

**CORRELACIONES GENETICO-MORFOLOGICAS
EN LA OSTRAS CHILENA, *TIOSTREA CHILENSIS*
(PHILIPPI, 1845) CHANLEY Y DINAMANI, 1980,
DEL BANCO DE PULLINQUE (ANCUD, CHILOE)**

**GENETIC-MORPHOLOGICAL CORRELATIONS
IN THE CHILEAN OYSTER, *TIOSTREA CHILENSIS*
(PHILIPPI, 1845) CHANLEY Y DINAMANI, 1980,
FROM THE PULLINQUE BED (ANCUD, CHILOE)**

Ricardo Guñez*, Arturo Monsalve y Ricardo Galleguillos.

RESUMEN

Sobre la base de un muestreo representativo del banco ostrícola de Pullinque, se estableció que existe una correlación positiva entre el grado de heterocigosidad individual en dos loci enzimáticos (CA y LAP) y las siguientes medidas morfométricas: largo, alto, peso total, peso de tejidos blandos y porcentaje del peso total destinado a tejidos blandos. La relación explica entre 1,3% y un 4,1% de la varianza.

Se discute las implicaciones de estas asociaciones, en términos de las posibles explicaciones causales entre la multiheterocigosidad y el tamaño, como también el efecto que puede tener una pesquería que actúa selectivamente por tamaño sobre la estructura genética de una población.

Palabras claves: Ostra, Tiostrea, Variación genética, LAP, CA.

ABSTRACT

By means of a representative sampling at the Pullinque oyster bed, a positive correlation between the degree of individual heterozygosity at two enzyme loci (CA and LAP) and some morphometric variables (Length, height, total weight, soft tissue weight and percentage of total weight that is soft tissue) was established. The relationships explained between 1.3% and 4.1% of the variance.

The implications of these associations are discussed, in terms of possible causal explanations between multiheterozygosity and size, as well as the effect that a fishery acting selectively by size can have upon the genetic structure of a population.

Keywords: Genetic variation, Enzyme loci, Leucin Aminopeptidase, Carbonic Anhidrase, Individual heterozygosity, Oysters, Tiostrea, Electrophoresis.

INTRODUCCION

El estudio de los polimorfismos enzimáticos controlados genéticamente puede contribuir tanto a la comprensión de los procesos microevolutivos de los organismos marinos, como a aspectos aplicados en varias áreas de la acuicultura y del manejo de los recursos. Por ejemplo, en la identificación de stock y especies, en el análisis de los componentes genéticos de la historia vital y de la variación

demográfica, y en los mecanismos de adaptación (Koehn, 1984).

Recientemente se ha demostrado en una variedad de organismos, correlaciones entre heterocigosidad individual en loci enzimáticos polimórficos detectados electroforéticamente y rasgos cuantitativos (Foltz *et al.*, 1983; Newkirk, 1983; Koehn y Gaffney, 1984; Mitton y Grant, 1984). Específicamen-

Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Regional Talcahuano. Area de Biología y Tecnología del Mar. Laboratorio de Genética de Organismos Marinos. Casilla 127. Talcahuano, Chile.

*Dirección Actual: Pontificia Universidad Católica de Chile, Depto. Biología Ambiental. Casilla 114-D. Santiago, Chile.

te para la ostra chilena, *Tiostrea chilensis*, sólo en el trabajo de Guñez y Galleguillos (1985) se ha comunicado algunas posibles relaciones entre heterocigosidad genética y tamaño de los individuos. Este tipo de problema nos permite generar una línea de investigación en la que confluyen aspectos bioquímicos, fisiológicos, genéticos poblacionales, demográficos y evolutivos (Garton *et al.*, 1984; Zouros *et al.*, 1983).

Desde el año 1935, en que el banco ostrícola de Pullinque fue declarado como reserva genética fiscal (Decreto-ley N° 5.760) hasta la fecha, ha tenido un papel preponderante en la actividad ostrícola nacional, convirtiéndose en el principal centro abastecedor de semillas para la mayoría de los centros de cultivo (Lépez, 1983). Sin embargo, no se ha realizado en este banco investigaciones ni programas de manejo que consideren aspectos genéticos básicos o aplicados; al respecto pensamos que es imprescindible en este centro ostrícola llevar a cabo estudios genéticos orientados, por un lado, a comprender las estrategias adaptativas de la especie, y, por el otro, a generar las bases para una estrategia de mejoramiento y manejo del recurso.

El objetivo del presente trabajo es establecer en forma consistente y sobre la base de dos loci enzimáticos polimórficos, la existencia en la ostra chilena de asociaciones estadísticamente significativas entre el grado de heterocigosidad genética de los individuos y sus medidas para caracteres morfométricos de peso y longitud. Adicionalmente discutimos las implicancias de estas asociaciones.

MATERIALES Y METODOS

Los individuos analizados fueron muestreados en septiembre de 1984 desde el banco natural protegido de ostras de Pullinque, el cual se encuentra ubicado en el golfete de Quetalmahue (41°51'45"S, 73°55'25"W; Ancud, Chiloé), entre la isla Pullinque y la ensenada de Cuimio, en una bahía cerrada de baja profundidad con playas extendidas y fangosas. La superficie aproximada del banco es de 250.500 m², el sustrato está representado principalmente por conchuela de moluscos y fango duro.

Sobre el banco se diseñó un muestreo sistemático, representativo, en el cual se trazaron siete transectas en sentido Norte-Sur equidistantes 60 m entre sí, y dentro de las transectas cada 30 m se muestreó una cuadrícula de 1 m, resultando de este modo un

total de 134 m muestreados. Sobre la base de los estadísticos de una submuestra piloto, se determinó que el tamaño mínimo (Lewontin, 1974) de muestra debía ser de 544 individuos. En este cálculo se estableció *a priori* un nivel de seguridad del 95% de que la diferencia observada entre 3 clases genotípicas será significativa a un nivel del 5%, suponiendo que la diferencia real entre las clases en cuanto a talla máxima será igual o mayor al 3% respecto de la media aritmética. De tal modo, que si las diferencias reales para la talla máxima entre las clases genotípicas fueran significativas, aunque menor que el 3% de sus medias, entonces no se podrá detectar estadísticamente ninguna diferencia.

Del total de individuos muestreados, se submuestrearon al azar 544 individuos, los cuales se transportaron al Laboratorio de Genética de Organismos Marinos, en donde se almacenaron a -30°C hasta su análisis electroforético. A cada individuo se le midieron las longitudes máximas para los tres ejes morfológicos (Largo: Eje Antero-posterior; Alto: Eje Dorso-ventral; Profundidad: Eje Latero-Lateral) y los pesos total y de tejidos blandos (cuerpos devalvados).

De cada individuo mantenido a -30°C, se obtuvo una pequeña muestra del Hepatopáncreas (1-2 g), la cual se homogenizó en un volumen aproximadamente igual de tampón (Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0). Con un pequeño papel Whatmann N° 3 (6 × 6 mm) se absorbió el sobrenadante y fue analizado por electroforesis en el gel de almidón (Connaught) al 12,5%. Las recetas de tinción se tomaron de Guñez y Galleguillos (1985) y de Ahmad *et al.* (1977) y se analizaron dos enzimas polimórficas: la Anhidrasa Carbónica (CA, E.C. 4.2.1.1) y la Leucin-Aminopeptidasa (LAP, E.C. 3.4.11.-). Los tampones utilizados en las corridas electroforéticas fueron Tris-citrate pH 8,0 (CA) (Ahmad *et al.*, 1977) y Tris-citrate pH 6,0 gel/pH 5,0 electrodo (LAP) (Selander *et al.*, 1971).

En resumen, de cada individuo se tuvieron 5 medidas morfométricas, más su genotipo para ambos loci. Cada genotipo se clasificó como homocigoto y heterocigoto, de tal modo que se pudo generar una escala de 3 grados de multiheterocigosidad individual de acuerdo al número de loci heterocigotos (0, cuando ambos loci fueron homocigotos; 1, cuando al menos uno de los loci fue heterocigoto y 2, cuando ambos loci fueron heterocigotos). Adicionalmente, se estimó un

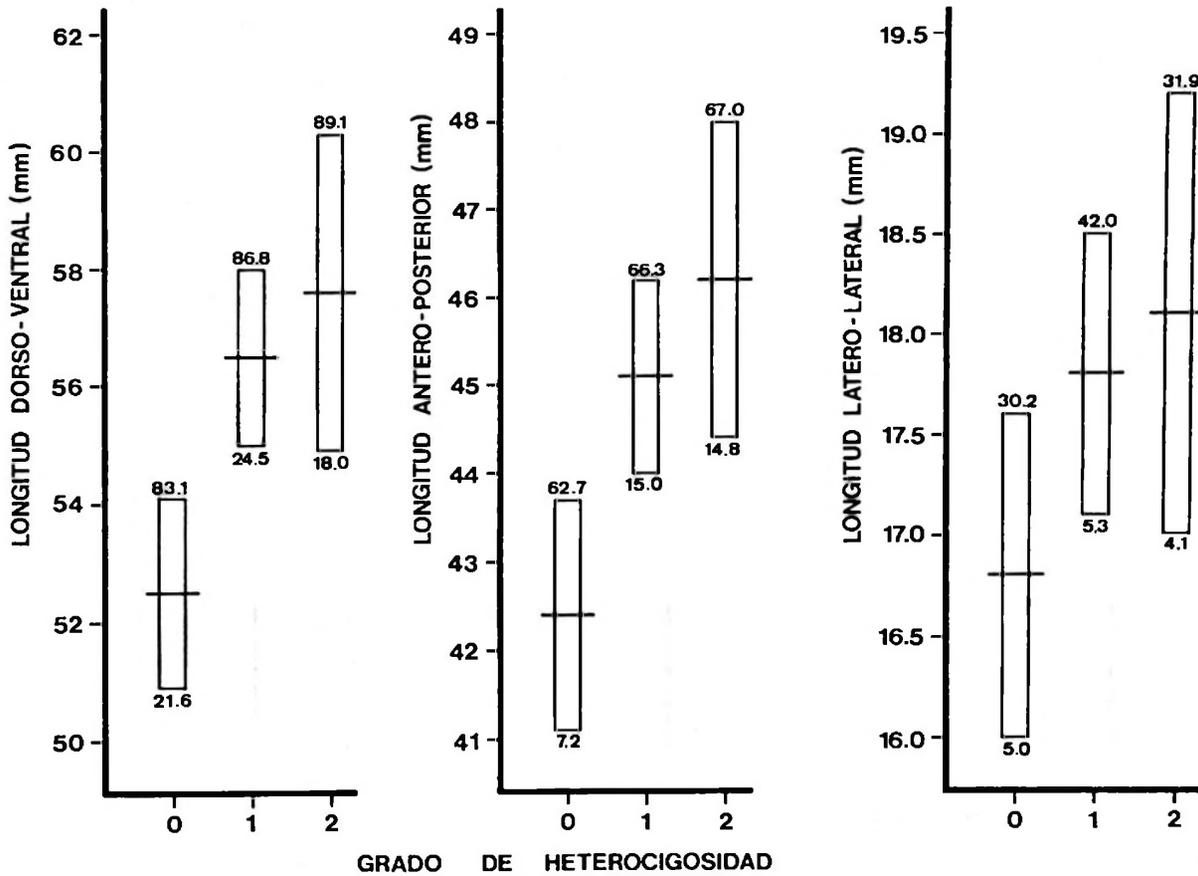


Figura 1. Medidas promedio (líneas horizontales) de (a) longitud dorso-ventral, (b) longitud antero-posterior, (c) longitud latero-lateral, y sus intervalos de confianza al 95% (barras verticales) para tres grados de heterocigosidad individual. Los valores máximos y mínimos observados se muestran arriba y abajo de las barras.

equivalente del factor de condición definido como el porcentaje del peso total destinado a tejidos blandos, calculado como $100 \times (\text{Peso tejidos blandos} / \text{Peso total})$. Para los estadísticos convencionales se siguió a Sokal y Rohlf (1981).

RESULTADOS

Para 540 individuos se obtuvo la información morfométrica y genética completa. En las figuras 1 y 2, se muestran las medias aritméticas y sus intervalos de confianza al 95%, incluyéndose también los valores máximos y mínimos para todas las características morfo-

métricas versus la heterocigosidad individual. Las figuras 3, 4 y 5 muestran las medias aritméticas y sus intervalos de confianza versus el estado heterocigótico de los individuos para el locus Leucin aminopeptidas (LAP2) y el locus Anhidrasa carbónica (CA), separadamente.

Se puede observar que existe una clara y consistente asociación positiva entre el grado de heterocigosidad individual y la variación de los caracteres considerados; los coeficientes de correlación fueron, en todos los casos excepto la profundidad, significativamente diferentes de cero (Tabla 1). El promedio aritmético de los dobles heterocigotos fue

para todos los ejes morfológicos mayor que el de los individuos con al menos un loci heterocigotos, y en todos los casos los dobles homocigotos tuvieron los menores promedios. Realizamos un análisis de varianza (ANOVA una vía) para evaluar el aporte realizado a la varianza de los caracteres morfométricos tanto por el grado de heterocigosidad individual como por el estado heterocigótico de los individuos para cada locus, los resultados se resumen en la Tabla 1. En términos de varianzas la heterocigosidad individual afecta significativamente a las longitudes dorso-ventral y antero-posterior, y a los pesos total y de tejidos blandos. Sin embargo, el aporte realizado por ambos loci a la relación es dife-

rente, siendo evidente que el locus LAP-2, tiene una mayor contribución que el locus CA, así el locus LAP-2 contribuye sobre todos los caracteres excepto la profundidad, en tanto el locus CA tiene un aporte estadísticamente significativo sólo sobre la varianza del largo. En resumen, las magnitudes de las varianzas explicadas van desde el 1,3% al 4,1% y ambos loci contribuyen a la relación, aun cuando es notoriamente mayor la contribución del locus LAP-2. Si bien estas cifras aparecen pequeñas, ellas representan sólo el aporte de dos loci, los cuales evidentemente son un pequeño subconjunto de todos los genes que pueden afectar los caracteres morfométricos considerados.

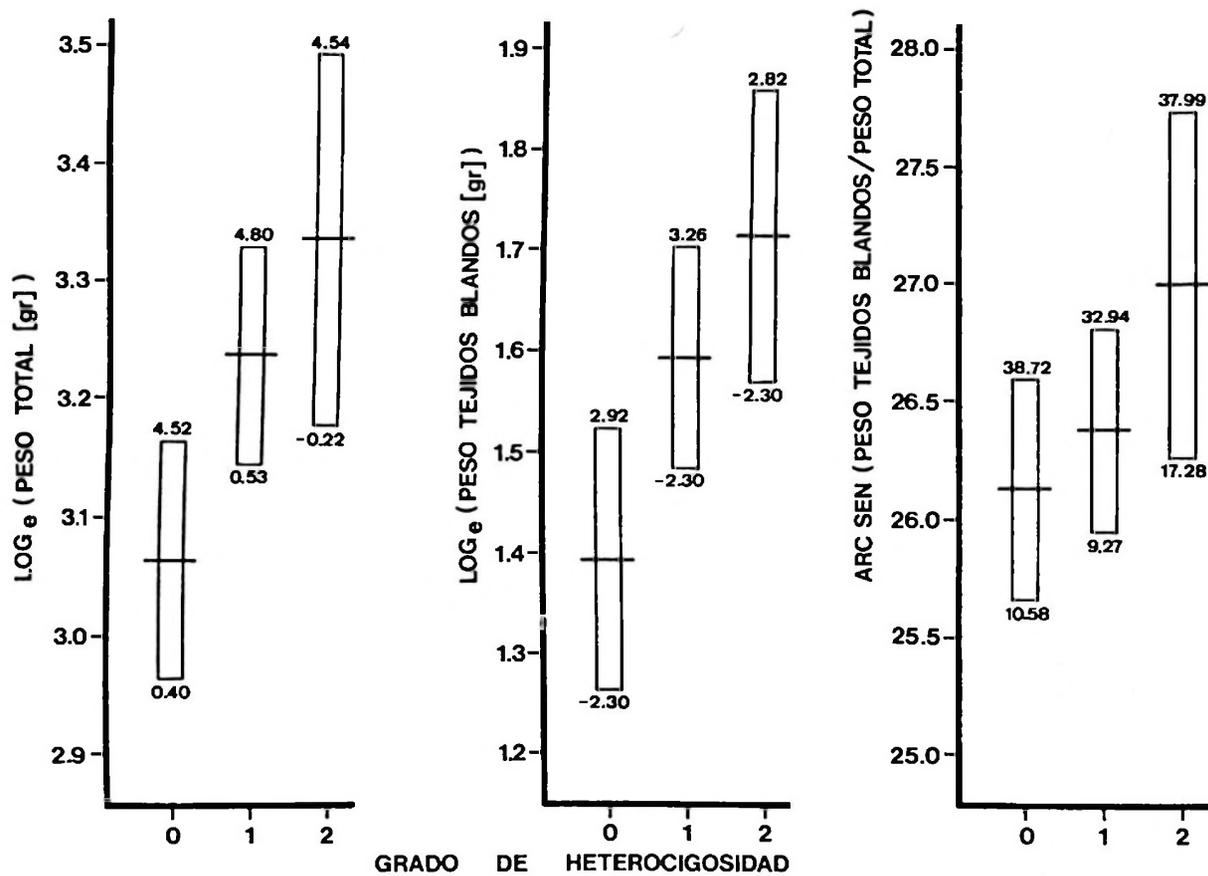


Figura 2. Medidas promedio (líneas horizontales) de (a) peso total, (b) peso tejidos blandos, (c) longitud latero-lateral, sus intervalos de confianza al 95% (barras verticales) para tres grados de heterocigosidad individual. Los valores máximos y mínimos observados se muestran arriba y abajo de las barras.

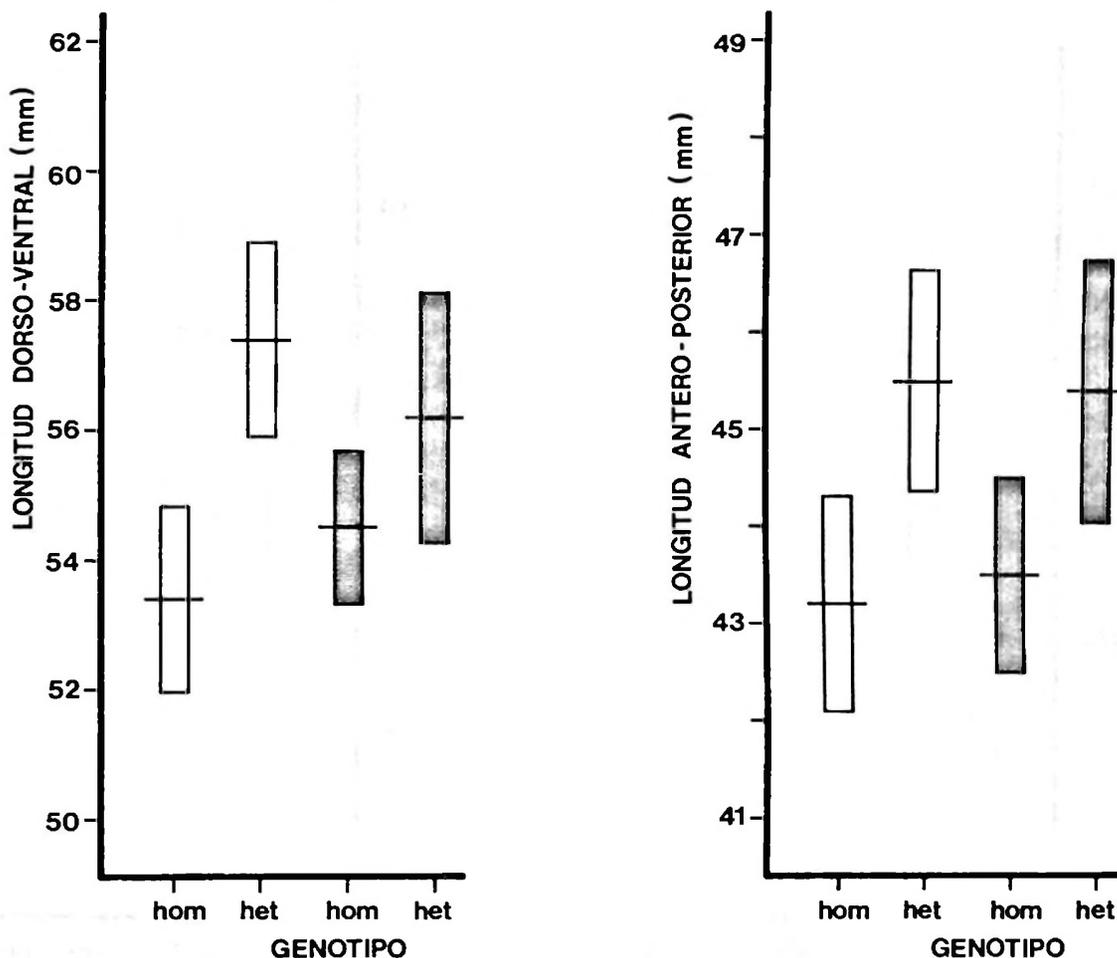


Figura 3. Medidas morfométricas promedios (líneas horizontales) de (a) longitud dorso-ventral, (b) longitud antero-posterior, y sus intervalos de confianza al 95% (barras verticales) para genotipos homocigotos y heterocigotos de los loci enzimáticos: Leucin-aminopeptidasa (barras no achuradas) y Anhidrasa carbónica (barras achuradas).

DISCUSION

En estos últimos años muchos investigadores han observado correlaciones entre caracteres genotípicos y fenotípicos, incluyéndose por ejemplo, agresión y conductas exploratorias en ratón (Garten, 1976), sobrevivencias en juncos (Baker y Fox, 1978), rasgos reproductivos en plantas (Hamrick y Allard, 1975) y en pequeños mamíferos (Smith *et al.*, 1975), morfología en mariposas (Eanes, 1978), tasa de crecimiento en peces (Reinitz, 1977), en árboles (Mitton y Grant, 1980), en humanos recién nacidos (Bottini *et al.*, 1979), y en Moluscos (Mitton y Koehn, 1985; Koehn y Gaffney, 1984; Zouros *et al.*, 1980). Un aspecto común a todos estos trabajos es que el número de loci examinados es pequeño, generalmente menores que 10. Esto genera algunas contradicciones puesto que Ea-

nes (1978) demuestra que no es esperable que unos pocos loci elegidos al azar muestren una fuerte correlación con determinados fenotipos. Zouros *et al.* (1980) sugieren que los loci enzimáticos en estudio pueden estar ligados a otros loci que afectan a esos fenotipos, de tal modo que estos loci enzimáticos pueden virtualmente ser marcadores de cromosomas completos o al menos de segmentos cromosómicos. Es también esperable que exista esta correlación entre genotipos y fenotipos cuando se produce hibridización entre especies emparentadas (Skibinski *et al.*, 1978), lo cual es difícil que suceda en las ostras del banco de Pullinque, aun cuando no ha sido aclarado a la fecha cuál es el límite sur de distribución de la *Ostrea columbiensis* Hanley, 1845, que ha sido dada para Chile por Solís (1967).

Nosotros hemos establecido que existe

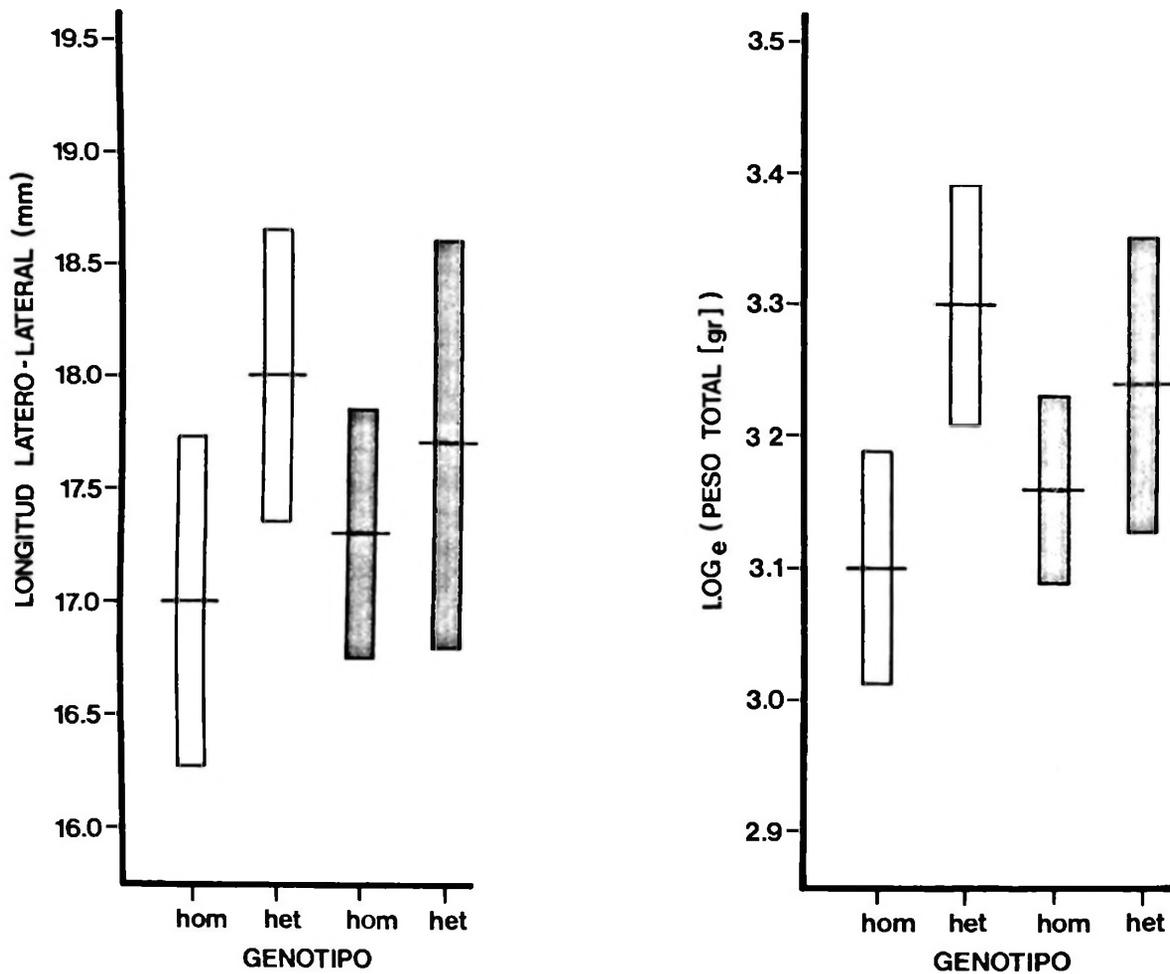


Figura 4. Medidas morfométricas promedios (líneas horizontales) de (a) longitud latero-lateral, (b) peso total, y sus intervalos de confianza al 95% (barras verticales) para genotipos homocigotos y heterocigotos de los loci enzimáticos: Leucin-aminopeptidasa (barras no achuradas) y Anhidrasa carbónica (barras achuradas).

una correlación positiva entre algunas medidas morfométricas y el grado de heterocigosidad enzimática al menos en dos loci enzimáticos, y por otra parte, que el aporte de ambos loci a la relación es diferente, sin embargo, es crítico para nuestro trabajo el hecho de que no conocemos la edad de los individuos. Esto nos genera la dificultad de que no podemos determinar si las diferencias observadas en las medidas morfométricas se deben a:

- i) Que los multiheterocigotos tengan una mayor sobrevivencia que los multihomocigotos y por lo tanto pueden lograr mayores edades, y por ende mayores tamaños (sobrevivencia diferencial).
- ii) Que los primeros tengan mayores tasas de crecimiento que los segundos, y por lo

tanto mayores tamaños (crecimiento diferencial).

iii) Un efecto de variaciones temporales del desove dependientes de los genotipos, por lo cual los heterocigotos puedan originarse previo a los homocigotos, de tal modo que pueden ser más grandes porque nacieron primero (estructura poblacional).

Guñez *et al.* (*in litteris*) logran contrastar la hipótesis (ii) en base a un diseño experimental apropiado, utilizando 4 loci enzimáticos polimórficos, y encuentran evidencias de que los multiheterocigotos presentan mayores tasas de crecimiento que los multihomocigotos. En investigaciones futuras se deben generar diseños experimentales que nos permitan poner a prueba las otras hipótesis. En *Crassostrea virginica*, se ha podido contrastar

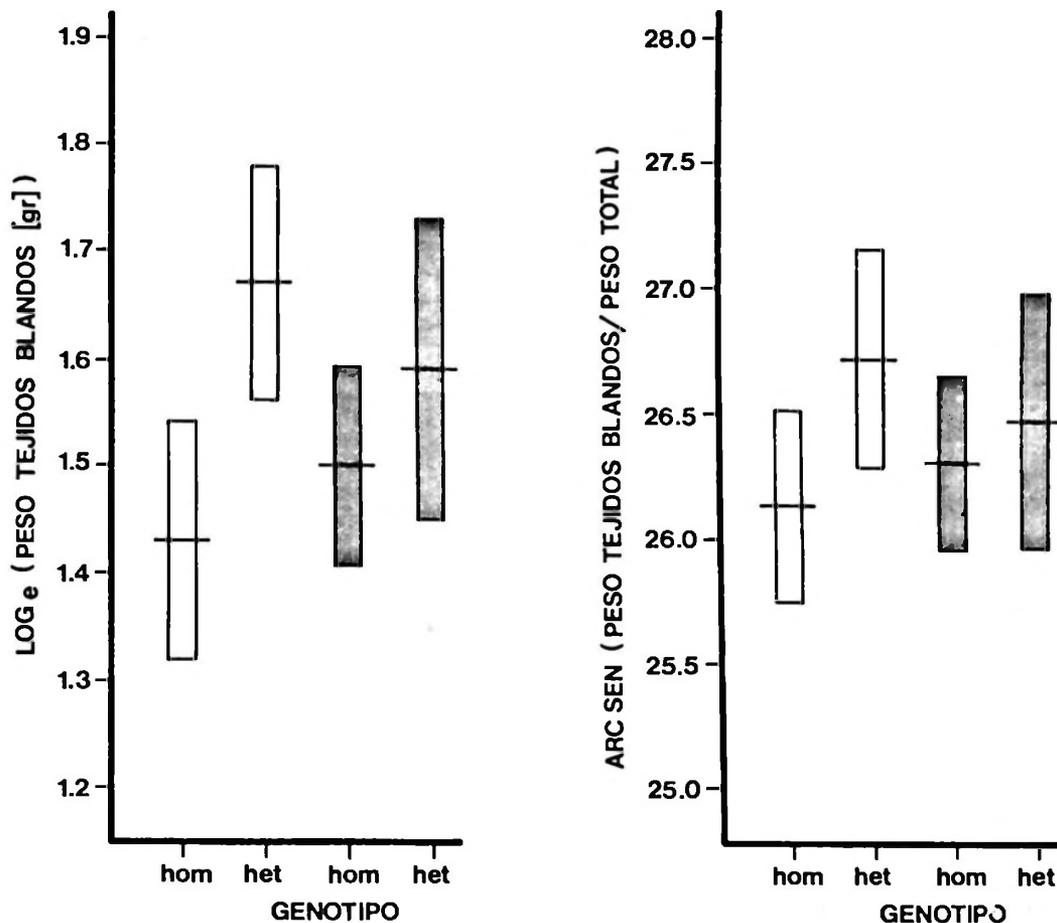


Figura 5. Medidas morfométricas promedio (líneas horizontales) de (a) peso de tejidos blandos, (b) porcentaje del peso total destinado a tejidos blandos, y sus intervalos de confianza al 95% (barras verticales) para genotipos homocigotos y heterocigotos de los loci enzimáticos: Leucin-aminopeptidasa (barras no achuradas) y Anhidrasa carbónica (barras achuradas).

las hipótesis (i) y (ii) (Zouros *et al.*, 1980; Zouros *et al.*, 1983), y se estableció que los individuos multiheterocigotos eran los que crecían más rápido y al mismo tiempo presentaban una mayor sobrevivencia. En *Mytilus edulis*, Koehn y Gaffney (1984) y Koehn (com. pers.), demuestran que la heterocigosidad multilocus está correlacionada no sólo con la tasa de crecimiento y con la viabilidad, sino también con la fertilidad.

Existen varias líneas de evidencia que han llevado a plantear la hipótesis que las ventajas de crecimiento acelerado se basan en una mayor eficiencia fisiológica de los individuos más heterocigotos, a través de consumir menos oxígeno (Koehn y Shumway, 1982; Garton *et al.*, 1984; Garton, 1984), o perder menos peso durante períodos de hambruna (Rodhouse y Gaffney, 1984), y/o tener un mayor potencial de crecimiento (scope for

growth) (Garton, 1984), todo lo cual permite justificar que los heterocigotos presentan un mejoramiento de la sobrevivencia, por una parte, y, por la otra, que la adecuación darwiniana está positivamente correlacionada con la heterocigosidad. La naturaleza metabólica o bioquímica de estos fenómenos permanecen abiertos a la experimentación. Por otra parte se ha demostrado que la relación entre medidas morfométricas y polimorfismos es altamente dependiente del tamaño del stock parental (Gaffney y Scott, 1984) y de la estructura poblacional (R. Ward, com. pers.).

Cualquiera que sea el mecanismo metabólico subyacente, es evidente que estos descubrimientos pueden tener implicancias para la acuicultura, puesto que adicionalmente a las técnicas tradicionales de programas de selección, sería posible utilizar los polimorfismos enzimáticos como verdaderos marcadores

Tabla 1
Correlaciones entre las medidas de los caracteres morfométricos y el grado de heterocigidad individual y las varianzas explicadas por los estadísticos genéticos, en la ostra chilena (*T. chilensis*).

CARACTERES	HETEROCIGOSIDAD INDIVIDUAL MULTILOCUS			HOMOCIGOTOS versus HETEROCIGOTOS			
	r ² [538]	%VE	F ² [2,537]	Locus LAP-2	Locus CA		
	r	%VE	F	r ² [1,538]	%VE	F ² [1,538]	
Altura (mm)	0,157***	3,7	7,48***	4,1	12,26***	0,7	2,61
Largo(mm)	0,164***	4,1	8,09***	3,3	9,96***	1,7	5,18*
Profundidad (mm)	0,082	0,6	2,00	0,8	3,09	0,0	0,78
Peso total (PT)							
[Ln (g)]	0,132**	2,3	4,94**	3,1	9,50***	0,1	1,31
Peso tejidos blandos (PTB) [Ln (g)]	0,134**	2,3	5,00**	3,2	9,91***	0,1	1,31
Condición							
[ArcSen (g/g)]	0,090*	0,7	2,20	1,3	4,39*	0,0	0,44

r, coeficiente de correlación paramétrico, con grados de libertad en paréntesis.

%VE, porcentaje de varianza explicada, según ANOVA una vía, Modelo I.

F, estadístico F, para ANOVA una vía, con grados de libertad en paréntesis.

Probabilidad de la significancia del estadístico correspondiente:

* = < 0,05; ** = < 0,01; *** = < 0,001.

res del crecimiento, de la sobrevivencia y de la fertilidad.

Sobre la base de los antecedentes anteriores, la mejor recomendación al cultivador es incrementar el número de animales utilizados en el desove masivo en orden a aumentar la probabilidad de combinaciones génicas, para posteriormente ir eliminando de la población o cultivo aquellos individuos de menor crecimiento. Según esto, si los ostricultivadores o manejadores del recurso realizan lo inverso esto es que, a medida que los individuos logran su talla comercial son enviados al mercado, entonces sostenidamente se estarían perdiendo del banco o población las combinaciones génicas favorables al crecimiento rápido. De acuerdo a nuestros resultados, dado que los heterocigotos están más representados entre los individuos de mayor tamaño, es evidente que estos genotipos pueden ser más perjudicados por una pesquería que actúa selectivamente sobre los individuos de tallas mayores; lo cual puede producir una desestabilización de los polimorfismos y la consecuente pérdida de variabilidad genética, a través de la generación de equilibrios inestables (Wright, 1969: 43). Por lo cual, si asumimos que en bancos o cultivos de ostra en explotación se está produciendo este mismo fenómeno, entonces podemos predecir que todo loci que presente la conducta

discutida irá perdiendo variabilidad. La mencionada depauperización genética puede llevar a la especie a la extinción (Bretsky y Lorenz, 1969). Los efectos que sobre la estructura genética pueden provocar los procesos pesqueros se encuentran actualmente en estudio teórico (Zouros, com. pers.; Guñez, resultados no publicados), y debe ser corroborado por datos obtenidos del monitoreo temporal y espacial de especies en explotación extractiva o de cultivos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a Iván Solís y Raúl Norambuena por las facilidades prestadas para el muestreo en el banco ostrícola de Pullinque. Este trabajo fue financiado por el proyecto DIUC 2F/84.

Este trabajo fue presentado en parte a la XVIII Reunión Anual de la Sociedad de Genética de Chile, La Dehesa-Chile, octubre, 1985, y a las Quintas Jornadas de Ciencias del Mar, Coquimbo-Chile, octubre, 1985.

BIBLIOGRAFIA

- AHMAD, M; D.O.F. SKIBINSKY; J. A. BEARDMORE. 1977. An estimate of the amount of genetic variation in the common mussel *Mytilus edulis*. *Biochemical Genetics* 15 (9-10): 833-846.

- BAKER, M.C.; S.F. FOX. 1978. Dominance, survival, and enzyme polymorphism in dark-eyed juncos, *Junco hyemalis*. *Evolution* 32: 697-711.
- BOTTINI, E.; F. GLORIA-BOTTINI; P. LUCARELLI; A. POZONETTI; F. SANTORO; A. VARVERI. 1979. Genetic polymorphisms and intrauterine development: evidence of decreased heterozygosity in light for dates human newborn babies. *Experientia* 35: 1565-1567.
- BRETSKY, P.W.; D.M. LORENZ. 1969. Adaptive response to environmental stability: a unifying concept in paleoecology. Proceeding of the North American Paleontological Convention, pt E: 522-550.
- EANES, W.F. 1978. Morphological variance and enzyme heterozygosity in the monarch butterfly. *Nature* 276: 263-264.
- FOLTZ, D.W.; G.F. NEWKIRK; E. ZOUTOS. 1983. Genetics of growth rate in the American oyster: absence of interaction among enzyme loci. *Aquaculture* 33: 157-165.
- GAFFNEY, P.M.; T.M. SCOTT. 1984. Genetic heterozygosity and production traits in natural and hatchery populations of bivalves. *Aquaculture* 42: 289-302.
- GARTEN JR., C.T. 1976. Relationships between aggressive behavior and genic heterozygosity in the oldfield mouse, *Peromyscus polionotus*. *Evolution* 30: 59-72.
- GARTON, D.W. 1984. Relationship between multiple locus heterozygosity and physiological energetics of growth in the estuarine gastropod *Thais haemostoma*. *Physiological Zoology* 57: 530-543.
- GARTON, D.W.; R.K. KOEHN; T.M. SCOTT. 1984. Multiple-locus heterozygosity and the physiological energetics of growth in the coot clam, *Mulinia lateralis*, from a natural population. *Genetic* 5, 108: 445-455.
- GUÍÑEZ, R.; R. GALLEGUILLOS. 1985. Clinal variation in morphological distance between genotypes at the carbonic anhydrase locus in the Chilean oyster, *Tiostrea chilensis* (Philippi, 1845). Chanley and Dinamani, 1980. *Brazilian Journal of Genetics* VIII (3): 609-616.
- HAMRICK, J.L.; R.W. ALLARD. 1975. Correlations between quantitative characters and enzyme genotypes in *Avena barbata*. *Evolution* 29: 438-442.
- KOEHN, R. 1984. The application of genetics to problems in the marine environment: future areas of research. A discussion paper. Natural Environment Research Council. NERC. 11 p.
- KOEHN, R.H.; P.M. GAFFNEY. 1984. Genetic heterozygosity and growth rate in *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 82: 1-7.
- KOEHN, R.K.; S.E. SHUMWAY. 1982. A genetic/physiological explanation for differential growth rate among individuals of the American oyster (*Crassostrea virginica*). *Marine Biology Letters* 3: 35-42.
- LÉPEZ, M.I. 1983. El cultivo de *Ostrea chilensis* en la zona central y sur de Chile. *Memorias de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura* 5 (2): 117-127.
- LEWONTIN, R. 1974. The genetic basis of evolutionary change. New York and London, Columbia University Press. 346 p.
- MITTON, J.B.; M.C. GRANT. 1984. Associations among proteins heterozygosity, growth rate and developmental homeostasis. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 479-499.
- MITTON, J.B.; KOEHN, R. 1985. Shell shape variation in the blue mussel, *Mytilus edulis* L. and its association with enzyme heterozygosity. *Journal of experimental Marine Biology and Ecology* 90: 73-80.
- NEWKIRK, G.F. 1983. Applied breeding of commercially important molluscs: A summary of discussion. *Aquaculture* 33: 415-422.
- REINITZ, G.L. 1977. Tests for association of transferrin and lactate dehydrogenase phenotypes with weight gain in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 34: 2.333-2.337.
- RODHOUSE, P.G.; P.M. GAFFNEY. 1984. Effect of heterozygosity on metabolism during starvation in the American oyster *Crassostrea virginica*. *Marine Biology* 82: 1-7.
- SELANDER, R.K.; M.H. SMITH; S.Y. YANG; W.E. JOHNSON; J.B. GENTRY. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the oldfield mouse (*Peromyscus polionotus*). University of Texas Publication N° 7103. *Studies in Genetics* 6: 49-90.
- SKIBINSKI, D.O.F.; M. AHMAD; J.A. BEARDMORE. 1978. Genetic evidence for naturally occurring hybrids between *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis*. *Evolution*, 32: 354-364.
- SMITH, M.H.; C.T. GARTEN JR.; P.R. RAMSEY. 1975. Genic heterozygosity and population dynamics in small mammals. En: *Isozymes, IV. Genetic and Evolution*: 85-102. C.L. Market (editor). New York, Academic Press.
- SOKAL, R.R.; F.J. ROHLF. 1981. *Biometry*, 2nd edition. San Francisco, W.H. Freeman and Co., 859 p.
- SOLÍS, I. 1967. Observaciones biológicas en ostras (*Ostrea chilensis*) de Pullinque. *Biología Pesquera*, Chile. 2: 51-82.
- WRIGHT, S. 1969. *Evolution and the genetics of populations*. Volume 2. The theory of gene frequencies. Chicago, The University of Chicago Press. 511 p.
- ZOUROS, E.; S.M. SINGH; H.E. MILES. 1980. Growth rate in oysters: an overdominant possible explanations. *Evolution* 34 (5): 856-867.
- ZOUROS, E.; S.M. SINGH; D.W. FOLTZ; A.L. MALLET. 1983. Post-settlement viability in the American oyster (*Crassostrea virginica*): an overdominant phenotype. *Genetical Research*, Cambridge 41: 259-270.

