

**IDENTIFICACION HISTOLOGICA DE LAS FASES GONADICAS
DEL OSTION EUROPEO (*Ostrea edulis*), INTRODUCIDO
EXPERIMENTALMENTE EN LA PORCION NOROCCIDENTAL
DE LA COSTA DE BAJA CALIFORNIA, MEXICO**

**HISTOLOGICAL IDENTIFICATION OF THE GONADAL PHASES
OF THE EUROPEAN OYSTER (*Ostrea edulis*),
INTRODUCED EXPERIMENTALLY INTO THE NORTHWESTERN
COAST OF BAJA CALIFORNIA, MEXICO**

Víctor Gendrop Funes
Raúl Andrade Jiménez

Instituto de Investigaciones Oceanológicas
Universidad Autónoma de Baja California
Apartado Postal 453
Ensenada, Baja California, México

Gendrop Funes, V. y Andrade Jiménez, R. Identificación histológica de las fases gonádicas del ostión europeo (*Ostrea edulis*) introducido experimentalmente en la porción noroccidental de la costa de Baja California, México. Histological identification of the gonadal phases of the european oyster (*Ostrea edulis*), introduced experimentally into the northwestern coast of Baja California, Mexico. Ciencias Marinas, 15(2): 41-54, 1989.

RESUMEN

Para conocer la duración de las fases gonádicas del ostión europeo (*Ostrea edulis*) en Bahía San Quintín, Baja California, se efectuó el seguimiento mensual de los cambios histológicos gonadales de una población de organismos cultivados para este fin, de febrero de 1984 a enero de 1985. Se determinó que la especie desarrolló todas sus fases gonádicas durante el período muestreado, y no se presentó la interrupción del ciclo durante invierno (enero-marzo) debido al período de hibernación que ha sido observado en otras regiones del mundo.

ABSTRACT

In order to study the length of the gonadal phases of the European oyster (*Ostrea edulis*) in Bahía San Quintín, Baja California, a population of organisms was cultured and the histological gonadal changes were monitored monthly, from February 1984 to January 1985. The species was found to develop all its gonadal phases during the period sampled and the interruption of the cycle during winter (January-March) due to the hibernation period that has been observed in other regions of the world did not occur.

INTRODUCCION

En Baja California se realizó en 1978 el primer cultivo piloto de ostión europeo (*Ostrea edulis*) en Bahía San Quintín, B.C. De los resultados obtenidos de la sobrevivencia y el crecimiento (Islas *et al.*, 1978), se generó

INTRODUCTION

The first pilot culture in Baja California of the European oyster (*Ostrea edulis*) was carried out in 1978 in Bahía San Quintín. From the survival and growth results obtained (Islas *et al.*, 1978), a program was initiated in

en 1982 un programa específico en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la UABC, el cual tuvo como meta, investigar la factibilidad técnica de la producción de semilla de *O. edulis* en condiciones de laboratorio. Dentro del programa fue necesario conocer los meses del año en que los organismos adultos cultivados experimentalmente en B.C., se encontrarían en sus fases gametogénica y de desove con el objeto de efectuar la captación de larvas en instalaciones de laboratorio y realizar experimentos de cultivo masivo de las mismas.

No existen antecedentes regionales sobre trabajos de carácter histológico de la especie, sin embargo, este organismo es uno de los moluscos más ampliamente estudiados y la información fundamental relacionada a la gametogenesis en otras regiones del mundo como Europa y la costa Norte del Atlántico de Estados Unidos está comprendida en los trabajos de Orton (1927, 1933) y Cole (1941), Korringa (1940, 1952, 1957), Loosanoff (1955, 1962), Loosanoff y Daves (1952), Loosanoff (1955, 1962), Millar (1962), Walne (1964), Mann (1979), Wilson y Simons (1985).

MATERIALES Y METODOS

Siembra y Muestreo

Para este trabajo se adquirieron 3000 semillas de ostión europeo de un laboratorio del área de San Francisco California en Estados Unidos de una talla de 28 ± 5 mm y una edad de 63 ± 10 días. Los organismos se introdujeron a la Bahía de San Quintín (Fig. 1), el 17 de agosto de 1983 y se mantuvieron en canastas ostioneras, para su crecimiento durante 18 meses, a una densidad promedio de 100 org/m².

Periódicamente las estructuras de cultivo y los organismos fueron limpiados del material biótico y abiótico adherido. De febrero a enero se extrajeron mensualmente diez organismos de la población para ser utilizados en la identificación histológica de las fases gonádicas.

Simultáneamente a los muestreos de organismos se efectuó la determinación de

1982 at the Instituto de Investigaciones Oceanológicas of the Universidad Autónoma de Baja California, for the purpose of studying the technical feasibility of producing seeds of *O. edulis* under laboratory conditions. As part of the program, it was necessary to know the months in which the adult organisms cultured experimentally in Baja California would be in their gametogenic and spawning phases in order to carry out the capturing of larvae in the laboratory and experiment on the massive culturing of these.

There are no records of previous histological studies of this species in the region. However, this organism is one of the most studied of all molluscs and the fundamental information regarding gametogenesis in other regions of the world like Europe and the northern Atlantic coast of the United States, can be found in the works of Orton (1927, 1933), Cole (1941), Korringa (1940, 1952, 1957), Loosanoff (1955, 1962), Loosanoff and Daves (1952), Millar (1962), Walne (1964), Mann (1979) and Wilson and Simons (1985).

MATERIALS AND METHODS

Sowing and Sampling

For this study, 3000 seeds of the European oyster, 28 ± 5 mm in size and 63 ± 10 days old, were acquired from a laboratory in the San Francisco area, California, USA. The organisms were introduced into Bahía San Quintín (Fig. 1) on 17 August, 1983, and were kept in oyster baskets for 18 months, at a mean density of 100 org/m².

The structures of the culture system and the organisms were cleaned periodically of adhered biotic and abiotic matter. From February to January, ten organisms were removed monthly from the population in order to be used in the histological identification of the gonadal phases.

Temperature and salinity were recorded simultaneously with the sampling of the organisms.

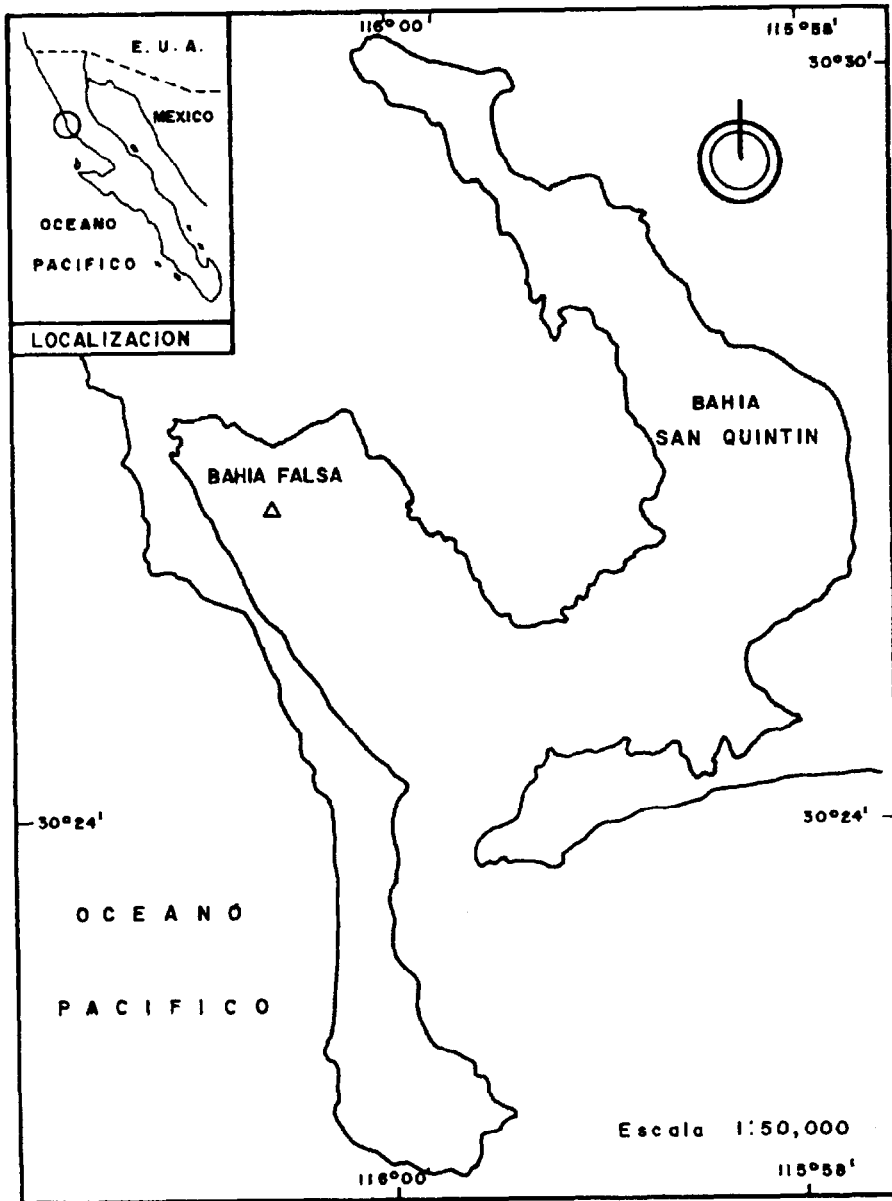


Figura 1. Area de cultivo (Δ) en Bahía San Quintín, B.C., México.
Figure 1. Culture area (Δ) in Bahía San Quintín, B.C., México.

temperatura y salinidad.

Preparación de Cortes Histológicos

En el laboratorio los organismos fueron sacrificados, su tejido gonadal fue cortado en secciones transversales de 4mm. de espesor y fijados en solución Bouin. Posteriormente se deshidrataron con alcohol isopropílico y se embebieron en parafina para cortarlos en secciones de 8 micras, las cuales se tiñeron con hematoxilina-eosina de Harris.

RESULTADOS

Histología

A través del análisis histológico de las muestras obtenidas fue posible identificar la presencia de cinco fases gonádicas del ciclo reproductivo del ostión europeo (Tabla I).

Se estableció que la fase indiferenciada ocurrió en los organismos en febrero y marzo y posteriormente a finales del año de noviembre a enero. La gónada en la fase se caracterizó por la presencia de folículos de pequeño tamaño, vacíos y rodeados de abundante tejido conectivo (Fig. 3).

La fase gametogénica también se presentó en febrero y en la mayoría de los organismos (90%). Su presencia continuó hasta julio en menores cantidades, hubo ausencia de individuos en gametogenesis durante el período de agosto a octubre, posteriormente se registró de nuevo en noviembre en sólo el 10% de la muestra, en diciembre y enero se incrementó a un 60% y 90%.

La principal característica de identificación en la gónada, fue la gran cantidad de células masculinas y femeninas en diferentes grados de desarrollo que ocupaban el interior de los folículos (Figs. 4, 5). No fue raro observar la presencia de ambos tipos de células en el mismo folículo o en otros contiguos (Fig. 6).

La fase de madurez se encontró por primera vez en marzo, de donde siguió hasta agosto, las mayores cantidades de organismos (>50%) se registraron en mayo, junio y julio.

Preparation of Histological Cuts

In the laboratory, the organisms were sacrificed. The gonadal tissue was cut into transverse sections, 4mm thick, and fixed in Bouin's solution. They were then dehydrated with isopropyl alcohol, embedded in paraffin and cut into 8 micron sections, which were stained with Harris's hematoxylin-eosin.

RESULTS

Histology

Through the histological analysis of the samples obtained, it was possible to identify the presence of five gonadal phases of the European oyster's reproductive cycle (Table I).

The indifferent phase was found to occur in the organisms in February and March and subsequently at the end of the year from November to January. The gonad in the phase was characterized by the presence of small empty follicles surrounded by abundant connective tissue (Fig. 3).

The gametogenic phase was also observed in February and in most of the organisms (90%). Its presence continued until July in smaller quantities. There was an absence of individuals in gametogenesis during the August to October period. It was recorded again in November in only 10% of the sample; in December and January it increased to 60% and 90%.

The main identification characteristic in the gonad was the large quantity of male and female cells in different stages of development inside the follicles (Figs. 4, 5). The presence of both types of cells in the same and adjacent follicles was often observed (Fig. 6).

The mature phase was observed for the first time in March and continued until August. The highest quantities of organisms (>50%) were recorded in May, June and July. During this phase the gonad was a compact mass and most of the follicles were swollen and full of well-developed gametes (Figs. 7, 8).

Tabla I. Número de ostiones en las diferentes fases de desarrollo gonadal encontrados en cada muestreo durante 11 meses en 1984.**Table I.** Number of oysters in the different phases of gonadal development found in each sampling during 11 months in 1984.

Año Meses	1984											
	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E
Fase I	1	4								2	4	1
Fase II	9	3	8	3	2	1				1	6	9
Fase III		3	2	6	6	7	2					
Fase IV				1	2	2	4					
Fase V							4	10	5	2		

La gónada durante esta fase era una masa compacta con la mayoría de los folículos distendidos y llenos de gametas bien desarrolladas (Figs. 7, 8).

La fase de desove ocurrió en el período de mayo a agosto con el máximo de organismos encontrados (40%) en este último mes. En esta fase en la gónada los folículos se encontraban rotos y confundidos entre sí (Fig. 9). En algunos casos de organismos parcialmente desovados se observó una combinación de folículos llenos con gametas y otros vacíos (Fig. 10).

La fase de postdesove se registró en agosto por primera ocasión y en un 40% de los individuos examinados, en septiembre se presentó el máximo (100%) y se prolongó hasta noviembre. En la gónada los folículos eran pequeños, contenían gran número de fagocitos y células sexuales no liberadas en proceso de reabsorción (Fig. 11).

Temperatura y Salinidad

La temperatura del agua en la zona de cultivo a mediados de febrero fue de 16°C y en los muestreos posteriores se registraron incrementos hasta llegar a un máximo de 25.5°C a mediados de julio. De agosto comenzó a descender gradualmente hasta llegar a 18°C en enero (Fig. 12).

The spawning phase occurred from May to August with the maximum of organisms found (40%) during the latter month. During this phase, the follicles in the gonad were broken and mixed up (Fig. 9). In some partially spawned organisms, a combination of follicles, some full of gametes and others empty, was observed (Fig. 10).

The post-spawning phase was recorded for the first time in August and in 40% of the examined individuals. The maximum (100%) was present in September and continued until November. In the gonad the follicles were small and contained a large number of phagocytes and undischarged sexual cells in the process of reabsorption (Fig. 11).

Temperature and Salinity

The water temperature in the culture area in mid-February was 16°C. Increases were recorded in subsequent samplings until reaching a maximum of 25.5°C in the middle of July. In August it began to descend gradually until reaching 18°C in January (Fig. 12)

No big changes in salinity were found during the sampling period. A value of 34⁰/₀₀ was recorded in February which increased slightly towards August (35⁰/₀₀), but in general the oscillations did not exceed 1⁰/₀₀ throughout the year.

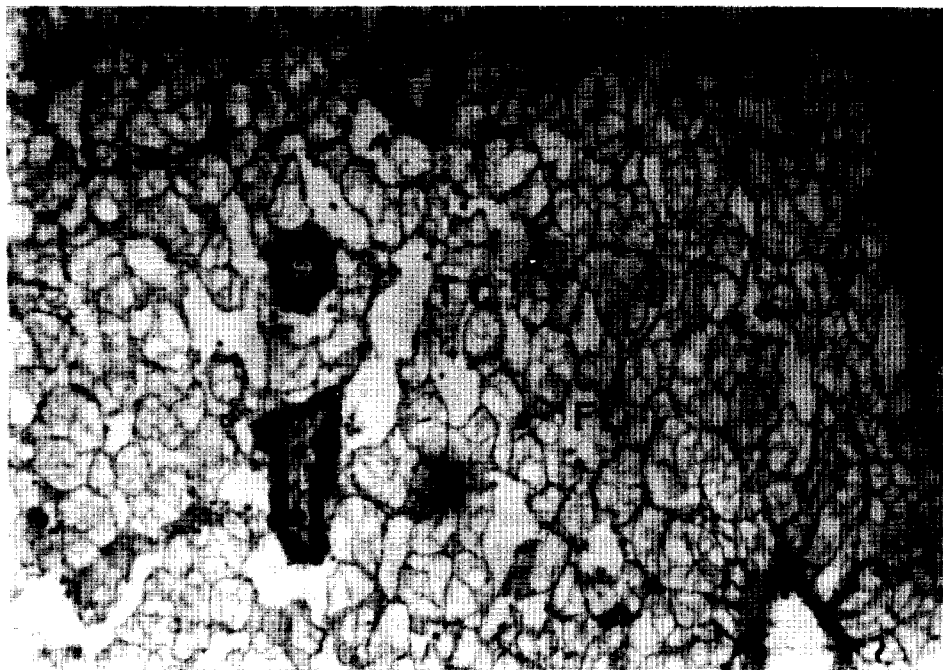


Figura 3. Gónada de ostión en fase indiferenciada con gran cantidad de folículos vacíos (FL) rodeados de tejido conectivo (TC). X128.

Figure 3. Indifferent phase of the oyster gonad with a large quantity of empty follicles (FL) surrounded by connective tissue (TC). X128.

La salinidad no presentó grandes cambios durante el período de observación. En febrero se registró un valor de 34⁰/₀₀ el cual se incrementó ligeramente hacia agosto (35⁰/₀₀) pero en general las oscilaciones a lo largo del año no excedieron 1⁰/₀₀.

DISCUSSION

La gametogénesis de *Ostrea edulis* se presentó como un proceso continuo en Bahía San Quintín, el desarrollo gónadico continuo en este organismo es poco usual, Orton (1933) estableció que en las costas de Inglaterra el organismo comienza un rápido desarrollo gonadal a principios de primavera después de haber pasado por un período de hibernación en los meses de diciembre a febrero. De igual manera Loosanoff (1962) al determinar los cambios gonadales de la misma especie en el área de Maine Estados Unidos de Norteamé-

DISCUSSION

Ostrea edulis underwent gametogenesis in a continuous manner in Bahía San Quintín. Continuous gonadal development in this organism is unusual. Orton (1933) established that in English coasts the organisms begin rapid gonadal development in early spring after having gone through a period of hibernation from December to February. Likewise, Loosanoff (1962) on determining the gonadal changes of the same species in Maine, USA, noticed that the organisms went through a period of gonadal inactivity during the winter months and that gametogenesis did not begin until April or May of each year when the water temperature rose to 10°C. In the Adriatic Sea, *O. edulis* also begins its gametogenic activity in early spring and usually spawns in April after a winter period of inactivity (Korringa, 1957). This interruption of the cycle in winter is common in other molluscs

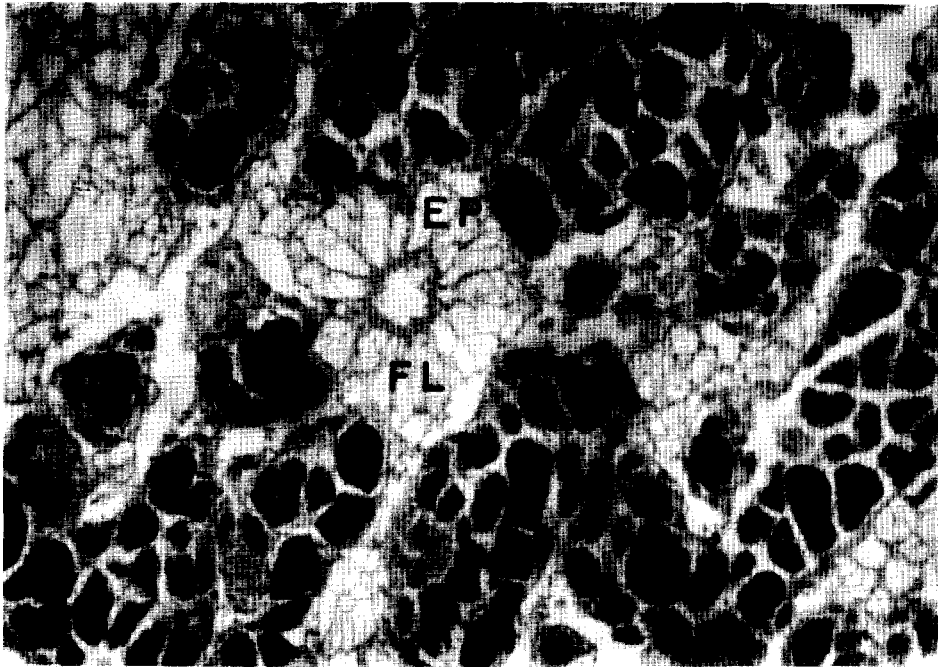


Figura 4. Gónada en fase gametogénica con presencia de grupos de espermatidas (EP), y folículos vacíos (FL). X128.

Figure 4. Gonad in gametogenic phase with the presence of spermatids (EP) and empty follicles (FL). X128.

rica, notó que los organismos pasaron por un período de inactividad gonádica durante los meses invernales y la gametogénesis no se inició hasta abril o mayo de cada año cuando la temperatura del agua ascendía hasta los 10°C. En el Mar Adriático también *O. edulis* comienza su actividad gametogénica a principios de primavera y usualmente desova en abril después de un período invernal de inactividad (Korringa, 1957). Esta interrupción del ciclo en época de invierno es común en otros moluscos como *C. virginica* y *M. mercenaria* los cuales presentan un período de inactividad durante invierno en el área de Long Island Sound en Estados Unidos de Norteamérica y exhiben un rápido desarrollo gonadal en mayo y junio cuando la temperatura de medio asciende de 10°C a 12°C (Loosanoff, 1962).

En general, en todas las áreas nórdicas, durante la época invernal ocurre la presencia de una temperatura crítica que provoca en las

like *C. virginica* and *M. mercenaria*, which present a period of dormancy during winter in the Long Island Sound area, USA, and show rapid gonadal development in May and June when the medium temperature rises from 10°C to 12°C (Loosanoff, 1962).

In general, in all northern areas a critical temperature occurs in winter which provokes a decrease in the velocity of gonadal development in bivalve species, remaining for the most part inactive until the middle of spring when the temperature begins to rise.

In the case of the group of organisms introduced into Bahía San Quintín, no interruption was observed in the development of the gonadal cycle. This could be due to the fact that the temperature range for the growth of the species is 15-22°C and no values lower than 16°C were detected in the area, mainly due to the effect of the El Niño phenomenon during the culture period.



Figura 5. Gónada en fase gametogénica avanzada, con grupos de ootidas (OT) organizados en el interior de los folículos. X128.

Figure 5. Gonad in advanced gametogenic phase, with groups of ootids (OT) organized inside the follicles. X128.



Figura 6. Gónada en fase gametogénica con la presencia de espermatidas (EP) y ootidas (OT) en los folículos. X128.

Figure 6. Gonad in gametogenic phase with spermatids (EP) and ootids (OT) present in the follicles. X128.

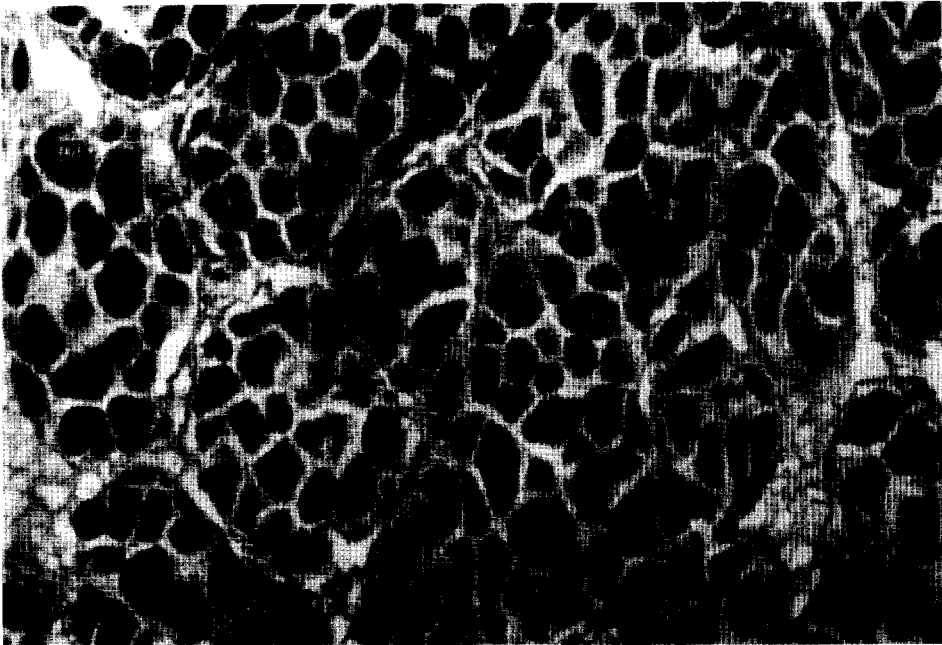


Figura 7. Gónada en fase de madurez con espermias (ES) ocupando la totalidad de los folículos. X128.

Figure 7. Gonad in mature phase with sperms (ES) occupying the whole of the follicles. X128.

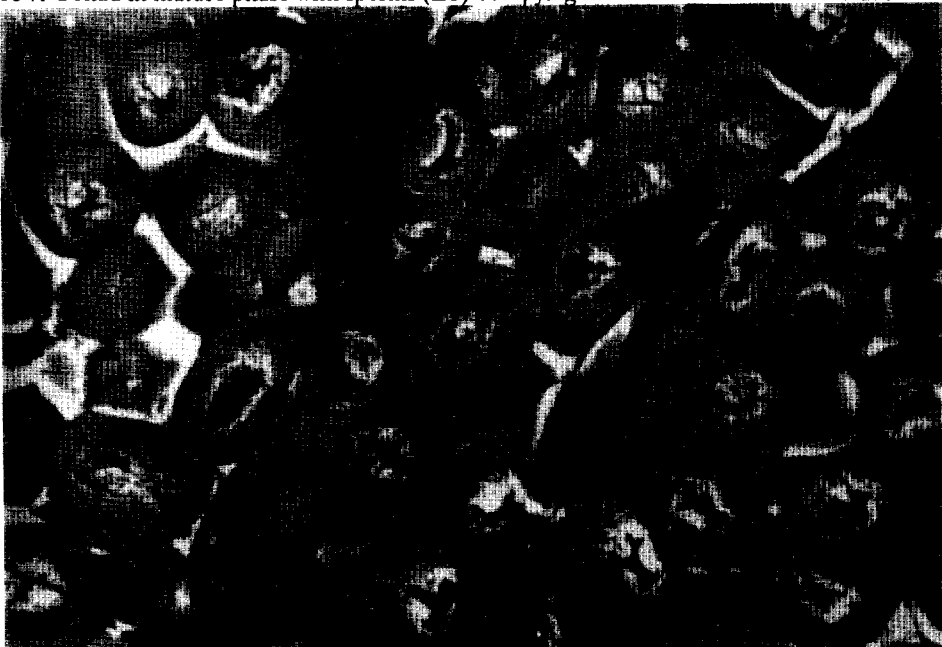


Figura 8. Gónada en fase de madurez con óvulos (OV) maduros. X170.

Figure 8. Gonad in mature phase with mature ovules (OV). X170.

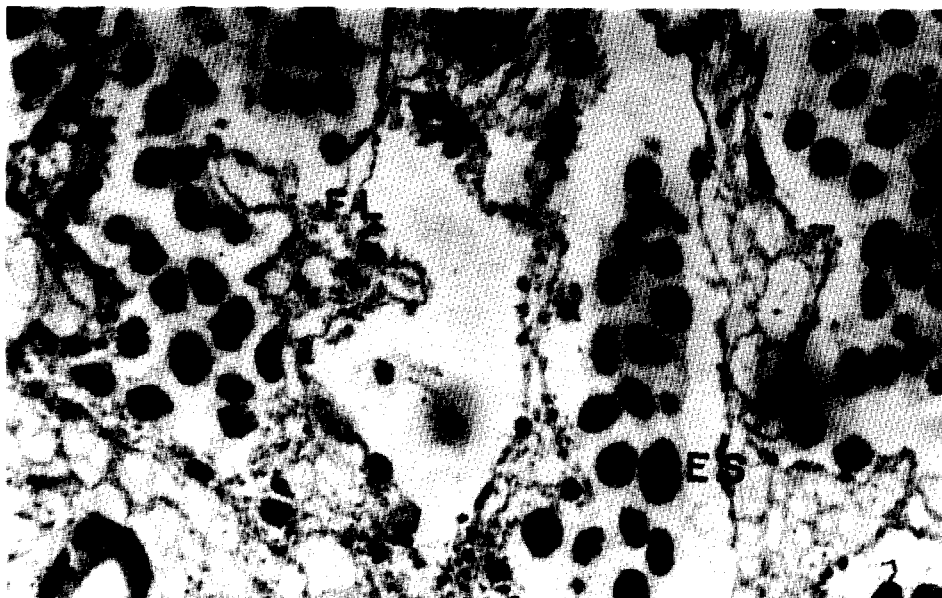


Figura 9. Gónada de organismo parcialmente desovado, con presencia de grupos de esperma (ES) y folículos vacíos y rotos (FL). X128.

Figure 9. Gonad of a partially spawned organism, with the presence of sperm groups (ES) and empty and broken follicles (FL). X128.

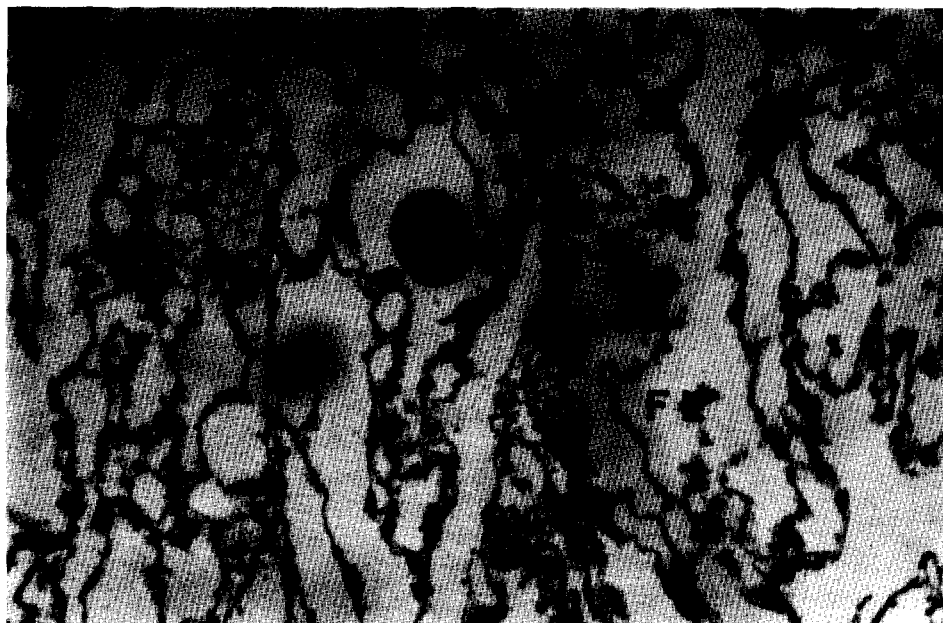


Figura 10. Gónada de organismo hembra desovada donde la mayoría de los folículos se encuentran rotos (FL) y aún se aprecia un óvulo (OV). X170.

Figure 10. Gonad of a spawned female organism in which most of the follicles are broken (FL) and an ovule is still observed (OV). X170.



Figura 11. Gónada en fase de postdesove con la presencia de fagocitos (FG) y espermias no descargadas (ES). X340.

Figure 11. Gonad in post-spawning phase with the presence of phagocytes (FG) and undischarged sperms (ES). X340.

especies de bivalvos una disminución de la velocidad desarrollo gónadico, llegando en gran medida a quedar inactivos hasta mediados de primavera cuando se reinicia el ascenso de la temperatura.

En el caso del grupo de organismos introducidos a Bahía San Quintín no presentaron la interrupción del desarrollo del ciclo gónadico, lo cual podría ser atribuido a que el intervalo de temperaturas para crecimiento de la especie es de 15-22°C y en el área no se registraron valores por debajo de los 16°C debido principalmente a la influencia del fenómeno de El Niño en la zona durante el período de cultivo.

De ahí que la ausencia de una temperatura crítica sea evidente y por ende los organismos llevaron un desarrollo gónadico continuo durante once meses; parece ser que la influencia de esta condición del medio provocó

The absence of a critical temperature is evident and therefore, the organisms underwent continuous gonadal development during 11 months. It seems that the influence of this environmental condition provoked a slight extension of approximately one month in the gametogenesis and spawning periods, if the periods of maximum duration recorded in other regions such as the coast of Northern Ireland and the Atlantic coast of the United States are taken as reference (Table II).

Salinity as an influence factor in the development of the cycle does not seem to have had a negative effect on the population, since the oscillations recorded were not more than 10/00 and the organism is capable of inhabiting areas where fluctuations exist which oscillate between 270/00 and 350/00. Considering the behaviour found in the organisms, it could be expected that during the years of normal conditions in the area of Ba-

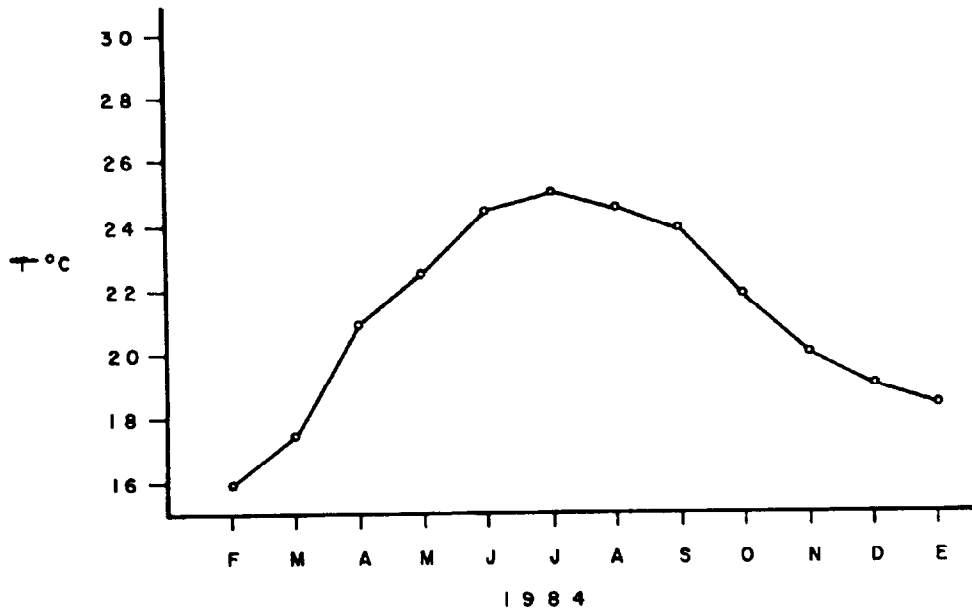


Figura 12. Temperatura promedio mensual registrada durante 1984 en Bahía San Quintín.

Figure 12 Monthly mean temperature recorded during 1984 in Bahía San Quintín.

una ligera ampliación de aproximadamente un mes en los períodos de gametógenesis y desoves, si se consideran como referencia los períodos de duraciones máximas registradas en otras regiones como la costa de Irlanda del Norte y la del Atlántico de Estados Unidos de Norteamérica (Tabla II).

La salinidad como factor de influencia en el desarrollo del ciclo no parece haber tenido un efecto negativo en la población, ya que las oscilaciones registradas fueron de no más de 10/00 y el organismo es capaz de habitar áreas con fluctuaciones más amplias que oscilan entre 270/00 y 350/00, considerando el comportamiento encontrado en los organismos podría esperarse que durante los años de condiciones normales en el área de Bahía San Quintín en que las temperaturas son relativamente más bajas (120-220C intervalo anual; Chávez y Alvarez-Borrego, 1974; Alvarez-Borrego *et al.*, 1975) que las observadas durante este período, el proceso del ciclo gonádico del organismo no será interrumpido en los meses de invierno.

hía San Quintín, in which the temperatures (120-220C annual range) are relatively lower than the ones observed during this period (Chávez and Alvarez-Borrego, 1974; Alvarez-Borrego *et al.*, 1975), the process of the gonadal cycle of the organism will not be interrupted during the winter months.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was carried out at the Instituto de Investigaciones Oceanológicas de the Universidad Autónoma de Baja California, under project No. 84-01-0170 of the Secretaría de Educación Pública whom we thank for financial support.

English translation by Christine Harris.

Tabla II. Períodos de desarrollo gonadal del ostión europeo (*Ostrea edulis* L.) en diferentes áreas geográficas.
Table II. Periods of gonadal development of the European oyster (*Ostrea edulis* L.) in different geographical areas.

Localidad	Fase (I)	Fase (II)	Fase (III)	Fase (IV)	Fase (V)	Inactivo	Autor
Bahía San Quintín Baja California (México)	Nov. - Mar.	Ene. - Mayo (16.0-22.0)	Mar. - Jul. (17.0-24.0)	Abril - Ago. (21.0-25.0)	Ago. - Nov. (24.0-20.0)	Ausente	Este trabajo (1984-1985)
Bahía Tomales California (Estados Unidos)	Oct. - Dic. (16.0-9.2)	Nov. - Abr. (10.0-15.1)	Abr. - Jul. (14.0-20.0)	Jun. - Sep. (19.0-20.0)	Sep. (20.0)	Ausente	Leonard (1969)
Boothday Harbor Maine (Estados Unidos)	--	Abr. - Mayo (10.0-12.0)	Jun. - Jul. (15.5-18.3)	Jul. - Ago. (18.3-18.8)	Sep. - Dic. (16.6-3.8)	Invierno	Loosanoff (1962)
Loch-Ryan (Escocia)	--	Mar. - Mayo (* - 10.0)	Mayo - Jul. (10.0-16.5)	Jun. - Ago. (17.0-15.0)	Sep. - Dic. (12.5- *)	Invierno	Millar (1962)
Ballinakill (Costa Oeste de Irlanda del N.)	--	Abr. - Jun. (9.9-13.7)	Jun. - Ago. (13.7-15.3)	Jul. - Sep. (13.7-12.3)	Sep. - Dic. (12.3-8.0)	Invierno	Wilson y Simons (1985)

* Temperaturas no reportadas

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue efectuado en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California bajo el Convenio No. 84-01-0170 con la Secretaría de Educación Pública, a los cuales se agradece el apoyo económico otorgado para su realización.

LITERATURA CITADA

- Alvarez-Borrego, A., Ballesteros-Grijalva, G. y Chee Barragán, A. (1975). Estudio de algunas variables fisicoquímicas superficiales en Bahía San Quintín en verano, otoño e invierno. *Ciencias Marinas*, 2(1):1-9.
- Cole, H.A. (1941). The Fecundity of (*Ostrea edulis*). *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 25: 243-260.
- Chávez de Nishikawa, A.G. y Alvarez-Borrego, S. (1974). Hidrología de la Bahía de San Quintín, Baja California, en invierno y primavera. *Ciencias Marinas*, 1(2):31-62.
- Islas Olivares, R., Miranda Aguilar, M. y Gendrop Funes, V. (1978). Crecimiento y sobrevivencia del ostión europeo (*Ostrea edulis*) en aguas de Baja California, *Ciencias Marinas*, Vol. 5(1):137-148pp.
- Korringa, P. (1940). Experiments and observation on swarming, pelagic life and setting of the european flat oyster, (*Ostrea edulis*) *Arch. Neerl. Zool. T. V.*, 14: 1-29.
- Korringa, P. (1952). Recent advances in Oyster Biology. *Quart Rev. Biol.* 27: 266-308; 339-365.
- Korringa, P. (1957). Water temperature and breeding throughout the geographical range of (*Ostrea edulis*). *Ann. Biol.*, 33(1-2): 1-17.
- Leonard, V.K. (1969). Seasonal gonadal changes in two bivalve mollusks in Tomales Bay, California. *Veliger*, 11:382-393.
- Loosanoff, V.L. and Daves, H.C. (1952). Repeat semianual spawning of northern oyster. *Science*, 115: 675-676.
- Loosanoff, V.L. (1955). The European oyster in American Waters. *Science*, 121: 119-121.
- Loosanoff, V.L. (1962) Gametogenesis and spawning of the European oyster, (*Ostrea edulis*), in waters of marine. *Biol. Bull.*, 122: 86-94.
- Mann, R. (1979). Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in (*Crassostrea gigas*) and (*Ostrea edulis*) grow at sustained elevated temperatures. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 59: 95-110.
- Millar, R.H. (1962). Breeding on gonadal cycle of oyster in Loch Ryan, Scotland. *J. Cons. Int. Explor. Mar.*, 28: 432-439.
- Orton, J.H. (1927). A note on the physiology of sex and sex determination. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 14: 1047-1055.
- Orton, J.H. (1933). Observation and experiments on sex change in the European oyster (*O. edulis*). Part III. on the fate of unspawned ova. Part IV). on the Change from male to female. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 19: 1-53.
- Walne, P.R. (1964). Observations on the fertility of the oyster (*Ostrea edulis*) *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 44: 293-310.
- Wilson, J.H. y Simons, J. (1985). Gametogenesis and breeding of (*Ostrea edulis*) on the West Coast of Ireland. *Aquaculture*, 46: 307-321.