivencia. Las progenies de los autofecundos de la primera y segunda generaciones mostraron una disminución de la variabilidad genética. No se encontró correlación entre la heterocigosidad y el tamaño de los individuos de la F1 ni de la F2.

ABSTRACT: Two generations of self-fertilized scallops, *Euvola ziczac*, were analyzed. Adult individuals were collected at Chacopatoca in the Gulf of Cariaco and the experiments were realized at the Experimental Station of Turpialito. Adults were conditioned, the spawning was induced and autofecundation and crosses were carried out to obtain the F1 generation. Later the F1 individuals were self-fertilized to obtain the second generation (F2). In this case, crosses were also used as control. Growth in biomass (wet and dry mass), in shell size and changes in the RNA/DNA relation were measured on a monthly basis. The genetic variability was studied in 8 month old specimens. Two generations of self-fertilization do not decrease growth or survival. The progeny of the self-fertilized scallops show a decrease in genetic variability. No relationship was apparent between heterozygosity and size of individuals F1 or F2.

INTRODUCCION

La base genética del crecimiento es de gran importancia en el cultivo de organismos acuáticos, ya que puede servir de orientación en la preparación de programas de mejoramiento que permitan acelerar el proceso de crecimiento; el cual se ha asociado en algunas especies de moluscos con la heterocigosidad genética (BEAUMONT & ZOUROS, 1991).

El pectínido *Euvola ziczac* presenta un hermafroditismo funcional, expulsando de manera alternante sus gametos masculinos y femeninos. Esto hace posible la autofecundación, que aumenta significativamente la consanguinidad, lo cual generalmente afecta negativamente ciertos caracteres como la fecundidad, el

crecimiento y la resistencia a enfermedades. Esta disminución de la eficacia biológica se conoce como depresión consanguínea y está bien documentada en algunas especies de moluscos tales como en las ostras, *Crassostrea virginica*, y *C. gigas* (BEATTIE *et al.* 1987; MALLET & HALLEY, 1983) en que la consanguinidad redujo la velocidad de crecimiento y la supervivencia larval. En el pectínido *Pecten maximus*, se observó una severa reducción en la tasa de crecimiento de las larvas originadas por autofecundación y una reducción de la heterocigosidad enzimática en relación a los cultivos no consanguíneos (BEAUMONT, 1986). Así mismo en el mejillón *Mytilus galloprovincialis* se observaron efectos negativos de la consanguinidad, las larvas producidas por autofecundación

exhibieron anomalías morfológicas, una baja supervivencia y una tasa de crecimiento larval más baja que las larvas provenientes de cruces (BEAUMONT & ABDULMATIN, 1994).

A pesar de estos efectos negativos, la consanguinidad podría ser útil en el mejoramiento genético de una especie al emplearse en la producción de líneas consanguíneas «puras» para muchos loci que al cruzarse con individuos de otras líneas puras, puedan producir progenies que presenten heterosis positiva o vigor híbrido (PÉREZ & BEAUMONT, 1990; PÉREZ, 1996).

Este trabajo presenta los resultados de supervivencia y crecimiento de las progenies producidas por autofecundación y por cruces, en la vieira *E. ziczac*.

MATERIALES Y METODOS

Los ejemplares adultos utilizados como reproductores fueron colectados de una población natural de *Euvola ziczac*, ubicada en Chacopatica, en la costa norte del Golfo de Cariaco (10° 30' 10" N; 64° 13' 6" W) de donde se trasladaron a la Estación Experimental de Turpialito para el acondicionamiento e inducción al desove (VÉLEZ *et al.*, 1993).

Para la autofecundación y los cruces, los gametos se mezclaron, a los 15 minutos se eliminó el exceso de espermios y los ovocitos fecundados fueron colocados en tanques de cultivo cónicos de 400 litros de capacidad, donde se mantuvo una densidad de 3 larvas/ml en la primera semana y de 2 larvas/ml en la segunda semana. Un cuidado especial se tuvo en los cruces para separar ovocitos y espermios de un mismo ejemplar e impedir la autofecundación. Durante los 12 días del desarrollo larval la temperatura y la salinidad se mantuvieron constantes a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ y $36 \pm 1\text{‰}$; se hicieron cambios de agua cada 48 horas, utilizando agua de mar filtrada y tratada con luz ultravioleta. Las larvas se alimentaron con una dieta de *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis aff galbana*, a razón de 30 cel/ml/día (ROJAS, *et al.*, 1988).

La fijación larval se llevó a cabo en bandejas de incubación con agua de mar circulante donde se mantuvieron (aproximadamente 18 días) las postlarvas alimentadas con *Tetraselmis chuii*, *Isochrysis aff galbana* y *Chaetoceros gracilis*, hasta su trasplante al medio marino, a los 2 mm

de longitud. Mensualmente se tomaron al azar diez (10) ejemplares de cada una de las progenies, para la determinación de la longitud, altura, ancho, y biomasa de los tejidos.

El peso fresco de los tejidos se determinó colocando los ejemplares abiertos sobre papel secante durante 10 minutos a fin de eliminar el exceso de humedad, antes de pesarlos en una balanza analítica. El peso seco de los tejidos se obtuvo deshidratándolos en una estufa a 80°C hasta obtener peso constante.

El análisis de los ácidos nucleicos se realizó en seis (6) ejemplares de cada progenie (tres réplicas por cada ejemplar), de acuerdo a la metodología descrita por Karsten & WOLLENBERGER (1977).

La variabilidad genética de los padres y las progenies se estudió mediante electroforesis en geles de almidón de seis sistemas enzimáticos polimórficos de *E. ziczac*: leucil aminopeptidasa (LAP), glutamato piruvato transaminasa (GPT), esterasas (EST), malato deshidrogenasa (MDH), fosfoglucomutasa (PGM) y octopina deshidrogenasa (ODH). Los sistemas enzimáticos LAP y GTP se estudiaron en la glándula digestiva y el resto de los sistemas en el músculo abductor (CORONADO *et al.*, 1991). Las tinciones histoquímicas se realizaron de acuerdo a MORIZOT & SCHMIDT (1990).

Los resultados obtenidos durante el desarrollo larval se analizaron por Kruskal-Wallis, mientras que los obtenidos durante la etapa juvenil por análisis de varianza y prueba *a posteriori* de DUNCAN Y SCHEFFE. Se realizó además, un análisis de correlación lineal entre la heterocigosidad y el crecimiento de las progenies de 8 meses de edad (ZAR, 1984).

RESULTADOS

Los resultados de la supervivencia larval de *E. ziczac* para la primera generación se señalan en la Fig. 1a. A los doce días, la mayor supervivencia la presentó la progenie del autofecundo negro (♂N), con un 33,8%; seguido de la progenie del autofecundo blanco (♂B), con el 22,4%; macho blanco (♂B) con hembra negra (♀N) con 22,1% y el inverso con un 15,5%. La mayor supervivencia larval de la segunda generación (Fig. 1b), a los 12 días, fue la progenie del control (marrón silvestre macho por hembra

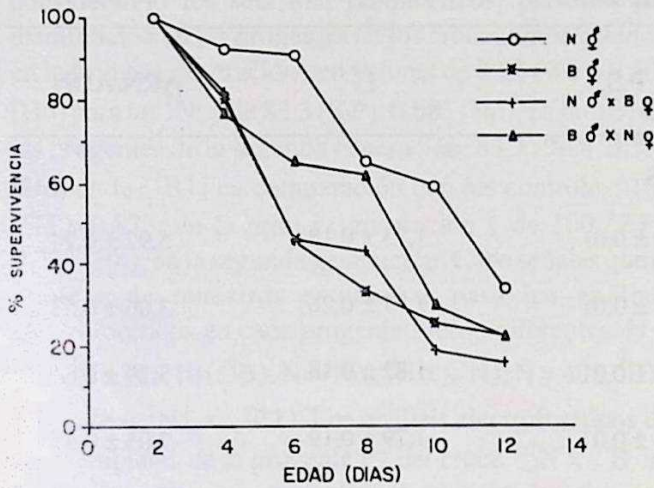


Fig. 1a. Supervivencia larval de las progenies de los 4 cruces de la primera generacion de los 12 dias de edad.

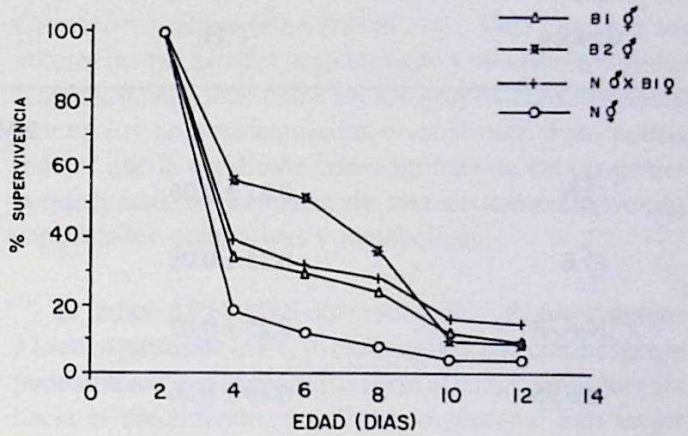


Fig. 1b. Supervivencia larval de las progenies de los 4 cruces de la segunda generacion a los 12 dias de edad.

blanca, ♂M x ♀B) con 14,47%, seguida de la progenie del autofecundo blanco 1 (♂B1) con 8,94%, del autofecundo blanco 2 (♂B2) con 8,46% y finalmente autofecundo negro (♂N) con 4,12%.

El crecimiento larval (en longitud) de la primera generacion, hasta los 12 días de edad, fue de $205,15 \pm 18,58 \mu$ en la progenie del ♂N, de $201,90 \pm 13,34 \mu$ en ♂N x ♀B, de $172,69 \pm 15,49 \mu$ en el ♂B y $172,58 \pm 15,33 \mu$ en el ♂B x ♀N. El crecimiento larval (en ancho), mostró las mismas tendencias con tasas de $172,58 \pm 18,62 \mu$; $169,32 \pm 13,38 \mu$; $139,98 \pm 15,33 \mu$ y $139,96 \pm 15,33 \mu$, respectivamente. El crecimiento larval de la segunda generacion se determinó a los 10 días, ya que la mayor parte de las larvas se fijaron antes de los 12 días. Las larvas alcanzaron una longitud de $231,18 \pm 21,01 \mu$ en la progenie del ♂B2; de $216,52 \pm 33,01 \mu$ en la de ♂B1; de $213,27 \pm 24,09 \mu$ del control y de $201,87 \pm 16,60 \mu$ en la de ♂N. El crecimiento en ancho presentó la misma tendencia del crecimiento en longitud con valores de $201,87 \pm 24,37 \mu$; $192,10 \pm 28,94 \mu$; $185,59 \pm 25,43 \mu$ y $172,57 \pm 20,85 \mu$, respectivamente.

Como la longitud, el ancho y la altura de los ejemplares estudiados, presentaron una correlación muy estrecha, en lo sucesivo se hará referencia solamente a la longitud.

La Tabla 1, señala los valores medios del peso húmedo y seco, la longitud y la relación ARN/ADN de las progenies a los dos y cuatro meses, en la primera generacion (F1). En ella se observa para los dos meses, que los valores medios del peso y la longitud no difieren significativamente entre las progenies. En cambio el índice ARN/ADN varió significativamente ($< 0,001$), presentando el mayor valor medio la progenie del cruce ♂B x ♀N, seguidos por la progenie del cruce autofecundo ♂N, el ♂N x ♀B y el menor valor promedio la progenie del autofecundo ♂B. La prueba *a posteriori* corroboró esto y permitió identificar tres grupos, I ♂B; II ♂N x ♀B y ♂N; III ♂B x ♀N. A los cuatro meses de edad en la generacion F1, no se observaron diferencias significativas de longitud, pesos, ni del índice.

En la Tabla 2, se muestran los valores medios del peso seco y húmedo, longitud y el índice ARN/ADN a los dos y cuatro de edad en las progenies de la segunda generacion (F2). En ella observamos que a los dos meses de edad la progenie del cruce autofecundo difiere muy poco, pero significativamente del control en sus valores medios, tanto en el peso seco ($P < 0,05$) como en la longitud ($P < 0,01$) y es no significativo para la relación ARN/ADN. A los cuatro meses de edad ocurre lo inverso, no existe significancia entre la longitud y el peso, pero sí en la relación ARN.

Tabla 1.- Promedios y desviaciones de las progenies de la primera generación (F₁), para peso humedo (P.H.), peso seco (P.S.) en gramos, longitud (L.) en centímetros, el indice ARN/ADN, a los dos y cuatro meses. Para P.H., P. S., y L. la muestra fue de 10 individuos, para ARN/ADN de seis.

Cruces	P.H.	P.S.	L.	ARN/ADN
2 MESES				
♂N	0,21 ± 0,06	0,04 ± 0,01	1,73 ± 0,18	5,92 ± 0,74
♂B	0,25 ± 0,08	0,04 ± 0,01	1,77 ± 0,26	3,06 ± 0,53
♂N x ♀B	0,25 ± 0,07	0,04 ± 0,01	1,82 ± 0,18	5,19 ± 0,84
♂B x ♀N	0,19 ± 0,06	0,04 ± 0,01	1,79 ± 0,19	7,05 ± 0,41
4 MESES				
♂N	1,34 ± 0,21	0,23 ± 0,08	3,15 ± 0,36	3,73 ± 0,97
♂B	1,19 ± 0,45	0,18 ± 0,06	2,96 ± 0,40	4,43 ± 0,92
♂N x ♀B	1,50 ± 0,34	0,23 ± 0,05	3,11 ± 0,23	3,29 ± 0,65
♂B x ♀N	1,29 ± 0,20	0,19 ± 0,03	3,02 ± 0,15	3,99 ± 0,64

Tabla 2.- Promedios y desviaciones estandar para P.H., P.S., L., e indice ARN/ADN en progenies de la segunda generacion (F₂).

CRUCE	P.H.	P.S.	L.C.	ARN/ADN
2 MESES				
♂B1	0,20 ± 0,05	0,03 ± 0,01	1,79 ± 0,16	2,11 ± 0,77
♂M x ♀B	0,16 ± 0,06	0,02 ± 0,01	1,65 ± 0,13	2,06 ± 0,92
4 MESES				
♂B1	0,78 ± 0,12	0,13 ± 0,02	2,48 ± 0,14	1,01 ± 0,00
♂M x ♀B	0,74 ± 0,15	0,13 ± 0,02	2,46 ± 0,15	2,61 ± 0,00

La variabilidad genética expresada como porcentaje de polimorfismo (%P), y heterocigosidad observada (Ho), considerando los seis loci polimórficos, presentó una disminución en las progenies de los cruces autofecundos, en la primera generación con valores de 83,3 (%P); 0,507 (Ho) para la ♂N; y de 83,3 (%P); 0,683 (Ho), en la ♂B. En las progenies de la segunda generación: 83,3 (%P); 0,550 (Ho) en la ♂B1; en comparación con los controles: 100 (%P), 0,873; en la primera generación y de 100 (%P), 0,733 (Ho); en la segunda generación. Cabe señalar que el número de muestras estudiadas para los análisis electroforéticos en cada progenie fueron diferentes: N = 70 (♂N), N = 10 (♂B), N = 16 (♂B x ♀N), N = 40 (♂B1) y N = 18 (♂N1 x ♀B1). Los análisis electroforéticos de los ejemplares de la progenie F1 del cruce ♂N x ♀B, no pudieron realizarse ya que se perdieron accidentalmente, tampoco se analizó la progenie F2 del cruce ♀N ni uno de los controles porque murieron a los 12 días de edad.

En las progenies de la primera y segunda generaciones no se encontró correlación de la heterocigosidad con el crecimiento.

DISCUSION

Las tasas de crecimiento y supervivencia de las larvas y juveniles de *E. ziczac*, no disminuyeron con la consanguinidad. La supervivencia de la segunda generación fue menor que en la primera, pero también disminuyó la del control. Estos resultados no coinciden con los obtenidos en *Crassostrea virginica* (MALLETT & HALLEY, 1983), en *Crassostrea gigas* (BEATTIE *et al.*, 1987), en *Pecten maximus* (BEAUMONT 1986), ni en el mejillón *Mytilus galloprovincialis* (Beaumont & Abdulmatin, 1994), en los que se observó reducción en el crecimiento y en la supervivencia de las larvas consanguíneas en relación a las no consanguíneas. Sin embargo, en el pectínido *Aequipecten irradians* (CASTAGNA & DUGGAN, 1971), y en la ostra *Crassostrea gigas* (LANNAN, 1980), tampoco se determinaron efectos negativos productos de la consanguinidad.

El hermafroditismo ha sido considerado como una estrategia reproductiva de algunas especies de moluscos. En *E. ziczac* la autofecundación podría formar parte de esta estrategia, la cual utilizaría para contrarrestar las grandes fluctuaciones que sufren las poblaciones naturales. En los casos de mortalidades masivas, el

hermafroditismo funcional podría aumentar la población reproductiva.

Nuestros resultados no corroboran los obtenidos en *Crassostrea gigas* (BEATTIE *et al.*, 1987) en que los valores promedios del peso húmedo y seco de los tejidos blandos fueron más bajos en los grupos consanguíneos que en los no consanguíneos o controles. Esto podría indicar que la condición consanguínea de las progenies autofecundas no es causa de una disminución de sus capacidades adaptativas y metabólicas.

El índice ARN/ADN del cruce ♂B x ♀N fue el mayor a los dos meses de la F1, lo cual sugiere que esta progenie pudo obtener una mayor eficiencia al canalizar la energía hacia el crecimiento, por lo tanto presentó una mejor condición fisiológica y por ende un mayor crecimiento instantáneo. Al respecto WRIGHT & HETZEL (1985) señalaron en la ostra *Crassostrea virginica*, que la razón ARN/ADN responde rápidamente a cambios en la tasa de crecimiento y es muy sensible a los efectos ambientales, especialmente a la disponibilidad de alimentos. Es por consiguiente un buen indicador del estado de salud, actividad metabólica y del estrés nutricional.

En los juveniles de cuatro meses de edad se pudo observar que la relación no sólo fue parecida entre las diferentes progenies, sino que disminuyó en comparación con el segundo mes. Es conveniente indicar que a esta edad los ejemplares de la primera generación presentaron diferenciación sexual y posible canalización de energía hacia la formación de gónadas. Estos resultados concuerdan con los de ROBBINS *et al.* (1990) para *Pecten maximus* y MARTINEZ *et al.* (1992) para *Argopecten purpuratus*; que encontraron un decrecimiento en la relación asociada con las demandas energética de la maduración gonadal y el desove, concluyendo que el índice es un buen indicador de la maduración sexual y un evaluador muy sensible de la condición del organismo. Sin embargo, FRANTZIZ *et al.* (1993) en el bivalvo *Abra ovata* y ALFONSI *et al.* (1995) en adultos de *E. ziczac* no encontraron asociación entre el índice ARN/ADN y la actividad gonadal.

En la segunda generación, a los dos meses, se observó que la progenie del autofecundo ♂B1 y del ♂M x ♀B, disminuyeron sus índices con respecto al valor obtenido en la primera generación, incrementándose ligeramente este índice a los cuatro meses de edad en el control y

disminuyendo en un 50% en el autofecundo ♂B. En este último caso la disminución podría estar relacionada con la diferenciación sexual.

En las progenies de 8 meses de edad de la primera y segunda generación de los cruces autofecundos se presentó, como era de esperar, una disminución de la variabilidad genética, resultados que coinciden con los estudios realizados en *Pecten maximus* (BEAUMONT, 1986); *Mytilus edulis* (GENTILLI & BEAUMONT, 1982); *Crassostrea gigas* (BEATTIE *et al.* 1987); *Crassostrea virginica* (ZOUROS *et al.* 1980).

La falta de correlación entre el crecimiento y la heterocigosidad de las progenies autofecundas y los controles de 8 meses de edad, coincide con los resultados de MORALES (1990) y ALFONSI *et al.*, (1995) en *E. ziczac*, así como con los estudios realizados en otros pectínidos (FOLTZ & ZOUROS, 1984; BEAUMONT & ZOUROS, 1991). Al parecer esta tendencia no se observa bajo condiciones artificiales o cuando en los cruces se utilizan muy pocos ejemplares, lo cual es común en los cultivos (BEAUMONT & ZOUROS, 1991; PÉREZ, 1996).

El hecho de no haberse encontrado disminución de las tasas de crecimiento y supervivencia en las progenies de los cruces autofecundos, es un excelente indicativo de la posibilidad de crear «líneas puras» en el cultivo de esta especie, con el fin de cruzar estas líneas y producir progenies que se desempeñen, en promedio, mejor que la generación paterna, es decir, que exhiban un mejor rendimiento biológico: vigor híbrido o heterosis positiva.

REFERENCIAS

- ALFONSI, R.C., O. NUSSETTI & J. E. PÉREZ. 1995. Heterozygosity and metabolic efficiency in the scallop *Euvola ziczac* (L. 1758). *J. Shellfish. Res.* 14 (2): 389-393.
- BEAUMONT, A.R. 1986. Genetics aspects of hatchery rearing of the scallop, *Pecten maximus* (L). *Aquaculture*, 57 : 99 - 100.
- BEAUMONT, A.R. & A.K.M. ABDULMATIN. 1994. Differences in morphology, survival and size between self - fertilized and cross fertilized larvae of *Mytilus galloprovincialis*. *J. Mar. Biol. Ass. U.* K. 74 (2): 445 - 448.
- BEAUMONT, A.R. & E. ZOUROS. 1991. Genetics of scallops. In: Shumway, S.E. (ed). *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier, Amsterdam. 585-623.
- BEATTIE, J.H., J. PERDUME, W. HERBERGER & K. CHEW. 1987. Effects of inbreeding on growth in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *J. Shellfish. Res.* 6 (1): 25-28.
- CASTAGNA, M. & W. DUGGAN. 1971. Rearing the bay scallop, *Aequipecten irradians*. *Proc. Nat. Shellfish Assoc.*, 61: 80-85.
- CORONADO, C., P. GONZÁLEZ & J.E. PÉREZ. 1991. Genetic variation in Venezuelan Molluscs: *Pecten ziczac* and *Lyropecten nodosus* (Pectinidae). *Carib. J. Sci.* 27 (1-2): 71-74.
- FOLTZ, D.W. & E. ZOURUS. 1984. Enzyme heterozygosity in the scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin) in relation to age and size. *Mar. Biol. Lett.* 5: 255-263.
- FRANTZIZ, A., A. GREMARE, & G. VETION. 1993. Taux de croissance et rapports ARN/ADN chez le bivalve dépositif *Abra ovata* nourri a partir de differents détritrus. *Oceanologica Acta*, 16(3): 303-313.
- GENTILI, M.R. & A.R. BEAUMONT. 1982. Environmental stress, heterozygosity and growth rate in *Mytilus edulis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 120: 145-153.
- KARSTEN, V. & A. WOLLENBERGER. 1977. Improvements in the ethidium bromide method for direct fluorimetric estimation DNA and RNA in cell and tissue homogenates. *Anal. Biochem.* 77: 464-470.
- LANNAN, J.E. 1980. Brodstock management of *C. gigas*. I. Genetic and enviromental variation in survival in larval rearing system. *Aquaculture*, 21: 323-336.
- MALLET, A.L. & L.E. HALLEY. 1983. Effects of inbreeding on larval and spat performance in the American oyster. *Aquaculture*, 33 : 229-235.

- MARTÍNEZ, G., M. TORRES, E. URIBE, M. A. DÍAZ, & H. PÉREZ. 1992. Biochemical composition of broodstock and early juvenile chilean scallops, *Argopecten purpuratus*. Lamarck, held in two different environments. *J. Shellfish Res.*, 11(2): 307-313.
- MORALES, J. R. 1990. Características morfométricas y de coloración de la concha del Pectínido *Pecten ziczac* (L., 1758) y su asociación con su heterocigosidad enzimática. Trab. de Grado para optar al título de Licenciado en Biología. Universidad de Oriente, Dpto de Biología. Núcleo de Sucre, Cumaná. 39 pp.
- MORIZOT, D.C. & M.E. SCHMIDT. 1990. Starch gel electrophoresis and histochemical visualization of proteins. In: Electrophoretic and Isoelectric Focusing Techniques in Fisheries Management. pp 23 - 77. CRC Press. Boca de Ratón, Ann Arbor, Boston, USA.
- PEREZ, J.E. & A.R. BEAUMONT. 1990. Mejoramiento genético en acuicultura. Boletín Red Acuicultura, CIID, Canadá, 4 (2) : 3-13.
- PEREZ, J.E. 1996. Mejoramiento Genético en Acuicultura. Ed. Universidad de Oriente (en prensa).
- ROBBINS, I., P. LUBET & J.Y. BESNARD. 1990. Seasonal variations in the nucleic acid content and RNA/DNA ratio of the gonad of the scallop *Pecten maximus*. *Mar. Biol.*, 105: 191-195.
- ROJAS, L. M., A. VELEZ & O. AZUAJE. 1988. Efecto individual y combinado de la densidad larval y la ración de alimento sobre la supervivencia y crecimiento de la vieira *Euvola (Pecten) ziczac*. *Bol. Inst. Oceanog. Univ. Oriente.* 27: 57-62.
- VELEZ, A., E. ALIFA & L. FREITES. 1993. Inducción de la reproducción en la vieira *Euvola (Pecten) ziczac*. Maduración y desove. *Carib. J. Sci.*, 29: 3-4.
- WRIGHT, D.A. & E.W. HETZEL. 1985. Use of RNA/DNA ratios as an indicator of nutritional stress in the American oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Ecol.*, 25: 199-206.
- ZAR, J.H. 1984. Biostatistical Analysis. 2da. ed. Prentice-Hall. Englewood Cliffs. New Jersey. USA. 980 pp.
- ZOUROS, E., S. M. SING, & H. E. MILES. 1980. Growth rate in oyster: an overdominant phenotype and its possible explanation. *Evolution*, 34: 856-867.