# SUPERVIVENCIA Y FACTOR DE CONVERSIÓN APARENTE DEL ALIMENTO, DURANTE EL CRECIMIENTO INICIAL DE LA CUIBA Pomacea glauca (Linnaeus, 1758) (GASTEROPODA; AMPULLARIDAE) SOMETIDOS A DIFERENTES DIETAS

# SURVIVAL AND APPARENT FOOD CONVERSION FACTOR, DURING INITIAL GROWTH OF THE CUIBA *Pomacea glauca* (LINNAEUS, 1758) (GASTEROPODA; AMPULLARIDAE) UNDER DIFFERENT DIETS

HERMES LÓPEZ, ANTULIO PRIETO, LUIS GONZÁLEZ

Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. E-mail: aspa2021@hotmail.com

#### RESUMEN

Se evaluó el factor de conversión aparente del alimento y la supervivencia durante el crecimiento inicial de la cuiba *Pomacea glauca* (Linnaeus, 1758). Las masas ovígeras fueron recogidas en la vegetación hidrófila de drenajes en Cumaná, estado Sucre. El seguimiento se realizó en el laboratorio durante 90 días, con 8 grupos de 20 caracoles de 0,070 ± 0,012 g de peso promedio, alimentados con 8 dietas, utilizando 3 réplicas para cada tratamiento y evaluando el porcentaje de supervivencia (% S) y el factor de conversión aparente del alimento (FCA) a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días. Los porcentajes de supervivencia fluctuaron entre un 100% en la dieta 3 constituida por una mezcla de las plantas *Colocassia esculente e Ipomea batata* y el más bajo (78,33%) en la dieta 7 formada por un mezcla general de vegetales, observándose diferencias muy significativas entre los tratamientos. La supervivencia más alta según el tiempo se obtuvo hasta los 30 días con 100%, mientras que la más baja fue a los 90 días de experimentación (90,20 %). La FCA en los caracoles sometidos a diferentes dietas presentó diferencias significativas y osciló entre 1,33 % para la dieta 5 y 2,37 % en la dieta 1, indicando que la mejor eficiencia de conversión de alimento se observó en el grupo de caracoles alimentado con la dieta 5 constituida por una mezcla comercial de proteínas animales y arroz. Los resultados indican que aunque las dietas estrictamente vegetales originan altos porcentajes de supervivencia en la especie, las mayores conversiones se obtienen con una dieta mezclada de proteínas vegetales y animales.

PALABRAS CLAVE: Factor de conversión, supervivencia, dietas, Pomacea glauca, Venezuela.

#### **ABSTRACT**

The apparent food conversion factor and survival during the initial growth of the cuiba Pomacea glauca (Linnaeus, 1758) were evaluated. Ovígerous masses were collected from emergent hydrophilic vegetation of water drainages of Cumaná, Sucre state. The follow up of the growth was made in the laboratory during 90 days, with 8 groups of 20 snails with average weight  $0.070 \pm 0.12$  g, fed with 8 different diets using 3 groups for each treatment and evaluating the percentage of survival (% S) and apparent food conversion factor (FCA) at 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days. Survival rates fluctuated between 100% with diet 3 based on a mixture of the plants Colocassia esculenta and Iponema batata, and the lowest value (78.33 %) with diet 7 based on a general vegetables mixture, with very significant differences among treatments. The highest % S according to time was observed until 30 days with 100%, whereas the lowest survival was registered at 90 days of experimentation with 90.20 %. There were significant differences among the FCA of the snail fed with the different diets, and varied between 1.33% for diet 5 and 2.37 % for diet 1, indicating that the best efficiency of food conversion was observed in the group of snails fed with diet 5 based on a commercial product of animal proteins and rice. The results show that although vegetal diets provide high survival percentages in this species, the best conversion factors are obtained with a diet based on a mixture of animal and vegetable proteins.

KEY WORDS: Apparent factor conversion, survival, diets, *Pomacea glauca*, Venezuela.

### INTRODUCCIÓN

Los caracoles del genero *Pomacea* (Banarescu 1990) son gasterópodos de agua dulce común en las zonas tropicales de Sur-América (Kohller y Glaubrecht 2006), donde se han hallado abundantes registros fósiles de varias especies (Martin y De Francesco 2006). Las especies de este género en América, presentan varias características que las hacen candidatas para ser

cultivadas ya que son herbívoras u omnívoras y por lo tanto, eficientes convertidores de energía (Estebenet *et al.* 2006). Son prolíficas y se reproducen todo el año; soportando un amplio intervalo de condiciones ambientales y, debido a que tienen un mercado regional bien establecido, bajo condiciones controladas de cultivo es posible evitar enfermedades o parásitos que pueden ser transmitidos a partir de organismos silvestres (Asian y Olguín 1995, Pessoe *et al.* 2006).

Recibido: febrero 2007. Aprobado: junio 2009

Versión final: enero 2010

La característica más resaltante del género es el rápido crecimiento en comparación con otras especies de caracoles, desarrollando una mayor cantidad de músculo, con una naturaleza que le permite tolerar aguas con bajo contenido de oxígeno y el hacinamiento (Mendoza et al. 2002), aumentando de esta forma su capacidad de dispersión y constituyendo como ha ocurrido con *Pomacea canaliculata* en algunas áreas de Asia, una peste para las plantaciones de arroz (Joshi 2007). Tienen además una fecundidad relativamente alta, elevado porcentaje de eclosión, baja mortalidad, período de desarrollo corto y un estado de eclosión avanzado (Lum- Kong y Kenny 1989, Ramnarine 2003), condiciones que cimientan el interés sobre su cultivo (Burky 1974).

En la naturaleza, estas especies se alimentan preferiblemente de macrófitas (Estebenet 1995), mientras que en condiciones controladas de cultivo han sido alimentadas tradicionalmente con materia vegetal (Estebenet y Cazzaniga 1992). En general, este tipo de alimento es difícil de almacenar, presenta calidad nutricional variable y en algunas oportunidades no está disponible por lo tanto, el desarrollo de una dieta práctica es deseable para el cultivo intensivo del caracol. Utilizando dietas semi-puras, los requerimientos de proteína para juveniles del caracol se encuentran entre el 20 y 30% de la dieta, mientras que las dietas con un contenido energético mayor de 250 kcal/100 g no resultan en un mejor crecimiento, por lo cual se ha determinado que el balance óptimo en una dieta para el crecimiento de estas especies debe ser de 85 mg de proteína por kcal de energía (Aguilera 1996, Mendoza et al. 1999).

La cuiba *Pomacea glauca* es abundante en el oriente de Venezuela (García 1992), y posee en su composición química un moderado contenido de proteínas, ceniza y un bajo contenido de grasas. Pero a pesar que los productos a base de carne de caracol no tienen un consumo tradicional en nuestro país, el desarrollo de este tipo de producto es tecnológicamente factible y se podría iniciar su producción dentro de industrias ya establecidas que puedan ofrecer al consumidor un alimento asequible y de buena calidad (Ortiz 1996).

Esta investigación se realizó con el objetivo de evaluar durante el crecimiento inicial, la supervivencia y el factor de conversión aparente del alimento en la cuiba *Pomacea glauca* (Linnaeus 1758) en diferente dietas y bajo condiciones controladas de cultivo, a fin de estructurar un paquete tecnológico que permita un

cultivo más eficiente de la especie.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron 10 cápsulas ovígeras de *Pomacea glauca*, provenientes de la vegetación hidrófila emergente del desagüe de la Urbanización Tres Picos, Cumaná, estado Sucre, las cuales se conservaron en cavas debidamente tapadas y sin hielo, hasta ser trasladadas al Laboratorio, donde cada masa por separado, se colocó con la vegetación en la cual estaba sujeta, y se dispusieron en frascos de 4 L con un litro de agua, sin aireación, de modo que las masas ovigeras quedaran de 5 a 10 cm sobre la superficie del agua.

Luego del nacimiento, los animales que tuvieron cuatro semanas de eclosión fueron medidos con un vernier 0,01 mm de apreciación, y pesados con una balanza electrónica de 0,01 g de precisión, distribuyéndose aleatoriamente en 8 grupos de 20 animales cada uno. Como unidades experimentales se utilizaron envases plásticos de 25 L de capacidad con sus respectivos animales. Los envases fueron llenados con 8 L de agua (pH 6,3  $\pm$  0,4 y dureza total de 40 ppm), la cual se recambió parcialmente (50%) cada quince días y se taparon con mallas plásticas.

Los animales se sometieron a 8 dietas, las cuales se otorgaron con una ración diaria equivalente al 8% de la biomasa húmeda, tomando como referencia el peso total de los ejemplares por cada envase de acuerdo a la recomendación de Mendoza *et al.* (1999). De cada uno de estos tratamientos se hicieron 3 réplicas; las dietas estuvieron confeccionadas con base en diferentes componentes los cuales se muestran en la tabla 1. Las raciones alimentarias se suministraron 6 días a la semana (un día de ayuno) y en cada una se determinó los contenidos porcentuales de carbohidratos, proteínas y lípidos en el laboratorio según los métodos aprobados por la AOAC (1990).

El rendimiento de los organismos se evaluó en función del incremento en masa a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días, para lo cual se utilizó una balanza electrónica de 0,01 g de precisión, y mediante el cálculo de los siguientes parámetros: 1) Factor de Conversión Aparente del Alimento (FCA) = Alimento suministrado/ Alimento ingerido (Haniffa *et al.* 1984) y 2) Porcentaje de supervivencia (% S) = (Número final de animales/ Número inicial de animales) x 100.

El consumo y la conversión alimentaria se determinó usando la totalidad del alimento suministrado, según la fórmula descrita por Haniffa *et al.* (1984). Se estimó la

totalidad de las muertes de los ejemplares cada quince (15) días hasta el final del experimento. Para determinar las diferencias existentes entre la supervivencia, el tiempo y las dietas se realizó un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis con las variables determinadas y para la comparación de FCA según las dietas se utilizó una prueba de análisis de varianza paramétrica (Zar 1984).

#### RESULTADOS

El análisis bioquímico de las dietas indica, que la cantidad más alta de carbohidratos se determinó en la dieta 3, mientras que la 8 contenía el valor más alto de proteínas y las 4, 5 y 8 el más alto de lípidos. En general la dieta 1 presentó valores bajos de los 3 componentes (tabla 2). El más alto porcentaje de supervivencia fue alcanzado en los caracoles que se encontraban en los envases 3-1, 3-2 y 3-3, con la dieta 3, los cuales obtuvieron un 100%, mientras que el más bajo porcentaje lo obtuvieron los que se encontraban en los envases 7-1,7-2 y 7-3, es decir la dieta 7, con valores de 75, 70 v 90% respectivamente (78,33  $\pm$  10,40) (figura 1). El análisis de varianza de Kruskal-Wallis indicó que existieron diferencias muy significativas en la supervivencia de los caracoles sometidos a las diferentes dietas (T = 24.47; P < 0.005). Con relación al porcentaje de supervivencia, según el tiempo, los valores más altos se observaron hasta los 30 días de exposición con un 100% de supervivencia, mientras que el valor más bajo se registró a los 90 días de exposición con 90 ± 7,070% de supervivencia. Un análisis de varianza de Kruskal-Wallis determinó diferencias muy significativas de la supervivencia de los caracoles al ser sometidos a diferentes tiempos (T = 25,71 < 0,005) (Figura 2).

Los ejemplares sometidos a la dieta 5 presentaron los valores más bajos de FCA con un promedio de 1,338 ± 0,102 indicando que tuvieron el mayor crecimiento, mientras que los caracoles que se sometieron a la dieta 1 (envases 1-1, 1-2 y 1-3) presentaron el promedio más alto de FCA  $(2,370 \pm 0,061)$  al final del experimento, señalando que presentaron la menor conversión de alimento en tejido. Los caracoles sometidos a las dietas 6, 3, 7 y 8 obtuvieron valores intermedios y el análisis de varianza para comparar los diferentes tratamientos reveló diferencias significativas del FCA según las dietas (F = 8.37; P < 0.05) (figura 3). La FCA alcanzada por P. glauca, según el tiempo de experimentación presentó el promedio más bajo a los 15 días (1,204 ± 0,101) y el más alto se observó a los 45 días ( $2,199 \pm$ 0,20).

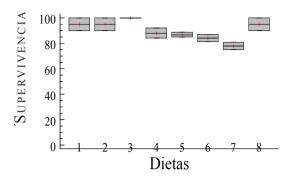


Figura 1. Porcentaje de supervivencia (% S) alcanzado por *P. glauca*, sometidos a diferentes dietas, al terminar la experimentación (se indica la media ± SD).

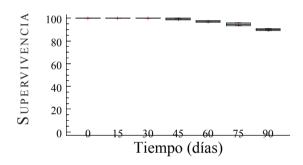


Figura 2. Porcentaje de supervivencia (% S) alcanzado por P. glauca, cada 15 días, sometidos a diferentes dietas (se indica la media  $\pm$  SD).

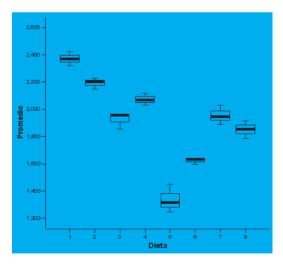


Figura 3. Representación gráfica del promedio del factor de conversión aparente del alimento (FCA) de *P. glauca*, sometidos a diferentes dietas, finalizado el experimento (se indican la mediana, desviación estándar y los valores máximos y mínimos).

## DISCUSIÓN

Los resultados de supervivencia obtenidos en esta investigación en la dieta 3 con un promedio de 100% % es similar a los obtenidos por Aguilera (1996) que reporto altos valores de supervivencia alimentando a *P. bridgesi* con 5 dietas concentradas con base en harinas vegetales y animales (proteína animal/proteína vegetal) y son superiores al informado por García (1992) de 90% en individuos de *P. glauca* del estado Monagas, Venezuela.

La mayor mortalidad observada en la dieta 7, conformada totalmente por vegetales con contenidos bajos de proteínas y carbohidratos, podría ser atribuida más que al contenido y calidad de la proteína, a la mayor cantidad de celulosa que puede originar reducidos valores de digestibilidad del alimento, debido a la escasez o baja actividad de enzimas celulasas, tal como se ha demostrado en otras especies de gasterópodos (Flari y Chaurrier 1992).

La mortalidad en especies de *Pomacea*, en bioensayos con diferentes dietas es muy variable, Pulido y Hernández (1998) obtuvieron 21 y 27 % de mortalidad al alimentar a *Pomacea* (*Effusa*) spp. con desechos vegetales (*Colocassia esculenta*) y dos niveles de alimento comercial peletizado (5 y 10% de peso vivo/día), durante 180 días de cultivo, observando además una apreciable fragilidad de las conchas de los especímenes alimentados con alimento peletizado, sugiriendo una clara deficiencia nutricional, probablemente de calcio, atribuible a los alimentos y a la baja dureza de las aguas usadas en el ensayo.

Experimentos realizados por Lach et al. (2000) demostraron que P. canaliculata recolectado en Hawai, muestra cierto grado de discriminación cuando es sometido a diferentes alimentos vegetales con una preferencia por la especie nativa Vigna marina en comparación con el Jacinto de agua Eichornia crassipes, la lechuga acuática Pistia striatiotes y la lechuga verde Lactuca sativa. Por otra parte, en bioensayos al ser sometidos a 4 regímenes con y sin alimentación, mostraron una mortalidad y un crecimiento diferencial en la cual se obtuvo la mayor supervivencia en los ejemplares alimentados con lechuga de hoja verde. Estos resultados concuerdan parcialmente con los obtenidos en la presente investigación, que indican que las especies del genero Pomacea, aunque son considerados como macrofitófagos generalistas, pueden desplegar ciertas preferencias y responder fisiológicamente de forma variable.

La mayor eficiencia en la conversión de alimentos observada en la dieta 5, con el valor más bajo de la FCA  $(1,338 \pm 0,102)$  indica que esta mezcla comercial artificial a base de arroz con alto contenido de lípidos y moderado de carbohidratos y proteínas, fue la que proporcionó el mejor desempeño para el crecimiento de los caracoles. Por el contrario, los promedios más altos de FCA (2,370  $\pm$  0,061) observados en la dieta 1, con bajos porcentajes de proteínas, carbohidratos y lípidos, ponen de manifiesto la menor utilización de estos componentes en una dieta exclusivamente vegetal de hojas (tabla 1). Estos resultados concuerdan con los reportados para P. canaliculata, especie que a pesar de ser considerada como típicamente herbívora, alcanza un mayor crecimiento con una combinación de proteína animal y vegetal (Estebenet y Cazzaniga 1992).

Tabla 1. Distribución de los tratamientos (dietas) en los envases que contienen a los ejemplares de *P. glauca* en estudio con sus respectivas réplicas.

Dietas	Componentes	Dietas	Componentes
1	Hojas de lechuga ( <i>Lactuca</i> sativa L.) y acelga ( <i>Beta</i> vulgaris L.) 50% c/u	5	Alimento para perros con base en arroz (Pedigree Healthy Happy Do For Life®) 100% c/u
2	Hígados de pollo y de res 50 % c/u.	6	Harina de pescado sumnistrada por el INN 100% c/u
3	Raíces de ocumo (Colocassia esculenta) y chaco (Ipomoea batatas) 50% c/u.	7	Todos los vegetales usados (lechuga, acelga, ocumo, chaco) 25% c/u
4	La unión de todas las dietas 20% c/u.	8	Hígados de pollo y res más la harina de pescado 33% c/u

Los valores promedios del FCA observados en las dietas 6 y 8 revelan que el suministro único de proteína animal no es suficiente para una buena conversión, de aquí que resulte necesario complementar el aporte de aminoácidos con fuentes de proteína vegetal, sin llegar a un exceso, ya que esto podría igualmente repercutir en una reducción de la conversión como se observó con la dieta 1 (Figura 3).

Estos resultados reflejan una alta conversión, al compararlos con los obtenidos por Pulido y Hernández (1998), los cuales obtuvieron valores de conversión alimentaria que fluctuaron entre, un mínimo de 10,13 para el primer tratamiento (*Colocassia esculenta*) a los 150 días de experimentación, y un máximo de 28,5 para el tercer tratamiento (10% peso vivo/días, alimento

comercial), aunque estos últimos autores realizaron los experimentos en 180 días y en caracoles adultos.

Haniffa *et al.* (1984), en un trabajo sobre la influencia del tipo de alimento, animal o vegetal, sobre la utilización por caracoles herbívoros, determinaron que los individuos alimentados con fuentes 100% vegetales tuvieron los más altos niveles de absorción de nutrientes (86%) pero, también, la más baja eficiencia de conversión (8%). La alta conversión obtenida en la dieta 5 puede estar relacionada con su contenido, el cual es un preparado comercial equilibrado de proteínas vegetales y animales, mientras que los valores menores del FCA obtenidos en la dieta 1 están relacionados con los bajos valores de carbohidratos y proteínas contenidas (Tabla 2).

Tabla 2. Contenido energético (proteínas, carbohidratos y lípidos totales) de las diferentes dietas (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8), con las cuales fueron alimentados los ejemplares de *P. glauca* 

Dietas	% Proteínas	% Carbohidratos	% Lípidos
1	10,93	8	20
2	16,73	12	40
3	11,08	18	10
4	15,60	10	50
5	21,25	12	50
6	43,02	8	40
7	10,90	10	20
8	38,11	4	50

#### **CONCLUSIONES**

Durante los bioensayos, realizados se demostró la facilidad de adaptación del caracol dulceacuícola *P. glauca* a diferentes formas de alimentación.

La mayor supervivencia (100%) se obtuvo en los bioensayos con la dietas 3 constituida por las especies vegetales *Colocassia esculenta* (ocumo) y el chaco (*Ipomoea batata*). La máxima eficiencia de conversión (FCA) se obtuvo en la dieta 5 constituida por una dieta comercial de proteínas vegetales y animales con base en arroz.

El análisis bioquímico de las dietas indicó que las 4, 5 y 8 presentaron los mayores contenidos de lípidos, mientras que las proteínas tuvieron valores máximos en las dietas 6 y 8.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILERA C. 1996. Determinación del perfil de proteasas y de los requerimientos proteicos del caracol manzana (*Pomácea* sp) como base para el desarrollo de una dieta artificial para su cultivo comercial. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 89 pp.

AOAC 1990. Official Methods of Analysis. 12° ed. Association of Official Analytical Chemist. Elliam Horritz, Ed. Washington, D.C., U.S.A.

ASIAN F., OLGUÍN P. 1995. Evaluation of water spinach (*Ipomoea aquatica*) as feed for apple snail (*Pomacea patula*). World Aquaculture, pp: 51-52

- Banarescu P. 1990. Zoogeography of freshwater. General distribution and dispersal of fresh water animals. Editorial Aula-Verlag GmbH, Wiesbaden, Bucarest – Rumania, vol. 1, 511 pp.
- Burky A. 1974. Growth and biomass production of an amphibious snail, Pomacea urceus Müller) from the Venezuelan Savannah. Proc. Malac. Soc. Lond. 41: 127-143.
- ESTEBENET A. 1995. Food and feeding in *Pomacea* canaliculata (Gastropoda: Ampullariidae). Veliger 38 (4): 277-283.
- ESTEBENET A., CAZZANIGA N. 1992. Growth and de mography of Pomacea canaliiculata (Gastropoda: Ampullariidae) under laboratory conditions. Malacol. Rev. 25: 1-12.
- FLARI V., CHAURRIER M. 1992. Contribution to the study of carbohydrases in the digestive tract of the edible snail *Helix aspersa*: L (Gastropoda: Pulmonata: Stylommathophora) in relation to it age an its physiological state. Com. Biochem. Physiol. 102A (2):363-372.
- JOSHI R. C. 2007. Problems with the management of the golden snail *Pomacea canaliculata*: a important exotic pest of rice in Asia. In: Area -Wide Control of Insect Pest. A. S. Robinson and H. Hendrichs Edit. 257 -264 pp.
- Kohller F., Glaubrecht M. 2006. The types of Ampullariidae Gray 1824 (Mollusca, Gastropoda) in the collection of the Natural History Museum, Berlin: an annotated catalogue with lectotypes designation. Mitt. Nat. Kd. Berl. Zool. 82 (1): 198-218.
- GARCÍA Z. 1992. Biología del caracol dulce acuícola Pomacea glauca y su posibilidad de cultivo en el municipio Bolívar del estado Monagas. (avance). Convenio pecuarioUDO-LAGOVEN-ICAP-IAN (ULIIAN). Caripito. Monagas-Venezuela. 88 pp.
- Haniffa M., Amaladoss A., Murugesan A., Arasu L. 1984. influence of plant and animal on utilization of a herbivorous snail, *Pila globosa* (Swainson). Ind. J. Exp. Biol. 22 (9): 482-483.
- LACH L., BRITTON D., RUNDELL R., COWIE R. 2000. Food preference and reproductive plasticity in an

- invasive freshwater snail. Biol. Inv. 2: 279-288.
- Lum-Kong A., Kenny J. S. 1989. The reproductive biology of the ampullariid snail *Pomacea urceus* (Müller). J. Moll. Stud. 55: 53-66.
- Martin P. R., De Francesco C. J. 2006. Fossil record of *Pomacea* (Caenogastropoda: Ampulariidae in Argentina and its paleoenvironmental implications. Biocell. 30 (2): 337 -343.
- Mendoza R., Aguilera C., Montemayor J., Rodríguez G. 1999. Utilization of artificial diets and effect of protein/energy relationship on growth performance of the apple snail *Pomacea bridgesi* (Prosobranchia: Ampullariidae). Veliger, 42 (1):109 119.
- Mendoza R., Aguilera C., Hernández M., Montemayor J., Cruz E. 2002. "Elaboración de dietas artificiales para el cultivo del caracol manzana (*Pomacea bridgesi*)". "AquaTIC". <a href="http://www.AquaTIC.htm">http://www.AquaTIC.htm</a> (12/01/2005).
- Ortiz E. 1996. Perspectiva comercial de la cuiba, *Pomacea glauca* L. Ampullaridae) Recolectada en Caripito, municipio Bolívar, estado Monagas. Trabajo de Grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Pessoe H. L., OLIVEIRA R. C., SILVA J. L., SANTOS R. F., DUARTE J. C., COSTA M. J., SILVA B. A. 2006 Avaluação da toxicidade aguda, efeitos citotoxico e espasmolítico de *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Mollusca: Caenogastropoda). Rev. Bras. Farmacogn. 17 (1): 76-84.
- Pulido D., Hernández J. 1998. Crecimiento, mortalidad y conversión alimenticia del caracol dulceacuícola *Pomacea* (Mollusca, Gasteropoda) bajo tres formas de alimentación. Saber. 10 (1): 61-65.
- Ramnarine I. W. 2003. Induction of spawning and artificial incubation of eggs in the edible snail *Pomacea urceus* (Muller). Aquaculture. 215. (1-4): 163 -166.
- ZAR J. 1984. Biostatistical Analysis. Secpnd Edition, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. 718 pp.