

Nota de Investigación/Research Note

Evaluación del crecimiento instantáneo de juveniles del tiburón viuda virma (*Mustelus canis*) en su hábitat natural, a través del índice ARN/ADN

Evaluation of the instantaneous growth of juvenile smooth dogfish sharks (*Mustelus canis*) in their natural habitat, based on the RNA/DNA ratio

R Tavares^{1, 2*}, M Lemus^{3, 4}, KS Chung⁵

¹ Centro para la Investigación de Tiburones, Av. Don Bosco, Qta. ABC No. 10, La Florida, Caracas 1050, Venezuela.

² Departamento de Biología Pesquera, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Venezuela.

*E-mail: rtavares@sucre.udo.edu.ve

³ Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Venezuela.

⁴ Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Venezuela.

⁵ Departamento de Biología Marina, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Venezuela

Resumen

Se realizó una evaluación preliminar de los índices ARN/ADN y proteína/ADN para determinar la condición fisiológica de juveniles del tiburón viuda virma *Mustelus canis* en su hábitat natural. Las muestras fueron obtenidas de una embarcación de la flota de arrastre venezolana que realizó sus operaciones en la región nororiental de Venezuela, entre la costa norte del estado Sucre y la Isla de Margarita. Las proteínas y ácidos nucleicos fueron cuantificadas en tejido muscular mediante el método de Bradford y el método fluorimétrico, respectivamente. El crecimiento instantáneo se estimó mediante las relaciones ARN/ADN y proteína/ADN. Se encontró una tendencia en la disminución del índice ARN/ADN con respecto a la talla en ambos sexos. Con relación al índice proteína/ADN, no se observó en la distribución de los valores un patrón o comportamiento definido según la talla y sexo. Los resultados muestran que el índice de ARN/ADN puede ser utilizado para evaluar el crecimiento instantáneo y la salud de las poblaciones de tiburones.

Palabras clave: tiburón, *Mustelus*, ARN, ADN, proteínas, crecimiento, Venezuela.

Abstract

The RNA/DNA and protein/DNA ratios were evaluated to determine the physiological condition of the smooth dogfish shark (*Mustelus canis*) in its natural habitat. The samples were collected from animals captured by the Venezuelan trawling fleet operating between the north coast of Sucre State and Margarita Island. Proteins (Bradford method) and nucleic acids (fluorometric method) were quantified from muscle tissue samples. Instantaneous growth was estimated from the RNA/DNA and protein/DNA relationships. A decrease in the RNA/DNA ratio was observed in relation to body length in both sexes. In the case of the protein/DNA ratio, the distribution values do not show any tendency relative to body length or sex. The results show that the RNA/DNA ratio can be used to analyze the instantaneous growth and population health of sharks.

Key words: shark, *Mustelus*, RNA, DNA, proteins, growth, Venezuela.

Introducción

El tiburón viuda virma *Mustelus canis* es una especie demersal que habita en las plataformas continentales e insulares de las zonas templadas y tropicales. Se distribuye desde el nordeste de los Estados Unidos hasta Venezuela, incluyendo el Golfo de México, islas del Caribe, sur de Brasil y norte de Argentina (Compagno 1984, Heemstra 1997). Es una especie que presenta gran importancia comercial como alimento en países como Cuba, Venezuela y Brasil (Compagno 1984, Cervigón y Alcalá 1999).

En la actualidad el conocimiento general de las especies pertenecientes al género *Mustelus* es escaso, algunos de los estudios publicados y que se pueden destacar son: estimación

Introduction

The smooth dogfish shark, *Mustelus canis*, is a demersal species inhabiting the continental and insular shelves of temperate and tropical areas. It is found from the northeastern United States to Venezuela, including the Gulf of Mexico, the Caribbean Islands, southern Brazil and northern Argentina (Compagno 1984, Heemstra 1997). This species is of great commercial value in Cuba, Venezuela and Brazil (Compagno 1984, Cervigón and Alcalá 1999).

General knowledge regarding the species belonging to the genus *Mustelus* is scarce. The following research has been conducted: growth and sexual maturity estimation of six species of the genus *Mustelus* for fisheries management purposes

de los parámetros de crecimiento y edad de madurez sexual de seis especies del género *Mustelus* con fines de manejo de las pesquerías (Francis 1981), medición de la absorción de nutrientes a nivel placentario y su relación entre los tejidos de la madre y embriones en la especie *M. canis* (Graham *et al.* 1995, Jones y Hamlett 2004), determinación de la edad, crecimiento, hábitos alimenticios y reproducción de esta especie en la costa este de los Estados Unidos (Rountree y Able 1996, Conrath y Musick 2002, Conrath *et al.* 2002), revisión del género *Mustelus* realizada en el Atlántico occidental (Heemstra 1997), análisis en el proceso de mineralización de las vértebras y determinación de la tasa de crecimiento de *M. antarcticus* en la costa australiana (Officer *et al.* 1997, Walker *et al.* 1998), análisis demográfico de los tiburones *M. canis* y *Galeorhinus galeus* en el sudeste de Australia (Xiao y Walker 2000) y determinación de concentraciones de mercurio en el tejido de *M. canis* y *M. norrisi* y su relación con los hábitos alimenticios, sexo y talla en la costa de Brasil (Penedo *et al.* 2002). Es de gran importancia generar información sobre la biología y estado de las poblaciones de tiburones que son aprovechados comercialmente mediante las actividades pesqueras, con la finalidad de desarrollar programas de manejo y conservación orientados a asegurar un aprovechamiento sostenible en el tiempo, de este recurso que se ha visto muy afectado en las últimas décadas.

Una de las técnicas utilizadas en la determinación del estado fisiológico en los animales son los índices relacionados con el crecimiento, entre ellos la relación ARN/ADN, la cual está relacionada con el crecimiento instantáneo de los organismos. Esta relación ha sido aplicada ampliamente en investigaciones de la biología del crecimiento de los organismos acuáticos y su relación con parámetros ambientales. El contenido de ADN es un factor biológico estable indicador del tamaño celular porque sus valores cuantitativos no cambian en respuesta a las alteraciones ambientales, mientras que el nivel ARN/ADN nos indica la actividad metabólica asociada a la síntesis de proteínas, ya que se refleja en un crecimiento por aumento de volumen que puede variar dependiendo de las condiciones nutricionales u otros factores ambientales (Lodeiros *et al.* 1996).

El objetivo de este trabajo fue realizar una evaluación del crecimiento instantáneo del tiburón viuda virma (*M. canis*) en su ambiente natural, midiendo las concentraciones de ARN y proteínas en muestras de tejido muscular y expresándolas en relación al ADN.

Materiales y métodos

Se obtuvieron 30 ejemplares de la especie *M. canis* provenientes de la captura de tiburones realizada por una embarcación perteneciente a la flota industrial de arrastre que realizó sus actividades de pesca en la costa norte del Estado Sucre, región nororiental de Venezuela, (11°11' N, 63°07' W). Después de la identificación de la especie, se tomó la longitud total (LT) según Compagno (1984), y se registró el sexo de

(Francis 1981); measurement of nutrient absorption at placental level and the relation between the mother's tissue and the embryos in the species *M. canis* (Graham *et al.* 1995, Jones and Hamlett 2004); determination of age, growth, feeding habits and reproduction of *M. canis* on the eastern coast of the United States (Rountree and Able 1996, Conrath and Musick 2002, Conrath *et al.* 2002); revision of the genus *Mustelus* in the eastern Atlantic (Heemstra 1997); analysis of the process of vertebral mineralization and determination of the growth rate of *M. antarcticus* on the Australian coast (Officer *et al.* 1997, Walker *et al.* 1998); demographic analysis of the sharks *M. canis* and *Galeorhinus galeus* in southeastern Australia (Xiao and Walker 2000); and determination of mercury concentrations in the tissue of *M. canis* and *M. norrisi* and the relation with feeding habits, sex and body size on the coast of Brazil (Penedo *et al.* 2002). Thus, it is important to generate information about the biology and status of commercially usable shark populations, with a view to developing management and conservation programs to ensure a sustainable use of this resource that has been adversely affected in the last few decades.

A technique commonly used to determine the physiological status of animals is that of growth-related indices. One of them is the RNA/DNA ratio, which is associated with the instantaneous growth of organisms. This ratio has been widely applied in research dealing with growth biology of aquatic organisms and their relationship with environmental parameters. The DNA content is a stable biological factor indicating cell size because the quantitative values do not change when reacting to environmental alterations, while the RNA/DNA level indicates the metabolic activity associated with protein synthesis, and this is evidenced in growth due to an increase in volume that can vary depending on the nutritious conditions or other environmental factors (Lodeiros *et al.* 1996).

The goal of this research was to carry out an evaluation of the instantaneous growth of juvenile smooth dogfish sharks (*M. canis*) in their natural environment by measuring RNA and protein concentrations in samples of muscular tissue, and expressing them in relation to DNA.

Material and methods

Thirty specimens of the species *M. canis* were obtained from the total shark catch of one of the boats belonging to the industrial trawl-fishing fleet, operating on the northern coast of Sucre State, Venezuela (11°11' N, 63°07' W). Once the species had been identified, the total length (TL), according to Compagno (1984), was measured and the sex of each specimen was recorded. Muscular tissue, extracted from the anterodorsal area by making a cross-section at the first gill opening, was used to determine the RNA/DNA and protein/DNA ratios. The samples were placed in duly-labelled containers and kept at a temperature of -17°C for subsequent analysis.

Of each tissue sample, 0.3 g were weighed and homogenized in a Tris-EDTA buffer (pH 7.5), with a high speed homogenizer for 30 s in three time spans of 10 s each. This

cada uno de los individuos. Se utilizó tejido muscular para la determinación de los índices ARN/ADN y proteína/ADN, el cual fue extraído de la región antero-dorsal a través de un corte transversal a nivel de la última abertura branquial. Posteriormente las muestras fueron colocadas en envases etiquetados y se guardaron a una temperatura de -17°C para su posterior análisis.

De cada muestra de tejido se pesaron 0.3 g y se homogeneizaron en buffer Tris-EDTA (pH 7.5), con un homogenizador de alta velocidad durante 30 s en tres tiempos de 10 s cada uno. Este procedimiento se realizó en tubos de ensayos sumergidos en hielo a 4°C aproximadamente. Inmediatamente al homogeneizado se añadieron 150 μL de sarcosina al 1% y se dejó reposar durante una hora. Posteriormente fue centrifugado a 10,000 g por 2 min en una centrífuga y el sobrenadante obtenido fue utilizado en la determinación de las concentraciones de las biomoléculas. Los ácidos nucleicos (ARN, ADN) se determinaron a través del método fluorométrico descrito por Canino y Calderone (1995) y las proteínas por el método de Bradford (1976), utilizando albumina de suero de bovino como estándar a una concentración de 30 mg dL^{-1} .

Con la finalidad de detectar diferencias estadísticas en los promedios de cada uno de los índices ARN/ADN y proteína/ADN se realizaron pruebas *a priori* de normalidad de los datos y homogeneidad de varianzas y seguidamente se aplicó un análisis de varianza de dos factores a un nivel de confianza del 95%, en el que se establecieron la talla (intervalos 45–55 y 56–65 cm) y el sexo de los ejemplares como factores (Sokal y Rohlf 1995). Asimismo, se calculó el coeficiente de Pearson (r) para determinar el nivel de correlación entre los valores de los índices estimados.

Resultados

Los 30 ejemplares de *M. canis* midieron entre 47.3 y 64.1 cm LT y correspondieron a 17 hembras y 13 machos. En los machos los valores del índice ARN/ADN oscilaron entre 1.5 y 2.7, siendo el promedio general de 1.9 ± 0.48 , mientras que en las hembras oscilaron entre 1.1 y 3.6, siendo el promedio general de 1.9 ± 0.57 . El análisis de varianza determinó que no existen diferencias significativas ($P > 0.05$) en los promedios entre machos y hembras. Por otro lado, se observa una tendencia hacia la disminución de los valores obtenidos del índice con relación al aumento de la talla (aproximadamente a partir de los 55 cm LT) en ambos sexos (fig. 1), encontrándose diferencias significativas ($P < 0.05$) en los promedios entre grupos de tallas (intervalos 45–55 y 56–65 cm LT). Este resultado indicaría una menor síntesis de proteínas con relación al incremento de la talla o desarrollo ontogénico de los individuos.

En el caso del índice proteína/ADN los valores obtenidos en los machos oscilaron entre 175.6 y 696.6 con un promedio general de 406.7 ± 165.35 , mientras que en las hembras los valores oscilaron entre 315.5 y 586.9, con un promedio general de 486.7 ± 189.39 . En la figura 1 se muestra la distribución de

procedure was carried out in test tubes immersed in ice at an approximate temperature of 4°C . Then, 150 μL of sarcosine (1%) were immediately added to the homogenate and it was left to rest for 1 h. It was subsequently centrifuged at 10,000 g for 2 min and the resulting supernatant was used to determine biomolecule concentrations. Nucleic acids (RNA, DNA) were determined using the fluorometric method described by Canino and Calderone (1995) and proteins using Bradford's (1976) method, applying bovine serum albumin as standard for a concentration of 30 mg dL^{-1} .

To detect statistical differences in the averages of each of the RNA/DNA and protein/DNA ratios, *a priori* tests (normalized data and homogeneity of variance) were conducted and then a two-way analysis of variance was applied at a 95% reliability level in which body sizes (46–55 and 56–65 cm TL ranges) and the sex of specimens were established as variables (Sokal and Rohlf 1995). Pearson's coefficient (r) was also calculated to establish the correlation level between the values of the estimated ratios.

Results

The 30 specimens of *M. canis*, 17 females and 13 males, measured between 47.3 and 64.1 cm TL. The RNA/DNA ratio values ranged from 1.5 to 2.7 for males, the general average being 1.9 ± 0.48 , and from 1.1 to 3.6 for females, the general average being 1.9 ± 0.57 . The analysis of variance showed no significant differences ($P > 0.05$) in the averages between males and females. The values showed a tendency to decrease in relation to an increase in body size (from 55 cm TL, approximately) in both sexes (fig. 1). Significant differences

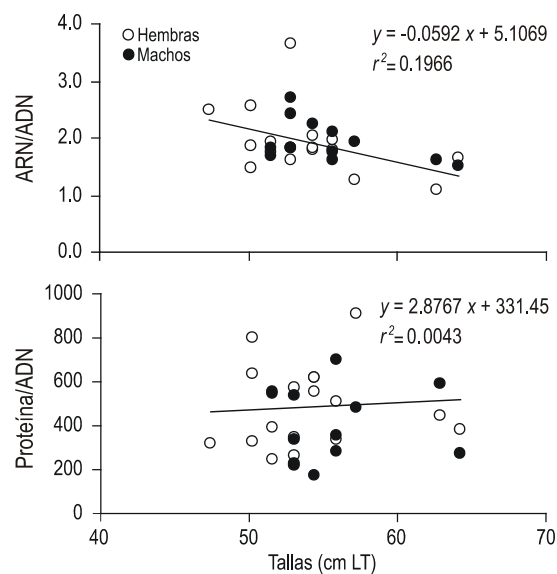


Figura 1. Valores de los índices ARN/ADN y proteína/ADN en el tiburón viuda virma (*Mustelus canis*) con relación a talla y sexo.

Figure 1. Values of the RNA/DNA and protein/DNA ratios for the smooth dogfish shark (*Mustelus canis*) in relation to length and sex.

los valores con respecto a la talla para machos y hembras. No se observa ningún patrón o comportamiento definido con relación a la talla y sexo. Este resultado es apoyado por el análisis estadístico, el cual indicó que no existen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) en los promedios del índice entre los grupos de tallas y sexo. También se encontró que los índices (ARN/ADN y proteína/ADN) se encuentran pobremente correlacionados entre sí ($r = 0.26$, $P > 0.000$).

Discusión

La talla de nacimiento reportada para la especie *M. canis* es 34–39 cm LT, y las tallas mínimas de madurez sexual en los machos y las hembras son de alrededor de 82 y 90 cm LT, respectivamente (Compagno 1984). Por esta razón se sostiene que los resultados obtenidos en este trabajo corresponden a individuos juveniles. Los valores del índice ARN/ADN obtenidos sugieren que el crecimiento intrínseco de esta especie en el área de estudio comienza a disminuir aproximadamente a partir de los 55 cm LT. Estos resultados concuerdan con una tasa de crecimiento más elevada durante el periodo que precede la etapa de madurez sexual. Rountree y Able (1996) encontraron, a través de un análisis de frecuencias de tallas de *M. canis* en la costa este de los Estados Unidos, que los juveniles de esta especie presentan un crecimiento rápido hasta el momento de abandonar su área de criadero, periodo para el cual han alcanzado una talla aproximada de 60 cm LT (~6 meses de edad). Moss (1972) encontró resultados muy similares mediante un estudio para determinar la tasa de crecimiento de esta especie por medio del análisis de la anchura y reemplazo de los dientes. En un trabajo más reciente llevado a cabo en el Atlántico noroccidental con *M. canis*, Conrath *et al.* (2002) obtuvieron una tasa de crecimiento diferencial entre machos y hembras mediante la estimación de los parámetros del crecimiento de Von Bertalanffy.

Con relación al índice proteína/ADN, no se encontró un patrón definido con respecto a talla y sexo. En estudios realizados con peces teleósteos se ha reportado que puede existir gran variabilidad y diferencias entre las concentraciones de ARN y proteínas causadas por efecto de factores ambientales, principalmente debido a un sinergismo de la temperatura y la disponibilidad de alimento, y que a su vez pueden influenciar la utilización de las proteínas por diversas estructuras biológicas del organismo (Segnini y Chung 1997, Imsland *et al.* 2001). En trabajos realizados con truchas se ha determinado que el origen genético (Valente *et al.* 1998) y la proporción proteínas:carbohidratos en las dietas (Peragón *et al.* 2000) pueden causar también variabilidad en la relación entre proteínas y crecimiento. Es importante considerar que existen cambios en la variedad de la dieta de *M. canis* según el aumento de la talla o desarrollo (Vianna *et al.* 2000). Por otro lado, en varias especies de tiburones se ha encontrado un patrón de alimentación que se caracteriza por un periodo de busca activa del alimento, seguido de una etapa de reposo hasta que el alimento es digerido (Medved y Marshall 1985, Cortés y Gruber 1990, Tavares

($P < 0.05$) were found in the averages between groups of body sizes (46–55 and 56–65 cm TL). This result would suggest a lesser protein synthesis in relation to body size increase or to the specimens' ontogenic development.

In the case of the protein/DNA ratio, the values obtained varied between 175.6 and 696.6 for males, with a general average of 406.7 ± 165.35 , and between 315.51 and 586.95 for females, with a general average of 486.72 ± 189.39 . Figure 1 shows the distribution of the values relative to the body size of males and females. No definite pattern or behaviour was observed in relation to body size and sex. This result is supported by the statistical analysis, which indicates that there are no significant statistical differences ($P > 0.05$) in the averages between the groups of body sizes and sex. A poor correlation was found between the RNA/DNA and protein/DNA ratios ($r = 0.26$, $P > 0.000$).

Discussion

The birth size reported for *M. canis* species is 34–39 cm TL, and the smallest sexual maturity size in males and females is about 82 and 90 cm TL, respectively (Compagno 1984). We thus make it clear that the results obtained in this research refer to juveniles and subadults. The values obtained for the RNA/DNA ratio suggest that the intrinsic growth of this species in the study area starts to decrease at 55 cm TL. These results agree with the fact that there is a higher growth rate during the period preceding the sexual maturity stage. Rountree and Able (1996) found, based on a body size frequency analysis of *M. canis* on the west coast of the United States, that juveniles of this species show rapid growth (2 mm TL/day) until the moment of leaving the breeding areas, a period during which they have reached an approximate body size of 60 cm TL (~6 months of age). Moss (1972) obtained very similar results in a study carried out to determine the growth rate by analyzing the width and replacement of teeth. In recent research on *M. canis* in the northeastern Atlantic, Conrath *et al.* (2002) obtained a differential growth rate between males and females using Von Bertalanffy's procedure to estimate growth parameters.

Regarding the protein/DNA ratio, no definite pattern was found in relation to body size and sex. Studies on teleost fishes have reported a great variability and differences between RNA and protein concentrations caused by environmental factors, mainly due to a synergism of temperature and food availability, which can also influence the use of proteins by diverse biological structures of any organism (Segnini and Chung 1997, Imsland *et al.* 2001). In trout it has been determined that the genetic origin factor (Valente *et al.* 1998) and the protein/carbohydrate ratio in feeding habits (Peragón *et al.* 2000) can also cause variability in the relationship between proteins and growth. It is important to take into account that changes occur in the variety of the diet of *M. canis* depending on the body size increase or development (Vianna *et al.* 2000). Some shark species show a feeding pattern characterized by a period of

y Provenzano 2000). Este patrón se conoce como tipo de alimentación intermitente y podría producir gran variabilidad en la síntesis de macromoléculas.

Los tiburones son predadores y por consiguiente consumen presas que generalmente presentan niveles altos de proteínas. Por ejemplo, Rountree y Able (1996) y Gelsleichter *et al.* (1999) encontraron que la dieta de *M. canis* en el Atlántico occidental está dominada por crustáceos. Vianna *et al.* (2000) obtuvieron resultados similares para la misma especie en la costa sudeste de Brasil, a la vez que hallaron que la variedad de presas en su dieta aumentó con el desarrollo del estado de madurez sexual. Los altos niveles de energía que requieren estas especies en la búsqueda y captura de sus presas (sobre todo en etapas de desarrollo sexual) pueden ser obtenidos a partir de las proteínas. La mayor parte de los aminoácidos son utilizados en la producción de energía a través de la síntesis de glucosa vía glucogénesis (Peragón *et al.* 2000). Probablemente exista una relación entre las especies que presentan un tipo de alimentación intermitente y el alto contenido proteico de sus presas, lo que permitiría a los individuos producir energía de acuerdo a sus necesidades energéticas y por consiguiente afectaría de cierto modo el crecimiento.

Nuestro estudio muestra que el índice de ARN/ADN puede ser utilizado para evaluar el crecimiento instantáneo o tasa de síntesis de ARN en poblaciones de tiburones que son aprovechadas comercialmente.

Agradecimientos

Agradecemos a los Srs. Armila y Juan por la recolección de las muestras de tiburones, al técnico Angel Antón por la ayuda prestada en el procesamiento de las muestras y a los revisores anónimos del artículo por sus oportunas observaciones para el mejoramiento del manuscrito.

Referencias

- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for quantification of protein utilizing principles of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248–254.
- Canino M, Calderone E. 1995. Modification and comparison of two fluorometric techniques for determining nucleic acid contents of fish larvae. *Fish. Bull.* 93: 158–165.
- Cervigón F, Alcalá A. 1999. Los Peces Marinos de Venezuela. Tiburones y Rayas. Vol. 5. Fundación Museo del Mar, Edo. Nueva Esparta, 230 pp.
- Compagno LJ. 1984. *FAO Species Catalogue*. Vol. 4 (parts 1 and 2). *Sharks of the World*. An annotated and illustrated catalogue of sharks species known to date. *FAO Fish. Synop.* (125): 655 pp.
- Conrath CL, Musick JA. 2002. Reproductive biology of the smooth dogfish, *Mustelus canis*, in the northwest Atlantic Ocean. *Environ. Biol. Fish.* 64: 367–377.
- Conrath CL, Gelsleichter J, Musick JA. 2002. Age and growth of the smooth dogfish (*Mustelus canis*) in the northwest Atlantic Ocean. *Fish. Bull.* 100: 674–682.
- Cortés E, Gruber SH. 1990. Diet, feeding habits and estimates of daily ration of young lemon shark, *Negaprion brevirostris* (Poey). *Copeia* 1: 204–218.
- Francis MP. 1981. Von Bertalanffy growth rates in species of *Mustelus* (Elasmobranchii: Triakidae). *Copeia* 1: 189–192.
- Gelsleichter J, Musick JA, Nichols S. 1999. Food habits of the smooth dogfish, *Mustelus canis*, dusky shark, *Carcharhinus obscurus*, Atlantic sharpnose shark, *Rhizoprionodon terraenovae*, and the sand tiger, *Carcharias taurus*, from the northwestern Atlantic Ocean. *Environ. Biol. Fish.* 54: 205–217.
- Graham CR, Bond C, Chacko VP, Lombardi J. 1995. NMR studies of glucose and alanine utilization and maternal-embryonic nutrient transfer in the smooth dogfish, *Mustelus canis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 111A: 199–207.
- Heemstra PC. 1997. A review of the smooth-hound sharks (genus *Mustelus*, family Triakidae) of the western Atlantic Ocean, with descriptions of two new species and a new subspecies. *Bull. Mar. Sci.* 60: 894–928.
- Imsland AK, Foss A, Sveinsbo B, Jonessen TM, Stefansson SO. 2001. Comparisons of RNA/DNA ratios, growth and metabolism in different populations of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* reared at four temperatures. *J. World Aquacult. Soc.* 32: 1–10.
- Jones CJP, Hamlett WC. 2004. Structure and glycosylation of the term yolk-sac placenta and uterine attachment site in the viviparous shark *Mustelus canis*. *Placenta* 25: 820–828.
- Lodeiros C, Fernández R, Bonmati A, Himmelman J, Chung KS. 1996. Relation of RNA/DNA ratios to growth for the scallop

- Eurola (Pecten) ziczac* (L.) in suspended culture. Mar. Biol. 129: 3–13.
- Medved RJ, Marshall JA. 1985. Feeding behavior and biology of young sandbar sharks, *Carcharhinus plumbeus* (Pisces, Carcharhinidae) in Chincoteague Bay, Virginia. Fish. Bull. 79: 441–448.
- Moss SA. 1972. Tooth replacement and body growth rates in the smooth dogfish, *Mustelus canis*. Copeia 4: 808–811.
- Officer RA, Day RW, Clement JG, Brown LP. 1997. Captive gummy sharks, *Mustelus antarcticus*, form hypermineralised bands in their vertebrae during winter. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 54: 2677–2683.
- Penedo AP, Davée JRG, Martins AS, Costa PAS, Olavo G, Valentin J. 2002. Total mercury in muscle tissue of five shark species from Brazilian offshore waters: Effects of feeding habit, sex and length. Environ. Res. (Section A) 89: 250–258.
- Peragón J, Barroso JB, García-Salguero L, Higuera M, Lupiáñez JA. 2000. Dietary alterations in protein, carbohydrates and fat increase liver protein-turnover rate and decrease overall growth rate in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Mol. Cell. Biochem. 209: 97–104.
- Rountree RA, Able KW. 1996. Seasonal abundance, growth, and foraging habits of juvenile smooth dogfish, *Mustelus canis*, in a New Jersey estuary. Fish. Bull. 94: 522–534.
- Segnini MIB, Chung KS. 1997. Influencia de los factores ambientales sobre el crecimiento instantáneo de peces tropicales evaluado por el seguimiento de la relación ARN/ADN. Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela 36: 21–29.
- Sokal R, Rohlf J. 1995. Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. WH Freeman, New York, 887 pp.
- Tavares R, Provenzano F. 2000. Alimentación de los juveniles del tiburón Macuira, *Carcharhinus limbatus* (Valenciennes 1839), en el Parque Nacional Archipiélago Los Roques, Venezuela. Acta Biol. Venez. 20: 59–67.
- Valente LMP, Gomes EFS, Fauconneau B. 1998. Biochemical growth characterization of fast and slow-growing rainbow trout strains: Effect of cell proliferation and size. Fish Physiol. Biochem. 18: 213–224.
- Vianna M, Arfelli CA, de Amorim AF. 2000. Feeding of *Mustelus canis* (Elasmobranchii, Triakidae) caught off the southeast coast of Brazil. Bol. Inst. Pesca São Paulo 26: 79–84.
- Walker TI, Taylor BL, Hudson RJ, Cottier JP. 1998. The phenomenon of apparent change of growth rate in gummy shark (*Mustelus antarcticus*) harvested off southern Australia. Fish. Res. 39: 139–163.
- Xiao Y, Walker TI. 2000. Demographic analysis of gummy shark (*Mustelus antarcticus*) and school shark (*Galeorhinus galeus*) off southern Australia by applying a generalized Lotka equation and its dual equation. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 57: 214–222.

Recibido en marzo de 2005;
aceptado en noviembre de 2005