

00381

8
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTUDIO CROMOSOMICO Y ELECTROFORETICO
DE ESPECIES DEL GENERO
Pomacea (GASTROPODA-PILIDAE)
PROCEDENTES DEL SURESTE DE MEXICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P R E S E N T A :

MARIA ESTHER, DIUPOTEX CHONG

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE MIGUEL BETANCOURT RULE

MEXICO, D. F.

268242

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

El género *Pomacea* es muy importante por diferentes razones entre ellas la de ser un organismo apropiado como modelo para investigación genética y experimentos en reproducción; los individuos tienen un tiempo de vida relativamente corto, producen un alto número de huevos, tiene una tasa de sobrevivencia arriba del 50% y una fácil crianza y explotación, por esto, es necesaria la evaluación del estado del recurso mostrando el origen y diversidad de clonas, con el fin de poder desarrollar programas de cultivo y aprovechamiento óptimo.

En el presente trabajo se realizaron comparaciones cariotípicas y electroforéticas para caracterizar a los organismos del género *Pomacea*, distribuidos a lo largo del Sureste de México y de esta manera determinar su diversidad específica.

El polimorfismo registrado en individuos procedentes de las diferentes regiones, no mostró diferencias significativas en lo referente a estudios citogenéticos; entre organismos procedentes de la Laguna de Catemaco en el Estado de Veracruz, donde esta especie está identificada como *Pomacea patula catemacensis*, el resto de los ejemplares colectados en diversas regiones del Sureste de México, corresponden a la especie *Pomacea flagellata*; en ambas especies bajo un análisis discriminante, los cariotipos fueron similares morfológicamente, $2n=26$ y $n=13$, con una fórmula cromosómica de $9m+4Sm$, no se detectó diferenciación de un cromosoma sexual.

En cuanto a los estudios electroforéticos, presentó una marcada similitud entre los organismos colectados en las diferentes regiones del sureste mexicano y los de la Laguna de Catemaco, sin embargo, hay variaciones en cuanto a magnitud en el patrón de bandas y una banda diferencial en las muestras de Catemaco tanto en los corrimientos de punto isoeléctrico como de peso molecular. Esta banda sólo se detectó en los organismos provenientes de la Laguna de Catemaco, de esta manera, la técnica utilizada resultó determinante por un lado en la diferenciación de las variaciones en las poblaciones analizadas y por otro en la determinación de la fuente y diversidad de clonas.

SUMMARY

The genus *Pomacea* is very important for different reasons among which, the fact that it is an organism appropriate as a model for genetic investigation and reproduction experiments; the individuals have a short life span, produce a large number of eggs, have a survival rare above 50% and have easy breeding and exploitation for these reasons, an evaluation showing the origin and diversity of clones is necessary with the objective of developing cultivation programmes and how to take advantage of them.

In this work, karyotypic and electrophoretic comparisons were made to characterize the organisms of the genus *Pomacea*, distributed along the Southeast of México and this way determine its specific diversity the polymorphism registred in individuals originating in different regions did not reveal significant differences, at least with reference to cytogenetic studies; between organisms originating in Lake Catemaco in the State of Veracruz, where this species is identified as *Pomacea patula catemacensis*, the rest of the samples collected in different regions of Southeast of México correspond to the species *Pomacea flagellata*: in both species, the karyotypes were morphologically similar, $2n=26$ and $n=13$, with a chromosomic formula of $9m\ 4Sm$, no differentiation of sex chromosome was detected under close analysis, populations are distinguished.

As to the electrophoretic studies, a marked similarity was presented between the organisms collected in the different regions of Southeast of Mexico and those of the Lake Catemaco, however there are variations in the band pattern magnitude and a differential band in the Catemaco samples, both in the isoelectric and molecular weigh. This band was only detected in the organisms from Lake Catemaco, in this way, the technique used resulted determining on the one hand in the differentiation of the variations in the analyzed populations, and on the other in determining the source and diversity of clonas.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
AGRADECIMIENTOS.....	7
1.0 INTRODUCCION.....	9
1.1 CITOGENÉTICA.....	9
1.2 ELECTROFORÉISIS.....	11
1.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL CARACOL <i>POMACEA SP</i> (PERRY, 1810).....	11
1.4 GENERALIDADES DE LA CLASE GASTROPODA.....	12
1.4.1 Evolución de la clase gastropoda.....	15
1.4.2 Familia Ampullariidae.....	15
1.4.3 Descripción del género <i>Pomacea</i>	16
1.5 ANTECEDENTES.....	18
2.0 OBJETIVO GENERAL.....	23
2.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	23
3.0 MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO.....	24
3.1.1. Zonas de colecta.....	24
3.1.2. Mantenimiento de los organismos.....	24
3.2 TÉCNICAS CITOGENÉTICAS.....	24
3.2.1 Obtención de cromosomas.....	24
3.2.2. Identificación de cariotipos.....	30
3.3 MÉTODOS ELECTROFORÉTICOS.....	31
3.3.1. Preparación de muestras.....	31
3.3.2. Cuantificación de proteína.....	31
3.3.3. Punto isoelectrico.....	32
3.3.4. Peso molecular.....	32
4.0 RESULTADOS.....	33
4.1. ESTUDIOS CITOGENÉTICOS.....	33
4.2 ESTUDIOS ELECTROFORÉTICOS.....	61
4.2.1. Punto isoelectrico.....	61
4.2.2. Peso molecular.....	67
5.0 DISCUSIÓN.....	73
5.1 ESTUDIO CITOLOGICO.....	73
5.2 ESTUDIOS ELECTROFORÉTICOS.....	78
5.2.1. Punto isoelectrico.....	78
5.2.2. Peso molecular.....	79
6.0 CONCLUSIONES.....	79
7.0 REFERENCIAS.....	81
INDICE DE FIGURAS.....	90
INDICE DE TABLAS.....	92

“Un nuevo mundo está por llegar”

S. Pack

A la Memoria de mi Madre
Quien me fomentó el espíritu de superación

A mi Padre
Con admiración y respeto
Por su compañía en todo momento

A mis Hermanos
Por su confianza

A Omar.
Por toda la Felicidad que me ha dado y
lo que me ha enseñado

A Juan
Que me brinda cariño y
apoyo inquebrantable

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero reconocimiento al Dr. José Miguel Betancourt Rule, por la dirección del presente trabajo, por trasmitirme sus enseñanzas, experiencias, amistad y estímulo inagotable, a lo largo del desarrollo de todo el trabajo.

A los Doctores Manuel Uribe Alcocer, Ignacio Méndez Ramírez, Mario A. Altamirano, Roberto Arreguín Espinosa, Alda Rocío Ortiz Muñiz y Patricia Ramos Morales, Por sus valiosas sugerencias en la lectura crítica del manuscrito, acertadas orientaciones y en especial, por aceptar formar parte del Jurado Calificador.

A SEDESOL T.R.O.N.J.A.G. programa Nacional de Jornaleros Veracruz, por proporcionar gran parte del material biológico objeto de estudio.

Al Dr. Antonio Peña Diaz, por proporcionar el material electroforético.

A el Dr. Enrique Lozano, al M. en C. Francisco Vera Herrera, al Dr. Salomón Paramo Delgadillo y al T.P. Andres Reda Deara por su apoyo dentro de las colectas de material biológico.

A la Dra. Alejandra Hernández Sontoyo, por su acertada y valiosa asesoría incondicional durante el desarrollo de las técnicas bioquímicas electroforéticas.

A la M. en C. Zoila G. Castillo Rodriguez. Por su ayuda y asistencia en la taxonomía de los organismos en estudio.

A la Biól. Teresa Olivera Carrasco, por proporcionar parte de la literatura base en la sistemática del género en estudio.

A los Doctores Maria Villarroel Melo y Roberto Pérez Rodríguez, por sus valiosas sugerencias al manuscrito, dentro del área de la Malacología.

Al Dr. Jorge Carranza Fraser, tanto por su amistad como por las facilidades brindadas en el laboratorio de Limnología.

A los Doctores Barbarin Arreguín Roberto Arreguín, por las facilidades prestadas en las instalaciones del Laboratorio de Bioquímica del Instituto de Química de la UNAM.

Al Dr. Ignacio Méndez Ramírez, por su valiosa orientación en la interpretación y apoyo estadístico, en los estudios citogenéticos del presente estudio.

.Al Dr. Noor Brabakzai, por sus atenciones y enseñanzas en técnicas citogenéticas especializadas, durante mi estancia en la Central Missouri State University

Al Dr. Agustín Ayala Castañares, por las facilidades prestadas en el apoyo del equipo de microscopía óptica.

Al Arq. Mario A. Diupotex Chong, por su apoyo y paciencia en la captura de datos.

A Sofía, por su amistad.

A mis colegas, compañeros y amigos del Laboratorio de Limnología.

A todas aquellas personas que de alguna manera participaron en la realización del presente estudio.

1.0 INTRODUCCION

1.1 Citogenética.

Unidad y diversidad son los dos aspectos básicos que caracterizan a las formas vivientes, aunque estos términos parecen antagónicos, en realidad se concilian a través del concepto de evolución. Las formas vivientes poseen la propiedad fundamental de la autoreplicación, conservando características estructurales y funcionales entre las generaciones. Los seres vivos suelen tener ciertos niveles de cambios conocidos como mutaciones, los cuales frecuentemente son transmitidos a sus descendientes, de tal manera que las formas ancestrales sobreviven y/o desaparecen, derivando una variabilidad genética entre especies (Dobzansky, 1966).

La evolución refleja la constancia y la variabilidad de las formas vivientes y comprende el estudio y las causas que intervienen en la variación, así como los aspectos genéticos de los fenómenos evolutivos (Ayala, 1974). Esta gran generalización biológica fue claramente postulada en 1858 por Charles Robert Darwin y por Alfred Roussel Wallace, para explicar la variación biológica originada en las formas ancestrales. Sin embargo, el mecanismo de la evolución y las causas del proceso, sólo fueron parcialmente entendidos.

La estabilidad de las formas en la descendencia y su variabilidad, aunque aparentemente contradictorios, son constantes y van de acuerdo con las predicciones de la naturaleza estadística, la cual tiende a conservar a las especies relativamente estables, considerando que la mutación es la base de la variabilidad hereditaria que explica la evolución por selección natural (Ocampo, 1978).

El punto de convergencia de la citogenética, genética molecular (Tomkins *et al*, 1997) y genética de poblaciones, incide en los conocimientos acumulados como evidencia de la evolución biológica, así como los derivados de la investigación entre el ambiente y las estructuras químicas que determinan los cambios hereditarios impresos en la evolución filética, donde deben examinarse las alteraciones y cambios de las estructuras moleculares, para precisar el significado de lo que puede entenderse como factores internos de la evolución (Dobzhansky *et al*, 1983).

La naturaleza del proceso evolutivo, se puede comenzar como una discusión de la citología animal en el problema del mecanismo y proceso de la evolución, este tipo de estudios presenta ciertas ventajas. Los parámetros por analizar, deben ser los ciclos celulares, tomando en cuenta la arquitectura de los cromosomas, tales como forma, tamaño y estructura. Los cambios cromosómicos a nivel estructural y en número, generan modificaciones en morfología y complemento diploide de manera intercromosómica o intracromosómica. Entre los cambios más importantes se encuentran los fenómenos robertsonianos de fusión y fisión céntrica y las traslocaciones recíprocas estructurales.

Entre los principales cambios cromosómicos se encuentran:
INVERSIONES. Las inversiones paracéntricas han sido consideradas como las más frecuentes de las aberraciones encontradas en poblaciones naturales, mientras que las inversiones pericéntricas fueron tomadas en cuenta como poco frecuentes, hasta que comenzaron los estudios citogenéticos comparativos utilizando técnicas de bandedo cromosómico para su identificación. Este tipo de cambios presentan hasta cierto punto una

ventaja selectiva, en especial en el estado heterocigótico. Los valores más altos de heterocigosis han sido encontrados en organismos que se hallan en ambientes con una persistencia extraordinaria de sus poblaciones que no sufren reducciones frecuentes. Rupturas a nivel centromérico influyen en la formación de isocromosomas originando inversiones del tipo paracéntricas o pericéntricas (Jackson, 1971). Debe tenerse en cuenta que los cambios en el número cromosómico por genoma cuando este es euploide, incluye fenómenos del tipo monoploides, diploides, poliploides, aneuploides, etc. (Riley, 1977).

DEFICIENCIAS. Juegan un papel secundario como mecanismo evolutivo.

DUPLICACIONES. Una vez establecida la duplicación, la ocurrencia de mutaciones puntuales puede alterar la información genética en algunos de estos segmentos duplicados en una etapa posterior, sin que esto signifique la pérdida de parte de la información original del individuo. En los alopoliploides también hay la posibilidad de originarse nuevas funciones a partir de genes que se encuentran duplicados debido al aumento en el número de cromosomas homólogos (Ohno, 1970 y Hogge *et al*, 1996).

TRANSLOCACIONES. Son reordenamientos por intercambio de segmentos de cromosomas entre cromosomas no homólogos (Sáez y Cardoso, 1978). Tienen un papel preponderante en los procesos de especiación (de acuerdo a los procesos robertsonianos, como un tipo particular de transferencia) y junto con las inversiones pericéntricas son los recursos fundamentales en la evolución (Baker y Ohno, 1967).

Las translocaciones han sido interpretadas como un proceso evolutivo producto del cruzamiento entre el normal y el heterocigoto, dando origen a individuos normales. Individuos heterocigotos e individuos con trisomías son tan complejos que muchos de sus cambios evolutivos se encuentran a una escala molecular. Así, el análisis electroforético puede describir con facilidad el comportamiento de los organismos a nivel de poblaciones y puede tomar datos directos e indirectos, rastreando los comportamientos poblacionales, logrando predicciones evolutivas (Dobzansky, 1966). Actualmente puede decirse que todas las transformaciones evolutivas han tenido su origen en los cromosomas, siendo estos cuerpos los que constituyen la base física de la herencia, conteniendo el material para el proceso de la evolución (Thiriot, 1994).

Las mutaciones génicas son cambios en el cromosoma, en ocasiones son casi imperceptibles y por ende difícilmente detectables (Ohno, 1970), ya que existen mecanismos de reparación, pero que influyen sobre la selección natural en forma directamente proporcional a la adaptación de las especies; esto representa un factor importante en la evolución y en el desarrollo de nuevas formas biológicas (Sinnot, *et al*, 1961).

1.2 Electroforésis.

Técnicas electroforéticas como métodos de medición en la variación genética, han sido utilizados desde hace 32 años, (Harris, 1966; Hubby y Lewontin, 1966 y Johnson *et al.*, 1966). Esta línea de investigación ha sido aplicada ampliamente en estudios a todos los niveles de la escala biológica, estableciendo en muchos casos la variación genética existente entre las especies de poblaciones naturales (Lewontin, 1966); sin embargo, no todos los tipos de organismos presentan variantes en igual magnitud, la proporción de polimórficos en heterocigosis para vertebrados es de 10 a 20%, mientras que para los invertebrados es del 25 al 50% (Selander y Kaufman, 1973., Van der Zee *et al.*, 1997). Esta diferencia representa una estrategia adaptativa. En los organismos más grandes y móviles el ambiente es menos incierto, y presentan una variabilidad más baja de adaptación, lo cual no ocurre con los invertebrados.

Otra forma de emplear las técnicas electroforéticas sin recurrir a identificación de enzimas, consiste en realizar análisis de proteínas totales y estudiar las diferencias en el patrón de bandeo, tanto en el número de bandas como en la intensidad de las mismas Yamaura *et al.*, (1997). Smith (1988), menciona esta técnica como apropiada para poder detectar diferencias taxonómicas a nivel de especie.

1.3 Clasificación taxonómica del caracol *Pomacea sp* (Perry, 1810)

Clase: Gasteropoda (Cuvier, 1797)

Son moluscos invertebrados que pertenecen al Phylum Mollusca, dotados de celoma, (cavidad interna con paredes de origen mesodérmico que forma el saco pericárdico). El saco visceral se localiza dorsalmente y presenta una rotación de 180°, está envuelto en espirales y protegido por un exoesqueleto calcáreo o concha, este es segregado desde la epidermis del manto hasta el pie, que esta transformado en órgano de locomoción.

En esta clase estan incluidas tres subclases: Pulmonata, Opisthobranchia y Prosobranchia; para los fines de este estudio, sólo se describirá este último.

Subclase: Prosobranchia.

Posee branquias situadas delante del corazón y dependiendo del número de éstas pueden subdividirse en : diotocardos, con dos branquias y dos aurículas y monocardos, que poseen una branquia y una aurícula. Esta última es característica específica de *Pomacea patula catemacensis*

Orden: Mesogastropoda (Pennak, 1974)

Caracterizado principalmente por ser gastropoda prosobranchia con o sin opérculo, branquia unilateral adherida en toda su longitud a la cavidad de la pared paleal. Presentan sexos separados.

Superfamilia: Vivipareacea (Taylor y Schi, 1962)

Organismos ovíparos con concha de mediano a gran tamaño, conispirales con opérculos córneos.

Familia: Pilidae (Bequaer y Clench, 1937)

Familia: Ampullariidae (Guilding, 1925)

Formas dulceacuícolas con concha generalmente globosa, turbinada o discoidal moderada de color pardo. La vuelta corporal o última espira grande raramente presenta los bordes angulados. El tamaño de la concha oscila entre una talla mediana (30 mm) a la grande (50 mm) con abertura completa oval, piriforme o semicircular y con una callosidad o peristoma en el borde. La dirección de enrollamiento de la concha puede ser a la derecha (dextrógiro) o a la izquierda (levógiro).

Género: Pomacea (Perry, 1810)

La última espira de la concha está comprimida, es moderadamente ovoide, con una abertura elíptica. Presenta un peristoma en ocasiones marginado; opérculo de naturaleza córnea y núcleo exéntrico cerca de la columela (Amaya y Godínez, 1994; Zulma, 1994).

1.4 Generalidades de la clase gastropoda.

La mayoría de los gastrópodos presentan una concha calcárea, cerrada apicalmente, regularmente enrollada, a menudo ornamentada y de colores vistosos. Tienen formas muy variables y presentan una abertura que puede variar en su forma. Dependiendo de la conformación del exoesqueleto se presenta un sifón inhalante o hendidura anal, en algunos organismos esta estructura ha sufrido una reducción y en otro ha desaparecido completamente (Abbott, 1954). En los prosobranchia existe la presencia de un opérculo regularmente córneo, aunque en algunas ocasiones está compuesto de sustancias calcáreas y conquiolina. Este puede ser paucispiral, multiespiral o concéntrico (Martin, 1984). Presentan una cabeza distintiva, la boca es terminal y casi todos poseen un par de tentáculos, que primitivamente llevan los ojos en su base, con la presencia de un pie que permite el movimiento (Figura 1).

El tubo digestivo en los gastrópodos presenta tres regiones:

A. Anterior. Incluye la cavidad bucal, el aparato radular y el esófago. El aparato radular juega un papel muy importante, debido a que en él se encuentran los dientes con propiedades roedoras o colectoras. De acuerdo al hábito alimentario que tenga el organismo, la rádula puede ser "taenioglosa", "raquiglosa" o "toxoglosa".

B. Media. Constituida principalmente por el estómago y enormes glándulas digestivas, incluyendo a la vez gran parte del intestino, en esta región se lleva a cabo la digestión así como la absorción de los alimentos.

C. Posterior. Formada por el extremo posterior del intestino.

Fisiológicamente cuentan con un sistema inmunoreactivo, característica que se presenta principalmente entre invertebrados dulceacuícolas Mizuno y Takeda, 1988. El sistema respiratorio presenta modificaciones en los diferentes grupos. En los más primitivos existen dos branquias bipectinadas, condición modificada en los más evolucionados, perdiéndose la branquia derecha y los filamentos que quedan se pegan a la cavidad del manto, formando una branquia monopectinada como la observada en los Mesogastropoda. En los pulmonata desaparecen todos los filamentos branquiales y la pared del manto se convierte en la zona donde ocurren los intercambios respiratorios, funcionando como un pulmón aéreo o acuático (Gallo, 1990).

Los gasteropoda se encuentran distribuidos en una gran variedad de ambientes, que van desde las altas cumbres continentales, hasta las más grandes profundidades oceánicas; la mayoría son acuáticos, predominantemente marinos, aunque en gran proporción dulceacuícolas y terrestres; en algunos casos son aprovechados como indicadores toxicológicos (Elder y Collins, 1991). Todos tienen una sola gónada situada en la parte superior de la masa visceral y pueden ser dioicos, como los posobranchia y pulmonata. En los prosobranchia, el aparato reproductor masculino es más sencillo que el femenino y en los opistobranchios y pulmonata ambos aparatos reproductores son muy complejos. El sistema nervioso está formado por ganglios cerebrales localizados por encima del esófago y ganglios pleurales colocados lateralmente.

Por sus hábitos alimentarios, los gastropodos pueden ser herbívoros, carnívoros, micrófagos, coprófagos y parásitos (Barnes, 1977). La mayoría de los gasteropoda terrestres viven de 5 a 7 años, siendo el máximo registrado de 9 años, al igual que para los prosobranchia marinos (Baker, 1922).

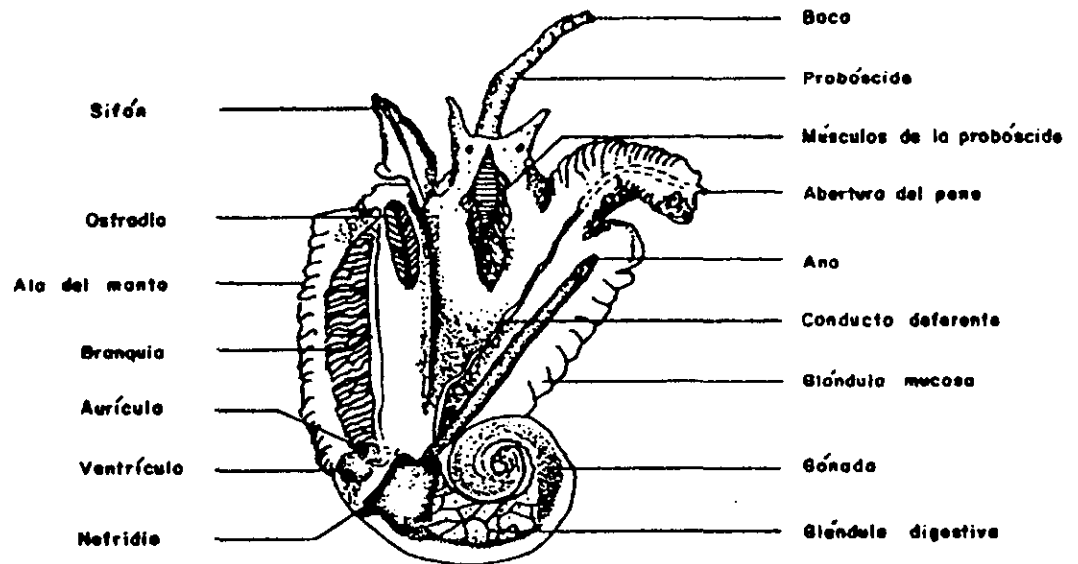
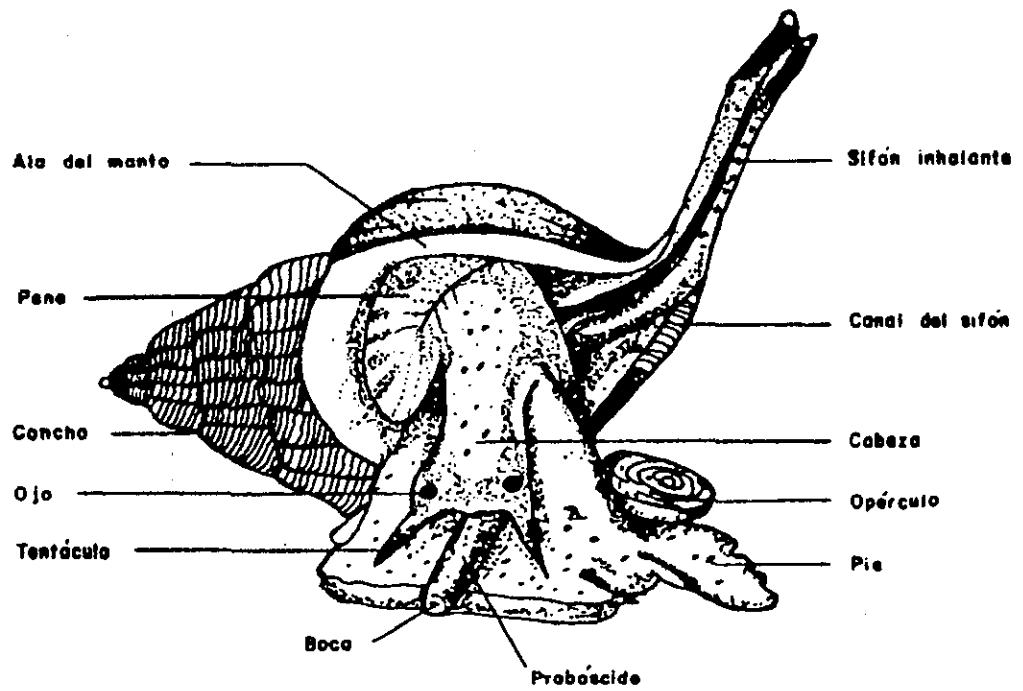


Figura 1. Anatomía de un Prosobranquio (Barnes, 1977)

1.4.1 Evolución de la clase gastropoda

Barnes (1977) propone que los gasterópodos han evolucionado a partir de un molusco ancestral, el cual presentaba una concha en forma de escudo que dejaba la mayor parte del cuerpo expuesto, condición que presentaba desventajas para la larva planctónica. Por selección natural, esta concha que brindaba una pobre protección, se transformó hasta adquirir una forma cónica, cuya abertura permitió que la mayor parte del cuerpo quedara protegida, con la desventaja de ser estorbosa para el nado de la larva planctónica por lo que se fue modificando hasta adoptar una espiralización. La nueva concha plano espiral compacta, era satisfactoria para la larva plantónica, pero no para el adulto reptante; este inconveniente, quedó solucionado con la torsión de 180° sufrida por la masa visceral.

De los desarrollos de la flexión ano-pedal y la torsión de la masa visceral, resulta el ano anterior y la concha curvada endogástricamente, permitiendo la posibilidad para la posterior diferenciación del órgano dentro de la estructura espiral, en la que la masa, tomada por la cabeza y pie, se podía retraer para su protección y para tabular su actividad de deslizamiento; quizá debido a esa protección los gastrópodos fueron capaces de adaptarse a nuevos hábitats. Los caracteres mas sobresalientes que se toman en consideración en la evolución de la clase gastropoda es la simetría y las características del sistema respiratorio.

Las primeras formas consideradas como gastropodos verdaderos pertenecen a la familia Coreospiridae, superfamilia Bellerophontaceae y orden Arqueogastropoda, los cuales aparecen en el Cámbrico Inferior, estos tenían una simetría bilateral con forma parcial o totalmente espiralada.

El Cámbrico Superior, marca la aparición de otro grupo de gastropoda en los que se pierde la simetría bilatera y aparecen las primeras formas asimétricas. Dichos gastropoda estan representados por las superfamilias Pleurotomariacea y Mecluritacea del orden Arqueogastrópoda (Burch y Cruz, 1987). En estos grupos el complejo paleal aun conserva su estado primitivo ya que es pareado y el lado derecho empieza a reducirse en relación al izquierdo.

En el Cámbrico Superior u Ordovísico Inferior, aparece un grupo conocido como Murchisoniacea cuya posición taxonómica es incierta. Presentaban ctenidios pareados y algunos presentaban un canal incipiente por lo que se cree que tenían un corto sifón inhalante (De Haro, 1979).

1.4.2 Familia Ampullariidae.

La familia Ampullariidae es de aguas continentales de gran interés científico, cuyas especies presentan condiciones particulares de existencia y especialización. Se describió en 1957 por Hylton (citado en Cazzaniga, 1987), su distribución: en la franja tropical es amplia e incluye a Asia, Malasia, Filipinas, Australia, Africa y America, con la representación de varios géneros. En el Continente Americano está distribuido desde la Zona Meridional de America del Norte, America Central y America del Sur, hasta la latitud 38° S (Stuardo, 1964. Cazzaniga, 1990a).

La característica sobresaliente de esta familia es su condición de vida anfibia. Viven preferentemente en aguas claras y tranquilas, rios, lagunas, charcas de temporal y permanentes (Teles *et al*, 1991). Estos organismos tienen la facultad de sobrevivir a largos

1981, Scholnick *et al*, 1994). Además son resistentes a todo tipo de aguas, con variantes de salinidad, e incluso se propone la existencia de formas ecológicas, de acuerdo con ciertas condiciones fisicoquímicas del ambiente (Cazzaniga, 1987, 1990a).

La alimentación es variada, son voraces y prefieren ciertos vegetales nativos de su entorno y en algunos casos se alimentan de restos de animales recién muertos (carroñeros). En ambientes donde abundan ciertas plantaciones frutícolas como los manzanares del Delta del Paraná, son capaces de roer las manzanas caídas al agua, sus desoves luego de la copulación son varios, los huevos son depositados a pocos centímetros del nivel del agua, sobre soportes verticales entre la vegetación, donde pueden observarse conglomerados de color rosado. Al parecer, cumplida la función reproductora, mueren (ha sido observado ese comportamiento bajo condiciones artificiales, en especies pertenecientes a *Pomacea canaliculata*). Viven de tres a cuatro años y crecen rápidamente en primavera y verano, mientras que en invierno se sumergen en el fango o viven refugiados en las raíces de plantas sumergidas, como sucede con *Aselene puelchella* y *Ampullaria scalaris* (Estebenet y Cazzaniga, 1990).

Entre los Ampullaridos, *Ampullaria scalaris*. presenta huevos blandos no calcáreos, el joven embrión se nutre a expensas de las glándulas del albúmen. Su crecimiento provoca la ruptura de la cáscara y los caracoles juveniles caen al agua iniciando su vida libre. La primera división del huevo para *A. canaliculata* se realiza en un par de horas después de la ovoposición. El embrión pasa por un estadio de larva trocófora y a los 16 días aproximadamente es un embrión casi completamente organizado, faltando la calcificación de la concha. De los géneros representados en Argentina, *Ampullaria* (actualmente dentro de la clasificación como género *Pomacea*) posee la más amplia distribución en el Sistema Paraño-Platenense. *A. canaliculata*, se localiza desde el Norte de América del Sur, hasta la latitud de 36°, en ambientes lénticos. *A. insularum* está restringida a ambientes lóticos preferentemente en los Ríos Paraguay, Paraná, Uruguay y la Plata. Al género *Asolene* se le asigna una distribución más restringida y se localiza en el río de la Plata; *Asolene spixi* se registra en el Noreste Argentino; *Asolene puechella* en el Paraná Medio; *Asolene megastoma* es exclusiva del Río Uruguay y *Asolene americanista* del río Paraná. El género *Felipponea* se encuentra en franca regresión sobre el Río Uruguay; el género *Marisa* tiene amplia distribución en América del Sur, desde Colombia, Guayanas, Norte de Brasil. *Marisa curmarietis* y *Marisa chiquitensis* se cita en el área boliviana y *Marisa planogyra* está circunscripta al Paraná Medio.

1.4.3 Descripción del género *Pomacea*

El género *Pomacea* está bien representado en América del Sur (Teles *et al*, 1991), principalmente en la Cuenca del Amazonas (Baker, 1913, 1930; Pain, 1964; Teles *et al*, 1991) hasta el Río de la Plata en las Costas de Argentina (Castellanos y Fernandez, 1976), así como en los países Andinos (Baker, 1930; Pain y Areas, 1958), el Caribe y América Central (Baker, 1922; Pilsbry, 1927 y Pain, 1964).

Dentro de las características más importantes que diferencian a las dos especies del género *Pomacea* son: Para *P. flagellata*, según el criterio de Bequaert, (1957) analizando 30 ejemplares en zonas restringidas a Tabasco, Chiapas y Norte de Guatemala (Lago Petén) y Rangel, (1987), analizando 25 ejemplares en la región de los Tuxtlas en el Estado de

y Rangel, (1987), analizando 25 ejemplares en la región de los Tuxtlas en el Estado de Veracruz: presenta una abertura de la boca amplia y angulosa, con una concha subglobosa, margen columenar color pardo, con presencia de 21 a 25 bandas de grosor variable, presenta espira de grosor variable somero, ombligo profundo, óperculo concéntrico, corneo ambar, con líneas de crecimiento subcentral.

Para la especie *P. patula catemacensis*, según el criterio de Baker, (1922) basado en el análisis de 40 ejemplares colectados en la Laguna de Catemaco, en el Estado de Veracruz México, presenta concha delgada translúcida, abertura de la boca angulosa, concha globosa, margen columenar color naranja, con presencia de 25 a 40 bandas de grosor variable, presenta una espira grande, algunas veces presenta una banda abajo de la sutura espiral, ombligo poco profundo, óperculo concéntrico, corneo, color ambar y línea de crecimiento subcentral. Fischer y Crosse, (1902), encuentran en 30 ejemplares analizados, características similares, en la Laguna de Catemaco.

Una de las especies de mayor distribución es *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1801), localizada por todo América del Sur. Es un representante de la fauna brasileña y regiones Norte de Argentina, sobre el Río de la Plata.

La especie *Pomacea flagellata* (Figura 2), se localiza en el Caribe, y abarca desde las Costas del norte de Veracruz en México, hasta Belice y Guatemala en América Central (Naranjo, 1986). Ha sido identificada y caracterizada con base en la morfología de la concha, anatomía del sistema reproductor y patrones genéticos. Estos organismos poseen una concha de entre 40 y 90 mm de diámetro, globosa, turbinada y discoidal, con carácter de holostomada (Sautto a, b, 1983) (Figura 3), óperculo córneo con núcleo excéntrico y líneas de crecimiento concéntricas muy pronunciadas, sus bordes son duros pero flexibles y de cierre hermético (Rangel, 1987 y Carvalho, 1987). Posee un rostro dividido en palpos labiales, tentáculos largos y ojos situados sobre prominencias en la base de los tentáculos, cuenta con un repliegue bucal reducido y el izquierdo desarrollado en forma de tubo con la finalidad bombear aire a los pulmones (Burky y Burky, 1977); tienen un pie en forma de escudo. La cavidad paleal se encuentra dividida por un tabique longitudinal, de modo que la branquia y el pulmón están alejados hacia la izquierda y el lado derecho dedicado a la función excretora. El pulmón se forma por el desdoblamiento de la pared del manto, el osfradío es bipectinado por delante del neumostoma, la mandíbula simple, con el borde anterior engrosado, conteniendo una rádula de tipo taenioglosa provista de un diente raquídeo trapezoide con cúspide central y tentáculos laterales; cuenta con un diente intermedio y dos marginales de base angosta con una o dos cúspides.

El sistema nervioso ha sido ampliamente estudiado y presenta otolitos múltiples (Tullner, 1979). Poseen sexos separados (Cazzaniga, 1990), en el género *Pomacea* la gónada está ubicada en el apice de la espiral y se evidencia por el color amarillento, el cual ha sido estudiado bioquímicamente en etapas embrionarias (Oliveira *et al*, 1994). El oviducto corre por el eje columnar, llegando hasta el receptáculo seminal, que hace prominencia en la glándula del albumen, la cual adquiere gran tamaño y coloración rojiza, la vagina se abre en la cara interna del manto y a la derecha del ano. El aparato copulador proviene de repliegues de la membrana paleal externa, distinguiéndose del penis, vaina y saco penial. Los organismos del género *Pomacea* son ovíparos con huevos gelatinosos y calcáreos, la ovoposición se realiza tanto fuera como dentro del agua, aunque en su generalidad viven fuera del agua (Rangel, 1987).

1.5 ANTECEDENTES

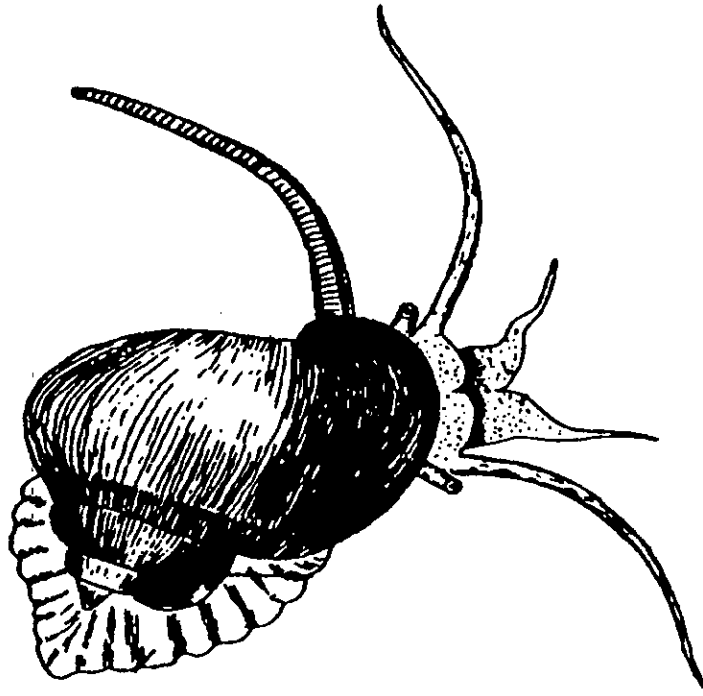
En la actualidad el ordenamiento de los organismos de acuerdo a las normas de la sistemática, es tarea no sólo de los taxónomos, ya que existe una alta especialización en las ramas de la biología (Arani y Rao, 1997). Existen análisis específicos, como los referentes a morfo-anatomía, fisiología y paleontología entre otros (Dodson, 1963), que se unen a los estudios bioquímicos y citogenéticos en un completo desarrollo de la sistemática moderna. Estas últimas especialidades, han cobrado gran importancia dentro de los organismos, incluyendo a organismos acuáticos, donde los cromosomas y la regularización de la actividad genética de tipo bioquímica (Werner *et al*, 1998), juegan el papel primordial de transmitir a las siguientes generaciones, los caracteres que permiten las funciones particulares que identifican a la especie (Nakamura, 1986).

Actualmente existen problemas de nomenclatura sistemática al clasificar al género *Pomacea* debido a la escasez de estudios en esa área y porque los existentes se encuentran basados exclusivamente en el tipo de concha. Algunos estudios sobre aspectos anatómicos y morfofisiológicos, provocaron la creación de varios sinónimos para la misma especie. Pain (1964), afirma que el género *Pomacea* en el Sureste de México se encuentra representado por la especie *P. flagellata*, al respecto parece ser que la especie *Pomacea patula catemacensis* es originaria del Lago de Catemaco (Martínez, 1989; Osorio, 1987) como especie endémica, mientras *Pomacea flagellata* se encuentra extendida por todas las Costas del Sureste de México, hasta Belice y Guatemala (Naranjo, 1986). Con el fin de resolver este tipo de problemas, se ha recurrido a técnicas más finas que incluyen estudios citogenéticos y electroforéticos.

Aproximadamente 700 especies de 106 familias de gasteropodos han sido estudiadas citogenéticamente (Inaba, 1961a,b y Burch, 1967), este tipo de estudios suelen ser una herramienta efectiva, en la identificación y diferenciación de poblaciones dentro del género.

Comparaciones de juegos cromosómicos entre individuos aberrantes y normales con el análisis de las alteraciones en la morfología, son factores que ayudan a la formación de un criterio cariológico como auxiliar de la taxonomía (Granter *et al*, 1997), conocida como citotaxonomía, estos análisis son en base a revisiones detalladas de la morfología (tamaño, forma, presencia de constricciones, número de constricciones, etc.), descripción y número cromosómico ($2n$ para número diploide y n para haploide). Además, la fórmula cromosómica y número fundamental, según la categoría de la especie, favorece el entendimiento del porque se presentan reordenamientos cromosómicos y del porque de las relaciones evolutivas a nivel de cariotipo (Mamaeva, 1998), tomando en consideración los cambios cromosómicos existentes, como son los mecanismos de reparación, mutaciones "Per salto", y como señala White (1951), los cariotipos con un bajo número diploide y con alto porcentaje de cromosomas metacéntricos, pertenecen a cariotipos primitivos que han mostrado una ligera variación despues de varias generaciones. Así los modelos cromosómicos explican la evolución cariotípica (Ohno, 1970).

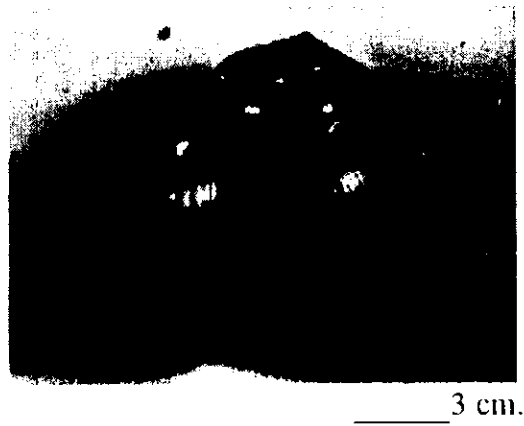
En caracoles de agua dulce del orden Arqueogastropoda (Patterson, 1966, 1969 y Patterson y Burch, 1978), se ha encontrado un número cromosómico haploide de $n= 9$ a $n= 18$, y para el orden Mesogastropoda un número haploide de $n= 7$ a $n= 20$.



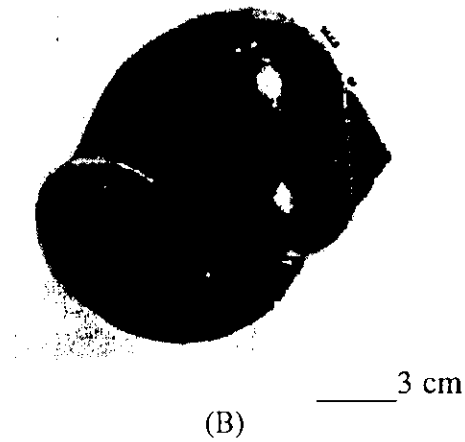
IDENTIFICACION TAXONOMICA

Phyllum : Mollusca, (Cuvier, 1797)
Clase: Gastropoda, (Cuvier, 1797)
Sub-clase: Prosobranchia, (Edwards, 1848)
Orden: Mesogastropoda, (Pennak, 1974)
Superfamilia: Vivipareacea, (Taylor y Schi, 1962)
Familia: Ampullariidae, (Guilding, 1925)
Familia: Pilidae, (Bequaer y Clench, 1937)
Género: *Pomacea*, (Perry, 1810)
Especie: *Patula catemacensis*, (Baker, 1922)
Especie : *Flagellata*, (Say, 1827)

FIGURA 2. IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO *Pomacea* ANALIZADAS.



(A)



(B)

FIGURA 3. MORFOLOGÍA DE LA CONCHA DE *Pomacea flagellata* (SAY, 1827)

A) VISTA DORSAL, B) VISTA VENTRAL. A: ÁPIDE, E: ESPIRA, CE: CUERPO DE LA ESPIRA, O: OPÉRCULO, LE: LABIO EXTERNO Y B: BOCA.

El análisis cromosómico de la especie *Pomacea sp* procedente de las Costas de Brasil, fue detectado un número diploide de $2n=28$, para la mitosis y haploide $n=14$ (Kawano *et al*, 1990), la especie *Pomacea canaliculata*, presenta $2n=28$ y cromosomas haploides, $n=14$, (Brand *et al*, 1990)., mientras que para *Pomacea patula catemacensis* procedente de la Laguna de Catemaco en el Estado de Veracruz, México, se reporta $n=13$ y $2n=26$ (Yam Keb, 1986); así mismo para organismos procedentes de "El Espino", en el Estado de Tabasco México, se encontró $n=13$ y $2n=26$ para la especie *Pomacea flagellata* (Diupotex, 1993 y 1994).

Comparaciones de juegos cromosómicos entre individuos aberrantes, normales así como el análisis de las alteraciones en la morfología, son factores que ayudan a la formación de un criterio cariológico como auxiliar de la taxonomía (Granter *et al*, 1997), conocida como citotaxonomía, estos análisis se basan en revisiones detalladas de la morfología (tamaño, forma, presencia de constricciones, número de constricciones entre otros), descripción y número cromosómico ($2n$ para número diploide y n para número haploide). Además la fórmula cromosómica y número fundamental cromosómico, según la categoría de la especie en estudio, favorece el entendimiento del porque se presentan reordenamientos cromosómicos y del porque de las relaciones evolutivas a nivel de cariotipo (Mamaeva, 1998), tomando en consideración los cambios cromosómicos existentes, como mecanismos de reparación, mutaciones "per salto", y como señala White (1951) cariotipos con un bajo número diploide y alto porcentaje de cromosomas metacéntricos, pertenecen a cariotipos primitivos que han mostrado una ligera variación después de varias generaciones. Así los modelos cromosómicos explican la evolución cariotípica (Onho, 1970).

La electroforesis en proteínas es un método que puede ser utilizado para determinar la fuente y diversidad de clones en caracoles dulceacuícolas (Mark *et al*, 1995; Fujio *et al*, 1991) de diferentes regiones, para detectar diploidías, tetraploidías, poliploidías, etc. como en el caso de *Pomacea canaliculata* (Garin, *et al* 1996).

Estudios electroforéticos se han empleado para la identificación y diferenciación de ciertos órganos y tejidos (Yamaura *et al*, 1997), así como para distinguir especies muy cercanas cuya diferenciación por otras técnicas morfológicas y citológicas no ha sido clara.

Smith (1988) describe un método para analizar proteínas totales de tejidos por medio de electroforesis y logra una diferenciación taxonómica al nivel de especies basada en sus patrones electroforéticos (Van der Zee *et al*, 1997), realizaron estudios electroforéticos y serológicos para diferenciar tres especies de *Cerithiacea*, encontrando diferencias en los patrones electroforéticos en los cuales se observó variaciones en el número de bandas. Dybdahl y Lively (1995) utilizaron la electroforesis de proteínas para determinar la fuente y diversidad de clones en el caracol de agua dulce *Potamopyrgus antipodarum*.

El género *Pomacea* tiene gran importancia por diferentes razones que incluyen que es un organismo apropiado como modelo para investigación genética (Yamaura *et al*, 1997) y experimentos en áreas de cultivo (Garin *et al*, 1996). Tiene un tiempo de vida corto, desova un alto número de huevos, tiene una tasa de sobrevivencia arriba del 50% y una fácil crianza, como ya se ha mencionado, por lo que también resulta una especie atractiva para su crianza y explotación. Por esto, es necesaria la evaluación del estado del recurso que muestre el origen y diversidad de clones a fin de poder desarrollar programas de cultivo para un mejor aprovechamiento del mismo (Martínez, 1989).

En el presente trabajo se realizaron estudios para caracterizar las diferencias cariológicas y electroforéticas entre poblaciones de organismos del género *Pomacea*, distribuidos a lo largo del Sureste de México y de esta manera determinar el origen de su diversidad.

2.0 OBJETIVO GENERAL.

Conocer las diferencias cariológicas y electroforéticas de las especies *P. flagellata* y *P. patula catemacensis* a lo largo de diversos municipios, del Sureste de México: Alvarado, Tlacotalpan, Misantla y Catemaco, en el Estado de Veracruz; San Miguel y el Espino en Tabasco y el Vapor en Campeche.

2.1 OBJETIVOS PARTICULARES:

- a) Caracterizar los cariotipos de las especies taxonómicamente emparentadas del género *Pomacea* procedentes de diferentes regiones del Sureste de México.
- b) Determinación de proteínas presentes en diferentes organismos a estudiar.
- c) Plantear alternativas que permitan resolver problemas taxonómicos para poblaciones inter e intraespecíficas
- d) Con base en los puntos anteriores, buscar la explicación sobre la diversidad y/o similitud entre poblaciones del género *Pomacea* en las diferentes areas de estudio.

3.0 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

3.1.1. Zonas de colecta

Los organismos estudiados, fueron colectados en diferentes municipios del Sureste de México: en Catemaco, Tlacotalpan, Alvarado y Misantla en el Estado de Veracruz; en las regiones de "El Espino" y San Miguel en el estado de Tabasco y en la laguna "El Vapor" adyacente a la Laguna de Términos en el Estado de Campeche. Las regiones están ubicadas rodeando la Zona Costera del Golfo de México (Figuras 4A, 4B, 5A, 5B, y 6) (Cartas topográficas del S.C.T., 1993). En Misantla se tomaron tres muestras diferentes, en la desembocadura al mar (muestra a), en la parte media (muestra b) y la parte inicial del Río Misantla (muestra c).

Las zonas de colecta presentan un litoral poco elevado, con áreas poco profundas, aguas claras con salinidades alrededor de 2.0 a 5.0 ppm, 26°C de temperatura y pH 7.5.

3.1.2. Mantenimiento de los organismos.

Los organismos seleccionados y colectados fueron transportados vivos al laboratorio de Limnología del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, México, D.F. Un lote de organismos adultos fueron disectados y congelados inmediatamente en un ultracongelador Forma Scientific a -30 °C hasta su análisis. Otro lote de organismos representantes de las diversas regiones, fueron clasificados y colocados en acuarios bajo condiciones controladas de filtración, oxigenación, salinidad, temperatura y se alimentaron con *Valisneria sp.*

La identificación de los organismos fué realizada en el Laboratorio de Malacología del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM.

3.2 TÉCNICAS CITOGENÉTICAS

3.2.1 Obtención de cromosomas

En la obtención de cromosomas, es recomendable utilizar tejidos con un crecimiento relativamente rápido, ya que presentan con más frecuencia células mitóticas en división, con la finalidad de realizar comparaciones específicas (Goldman *et al*, 1980; Mamaeva, 1998), tal es el caso del tejido branquial en moluscos de la clase gastropoda. Por lo anteriormente citado, se eligió este tejido para trabajar en el presente estudio.

Con el fin de detener la división celular en metafase, 45 minutos antes de sacrificar a los moluscos se les aplicó una inyección de colchicina al 0.04% en una proporción de un mililitro por cada 50 g de peso del organismo. Procesándose 5 individuos por cada área de estudio.

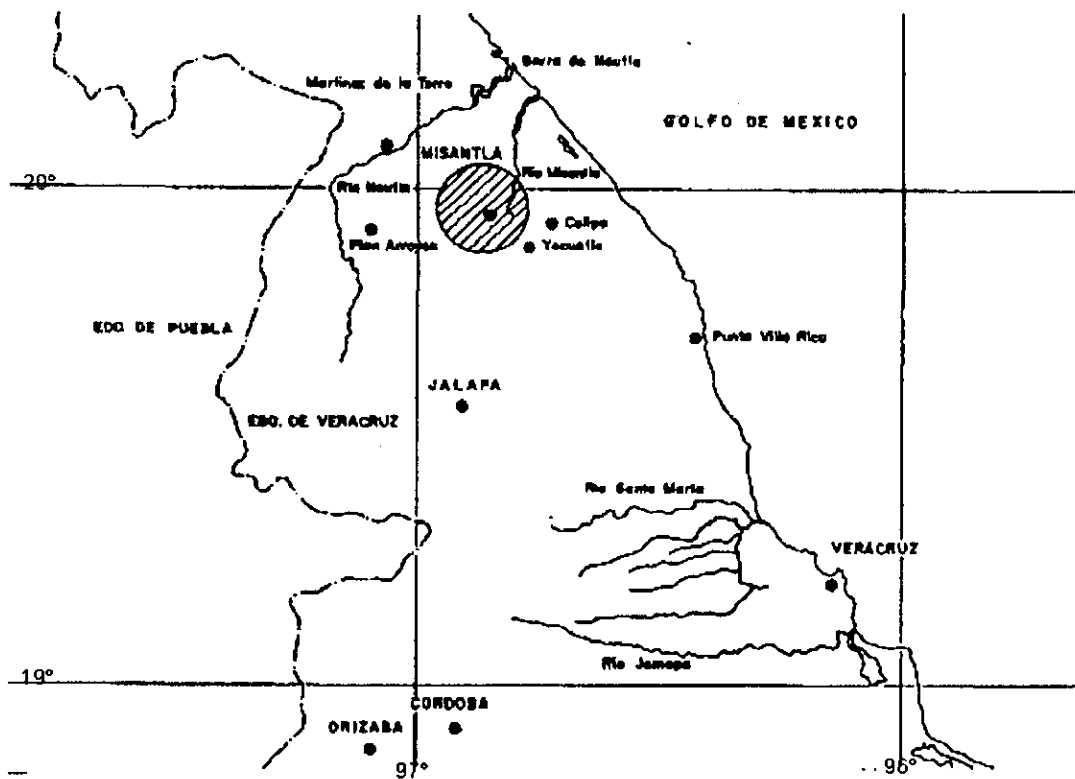


FIGURA 4A LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE LA ZONA DE MUESTREO RÍO MISANTLA, EN EL ESTADO DE VERACRUZ

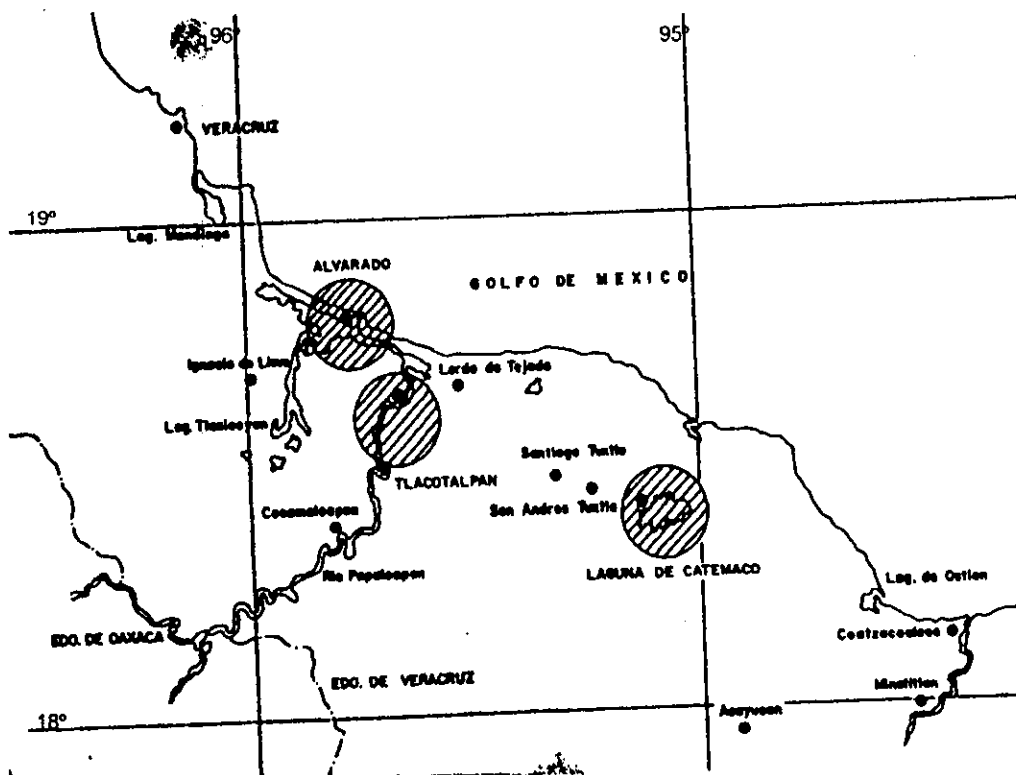
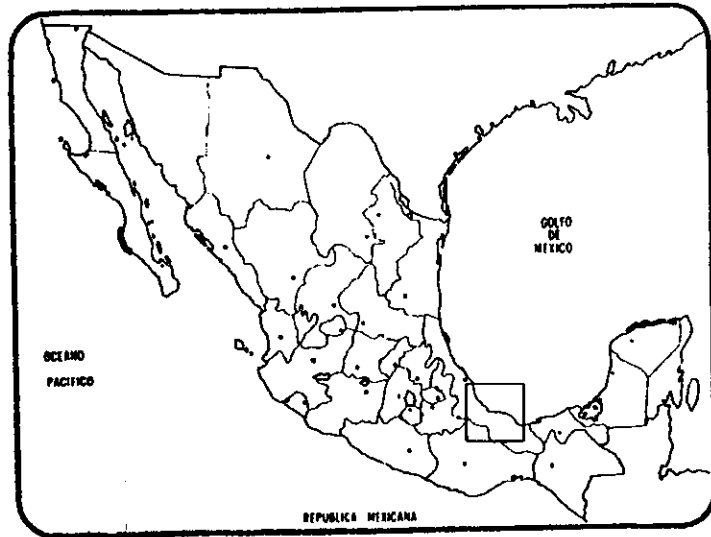


FIGURA 4B LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE ALVARADO, TLACOTALPAN Y LAGUNA DE CATEMACO, EN EL ESTADO DE VERACRUZ

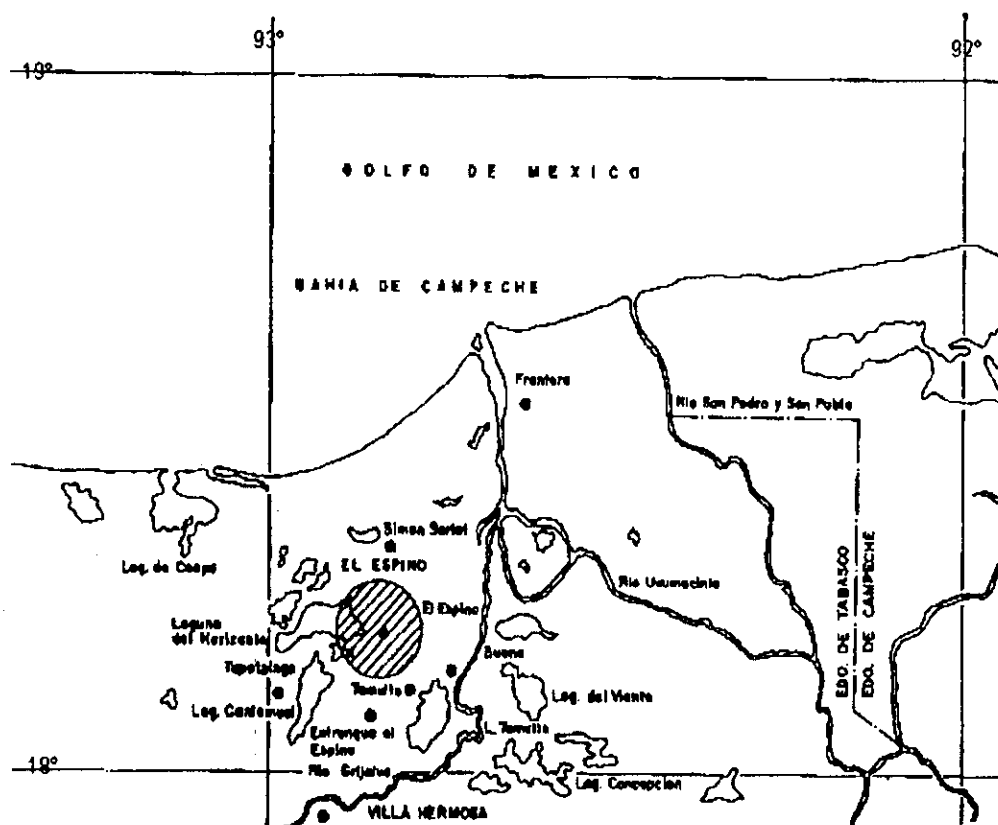
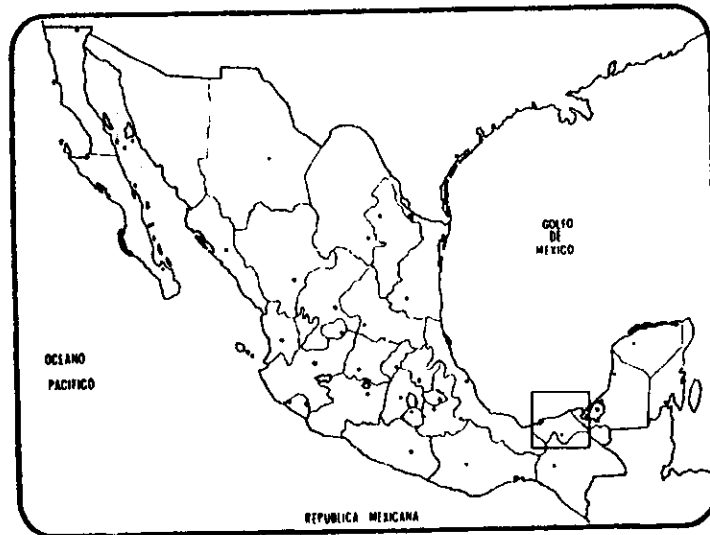


FIGURA 5A ZONA DE COLECTA " EL ESPINO ", EN EL ESTADO DE TABASCO

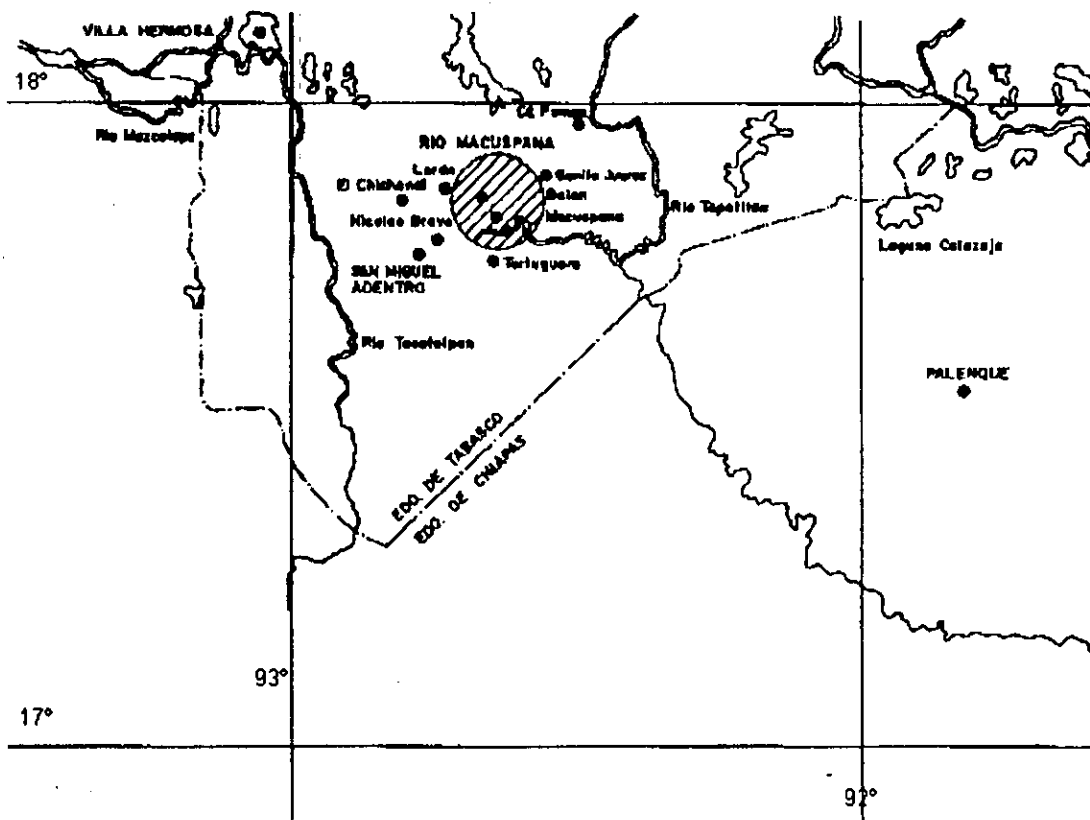
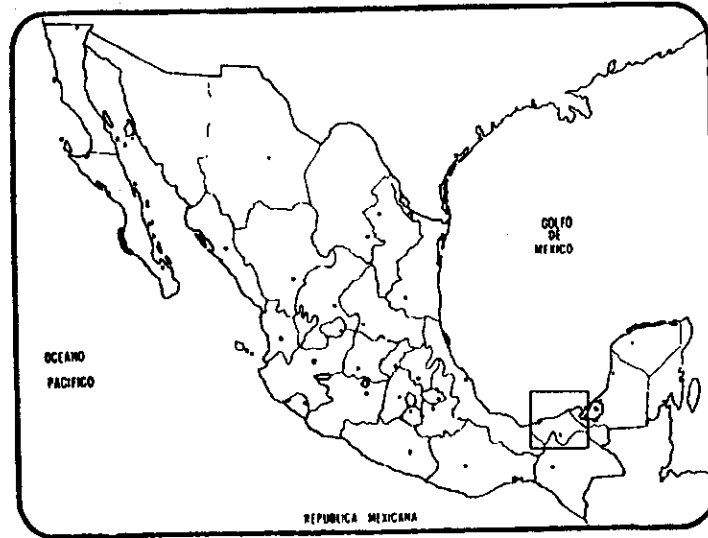


FIGURA 5B ZONA DE COLECTA SAN MIGUEL, EN EL ESTADO DE TABASCO

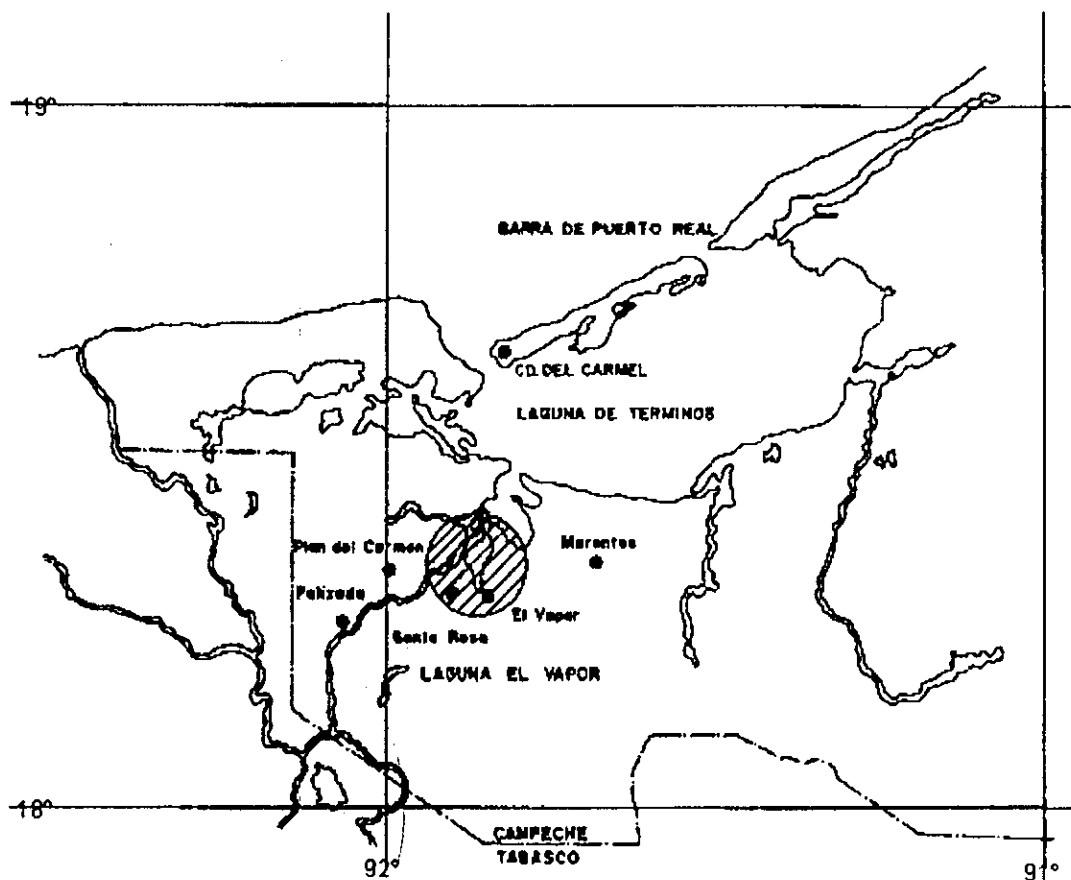
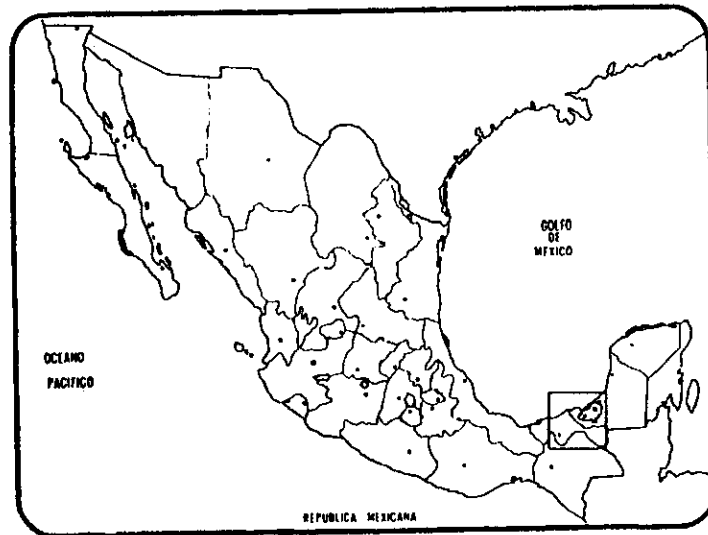


FIGURA 6 ZONA DE COLECTA DE LA LAGUNA DE EL VAPOR, EN EL ESTADO DE CAMPECHE

Para evaluar el complemento haploide, muestras de tejido gonádico aproximadamente 3 mm. en fresco fueron extraídas y preparadas con la técnica de aplaston y tinción de orceína acética al 2%, observandolas bajo el microscopio, según el criterio utilizado por Griffin y col. 1997, para determinar el número cromosómico haploide (n). Por otro lado, se realizó la extracción de tejido branquial, y se colocó en cajas petri conteniendo una solución hipotónica de KCl 0.075M, el tejido fué disectado y cortado en fragmentos de aproximadamente 3mm. y se dejó reposar por 2 hrs. Posteriormente fue macerado y centrifugado durante 10 min. a 1500 r.p.m., al precipitado se le agregó una solución fijadora (metanol ácido acético 3:1). Este proceso fue repetido tres veces, con un tiempo de centrifugación de 5 min. cada uno, conservándose a 4°C por 24 horas, cinco individuos por cada región en estudio fueron procesados según la técnica de Kligerman y Bloom (1977), así como ciertos criterios tomados en cuenta de Coullin y Pellestor, (1997), bajo el principio celular, con algunas modificaciones que consistieron en tratar a las células con ácido acético glacial al 60% como posfijación y hacer las preparaciones a 50°C.

Para la elaboración de las preparaciones, el precipitado fué resuspendido, se colocaron 3 gotas por portaobjetos dejandose secar por 24 h al aire para su posterior tinción con el colorante Giemsa (Sigma) en buffer de fosfatos pH 6.4, Se lavaron con agua destilada, se aclararon y montaron con Xilol y Balsamo de Canada. Se realizaron 5 preparaciones por organismo.

3.2.2. Identificación de cariotipos

Las muestras de cromosomas fueron observadas, seleccionadas y fotografiadas en un fotomicroscopio de contraste de fases Zeiss, juegos cromosómicos con la calidad requerida para ser evaluados estadísticamente, fueron representados en ideogramas, según los criterios propuestos por Al Aish (1969) y Levan *et al* 1964 (Tabla I), e interpretados bajo un punto de vista multivariado (Tabla XII y XIII, de acuerdo a la posición del centrómero y comparación de longitudes relativas promedio por mil, expresadas en pares cromosómicos para cada población en estudio, eligiendo 13 metafases representativas de la especie *Pomacea patula catemacensis* procedente de la Laguna de Catemaco, en el Estado de Veracruz y 52 metafases representativas de la especie *Pomacea flagellata*, procedentes de Alvarado (5), Tlacotalpan (5), Misantla a (4), Misantla b (5) y Misantla c (4), en el Estado de Veracruz. San Miguel (6) El Espino (13) en el Estado de Tabasco, y El Vapor (10) en el Estado de Campeche, México.

P= brazo corto

Q= brazo largo

P+Q= longitud total de cromosoma

Diferencia = $\frac{10(\text{relación de brazos}-1)}{(\text{relación de brazos}+1)}$

$\frac{P + Q}{\text{longitud del complemento cromosómico total}} (1000) = \text{Longitud Relativa}$

$\frac{Q}{P} = \text{relación de brazos}$

Suma P+Q= longitud del complemento

I.C. = índice centromérico = $(P/P+Q)100$

Tabla I. Clasificación de los cromosomas de acuerdo a la posición del centrómero (Levan et al., 1964).

Indice Centromérico	Diferencia	proporción de brazos	Clasificación
47.5-37.5	0-2.5	1.0-1.67	Metacéntrico (m)
37.5-25	2.5-5.0	1.67-3.0	Submetacéntrico (sm)
25-12.5	5.0-7.5	3.0-7.0	Subtelocéntrico (st)
12.5-2.5	7.5-10.0	7.0-∞	Telocéntrico (t)

Cabe señalar que con respecto a los cromosomas telocéntricos, algunos autores los sitúan como acrocéntricos, puesto que consideran que el segundo brazo está siempre presente, aunque su tamaño sea menor al límite de resolución del microscopio, por lo que en realidad, los cromosomas telocéntricos, son acrocéntricos. (Darlington, 1936; Rhoades, 1940, White, 1954, 1968, Uribe *et al* 1996, Mamaeva, 1998).

3.3 MÉTODOS ELECTROFORÉTICOS.

3.3.1. Preparación de muestras.

Los caracoles colectados en cada una de las localidades, se disectaron con la finalidad de retirar la concha de la parte anatómica interna, esta última se maceró en un homogenizador Ultraturax con un amortiguador Tris-HCl 0.05 M, pH 8, a intervalos cortos de un minuto, hasta 7 minutos, cuidando el mantener la muestra en frío (4°C) para evitar la desnaturalización de las proteínas. Después de homogenizar cada muestra se tuvo mucho cuidado de lavar perfectamente el material para evitar la contaminación de las muestras de una localidad con las de otra, este cuidado se mantuvo durante todo el manejo de las muestras. Posteriormente, cada extracto se centrifugó a 30,000 g a 4°C por 30 min. en una centrifuga Beckman, modelo J2-21 y el sobrenadante se dializó con amortiguador Tris-HCl pH 8 por 9 h en un sistema de diálisis continua (Arreguín, 1968).

3.3.2. Cuantificación de proteína.

Una vez dializadas las muestras, se cuantificó el contenido de proteína en cada extracto y estos se concentraron según fué necesario para tener la misma concentración en todos, esto con el fin de poder realizar estudios comparativos. Para dicha cuantificación se utilizó el método de Smith *et al.* (1985), el cual emplea el reactivo ácido bicinimico (BCA) (Protein Assay Reagent), que es altamente sensible en la determinación espectrofotométrica de la concentración de proteína en soluciones acuosas. Este sistema de reactivos combina la reacción de proteínas con Cu^{2+} en un medio alcalino (Produciendo

Cu^{+1}), con un reactivo altamente selectivo y sensible de detección para Cu^{+1} llamado ácido bicinconínico (BCA). El color púrpura del producto de la reacción es formado por la interacción de dos moléculas de BCA con un ion cuproso (Cu^{+1}), que es soluble en agua y exhibe una fuerte absorbencia a 562 nm.

La cantidad de proteína contenida en la muestra, se determina interpolando el dato de absorbencia en una curva tipo elaborada con albúmina de bovino a diferentes concentraciones

3.3.3. Punto isoelectrico.

IEF (enfoque isoelectrico) es una técnica de alta resolución empleada para separar proteínas en base a su punto isoelectrico. Esto fue realizado con un equipo Phast System, es una técnica rápida y reproducible que toma aproximadamente 30 minutos en correr bajo condiciones exactas y programadas, de fácil lectura, que no requiere amortiguador de separación.

Placas PhastGel IEF con un gradiente de pH de 3-9, son particularmente útiles en el análisis de muestras de proteína, en sus diversas modalidades, como analizar mezclas, monitorear purificaciones; analizando el avance dentro de una reacción específica, entre otras; razón por la cual, se eligió el uso de este sistema para el análisis de las muestras dentro del presente estudio.

Fueron utilizadas microplacas (0.35 X 0.43 X 50 mm.) con un gradiente de pH 3-9 con un equipo Phast System de Pharmacia. Para la obtención de la curva de calibración, fueron procesadas proteínas con puntos isoelectricos conocidos en un intervalo de 3 a 9 (Pharmacia electrophoresis calibration kit). La posición de las bandas fueron leídas en un densitómetro láser LKB 2202 Ultro Scan.

3.3.4. Peso molecular.

Native-PAGE (electroforésis en geles de poliacrilamida en condiciones no desnaturalizantes o nativas) es una de las técnicas más exactas para estudiar la composición y estructura de las proteínas nativas; ya que tanto la conformación como la actividad biológica de las proteínas generalmente permanece intacta. Con esta técnica, los componentes de la mezcla proteica son separados en base a su tamaño, carga neta y conformación molecular. Native-PAGE es también útil para estimar el peso molecular de proteínas en su estado nativo. La elección de geles homogéneos o de gradiente depende de la complejidad bioquímica de la muestra, y por las características que presentó las muestras de análisis, se eligieron geles homogéneos con 20% de concentración de poliacrilamida.

Por lo anterior, se determinó por electroforésis en microgeles homogéneos de poliacrilamida al 20% (45 x 43 x 50 mm) a 500 volts. 10 mA voltaje creciente y 15°C.

Para obtener la curva de calibración se emplearon patrones con pesos moleculares conocidos desde 14,400 hasta 94,000 daltones (Pharmacia electrophoresis calibration kit). El procedimiento para fijar, teñir y desteñir fue el reportado por Neuhoff *et al.*, (1985). La posición de las bandas fue leída en un densitómetro laser LKB 2202 Ultro Scan.

4.0 RESULTADOS

4.1. ESTUDIOS CITOGENETICOS

Se procesaron 5 organismos, considerando 13 campos mitóticos de cada una de las localidades estudiadas y se observaron alrededor de 20 metafases por región, de las que se seleccionaron los campos mitóticos de la calidad requerida (campos mitóticos completos en número cromosómico, cromosomas no encimados, contraídos ni espiralizados excesivamente). Se encontró que el número cromosómico $2n$ es de 26 y se corroboraron $n=13$ por medio de un análisis de tejido gonádico.

La especie *Pomacea patula catemacensis*, mostró un número fundamental de 52 con la siguiente fórmula cromosómica: $9m + 4Sm$ de los cuales $2n= 26$ en la fase diploide y un $n= 13$ para los haploides, observándose que todos son del tipo birrámeo. Tomando en consideración el análisis propuesto por Levan *et al.* (1964), se realizó la caracterización cariológica de la especie. No fue hallada heteroplicnosis negativa, ni heteromorfismo cromosómico, por lo cual no se identificó la presencia de cromosomas sexual (Figuras 7, 8 y Tabla II).

La especie *Pomacea flagellata* presentó un número cromosómico de $2n=26$ y un número fundamental de 52, con una fórmula cromosómica $4M + 5m + 4Sm$ presentando 9 pares metacéntricos y 4 pares submetacéntricos, de donde se corroboró para la meiosis $n= 13$, encontrando que todos son del tipo birrámeo, según la clasificación propuesta por Levan *et al.* (1964). Así mismo, fue realizada la caracterización cariológica de la especie, sin detectar heteroplicnósis negativa (específica en cromosoma sexual), ni heteromorfismo cromosómico, por lo que no se identificó la presencia de algún cromosoma sexual. (Tablas III a X y figuras 9-13). Así en la Tabla XI se muestran los valores comparativos entre pares cromosómicos $n=13$, de las diferentes poblaciones de *Pomacea flagellata* y *Pomacea patula catemacensis*, para las diferentes localidades en estudio.

En las Figuras 14 y 15, se ilustra para el género *Pomacea* una comparación entre máximos, mínimos, promedios y desviación estandard de la unidad relativa de cada cariotipo representativo, expresada en unidades por mil "Longitudes Relativas", así como "Índices Centroméricos", este último expresado en elementos cromosómicos por cien, ambos en pares cromosómicos $n=13$, para las regiones Laguna de Catemaco, Misantla, Tlacotalpan, Alvarado en el Estado de Veracruz, El Espino y San Miguel en el Estado de Tabasco y Laguna El Vapor en el Estado de Campeche, donde no fueron detectadas diferencias significativas.

De lo anterior, se presenta un análisis discriminante multivariado presentado por unidad de cromosoma, donde se detecta una marcada relación entre poblaciones; presentandose claramente diferenciada la población procedente del área de la Laguna de Catemaco, en el Estado de Veracruz (Figs. 16a, 16b, 17, y 18).

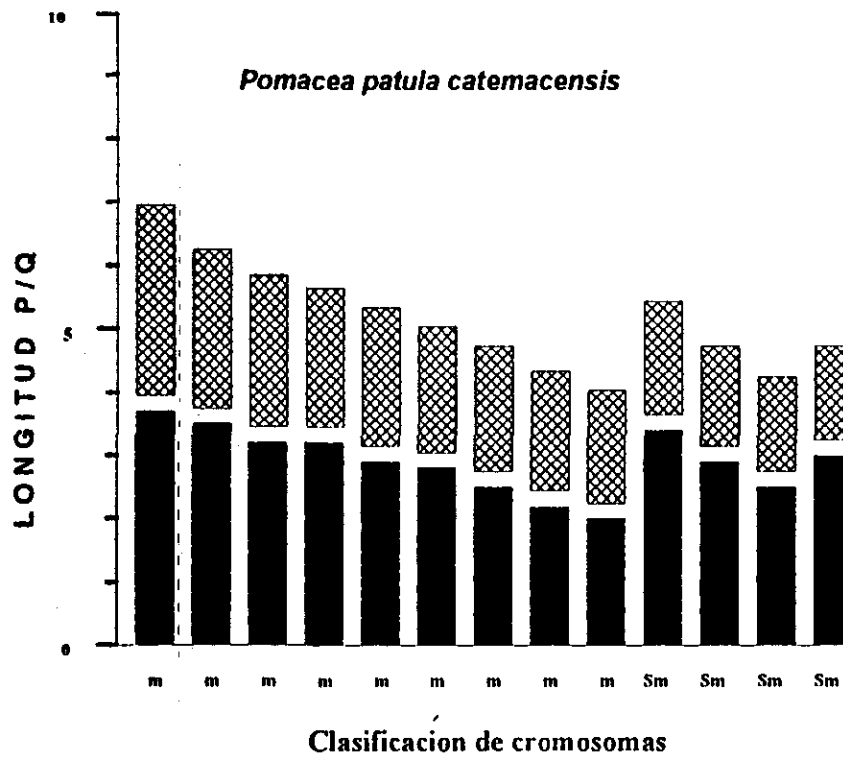
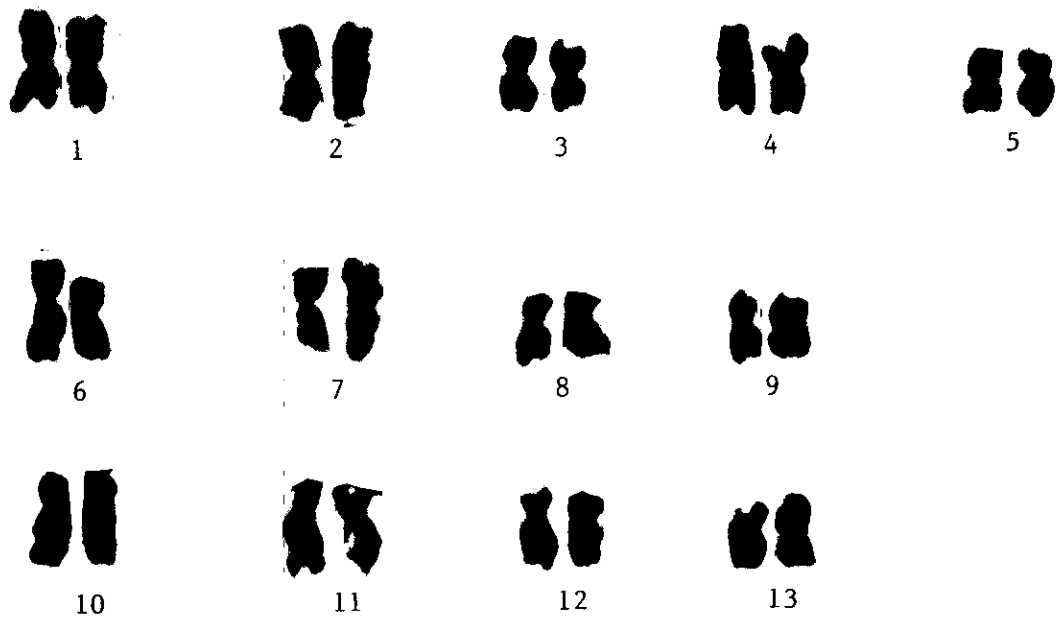


FIGURA 7.0 IDEOGRAMA DE *Pomacea patula catemacensis*.

Tabla II. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea patula catemacensis* proveniente de la Laguna de Catemaco.

Pares cromosómicos	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud Relativa	Índice Centromérico	Diferencia brazos	Proporción de brazos	Clasificación
1	3.0	3.7	6.7	106.37	44.66	1.0674	1.2388	m
2	2.5	3.5	6.0	94.22	41.21	1.7525	1.4248	m
3	2.4	3.2	5.6	87.75	43.17	1.3644	1.3160	m
4	2.2	3.2	5.4	84.91	40.71	1.8766	1.4557	m
5	2.2	2.9	5.1	80.02	42.10	1.3978	1.3245	m
6	2.0	2.8	4.8	74.34	41.40	1.7355	1.4200	m
7	2.0	2.5	4.5	69.76	44.12	1.1738	1.2657	m
8	1.9	2.2	4.1	64.87	45.50	0.7313	1.1578	m
9	1.8	2.0	3.8	59.56	47.36	0.5258	1.1111	m
10	1.8	3.4	5.2	81.12	34.24	3.1553	1.9220	Sm
11	1.6	2.9	4.5	71.02	34.89	3.0265	1.8680	Sm
12	1.5	2.5	4.1	62.81	37.53	2.6632	1.7259	Sm
13	1.5	3.0	4.5	69.76	32.80	3.4383	2.0477	Sm
Promedio	4.0315	5.7792		76.92	40.42			
Desviación estándar	0.8893	1.0236		13.68	4.04			



(A)



(B)

FIGURA 8.0 CITOGENÉTICA DEL CARACOL *Pomacea patula catemacensis*

A) CARIOTIPO B) MITOSIS

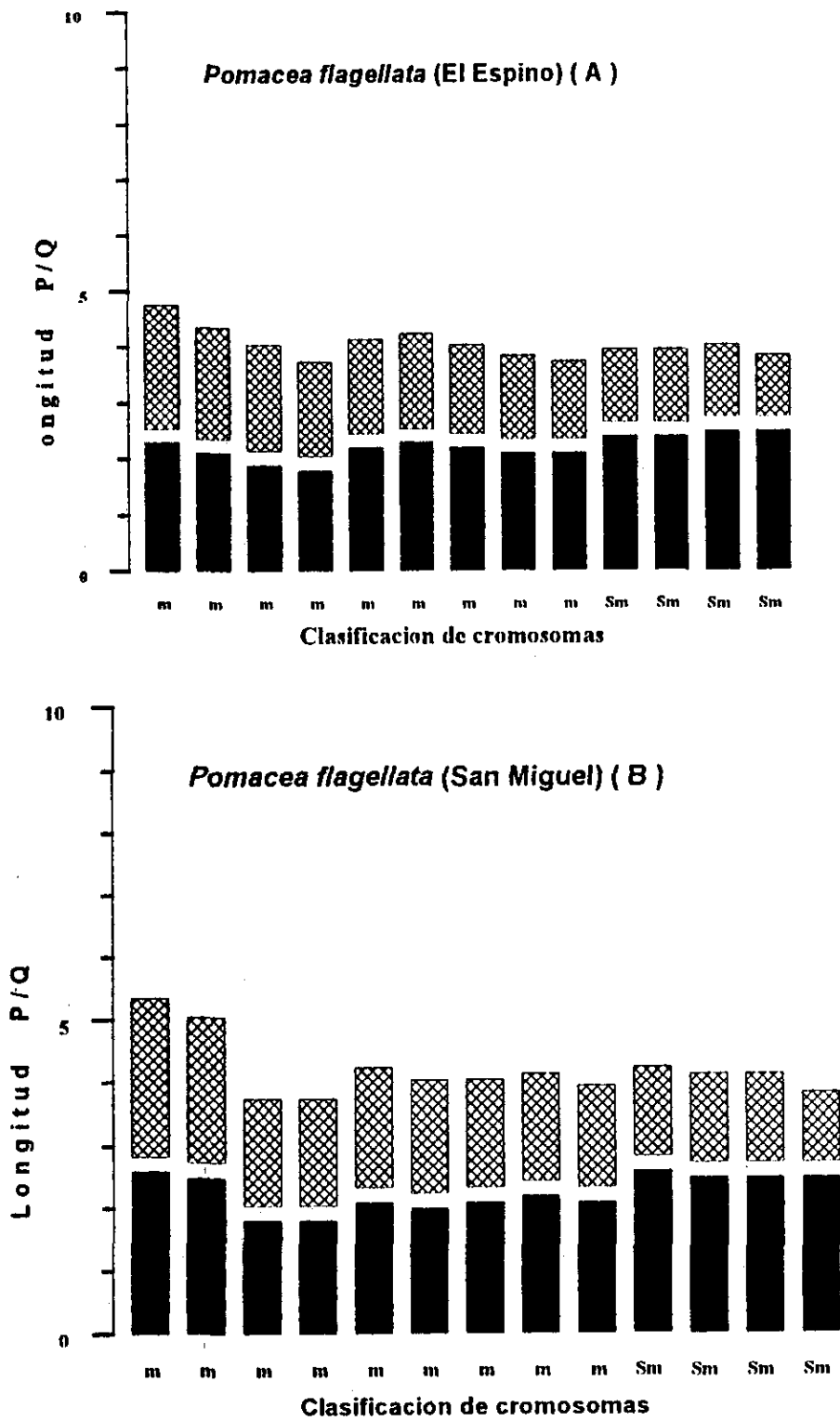


FIGURA 9.0 IDEOGRAMA DE *Pomacea flagellata* PROVENIENTE DE
 A) EL ESPINO B) SAN MIGUEL.

Tabla III. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea flagellata* proveniente de El Espino en el Estado de Tabasco

Cromosoma	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud Relativa	Índice Centroméric	Diferencia brazos	Proporción de brazos	Clasificación
1	2.2	2.3	4.5	89.11	50.00	0.000	1.0000	m
2	2.0	2.1	4.1	81.19	48.05	0.2912	1.0590	m
3	1.9	1.8	3.7	75.24	48.95	0.2912	1.0600	m
4	1.7	1.8	3.5	70.29	49.14	0.2912	1.0600	m
5	1.7	2.2	3.9	77.23	44.10	1.2280	1.2780	m
6	1.7	2.3	4.0	77.23	42.56	1.5254	1.3660	m
7	1.6	2.2	4.8	95.05	33.75	1.4163	1.3330	m
8	1.5	2.1	3.6	71.29	41.11	1.7012	1.4100	m
9	1.4	2.1	3.5	69.31	39.14	2.0948	1.5300	m
10	1.3	2.4	3.7	73.27	35.14	2.9328	1.8300	Sm
11	1.3	2.4	3.7	73.27	35.14	2.9328	1.8300	Sm
12	1.3	2.5	3.8	75.24	33.69	3.2885	1.9800	Sm
13	1.1	2.5	3.6	71.29	31.11	3.7694	2.2100	Sm
Promedio	1.5538	2.1231		76.69	42.56			
Desviación estándar	0.3099	0.1878		7.40	7.14			

Tabla IV. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea flagellata* proveniente de San Miguel en el Estado de Tabasco.

Pares cromosómicos	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud relativa	Índice Centromérico	Diferencia	Proporción de brazos	Clasificación
1	2.5	2.6	5.1	99.41	48.10	0.1492	1.0303	m
2	2.3	2.5	4.8	93.56	48.00	0.4164	1.0869	m
3	1.7	1.8	3.5	68.22	48.60	0.2856	1.0588	m
4	1.7	1.8	3.5	68.22	48.60	0.2856	1.0588	m
5	1.9	2.1	4.0	77.97	47.48	0.4997	1.1052	m
6	1.8	2.0	3.8	74.07	47.41	2.2196	1.055	m
7	1.7	2.1	3.8	74.07	44.71	0.0527	1.2353	m
8	1.7	2.2	3.9	76.02	43.40	1.5318	1.2941	m
9	1.6	2.1	3.7	72.12	42.32	1.3514	1.3125	m
10	1.4	2.6	4.0	77.92	35.00	2.9998	1.8571	Sm
11	1.4	2.5	3.9	76.02	35.90	2.8204	1.7857	Sm
12	1.4	2.5	3.9	76.02	35.90	2.8204	1.7857	Sm
13	1.1	2.5	3.6	70.17	30.61	3.8888	2.2727	Sm
Promedio	1.8231	2.2615		76.92	43.32			
Desviación estándar	0.5464	0.3948		8.90	5.69			

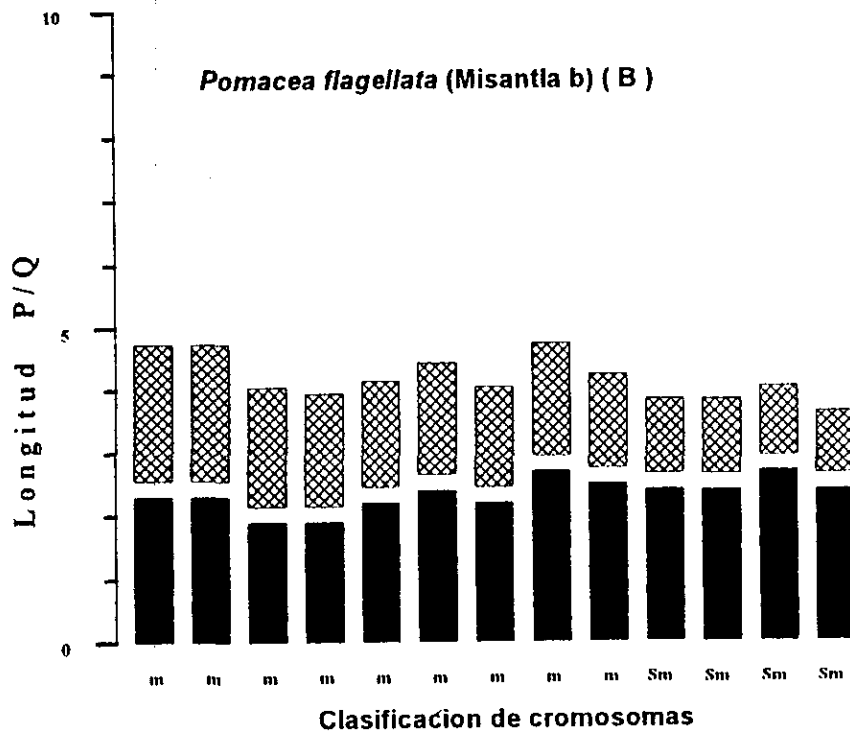
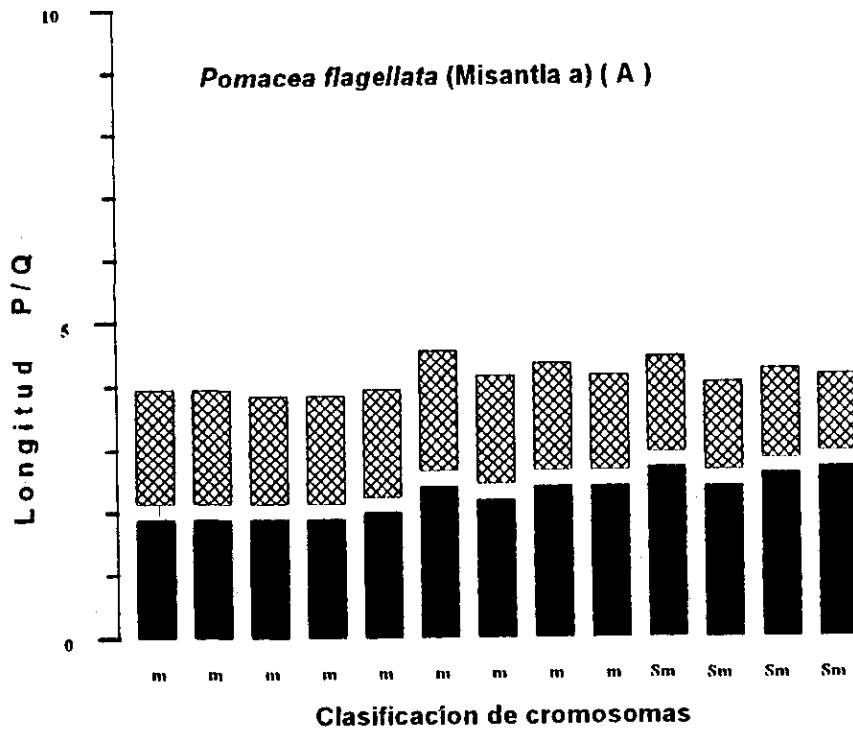


FIGURA 10.0 IDEOGRAMA DE *Pomacea flagellata* PROVENIENTE DE :

A) MISANTLA a B) MISANTLA b

Tabla V. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea flagellata* proveniente de Misantla (a) en el Estado de Veracruz

Pares cromosómicos	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud Relativa	Índice Centromérico	Diferencia brazos	Proporción de brazos	Clasificación
1	1.8	1.9	3.7	74.89	49.05	0.2676	1.0550	m
2	1.8	1.9	3.7	74.89	48.02	0.2676	1.0550	m
3	1.7	1.9	3.6	72.87	47.59	0.5570	1.1180	m
4	1.7	1.9	3.6	72.87	47.59	0.5570	1.1180	m
5	1.7	2.0	3.7	74.89	45.95	0.8088	1.1760	m
6	1.9	2.4	4.3	87.04	44.41	1.1629	1.2630	m
7	1.7	2.2	3.9	78.95	42.88	1.2819	1.2940	m
8	1.7	2.4	4.1	83.00	41.19	1.7070	1.4110	m
9	1.5	2.4	3.9	78.95	38.85	2.3077	1.6000	m
10	1.5	2.7	3.2	64.77	37.24	2.8571	1.8000	Sm
11	1.4	2.4	3.8	76.92	36.35	2.6316	1.7140	Sm
12	1.4	2.6	4.0	80.97	34.71	2.9990	1.8570	Sm
13	1.2	2.7	3.9	78.95	30.97	3.8461	2.2500	Sm
Promedio	1.6154	2.2615		76.92	41.91			
Desviación estándar	0.1994	0.3124		5.27	5.62			

Tabla VI. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea flagellata* proveniente de Misantla (b) en el Estado de Veracruz

Pares cromosómicos	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud relativa	Índice Centromérico	Diferencia brazos	Proporción de brazos	Clasificación
1	2.2	2.3	4.5	93.25	49.77	0.0299	1.0060	m
2	2.2	2.3	2.5	50.99	48.35	0.3335	1.0690	m
3	1.9	1.9	3.8	78.94	49.70	0.0249	1.0050	m
4	1.8	1.9	3.7	76.39	48.80	0.3521	1.0730	m
5	1.7	2.2	3.9	80.55	43.66	2.2420	1.2890	m
6	1.8	2.4	4.2	85.76	42.77	1.4090	1.3280	m
7	1.6	2.2	3.8	79.72	42.15	1.5890	1.3780	m
8	1.8	2.7	3.5	72.85	40.80	1.8200	1.4450	m
9	1.5	2.5	4.0	83.26	37.98	2.4980	1.6660	m
10	1.2	2.4	3.6	74.93	33.33	3.3330	2.0000	Sm
11	1.2	2.4	3.6	74.93	32.60	3.3330	2.0000	Sm
12	1.1	2.7	3.8	79.10	28.90	4.2010	2.4540	Sm
13	1.0	2.4	3.4	68.69	28.72	4.0830	2.3800	Sm
Promedio	1.6924	2.4077		76.87	40.58			
Desviación estándar	0.5751	0.3640		9.53	7.40			

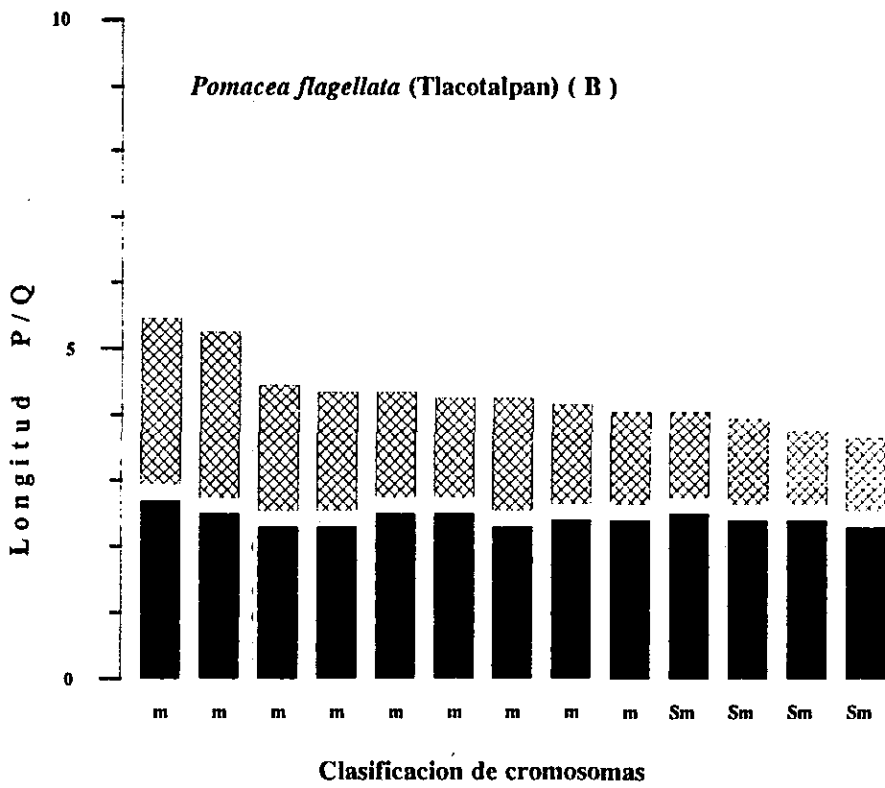
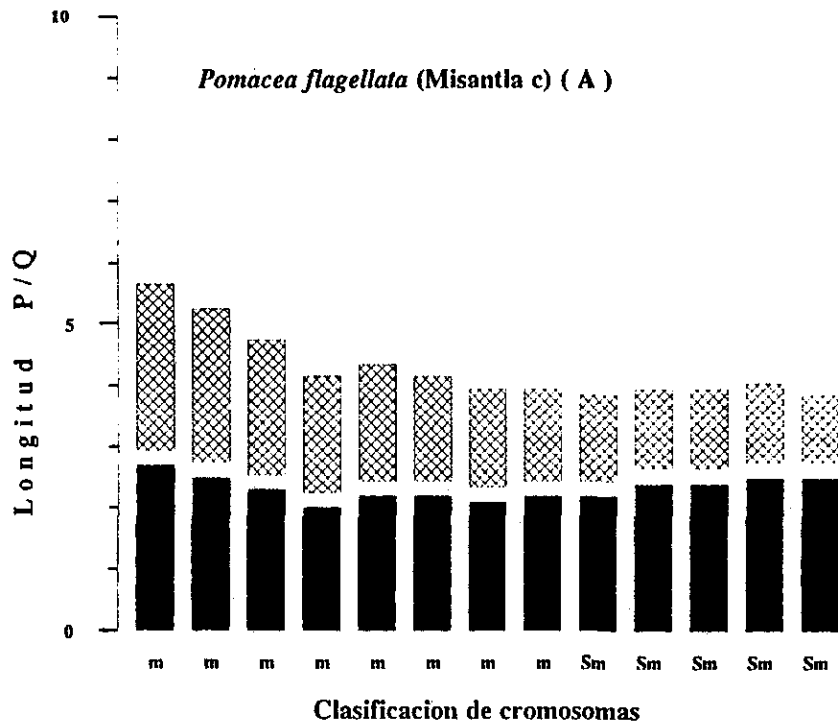


FIGURA 11.0 IDEOGRAMA DE *Pomacea flagellata* PROVENIENTE DE :

A) MISANTLA c B) TLACOTALPAN.

Tabla VII. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea flagellata* proveniente de Misantla (c) en el Estado de Veracruz

Pares cromosómicos	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud Relativa	Índice Centromérico	Diferencia brazos	Proporción de brazos	Clasificación
1	2.7	2.7	5.4	102.6	50.42	0.0000	1.0000	m
2	2.5	2.5	5.1	96.95	50.90	0.0398	1.0080	m
3	2.2	2.3	4.5	85.55	49.44	0.2219	1.0450	m
4	1.9	2.0	3.9	74.14	48.44	0.2563	1.0520	m
5	1.9	2.2	4.1	77.95	47.05	0.7317	1.1580	m
6	1.7	2.2	3.9	74.14	43.70	1.2812	1.2940	m
7	1.6	2.1	3.7	70.34	43.24	1.3514	1.3130	m
8	1.5	2.2	3.7	70.34	40.66	1.8916	1.4660	m
9	1.4	2.2	3.6	68.44	38.89	2.2220	1.5710	m
10	1.3	2.4	3.7	70.34	35.31	2.9731	1.8460	Sm
11	1.3	2.4	3.7	70.34	35.31	2.9731	1.8460	Sm
12	1.3	2.5	3.8	72.24	33.6.0	3.1579	1.9230	Sm
13	1.1	2.5	3.6	68.44	30.75	3.8880	2.2720	Sm
Promedio	1.7308	2.3077		76.92	42.39			
Desviación estándar	0.4889	0.1977		10.81	6.44			

Tabla VIII. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea flagellata* proveniente de Tlacotalpan en el Estado de Veracruz

Pares cromosómicos	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud relativa	Índice Centromérico	Diferencia brazos	Proporción de brazos	Clasificación
1	2.5	2.7	5.2	99.16	48.26	0.3475	1.0720	m
2	2.5	2.5	5.0	94.75	49.49	0.0990	1.0200	m
3	1.9	2.3	4.2	75.08	48.32	0.3335	1.0690	m
4	1.8	2.3	4.1	79.44	43.86	1.2281	1.2800	m
5	1.6	2.5	4.1	77.53	38.27	2.3460	1.6130	m
6	1.5	2.5	4.0	76.38	38.10	2.3809	1.6250	m
7	1.7	2.3	3.0	75.04	42.60	1.4784	1.3470	m
8	1.5	2.4	3.9	75.04	38.27	2.3459	1.6130	m
9	1.4	2.4	3.8	73.12	37.70	2.4614	1.6530	m
10	1.3	2.5	3.8	73.12	34.29	3.1413	1.9160	Sm
11	1.3	2.4	3.7	69.49	34.71	3.0580	1.8810	Sm
12	1.1	2.4	3.5	67.57	32.01	3.5979	2.1240	Sm
13	1.1	2.3	3.4	65.28	32.55	3.4895	2.0720	Sm
Promedio	1.7077	2.4000		76.92	39.88			
Desviación estandard	0.5590	0.1633		9.37	5.84			

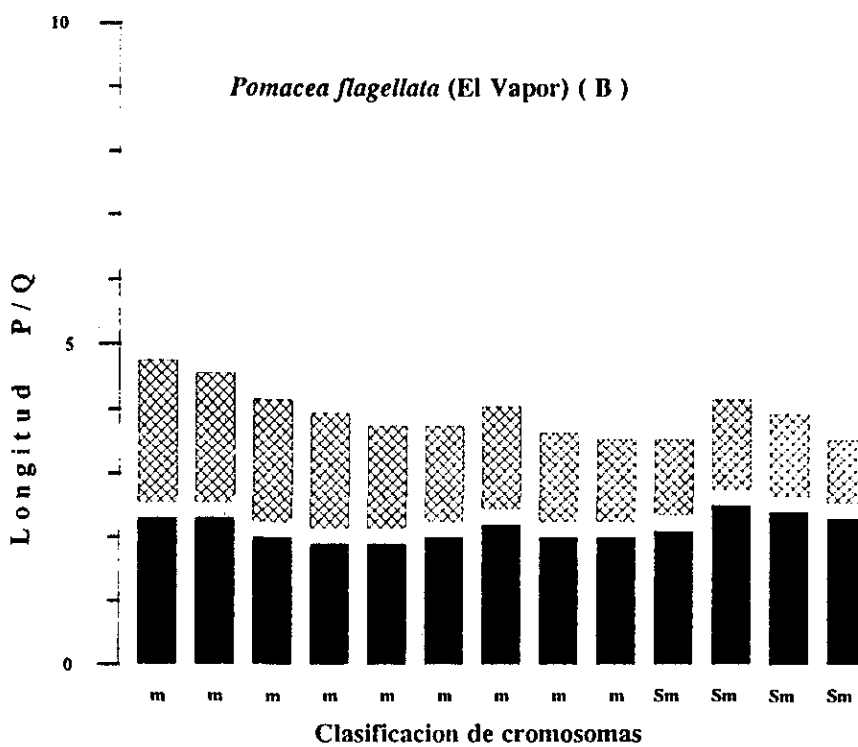
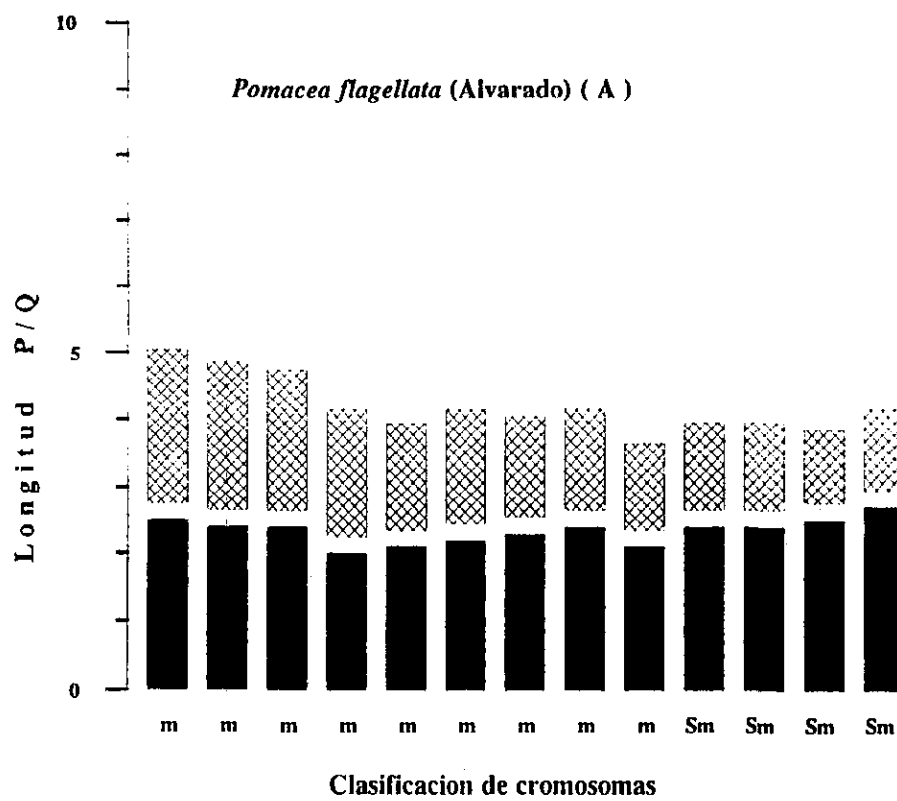


FIGURA 12.0 IDEOGRAMA DE *Pomacea flagellata* PROVENIENTE DE :

A) ALVARADO B) EL VAPOR.

Tabla IX. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea flagellata* proveniente de Alvarado en el Estado de Veracruz

Pares cromosómicos	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud Relativa	Índice Centromérico	Diferencia brazos	Proporción de brazos	Clasificación
1	2.3	2.5	4.8	92.84	47.91	0.4168	1.087	m
2	2.2	2.4	4.6	88.97	47.82	0.4347	1.090	m
3	2.1	2.4	4.5	87.04	46.66	0.6529	1.142	m
4	1.9	2.0	3.9	75.43	48.71	0.2534	1.052	m
5	1.6	2.1	3.7	71.56	43.24	1.3494	1.312	m
6	1.7	2.2	3.9	75.43	43.58	1.2816	1.294	m
7	1.6	2.3	3.9	75.43	41.02	1.7932	1.437	m
8	1.5	2.4	3.9	75.43	38.46	2.3076	1.600	m
9	1.5	2.1	3.6	69.63	41.66	1.6660	1.400	m
10	1.3	2.4	3.7	71.56	35.13	2.9725	1.846	Sm
11	1.3	2.4	3.7	71.56	35.13	2.9725	1.846	Sm
12	1.1	2.5	3.6	69.63	30.55	3.8875	2.273	Sm
13	1.2	2.7	3.9	75.43	30.77	3.8462	2.250	Sm
Promedio	1.6462	2.3308		76.85692	41.03			
Desviación estándar	0.3799	0.1932		7.231114	5.97			

Tabla X. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie *Pomacea flagellata* proveniente de El Vapor en el Estado de Campeche.

Pares cromosómicos	Brazo P	Brazo Q	P+Q	Longitud Relativa	Índice Centromérico	Diferencia	Proporción de brazos	Clasificación
1	2.2	2.3	4.5	93.55	48.89	0.2220	1.0454	m
2	2.0	2.3	4.3	89.39	48.29	0.69760	1.1500	m
3	1.9	2.0	3.9	81.08	49.36	0.2560	1.0526	m
4	1.8	1.9	3.7	76.92	47.94	0.2700	1.0555	m
5	1.6	1.9	3.5	72.77	45.67	0.8570	1.1875	m
6	1.5	2.0	3.5	72.77	42.86	0.4280	1.3333	m
7	1.6	2.2	3.8	79.00	42.11	1.5790	1.3750	m
8	1.4	2.0	3.4	70.69	41.18	1.7650	1.4285	m
9	1.3	2.0	3.3	68.60	39.40	1.1210	1.5385	m
10	1.2	2.1	3.3	68.60	36.36	2.7270	1.7500	Sm
11	1.4	2.5	3.9	81.08	35.90	2.8200	1.7857	Sm
12	1.3	2.4	3.7	76.92	34.23	3.6580	2.1538	Sm
13	1.0	2.3	3.3	68.60	30.30	0.9090	2.3000	Sm
Promedio	1.5538	2.1462		76.92077	41.73			
Desviación estándar	0.3431	0.1984		7.605264	5.97			

Tabla XI. Valores Comparativos entre pares de cromosomas $n=13$, de las diferentes poblaciones de *P. flagellata* y *P. patula catemacensis*, para las diferentes localidades en estudio.

Localidad	metacéntricos.	submetacéntricos	Longitud Relativa	Índice Centromérico
Catemaco	9	4	53.03 - 106.37	32.80 - 45.49
Alvarado	9	4	69.63 - 92.84	30.55 - 48.71
Tlacotalpan	9	4	65.28 - 99.16	32.01 - 49.44
Misantla (a)	9	4	64.77 - 87.04	30.97 - 49.04
Misantla (b)	9	4	50.99 - 93.25	28.72 - 49.77
Misantla (c)	9	4	68.44 - 102.6	30.74 - 50.90
El Espino	9	4	69.31 - 95.05	31.11 - 50.00
San Miguel	9	4	68.22 - 99.41	30.6 - 48.90
El Vapor	9	4	68.60 - 93.55	30.30 - 49.36

A



B



(A) " El Espino " Estado de Tabasco

(B) " San Miguel " Estado de Tabasco

FIGURA 13.0 CARIOTIPOS REPRESENTATIVOS DE LA ESPECIE *Pomacea flagellata*.



D



E



(C) Misantra (a) Estado de Veracruz
 (D) Misantra (b) Estado de Veracruz
 (E) Misantra (c) Estado de Veracruz

F



G



H



(F) Tlacotalpan
(G) Alvarado
(H) " El Vapor

Estado de Veracruz
Estado de Veracruz
Estado de Campeche

Comparación de longitudes relativas en pares cromosómicos n=13

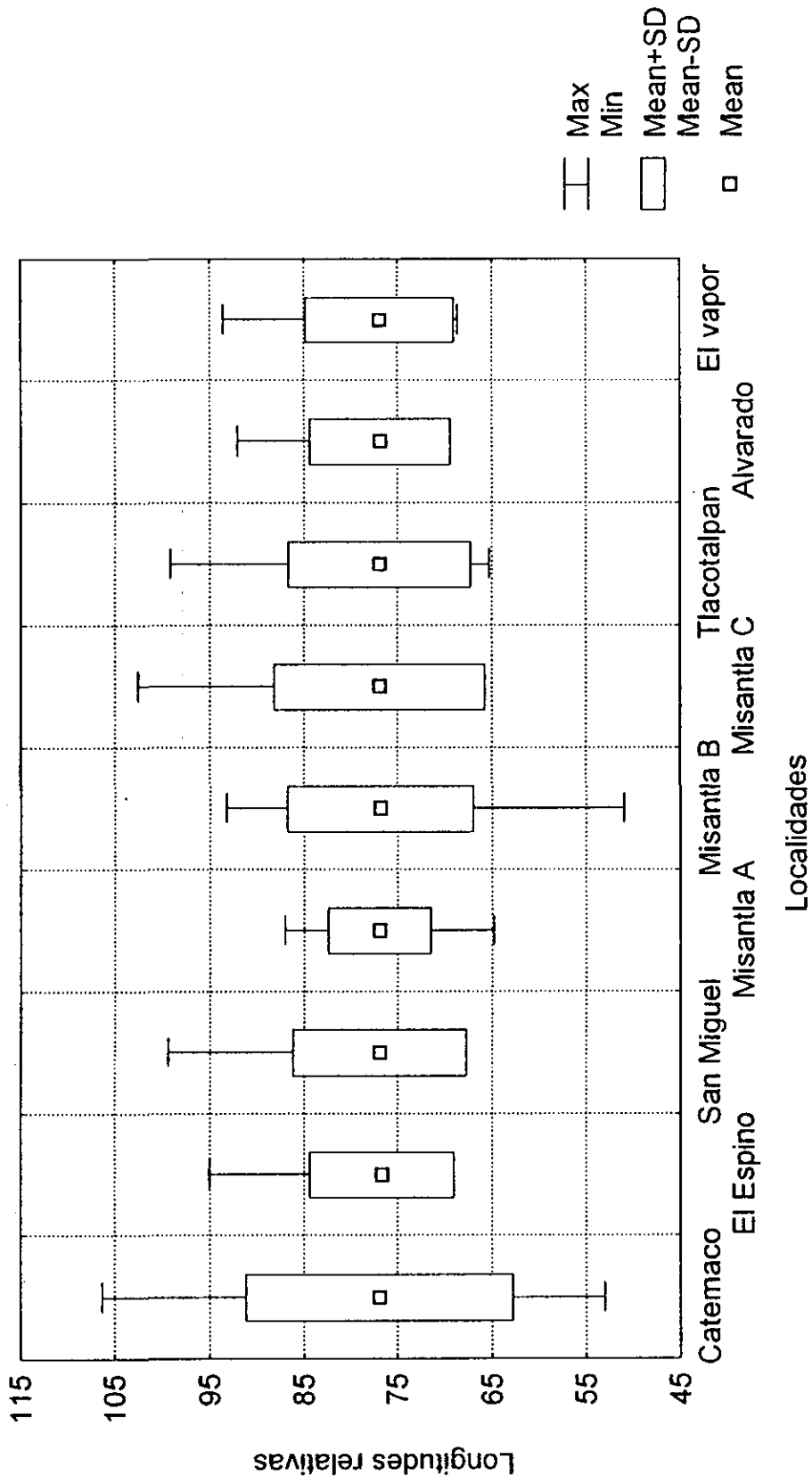
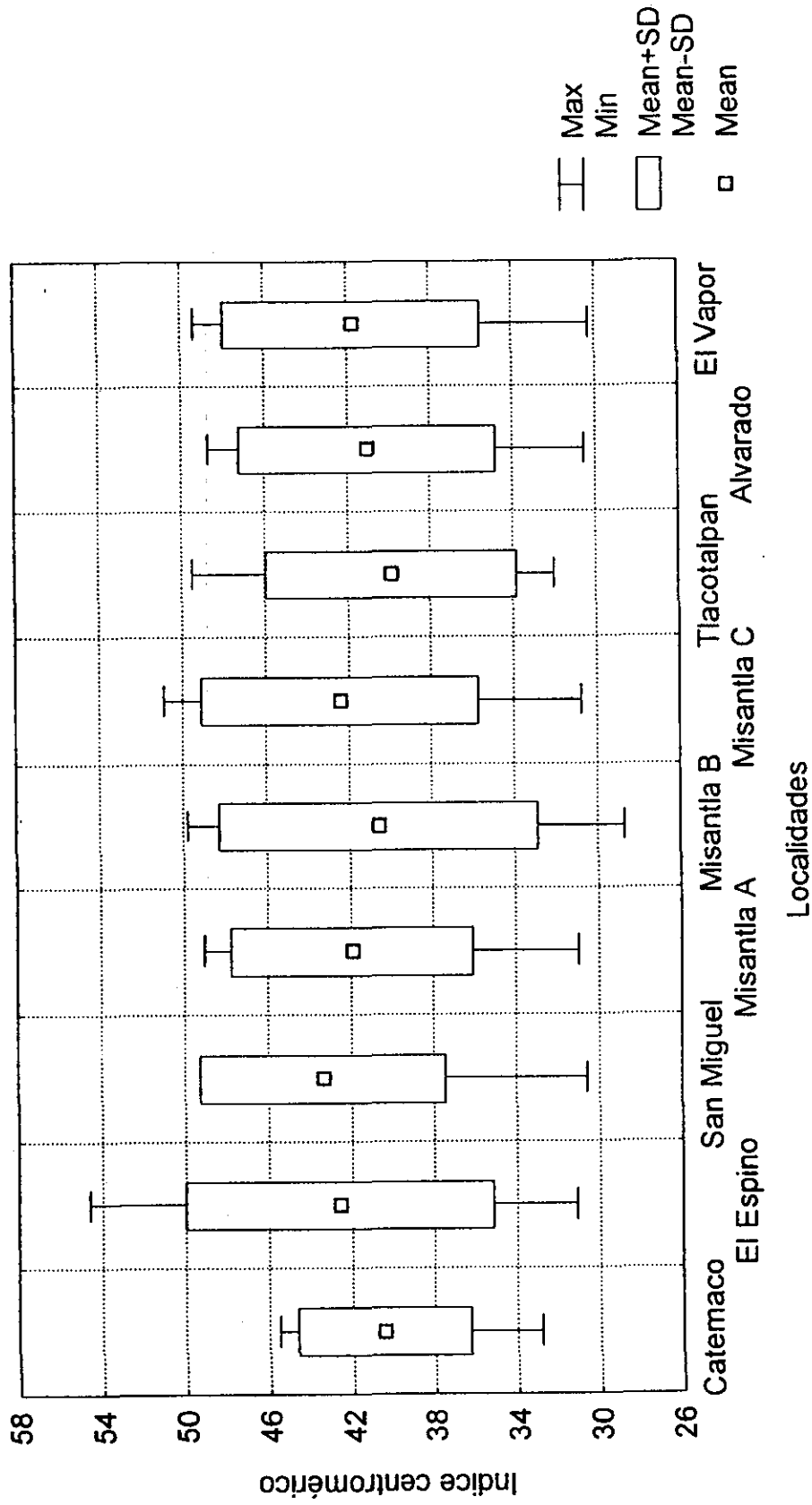


FIGURA 14.0 COMPARACIONES DE LONGITUDES RELATIVAS

Comparación de índices centroméricos en pares cromosómicos n= 13



54 FIGURA 15.0 COMPARACIONES DE INDICE CENTROMÉRICO

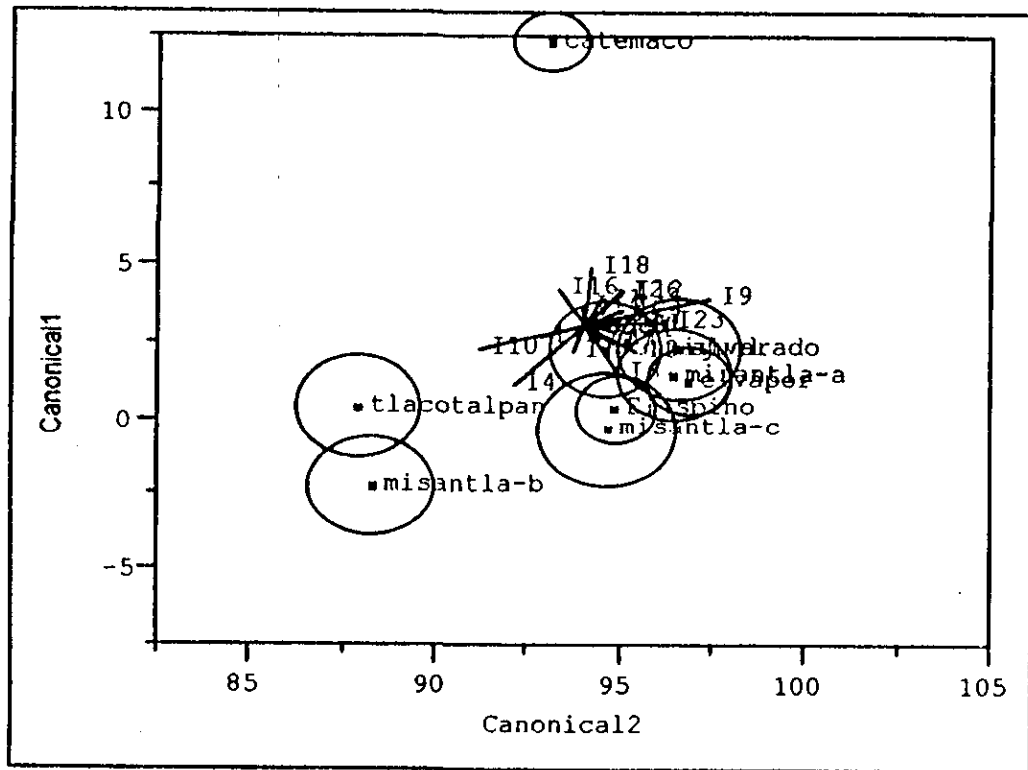


FIGURA 16a VALÓRES CANÓNICAS PARA INDICE CENTROMÉRICO

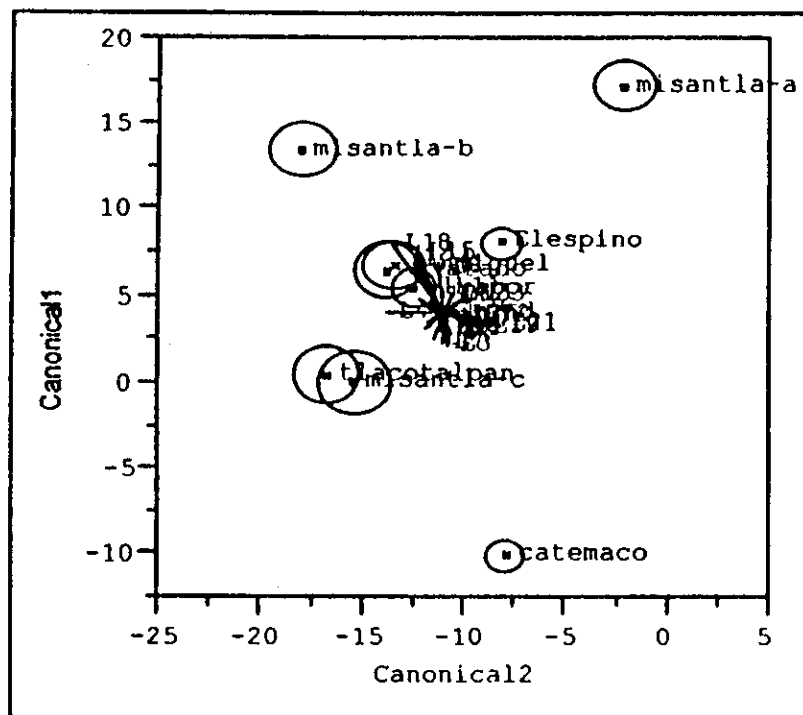


FIGURA 16b VALORES CANÓNICAS PARA LONGITUD RELATIVA

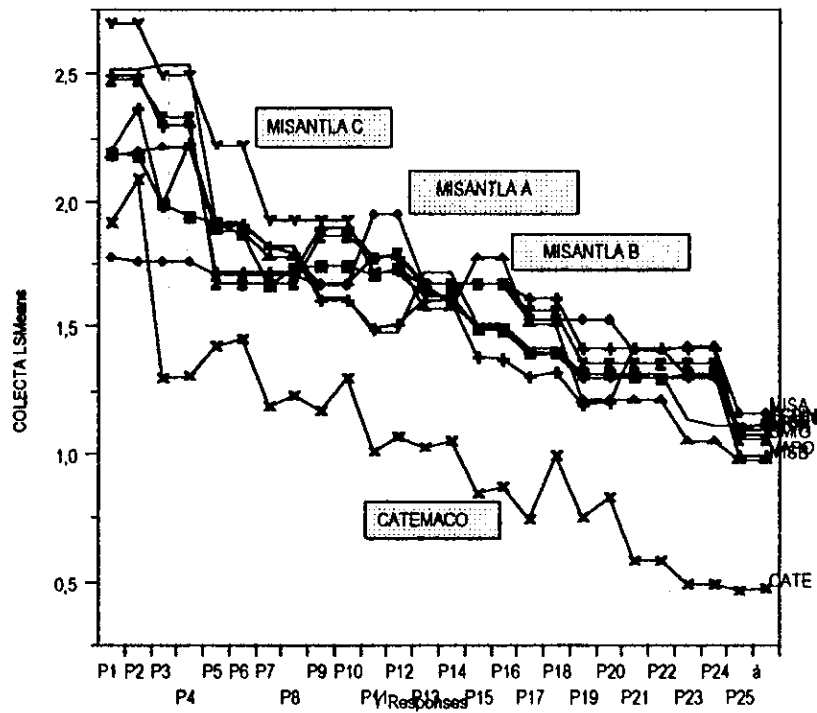
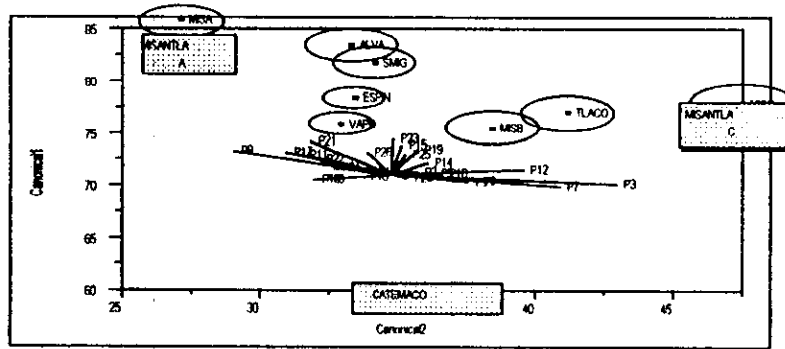


FIGURA 17.0 ANÁLISIS DISCRIMINANTE PARA VALORES DE PROPORCIÓN DE BRAZOS (BRAZO P)



• CA1

FIGURA 17 a VALORES CANÓNICAS PARA PROPORCIÓN DE BRAZOS (BRAZO P)

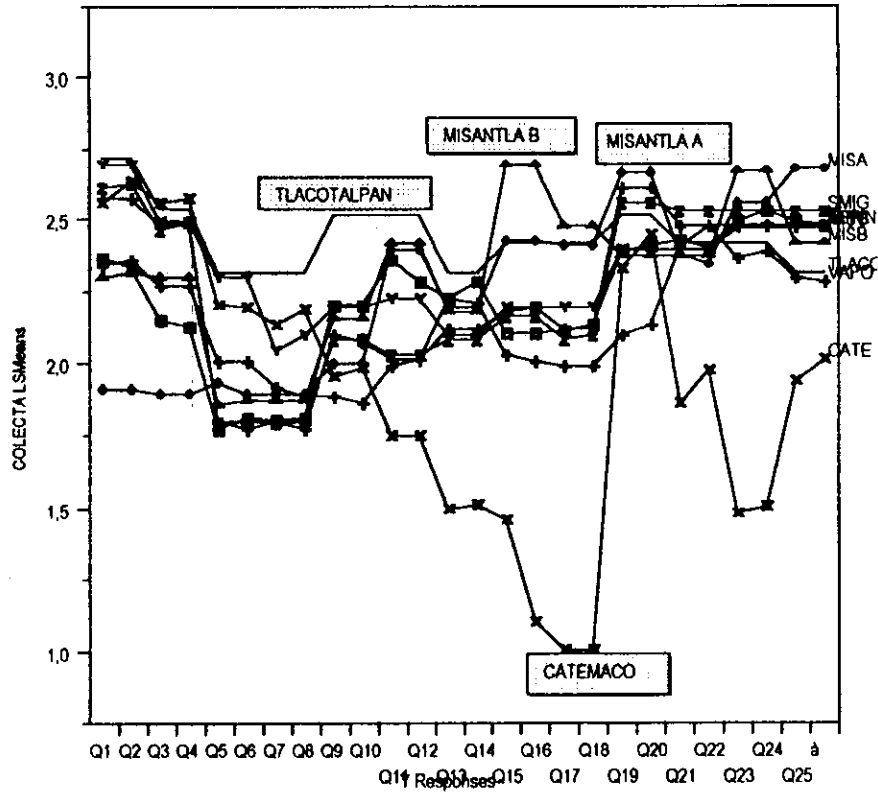


FIGURA 18.0 ANÁLISIS DISCRIMINANTE PARA VALORES DE PROPORCIÓN DE BRAZOS (BRAZO Q)

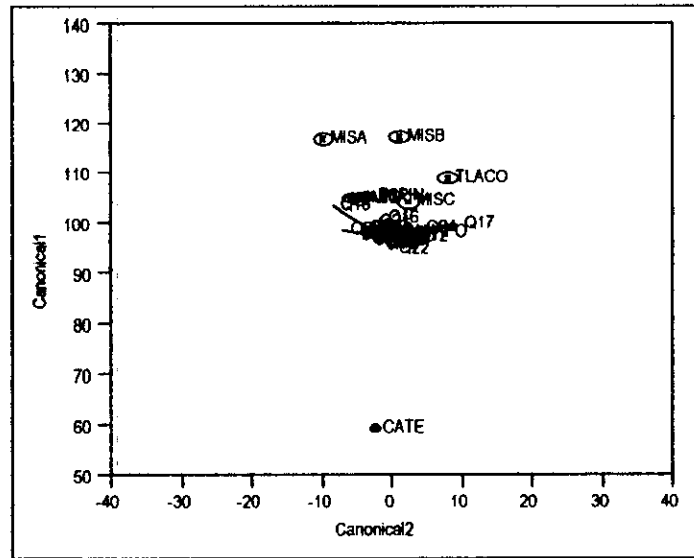
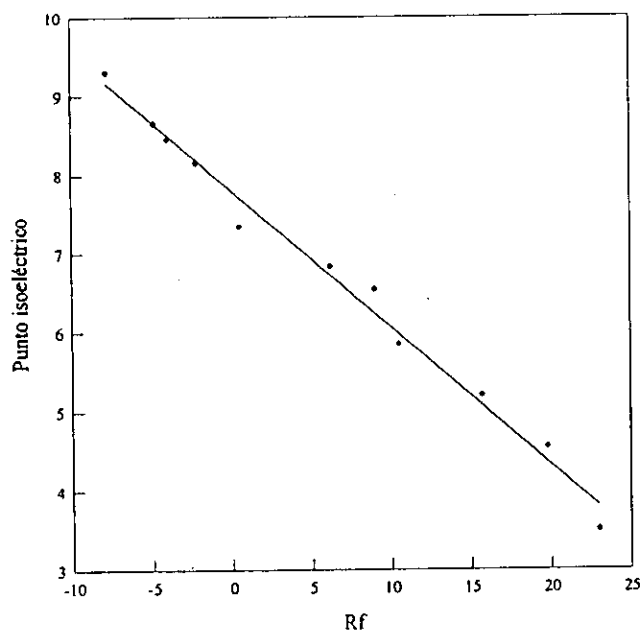


FIGURA 18 a VALORES CANÓNICAS PARA PROPORCIÓN DE BRAZOS (BRAZO Q)

4.2 ESTUDIOS ELECTROFORÉTICOS

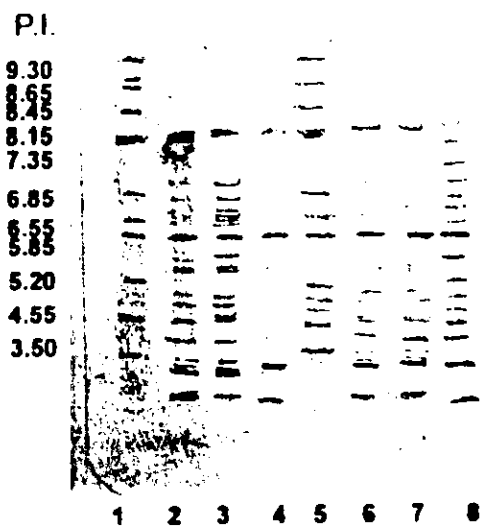
4.2.1. Punto isoelectrico.

Se realizaron corrimientos de enfoque isoelectrico con muestras de organismos del género *Pomacea* colectados en diferentes localidades considerando 5 muestras de cada localidad. Para encontrar la concentración de proteína más adecuada fueron probadas 5 concentraciones (1.0, 1.5, 2.0, 3.0 y 5.0 mg/ml). La concentración de 3 mg/ml fué la mas apropiada con base en el número de bandas y la intensidad de las mismas. Es decir, era necesario buscar una concentración apropiada que permitiera detectar el mayor número de bandas sin llegar a una saturación del gel que impidiera la identificación de las mismas. En los patrones electroforéticos se observa que predominan las proteínas con punto isoelectrico ácido. De hecho las proteínas más abundantes tienen puntos isoelectricos de 3.0, 3.5, 4.0, 5.0 y 5.8 (bandas más intensas). Las muestras tomadas de las diferentes regiones mostraron gran semejanza en sus patrones electroforéticos, sin embargo, hay diferencias cuantitativas, esto es, existe la misma proteína pero a una concentración diferente lo que se puede apreciar en la intensidad de las bandas. Los resultados fueron presentados en las Figuras 19, 20 y en las Tablas XII y XIII, así como en las Tablas XVIA -XVIB las similitudes en las bandas de proteínas (Punto Isoelectrico) en las diferentes regiones del Sureste de México.



(A)

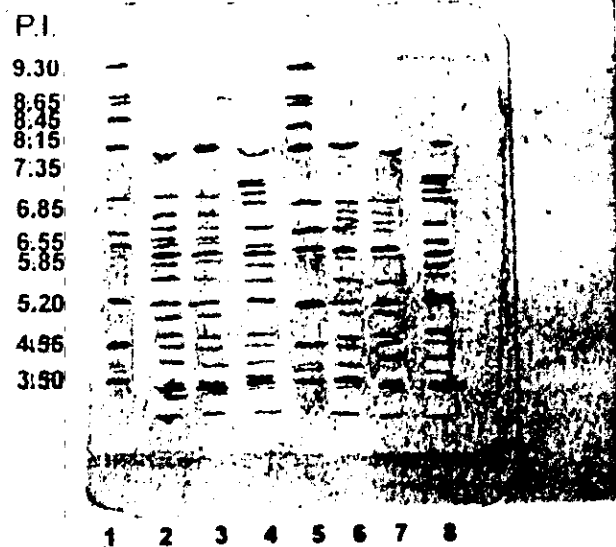
Factor de correlación



(B)

FIGURA 19.0 ENFOQUE ISOELECTRICO DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS A PARTIR DE LOS ORGANISMOS DE LAS DOS ESPECIES DEL GÉNERO *Pomacea* EN DIFERENTES REGIONES DEL ESTADO DE VERACRUZ. EL CARRIL

1) CORRESPONDE A PATRONES, 2) MISANTLA "c", 3) MISANTLA "a", 4) MISANTLA "b", 5) PATRONES, 6) ALVARADO, 7) TLACOTALPAN Y 8) CATEMACO.



Pomacea (B)

FIGURA 20.0 ENFOQUE ISOELÉCTRICO DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS A PARTIR DE LOS ORGANISMOS COLECTADOS DEL GÉNERO, DE DIFERENTES REGIONES DEL SURESTE MEXICANO.

1) PATRONES, 2) "EL ESPINO" EN TABASCO, 3) "EL VAPOR" EN CAMPECHE, 4) CATEMACO EN VERACRUZ, 5) PATRONES, 6) "SAN MIGUEL" EN TABASCO, 7) "EL ESPINO" Y 8) CATEMACO.

Tabla XII. Punto isoelectrico de las proteínas encontradas en los extractos de *Pomacea patula catemacensis*.

Banda	Punto isoelectrico
1	7.0
2	6.8
3	6.7
4	6.3
5	6.0
6	5.9
7	5.6
8	5.4
9	5.0
10	4.5
11	4.2
12	4.0
13	3.8
14	3.6
15	3.0

Tabla XIII. Punto isoelectrico de las proteínas encontradas en los extractos de *Pomacea flagellata*.

Banda	Punto isoelectrico
1	7.6
2	6.6
3	6.4
4	6.3
5	6.2
6	6.2
7	6.9
8	5.6
9	5.4
10	5.0
11	4.8
12	4.5
13	4.1
14	3.8
15	3.6
16	3.5
17	3.1

Género	Punto Isoeléctrico								
<i>Pomacea</i>									
	9.30	1	0	0	0	1	0	0	0
	8.65	1	0	0	0	1	0	0	0
	8.45	1	0	0	0	1	0	0	0
	8.15	1	0	0	0	1	0	0	0
	7.35	1	0	0	0	1	0	0	0
	7.10	0	0	0	0	0	0	0	1
	7.00	0	0	0	0	0	0	0	1
	6.85	1	1	1	1	1	1	1	1
	6.70	0	1	1	1	0	1	1	1
	6.60	0	1	1	1	0	1	1	1
	6.55	1	1	1	1	1	1	1	1
	6.40	0	1	1	1	0	1	1	1
	5.90	0	1	1	1	0	1	1	1
	5.85	1	1	1	1	1	1	1	1
	5.20	1	1	1	1	1	1	1	1
	5.00	0	1	1	1	0	1	1	1
	4.55	1	1	1	1	1	1	1	1
	3.80	0	1	1	1	0	1	1	1
	3.50	1	1	1	1	1	1	1	1
	3.10	0	1	1	1	0	1	1	1
	3.00	0	1	1	1	0	1	1	1
LOCALIDADES		1	2	3	4	5	6	7	8
		1	Bandas Patrón			5	Bandas Patrón		
		2	Misantla C			6	Alvarado		
		3	Misantla A			7	Tlacotalpan		
		4	Misantla B			8	Laguna de Catemaco		

TABLA XVI A Datos correspondientes a la Figura 19

0 proteína ausente
1 proteína presente

Similitudes en las bandas de proteínas (punto isoeléctrico) en diferentes regiones del Sureste de México.

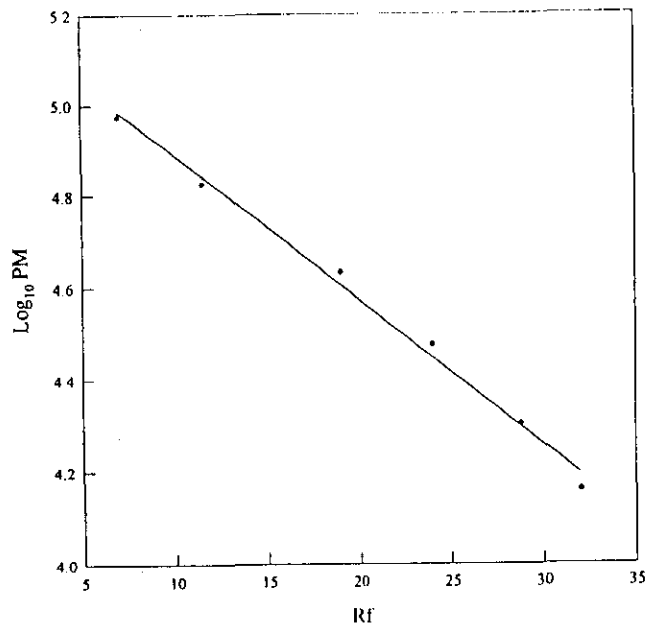
Genero	Punto Isoeléctrico								
<i>Pomacea</i>	9.30	1	0	0	0	1	0	0	0
	8.65	1	0	0	0	1	0	0	0
	8.45	1	0	0	0	1	0	0	0
	8.15	1	0	0	0	1	0	0	0
	7.35	1	0	0	0	1	0	0	0
	7.10	0	0	0	1	0	0	0	1
	7.00	0	0	0	1	0	0	0	1
	6.85	1	1	1	1	1	1	1	1
	6.70	0	1	1	1	0	1	1	1
	6.60	0	1	1	1	0	1	1	1
	6.55	1	1	1	1	1	1	1	1
	6.40	0	1	1	1	0	1	1	1
	5.90	0	1	1	1	0	1	1	1
	5.85	1	1	1	1	1	1	1	1
	5.20	1	1	1	1	1	1	1	1
	5.00	0	1	1	1	0	1	1	1
	4.55	1	1	1	1	1	1	1	1
	3.80	0	1	1	1	0	1	1	1
	3.50	1	1	1	1	1	1	1	1
	3.10	0	1	1	1	0	1	1	1
	3.00	0	1	1	1	0	1	1	1
Localidades		1	2	3	4	5	6	7	8
		1	Bandas Patrón			5	Bandas Patrón		
		2	El Espino, Tabasco			6	San Miguel, Tabasco		
		3	El Vapor, Campeche			7	El Espino, Tabasco		
		4	Laguna de Catemaco			8	Laguna de Catemaco		

TABLA XVI B Datos correspondientes a la Figura 20

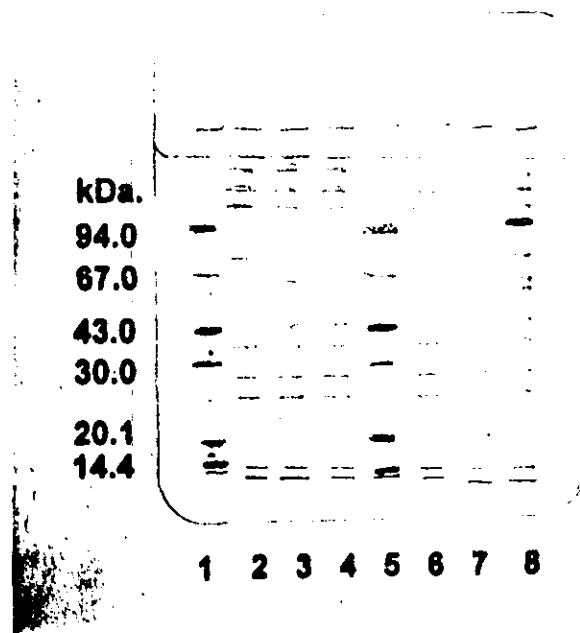
0 proteína ausente
1 proteína presente

4.2.2. Peso molecular.

Los homogenados obtenidos de los caracoles de cada zona muestreada se aplicaron en geles de poliacrilamida nativos, este tipo de geles permiten la separación de proteínas en base a su tamaño, carga neta y conformación (Phast Gel Pharmacia Biotech., native buffer strips). Las mezclas protéicas se aplicaron en forma nativa en dichos geles, es decir, sin condiciones desnaturizantes y se les determinó el peso molecular. Los resultados se pueden observar en las Figuras 21, 22 y en las tablas XIV y XV, en donde se puede apreciar que la mayor parte de las proteínas presentes en los extractos poseen un peso molecular entre 40,000 y 130,000 daltones, siendo las más abundantes las de pesos moleculares altos (entre 120 y 130 Kd). Las muestras provenientes de Catemaco presentaron una banda diferente que corresponde a un peso molecular de 93,000 Kd, la cual no se presentó en los extractos de *Pomacea flagellata*, como lo ilustra las similitudes en las bandas de proteínas (Peso Molecular) en diferentes regiones del Sureste de México, Tablas XVIIA-XVIIIB.



Factor de correlación
(A)



(B)

FIGURA 21.0 ELECTROFORÉISIS NATIVA DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS A PARTIR DE LOS ORGANISMOS COLECTADOS EN DIFERENTES REGIONES DEL ESTADO DE VERACRUZ. EL CARRIL

1) CORRESPONDE A PATRONES, 2) MISANTLA "c", 3) MISANTLA "a", 4) MISANTLA "b", 5) PATRONES, 6) ALVARADO, 7) TLACOTALPAN Y 8) CATEMACO.

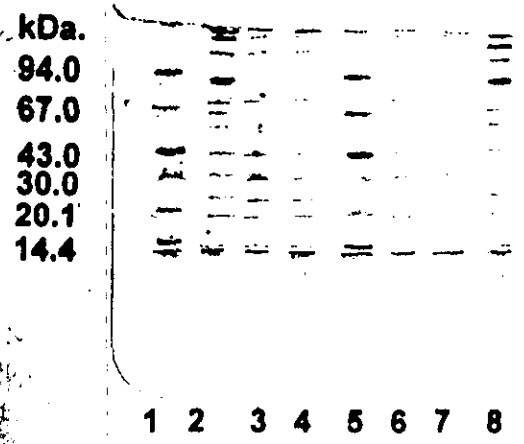


FIGURA 22.0 ELECTROFORÉISIS NATIVA DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS A PARTIR DE LOS ORGANISMOS COLECTADOS EN DIFERENTES REGIONES DEL SURESTE MEXICANO

1) PATRONES, 2) CATEMACO EN VERACRUZ, 3) "EL VAPOR" EN CAMPECHE, 4) "EL ESPINO" TABASCO, 5) PATRONES, 6) "SAN MIGUEL" EN TABASCO, 7) "EL VAPOR" CAMPECHE Y 8) CATEMACO.

Tabla XIV. Peso Molecular de las proteínas encontradas en extractos de *Pomacea patula catemacensis*.

Banda	Peso Molecular
1	139000
2	129000
3	112000
4	93000
5	78000
6	67000
7	63000
8	50000
9	43000
10	34000
11	30000
12	16000
13	14000

Tabla XV. Peso Molecular de las proteínas encontradas en extractos de *Pomacea flagellata*

Banda	Peso molecular
1	140000
2	130000
3	112000
4	79000
5	65000
6	63000
7	50000
8	42000
9	34000
10	29500
11	16500
12	13000

Similitudes en las bandas de proteínas (Peso Moléculas) en diferentes regiones del Sureste de México.

Género	PM(Kda)	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Pomacea</i>	139.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	129.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	112.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	94.0	1	1	1	1	1	1	1	1
	93.0	0	0	0	0	0	0	0	1
	78.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	67.0	1	1	1	1	1	1	1	1
	63.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	50.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	43.0	1	1	1	1	1	1	1	1
	42.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	30.0	1	1	1	1	1	1	1	1
	20.1	1	1	1	1	1	1	1	1
	16.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	14.4	1	1	1	1	1	1	1	1
	13.0	1	1	1	1	0	1	1	1
LOCALIDADES		1	2	3	4	5	6	7	8

1	Bandas Patrón	5	Bandas Patrón
2	Misantla C	6	Alvarado
3	Misantla A	7	Tlacotalpan
4	Misantla B	8	Laguna de Catemaco

TABLA XVII A Datos correspondientes a la Figura 21

0 proteína ausente
1 proteína presente

Similitudes en las bandas de proteínas (Peso Molecular) en diferentes regiones del Sureste de México.

Género	PM(Kda)	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Pomacea</i>	139.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	129.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	112.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	94.0	1	1	1	1	1	1	1	1
	93.0	0	1	0	0	0	0	0	1
	78.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	67.0	1	1	1	1	1	1	1	1
	63.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	50.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	43.0	1	1	1	1	1	1	1	1
	42.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	30.0	1	1	1	1	1	1	1	1
	20.1	1	1	1	1	1	1	1	1
	16.0	0	1	1	1	0	1	1	1
	14.4	1	1	1	1	1	1	1	1
	13.0	1	1	1	1	1	1	1	1
LOCALIDADES		1	2	3	4	5	6	7	8
		1	Bandas Patrón			5	Bandas Patrón		
		2	Laguna de Catemaco			6	San Miguel, Tabasco		
		3	El Vapor Campeche			7	El Vapor Campeche		
		4	El Espino Tabasco			8	Laguna de Catemaco		

TABLA XVII B Datos correspondientes a la Figura 22

0 proteína ausente
1 proteína presente

5.0 DISCUSIÓN

Para el género *Pomacea*, la existencia de variaciones morfológicas provocadas por el medio ambiente, ha originado que los rasgos taxonómicos utilizados para la identificación y discriminación entre especies del mismo género, puedan ser erróneas en cuanto a su completa ubicación taxonómica. Las especies *Pomacea flagellata* y *Pomacea patula catemacensis* fueron clasificadas conforme a su conchiliología (Rangel, 1984 y 1987; Crosse y Fischer, 1890; Bequaert, 1957 y Baker, 1922). Sin embargo, este tipo de clasificación es subjetiva y poco precisa, ya que la morfología de la concha está directamente influenciada por las condiciones del medio ambiente, de tal manera que diferentes formas no implican necesariamente diferentes especies.

En ocasiones se presentan dificultades hacia la sistemática del género y/o especie, principalmente entre especies estrechamente emparentadas. Por lo que es necesario el manejo y uso de indicadores cuya estabilidad garantice la correcta clasificación e identificación de los organismos: a) Rasgos anatómicos, tanto de morfología interna como morfología externa, b) Diferenciación y clasificación de estadios larvarios, dentro de las relaciones filogenéticas, c) Estudios sobre la arquitectura cromosómica y d) Análisis detallado sobre la expresión molecular de los genes, tal es el caso de la quimiotaxonomía, todo esto como herramientas de apoyo dentro de la taxonomía. En el presente estudio, fueron empleados varios criterios citológicos y electroforéticos para diferenciar las especies y determinar la variabilidad entre ellas.

5.1 ESTUDIO CITOLÓGICO

Un criterio citotaxonomico aporta elementos para la clasificación y emparentamiento filogenético de los organismos. En el presente estudio el número cromosómico encontrado fué de: $2n=26$ para la especie *Pomacea patula catemacensis* colectada en la Laguna de Catemaco en el Estado de Veracruz, con una fórmula cromosómica de 9 pares mediocéntricos y 4 submetacéntricos, igualmente para la especie *Pomacea flagellata* procedente de los Estados de Veracruz, Tabasco y Campeche del Sureste de México, el número cromosómico encontrado fué de $2n=26$, con una fórmula cromosómica de 9 pares mediocéntricos y 4 Submetacéntricos.

Enunciando algunos análisis cromosómicos efectuados dentro del género *Pomacea* procedentes de Sur América, como los reportados por Kawano, (1990) y Brand, (1990), *Pomacea sp.* y *Pomacea canaliculata* respectivamente, presentan una fórmula cromosómica de 9 mediocéntricos, 4 submetacéntricos y un subtelocéntrico, ambos con una diferencia fundamental en el último par. A este respecto White (1951), ha expresado que en ocasiones, cambios como la desaparición de un cromosoma en el caso de la evolución, se efectúa en los pares de cromosomas más pequeños y sugiere que entre más pequeño es el cromosoma, más fácil se incorpora a otro miembro del juego cromosómico; se ha descrito poliploidia en moluscos anfibios y dulceacuícolas, señalando multivalentes en la mitosis Barsiené, (1994) lo que nos lleva a la conclusión de que no existe un proceso evolutivo único, sosteniendo que ni siquiera existe un proceso evolutivo que explique la evolución de un taxón, como sugiere White (1968). Mayr, (1942) postuló que el aislamiento geográfico es el requisito previo para la aparición de una nueva especie (interrupción del flujo genético

entre el grupo aislado y el resto de la población), conocido como sistema de especiación alopátrica.

De la importancia adquirida en este tipo de estudios, se han desarrollado diversos análisis como la citogenética, que ayuda a la conformación de un criterio; el cariológico (comportamiento arquitectónico de los cromosomas); cuyos objetivos son el observar, revisar y analizar los cariotipos de cada especie; lo que ha favorecido el entendimiento de las causas por las que probablemente se haya dado un cierto reordenamiento cromosómico, aportando elementos para enmarcar a la evolución cariotípica entre especies.

Las especies mexicanas *Pomacea patula catemacensis* (Keb, 1986) y *Pomacea flagellata* (Diupotex, 1992), presentan gran similitud dentro de la morfología cromosómica principalmente en la posición del centrómero; para *P.p. catemacensis* los primeros 9 pares son mediocéntricos (m) y los 4 pares restantes son submetacéntricos (Sm), igualmente para la especie *P. flagellata*, lo que sugiere que se trata de dos poblaciones cercanas citogenéticamente; a este respecto White (1951, 1978) señala que los cariotipos con relativo bajo número diploide y alto porcentaje de cromosomas metacéntricos, pertenecen a cariotipos primitivos, mostrando una relativa estabilidad cromosómica, como lo muestran las especies analizadas en el presente trabajo.

El criterio cromosómico con la evolución y filogenia, sigue un patrón donde hace referencia especialmente a los mecanismos que permiten la adaptación de los cariotipos en el evento evolutivo de las especies, tales como modificaciones en el número cromosómico por reordenamientos estructurales poliploidías, aneuploidías, modificaciones en los cromosomas por inversiones, translocaciones, fusiones, fisiones, etc., que hacen modificar el número diploide perdiendo o aumentando fragmentos cromosómicos (Sinnot *et al.*, 1961), implicando esto a su vez los mecanismos de expresión génica; siendo interpretadas en terminos de dinámica cariotípica interespecifica de las poblaciones en estudio; así encontramos dentro del género *Pomacea*, cariotipos comparativos, donde fué observado que la especie *P.p. catemacensis*, presenta una formula cromosómica y cariotipos (Figs. 7, 8) semejantes a la especie *Pomacea flagellata*, (Fig. 13), principalmente entre los pares 10, 11, 12 y 13, como se observa en las Figuras 9, 10, 11 y 12.

En un análisis entre pares de longitudes de cromosomas de maximos / minimos y desviación estándar promedio, la especie *Pomacea flagellata* manifiesta una armonia entre la relación Longitud Relativa (en pares cromosómicos), (Fig. 14) y el Índice Centromérico (en pares cromosómicos), (Fig. 15); ambos presentan similitudes entre las localidades de "El Espino" y "San Miguel" en el Estado de Tabasco, para Misantla a, Misantla b y Misantla c, Alvarado y Tlacotalpan en el Estado de Veracruz y "El Vapor" en el Estado de Campeche, resultando de forma afin a los análisis realizados para *Pomacea patula catemacensis*, especie nativa de la Laguna de Catemaco.

Respecto a los valores en Índice Centromérico, las poblaciones examinadas procedentes de las regiones de "El Espino" y "San Miguel", se detectó diferencias en los pares cromosómicos 4, 5, 6 y 7 en un rango de 0.5 a 0.7 puntos sobre los valores para Índice Centromérico (Fig. 15).

La provincia "El Vapor" en el Estado de Campeche, enmarca una semejanza comparativa con las regiones de Veracruz y Tabasco, lo que lleva a aceptar la teoría que se trata de una sola especie *Pomacea flagellata*.

Los resultados estadísticos son manifiestos en un análisis discriminante multivariado Méndez y Rodríguez (1978), Méndez *et al*, (1994), a fin de comparar diferencias y semejanzas regionales en base a los valores por unidad de cromosoma, para: Longitud Relativa, Índice Centromérico, Proporción de Brazos y Diferencia.

Referente al Índice Centromérico el análisis discriminante forma tres grupos, en un Primer grupo se encuentra Tlacotalpan y Misantla b; en un Segundo grupo Catemaco, y en un Tercer grupo el resto de las regiones analizadas; Alvarado, Misantla a, Misantla c, "El Espino", "San Miguel" y "El Vapor" (Fig 16 a)

Una interpretación palpable a dichas observaciones es que Catemaco se diferencia claramente del resto de las regiones analizadas, principalmente por los valores canónicos bajos en Índice Centromérico del cromosoma 2 al 17, en comparación con los restos del grupo. En lo que se refiere al primer grupo Tlacotalpan y Misantla b, se separa del resto por sus valores de Índice Centromérico altos I.C. 4 al I.C. 10 y sus valores bajos en I.C. 3, 6, 9, 12, ...al 26

En cuanto a los valores para Longitud Relativa, se formaron cinco grupos, de los cuales se detectan tres grupos principales, Catemaco claramente diferenciado con valores altos para L 3, L 5, L 6, L 9 y L 19; para la región de Misantla a con valores altos de L 8, L 15, L 18, y L 4 dentro de una canónica 1; así mismo L 12, L 19, L 21, L 23 y L 25 dentro de una canónica 2.

Así tenemos para la región de Misantla b valores altos en L 8, L 15, L 18, y L 24 para una canónica 1 y L 4, L 15, L 18 y L 24 para una canónica 2. Un grupo más con Tlacotalpan y Misantla c, fueron detectados valores altos en L 4, L 15, L 18, y L 24. Y el resto de las regiones, se manifestaron en otro grupo presentando valores moderados en todas las Longitudes Relativas (Fig. 16 b).

En relación al análisis discriminante (que equivale a un análisis de correlación canónica), con los valores de proporción de brazos en brazo "P", se forman de nuevo cinco grupos, bien diferenciados del resto por la variable canónica 1, diferenciando claramente la colecta procedente de la Laguna de Catemaco, presentando valores bajos dentro de todos los valores, salvo P 1 y P 2.

La variable canónica 2, forma los otros cuatro grupos; Misantla a con valores altos con P 8, P 11, P 17, y P 21; para Misantla c, con valores altos en P 8, P 11, P 15, P 17, P 19, P 21, P 23 y P 25, así como P 3, P 5, P 9, P 12, P 14 y P 18, cada uno en un grupo; Misantla b y Tlacotalpan en otro grupo, con valores intermedios. Finalmente en un último grupo, se presentan Alvarado, San Miguel, El Espino y Laguna El Vapor con valores intermedios, un poco mayores para P 4, P 8, P 10, P 11, P 13, P 17, P 21, P 22 y P 24. (Figuras 17 y 17 a).

Referente al brazo Q, se forman dos grupos bien diferenciados: nuevamente sobresale la región de Laguna de Catemaco y el resto; es de resaltar que Catemaco, con valores bajos de Q 11..a. Q 18 y de Q 21.. a... Q 26. (Figuras 18 y 18 a).

En general en los planos discriminantes según las regiones de colecta, muestran grupos con diferencias poco significativas siendo de relevancia, una diferenciación clara para la población procedente de la Laguna de Catemaco en el Estado de Veracruz.

En 1964, Pain basándose únicamente en análisis conculógicos propone cuatro subespecies dentro del género *Pomacea*, *P. flagellata flagellata*, distribuida desde México hasta Colombia, *P. livescens* (Reeve), distribuida en las regiones de Tabasco, Chiapas y Lago

de Peten en Guatemala, *P. erogata* (Fisher y Crosse 1902), distribuida en algunas regiones de Venezuela y Sureste de Veracruz, finalmente describe la subespecie *P. dysoni* (Hanley) distribuida en Honduras.

En base a los criterios mencionados por Pain, (1964) así como las diferencias y semejanzas encontradas en los estudios cromosómicos dentro de una distinción multivariada en proporción de brazos P y Q, lo que lleva a la hipótesis de que realmente se trata de subespecies, al menos dentro de la especie *Pomacea flagellata*, presentandose claramente diferente a la especie *Pomacea patula catemacensis*, entre los organismos estudiados procedentes de diversas localidades del Sureste de México.

Respecto al análisis específico de la especie *Pomacea Patula catemacensis*, originaria de la Laguna de Catemaco en el Estado de Veracruz, puede detectarse una similitud entre el índice centromérico y los pares cromosómicos analizados, para la especie *Pomacea flagellata*, existe una relación entre longitud relativa e índice centromérico, con las muestras analizadas procedentes de diversas localidades del Sureste de México, principalmente entre los pares cromosómicos 7, 8, 9, 10, 11 12 y 13. Lo que podría suponer que se trata realmente de una especie de origen derivado de poblaciones identificadas como *Pomacea flagellata*.

Observar, revisar y analizar los caritipos de cada especie ha favorecido el entendimiento de las causas por las que probablemente se haya dado un cierto reordenamiento cromosómico, lo que aporta elementos para enmarcar a la evolución cariotípica entre especies. La evolución del cariotipo se realiza mediante aberraciones cromosómicas, mientras que la estabilización de una alteración cromosómica no determina de inmediato el establecimiento de una nueva especie, sino que es necesario que ese grupo de genes se aisle de otros similares. Así definimos al polimorfismo, como un tipo de cambio cromosómico, a nivel de posición del centrómero, este proceso, en muchos casos se da en forma silvestre (Ayala y Kiger, 1984 y Ayala, 1975). La multiplicidad de conjuntos de genes de una especie brindaría una mejor adaptabilidad tanto a nuevos nichos ecológicos, como a aquellos que ofrecen variabilidad periódica.

Estudios en gasterópodos pertenecientes a la familia Polygyridae, Husted y Burch (1946), Inaba (1959) y Diupotex y Brabazkai (1992), encuentran números cromosómicos en un intervalo de tres a cuatro pares de diferencia, mencionando que la variabilidad encontrada en el cariotipo, podría representar el polimorfismo en las primeras etapas del establecimiento de reacomodos cromosómicos. Para este estudio en particular no se encontró una variación en el número cromosómico, aunque en morfología se detecta una diferencia en cuanto a la posición del centrómero por lo que no se evidencia al menos a nivel de cariotipo un polimorfismo ó una poliploidía marcada. Según Mayr (1969), citado por Uribe, (1977) cualquier fenómeno que afecte a los rearrreglos cromosómicos es relevante, y fenómenos como el polimorfismo constituyen pasos evolutivos importantes que en ocasiones conducen a las poblaciones hacia un aislamiento definitivo, que posteriormente se puede manifestar como polimorfismo interespecífico lo que se ha definido como uno de los procesos fundamentales de la especiación.

Por otro lado, el grado de diferenciación morfológica, es el producto de una discontinuidad genética, o sea una diversidad, como resultado del aislamiento de la reproducción, así las poblaciones simpátricas indican un aislamiento en la reproducción, marcado como un punto de referencia en la evolución del estatus taxonómico entre

poblaciones emparentadas, distinguiendo entre especies interespecíficas e intraespecíficas, lo cual ha causado serias dificultades dentro de la literatura biológica y taxonómica. Así, el concepto de raza biológica cae dentro del término de "especies gemelas" (Mayr, 1942), en los moluscos este fenómeno es frecuente, principalmente entre la familia Lymnaea, así como para el género *Pisidium* dentro de la clase gastropoda, originarios de aguas epicontinentales. Lo anterior hace recordar que el Género *Pomacea*, también tiene un origen epicontinental, lo que nos podría sugerir la existencia de subespecies.

En la actualidad se ha enfatizado que el análisis cromosómico de los organismos, manifiesta las características particulares de los mismos como especies que son, puesto que los cromosomas son los representantes de las bases físicas de la herencia, y es el material genético quien brinda la capacidad de producir cambios hereditarios y por lo mismo transformaciones evolutivas (Ohno, 1970); en nuestro estudio para el género *Pomacea* procedente del Sureste de México, no presenta diferencias relevantes, lo que podría hablar hasta cierto punto de una estabilidad cariotípica al menos para las especies *Pomacea flagellata* y *Pomacea patula catemacensis*. Por lo tanto, este tipo de estudio en gasterópodos es de gran utilidad, en virtud de que aporta indicaciones taxonómicas que constituyen la citotaxonomía, y además permite dilucidar mecanismos de dinámica adaptativa (Mayr, 1969).

Análisis entre cariotipos, resultan determinantes en la determinación de variabilidad genética y diversidad de clonas, los cuales son la materia prima para una manipulación génica, con aplicación a la acuicultura, que es una de las sugerencias a mediano y largo plazo, con este tipo de estudios.

En el presente estudio, los análisis cromosómicos evidenciaron cariotipos muy similares, sin detectar evidencias significativas entre las especies *Pomacea patula catemacensis* y *Pomacea flagellata*, lo que nos lleva al planteamiento de otra perspectivas de estudio, por ejemplo análisis bioquímicos tales como estudios electroforéticos, análisis de puntos isoelectrónicos y Peso Molecular, enfatizando que con ello se puede contar con análisis mas precisos entre relaciones interespecíficas e intraespecíficas dentro del género en estudio.

Se ha descrito poliploidia en animales anfibios señalando multivalentes en la meiosis, lo que lleva a la conclusión que no existe un proceso evolutivo único, sosteniendo que ni siquiera existe un proceso evolutivo que explique la evolución de un taxón, como sugiere White (1968). Mayr (1942), postuló que el aislamiento geográfico es el requisito previo para la aparición de una nueva especie, (interrupción del flujo génico entre el grupo aislado y el resto de la población) conocido como sistema de especiación alopátrica.

Análisis entre cariotipos, resultan determinantes en la delimitación de variabilidad génica y diversidad de clonas, los cuales son la materia prima para una manipulación genética, con aplicación en la acuicultura, precisamente esta es una de las sugerencias a mediano y largo plazo, con este tipo de estudios.

En el presente estudio, los análisis cromosómicos evidenciaron cariotipos muy similares, entre las poblaciones pertenecientes a la especie *Pomacea flagellata*, mientras que la especie *Pomacea patula catemacensis*, se encuentra claramente diferenciada, lo que nos lleva al planteamiento de otra perspectivas de estudio, como el análisis bioquímicos tales como electroforesis, análisis de puntos isoelectrónicos y Peso molecular, enfatizando que con ello se puede contar con estudios mas precisos, principalmente entre relaciones interespecíficas e intraespecíficas dentro del género en estudio.

5.2 ESTUDIOS ELECTROFORÉTICOS

5.2.1. Punto isoeléctrico

En las Figuras 16, 17 y Tablas XII y XIII, se observa que predominan las proteínas con punto isoeléctrico ácido. De hecho, las proteínas más abundantes tienen puntos isoeléctricos de 3.0, 3.5, 4.0, 5.0 y 5.8 (bandas más intensas), esto explica el porque de la gran precipitación que había cuando se hacía la extracción de proteínas utilizando un amortiguador con un pH menor, es decir se estaba acercando al punto isoeléctrico de la mayoría de las proteínas por lo que estas estaban más inestables y precipitaban, de ahí que fuera la elección de un amortiguador con pH 8 para trabajar, ya que era el pH al cual el mayor número de proteínas estaba en forma soluble y estable. Las muestras tomadas de las diferentes regiones mostraron mucha semejanza en sus patrones electroforéticos, sin embargo, hay diferencias cuantitativas, las cuales fueron apreciadas en intensidad de las bandas, en donde fué observado que si bien aparece la misma banda, la intensidad de esta no es la misma. Los patrones electroforéticos (Figura 16) de las muestras obtenidas en Veracruz (Catemaco, Tlacotalpan, Misantla y Alvarado) mostraron una mayor semejanza entre sí, tanto en el número de bandas como en la intensidad de las mismas, sin embargo, en las muestras obtenidas en Catemaco (*Pomacea patula catemacensis*) se observa un menor número de bandas que en el resto de las muestras, entre los PI 6.87 y 7.33 (*Pomacea flagellata*) como lo muestra la Tabla XVI A.

Algo importante de notar es que en los patrones electroforéticos de las muestras obtenidas en Misantla (Carriles 2, 3 y 4) se observa cierta semejanza, principalmente en intensidad de coloración que presentan las bandas, esto puede ser debido a variaciones en temperatura, humedad, tipo de alimentación y hasta fototactismo, reacción que se presenta principalmente en periodos de ovoposición (Osorio, 1987). Ya que las muestras fueron colectadas en diferentes zonas del propio río Misantla, presentan una diferencia entre las muestras colectadas cerca del mar respecto a las colectas hacia la parte continental, estas últimas presentan similitudes con las colectadas en la Laguna de Catemaco, es decir ciertas bandas fueron detectadas tenuamente. De esto se puede inferir que las condiciones medioambientales y geográficas tienen influencia en la composición bioquímica de los organismos lo que puede ser un factor importante dentro de los mecanismos evolutivos y de variabilidad.

Tomando una relación entre similitud de bandas de proteínas para Punto Isoeléctrico en diferentes regiones del Sureste de México, encontramos en primer lugar que son detectadas en rangos de 3.5 a 7.35 (Figuras 16 y 17), mostrando por un lado que las muestras analizadas son marcadamente ácidas, y por otro que en todas las muestras analizadas, presentan proteínas semejantes, como lo muestra los patrones electroforéticos Tablas XVI A - XVI B.

Por otro lado, analizando los patrones electroforéticos de las muestras colectadas en "El Espino" y San Miguel en el estado de Tabasco; en la Laguna "El Vapor" en el Estado de Campeche y Laguna de Catemaco en el Estado de Veracruz (Figura 17) se observó la misma situación ya descrita, en cuanto a semejanzas entre las diferentes lagunas con excepción de la Laguna de Catemaco P.I. 7.0- 7.10 que son diferentes como lo muestra la Tabla XVI B

5.2.2 Peso molecular

Los resultados presentados en las Figuras 18, 19 y Tablas XIV y XV, muestran que la mayor parte de las proteínas presentes en los extractos poseen un peso molecular entre 40,000 y 130,000, sin embargo, las más abundantes tienen pesos moleculares altos (entre 120 y 130 Kd). En estos geles fué observada una alta semejanza entre las muestras de los organismos procedentes de las diferentes localidades, principalmente entre los de Tlacotalpan, Alvarado, Misantla, "El Espino", San Miguel y en la Laguna "El Vapor", tanto en número de bandas como en intensidad de las mismas. Sin embargo, con respecto a las muestras de Catemaco las diferencias son mayores. Estas últimas, muestran además una banda diferente de un peso molecular de 93,000 kDa. Tablas XVII A y XVII B, la cual no aparece en las muestras de las otras localidades. De esta manera, es posible considerar esta banda como característica exclusiva de esta especie y utilizarla para diferenciarla de otras muy cercanas. Así mismo, fué determinado un menor número de bandas en las muestras de esta localidad. Con base en lo anterior, fue posible diferenciar entre los organismos pertenecientes a la especie *Pomacea patula catemacensis* y *Pomacea flagellata* con ayuda de técnicas electroforéticas. Además, considerando las semejanzas existentes entre los organismos de Catemaco y los del resto de las regiones muestreadas, estableciéndose una relación entre ellas considerando que el origen de este clon podría ser originado en Catemaco Veracruz y a partir de aquí, la diversificación como consecuencia de las condiciones geográficas y ambientales.

6.0 CONCLUSIONES

El criterio citotaxonomico ayuda a confirmar la clasificación y emparentamiento filogenético de los organismos en estudio, *Pomacea patula catemacensis* y *Pomacea flagellata*. En este estudio el número cromosómico encontrado fué para ambas especies de: $2n=26$, con una fórmula cromosómica de 9 pares metacéntricos + 4 pares submetacéntricos.

La población procedente de la Laguna de Catemaco presenta una banda de peso molecular y punto isoelectrico característica y específica en sus patrones electroforéticos de peso molecular y punto isoelectrico, la cual es diferente a las del resto de las poblaciones estudiadas procedentes del Sureste de México, lo que probablemente ayudaría a establecer que en realidad se trata de dos especies diferentes; así mismo con una clara diferenciación en la morfología cromosómica.

Los resultados del presente estudio podrían proponer que el origen de estos clones sea entre poblaciones de la especie *Pomacea flagellata* y a partir de ésta, fue diversificandose hasta constituir la especie *Pomacea patula catemacensis*, tal vez como producto de las condiciones geográficas y ambientales.

Las muestras colectadas en diferentes zonas de Misantla, mostraron diferencias en sus patrones electroforéticos dependiendo de que tan alejados estaban los organismos de la costa, también diferencias en morfología cromosómica. De esto puede inferirse que las condiciones del medio y las geográficas, tienen una marcada influencia en la composición bioquímica de los organismos y no tan marcada en la morfología cromosómica; pudiendo ser un factor muy importante en los mecanismos evolutivos y de variabilidad.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

5.2.2 Peso molecular

Los resultados presentados en las Figuras 18, 19 y Tablas XIV y XV, muestran que la mayor parte de las proteínas presentes en los extractos poseen un peso molecular entre 40,000 y 130,000, sin embargo, las más abundantes tienen pesos moleculares altos (entre 120 y 130 Kd). En estos geles fué observada una alta semejanza entre las muestras de los organismos procedentes de las diferentes localidades, principalmente entre los de Tlacotalpan, Alvarado, Misantla, "El Espino", San Miguel y en la Laguna "El Vapor", tanto en número de bandas como en intensidad de las mismas. Sin embargo, con respecto a las muestras de Catemaco las diferencias son mayores. Estas últimas, muestran además una banda diferente de un peso molecular de 93,000 kDa. Tablas XVII A y XVII B, la cual no aparece en las muestras de las otras localidades. De esta manera, es posible considerar esta banda como característica exclusiva de esta especie y utilizarla para diferenciarla de otras muy cercanas. Así mismo, fué determinado un menor número de bandas en las muestras de esta localidad. Con base en lo anterior, fue posible diferenciar entre los organismos pertenecientes a la especie *Pomacea patula catemacensis* y *Pomacea flagellata* con ayuda de técnicas electroforéticas. Además, considerando las semejanzas existentes entre los organismos de Catemaco y los del resto de las regiones muestreadas, estableciéndose una relación entre ellas considerando que el origen de este clon podría ser originado en Catemaco Veracruz y a partir de aquí, la diversificación como consecuencia de las condiciones geográficas y ambientales.

6.0 CONCLUSIONES

El criterio citotaxonomico ayuda a confirmar la clasificación y emparentamiento filogenético de los organismos en estudio, *Pomacea patula catemacensis* y *Pomacea flagellata*. En este estudio el número cromosómico encontrado fué para ambas especies de: $2n=26$, con una fórmula cromosómica de 9 pares metacéntricos + 4 pares submetacéntricos.

La población procedente de la Laguna de Catemaco presenta una banda de peso molecular y punto isoeléctrico característica y específica en sus patrones electroforéticos de peso molecular y punto isoeléctrico, la cual es diferente a las del resto de las poblaciones estudiadas procedentes del Sureste de México, lo que probablemente ayudaría a establecer que en realidad se trata de dos especies diferentes; así mismo con una clara diferenciación en la morfología cromosómica.

Los resultados del presente estudio podrían proponer que el origen de estos clones sea entre poblaciones de la especie *Pomacea flagellata* y a partir de ésta, fue diversificándose hasta constituir la especie *Pomacea patula catemacensis*, tal vez como producto de las condiciones geográficas y ambientales.

Las muestras colectadas en diferentes zonas de Misantla, mostraron diferencias en sus patrones electroforéticos dependiendo de que tan alejados estaban los organismos de la costa, también diferencias en morfología cromosómica. De esto puede inferirse que las condiciones del medio y las geográficas, tienen una marcada influencia en la composición bioquímica de los organismos y no tan marcada en la morfología cromosómica; pudiendo ser un factor muy importante en los mecanismos evolutivos y de variabilidad.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Este tipo de estudio en gasterópodos es de gran utilidad, en virtud de que aporta indicaciones taxonómicas que constituyen la citotaxonomía y además permite dilucidar mecanismos en dinámica adaptativa.

Como consecuencia de lo anteriormente citado, puede concluirse que las metodologías citogenéticas, electroforéticas y de morfología cromosómica; son herramientas útiles que pueden auxiliar perfectamente al reconocimiento e identificación de organismos acuáticos y representan una línea de investigación poco explorada con grandes posibilidades de proporcionar resultados satisfactorios y confiables, tanto en la distribución e identificación de poblaciones (cuando se presentan dificultades en una ubicación taxonómica precisa) así como un apropiado manejo y explotación de especies de importancia económica.

7.0 REFERENCIAS

Abbott. R.T., 1954. American sea shells Van Nostrand. New York, 666p

Amaya L.R. y Godinez S., 1994. Efecto de la densidad en la reproducción y crecimiento del tegogolo *Pomacea sp*, en estanque de concreto. Tesis Ingeniero Pesquero en Acuicultura. Instituto Tecnológico del Mar. Boca de Río Veracruz.

Al-Aish, M., 1969. Human chromosome morphology studies on normal chromosome characterization, classification and karyotyping. *Can. J. Gen. and Cytol.* 11:370-381.

Arani R.B., Rao M.B., 1997. A result on 2X2 survival experiment *Math. Biosci.* 146(2):63-73

Arreguín, B. Y Taboada J., 1968. Un aparato de diálisis continuo B. Instituto de Química Universidad Nacional Autónoma de México. 20: 95-97

Ayala, F.J., 1974. Biological evolution: natural selection or random walk *Am. Sci.* 62:692-701.

Ayala, F.J., 1975. Genetic differentiation during the speciation process. *Evol. Biol.* 8:1-78.

Ayala, F.J. y Kiger, J.A.Jr., 1984. Genética Moderna: Ediciones Omega, S.A., Barcelona 836p.

Baker, F., 1913. The land and freshwater mollusks of the standard Expedition Brazil *Proc. Acad. Nat. Sci. Philad.* Philadelphia 65:3, 618-72.

Baker, H.B., 1922. The mollusca collected by the University of Michigan walker expedition in Southern Veracruz Mexico. *Occ. P. Mus. Zool. Univ. Mich.* 106:1- 62.

Baker H.B. 1930. The mollusca collected by the University of Michigan Williamson expedition in Venezuela. *Occ. Pap. Mus. Zool. Univ. Mich.* Ann Arbor 210:1-95.

Baker, R. y J.S. Ohno, 1967. DNA values of four primitive chordates. *Chromosome* 23 (1):10-13.

Barnes R.D., 1977. Zoología de los invertebrados Tercera Edición Interamericana. 826p.

Barsiené, J., 1994. Chromosome set changes in molluscs from highly polluted habitats Genetics and evolution of aquatic organisms.

Edited by A.R. Beaumont- School of Ocean Sciences (University of Wales, Bangor UK 434-447

- Bequaert, J.C., 1957. Land and freshwater of the Selva Lacandona, Chiapas, México. *Bull. Mus. Comp. Zool.* 116: 204-227.
- Bequaert, J.C. y Clench., 1933. The non-marine mollusks of Yucatan. *Pub. Carnegie Institute Washigton.* 431: 525-545.
- Bettio D, Rizzi N., Giardino D., Persani L., Pecori-Giraldi F., Losa M., Larizza L. 1997. Cytogenetic study of pituitary adenomas. *Cancer Genet. Cytogenet.* 15;98(2):130-136
- Brand E.V. Yokosawa T. y Fujio Y., 1990. Chromosome analysis of apple snail *Pomacea canaliculata*. *Tohoku J. Agric. Res.* 40:4 81-89
- Burky, K.A. y Burky, A.J., 1977. Buoyancy changes as related to respiratory an amphibious snail *Pomacea urceus* (Muller). *Nautilus* 91:1 97-104
- Burch, B.J., 1967. Chromosoms of mollusks *Proc. Symp.on Moll. II Mar Biol. Assoc.* p 635-686
- Burch, B.J. y Cruz, R., 1987. Clase genérica para la identificación de gasterópodos de agua dulce en México. Instituto de Biología, UNAM, México. 8:42-48.
- Cartas topográficas, 1993. Secretaría de comunicaciones y transportes, Coordinación General de Planeación, apoyo geográfico, cartas topográficas. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (I.N.E.G.I.), S.T.C.
- Carvalho, T. S., 1987. Observation on the morphology of *Pomacea lineata* (Mollusca-Ampullariidae). *Mem. Inst. O. Cruz.* 82 4: 56-570.
- Castellanos, Z.J.A. y Fernandez D., 1976. La familia Ampullariidae en la Republica Argentina in Ringuelet, R.A. Ed. Fauna de agua dulce de la Republica de Argentina Buenos Aires FECIC 15 fasc.1 p.33
- Cazzaniga, Nestor J., 1987. *Pomacea canaliculata* (Lamark, 1801), en Catamarca (Argentina) y un comentario sobre *Ampullaria catamarcensis* Sowerby, 1874. (Gastropoda-Ampullariidae) *Heringia.* Sér. Zool. 66: 43-68.
- Cazzaniga, N.J., 1990. Sexual dimorphism in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda-Ampullariidae). *Veliger* 4:84 88.
- Cazzaniga, N.J., 1990a Predation of *Pomacea canaliculata* (Ampullariidae) on adult *Biomphalaria peregrina* (Planorbidae). *Ann Trop. Med. Parasitol.* Feb.; 84(1):97-100
- Coullin P., Pellestor F. 1997. Rapid characterization of human chromosomes in hybrid cell lines by primed in situ (PRINS) labeling. *Somat Cell Mol. Genet.* 23(2):159-163

- Darlington, D.E., 1936. Crossing over and its mechanical relationships in chortippus and stauradarus. *Journal of Genetics*. 33:440-465.
- De Haro, V.A., 1979. Atlas de zoología (Invertebrados) Edit. Jover. Barcelona, España. 242
- Diupotex C.M. y Babrakzai N., 1992. Estudios citológicos preelminares en *Triodopsis fosteri* (Baker, 1920) Mollusca pulmonata. *Ann. Inst. Cienc. Mar y Limnol. UNAM*. 19 (1): 11-16.
- Diupotex C.E., 1993. Karyological analysis of *Pomacea flagellata* from Southeast of Mexico. *Western Society of the Malacologists Journal* 25:1 5-7
- Diupotex C.E., 1994. Karyological analysis and "G" bands of *Pomacea flagellata* from southeast of Mexico. *Western Society of the Malacologists Journal* 26:1 5-7
- Dobzhansky, T., 1966. La evolución, la genética y el hombre E.U.D.E.B.A., Argentina 407
- Dobzhansky, T.J.F. Ayala, G.L. Stebbins y J.W. Valentine. 1983. Evolución Ediciones Omega, S.A. Barcelona. 588
- Dodson, E.O., 1963. Evolución proceso y resultado. Editorial Omega, S.A. Barcelona 76-114
- Dybdahl, M.F., Lively, C.M., 1995. Diverse, endemic and polyphyletic clones in mixed populations of a freshwater snail *Potamopyrgus antipodarum*. *J. Evol. Biol.* 8:3 385-398
- Elder J.F., Collins J.J., 1991. Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface water systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 122:37-79
- Estebenet, A.L. y Cazzaniga, N.J., 1990. Effect of short-term exposure to copper on survival of apple-snails in an integrated control program. *Journal Aquatic Plant-Management* 28:2 10-105.
- Fisher, P.H. y Crosse, H., 1870-1902. Études sur les mollusques terrestres et fluviatiles du Mexique et du Guatemala, Mission Scientifique au Mexique et dans l'Amérique Centrale No. 7 *Recherches zoologiques*, 1:-1-702, 2:1-731 Paris.
- Fujio, Y., Brand, E. V. y Kobayashi, M., 1991. Apparent differential hatchabilities associated with degrees of heterozygosity at leucine aminopeptidase isozyme loci in the apple snail *Pomacea canaliculata* N.P.S. *G. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 57:1 459-461.
- Gallo, G., 1990. El caracol. Edit. Mundi-Prensa, Madrid, España. 179
- Garin C.F., Heras H., Pollero R.J., 1996. Lipoproteins of the egg perivitelline fluid of *Pomacea canaliculata* snails (Mollusca: Gastropoda) *J. exp. Zool.* 1;276(5):307-314

- Goldman M.A., LoVerde P.T., Chrisman C.L. 1980. Comparative karyology of the freshwater snails *Bulinus tropicus* and *B. natalensis*. *Can. J. Genet. Cytol.* 22(3):361-367
- Granter S.R., Fletcher J.A., Renshaw A.A., 1997. Cytologic and cytogenetic analysis of metanephric adenoma of the kidney: a report of two cases. *Am. Journal Clin. Pathol.* 108(5):544-549
- Griffin D.K., Millie E.A., Reline R.W., Hassold T.J., Zaragoza M.V., 1997. Cytogenetic analysis of spontaneous abortions: comparison of techniques and assessment of the incidence of confined placental mosaicism. *Am. J. Med. Genet.* 31;72(3):297-301
- Harris, H., 1966. Enzyme polymorphism in man. *Proc. Roy. Soc. Ser. B.* 164: 298- 310.
- Hubby, J.L. y R.C. Lewontin, 1966. A molecular approach of the study of genetic Heterozygosity in Natural Populations. I. The Number of alleles in different loci. *Genetics* 54:595-609.
- Hogge W.A., Surti U., Kochmar S.J., Mowery- Rushton P. Cumbie K. 1996. Molecular cytogenetics: an essential component of modern prenatal diagnosis. *Am. J. Obstet. Gynecol* 175(2):352-356
- Husted L. y Burch P.R., 1946. The chromosomes of Polygyridae snails *Am. Nature*, 80: 410-429
- Inaba, A., 1959. Cytological studies in mollusks II A. chromosome survey in the *Stymmatophoris pulmonata* *J. Sci. Hiroshima University* 18:71-93
- Inaba, A., 1961a. Chromosomes of some Opisthobranch (in Japanese) *Zasshi*, 70 1/2:24
- Inaba, A., 1961b. Cytotaxonomy of the euthneuran gastropods. *Venus Japan J. Malacol.* 24:4 402-413p.
- Jackson, R.C., 1971. The karyotype in systematics *Ann. Rev. of Ecol. and System.* 2: 327-368.
- Johnson, F.M., C.G. Canapi, R.H. Richardson, M.R. Wheeler y W.S. Stone., 1966. An analysis of polymorphisms among isozyme loci in dark and light *Drosophila ananassestrains* from America and Western Samoa. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 56: 119- 125.
- Kawano T., Gómez L.C. y M.A. Correa F., 1990. Chromosomes of *Pomacea* sp (Perry, 1811) (Mesogastropoda- Mollusca) *Rev. Brasil. Journal. Genet.* 13:4 675-685.
- Kligerman, A.D. y S.E. Bloom., 1977. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes. *Journal Fish. Res. Board Can.* 34 266-269.

Levan, A.K., A. Fredga y Sandberg, A., 1964. Nomenclature for Chromosomic Position on Chromosomes *Hereditas* 52 201-220.

Lewontin, R.C., 1966. A molecular approach of the study of genetic heterozygosity in natural populations. II amount of variation degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoscura*. *Genetics* 54 577-594.

Mamaeva S.E. 1998. Karyotypic evolution of cells in culture: a new concept *Int.Rev. Cytol.* 178:1-40

Méndez I. Y Rodríguez S., 1978. Dos ejemplos de aplicación de análisis discriminante en medicina. *Serie Naranja: Investigaciones* 9 (179). Instituto de Investigaciones en Matemáticas aplicadas y en Sistemas U.N.A.M.

Méndez I., Posadas A., Mundo E., y Marín S., 1994. Análisis de experimentos con observaciones repetidas. Un ejemplo farmacológico. Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas UNAM 4(13), 21p.

Mark F. Dybdaht y Curtis M. Lively, 1995. Diverse endemic and polyphyletic clones in mixed populations of a freshwater snail (*Potamopyrgus antipodarum*) *Journal Evol. Biol.* 8:385-398.

Martin, S.M., 1984. Contribución al conocimiento de la biología de la familia Ampullariidae (Mollusca- Gastrópoda) en el Rio de la Plata. Doctoral disertation No. 431 Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de la Plata , La Plata 149.

Martínez G.T., 1989. Contribución estudio y cultivo del caracol de agua dulce *Pomacea patula* (Mesogastropoda-Ampullariidae) Secretaria de Educación Publica. Instituto Tecnológico del Mar. Boca del Rio Veracruz. reporte técnico pesquero, oficio 342 58.

Mayr E., 1942. Systematics and the origin of species New York. Columbia University Press 334

Mayr E., 1969. Especies animales y evolución. Universidad de Chile y Ediciones Ariel S.A. España 808.

Milward-de-Andrade, R., 1981 Desiccation resistance of *Pomacea haustum*(Reeve, 1856) from Dampulha Lake , Belo Horizonte, MG (Brazil) (Mollusca- Pilidae). *Rev. Brasil- Biol.* 41:1 215-221.

Mizuno J., Takeda N. 1988. Phylogenetic study of the arginine-vasotocin/arginine-vasopressin-like immunoreactive system in invertebrates. *Comparative Biochemical Physiology A*; 91(4):739-747

- Nakamura, H.K., 1986 Chromosomes of Archaeogastropoda (Mollusca: Prosobranchia) with some remarks on their cytotaxonomy and phylogeny. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 31, 191-207.
- Naranjo G.E., 1986. Algunas consideraciones sobre el género *Pomacea* (Gastropoda Pilidae) en México y Centroamérica. *Ann. Inst. Biol. Univ. Nac. Auton. de Mex.* 56 Ser. Zool. 2 603-606.
- Neuhoff, V., Stamm, R. y Eibl, H., 1985. Clear background and highly sensitive protein staining with coomassie blue dyes in polyacrylamide gels: A systematic analysis. *Electrophoresis* 6, 427-448.
- Ocampo R. E., 1978. Estudios citogenéticos en *Crassostrea virginica* Tesis de Licenciatura Facultad de Ciencias Univ. Nac. Auton. de México 33
- Ohno, S., 1970. Evolution by gene duplication springer Verlag, New York Inc. USA 41-46 92-97.
- Oliveira F.W., Chavante S.F., Santos E.A., Dietrich C.P., Nader H.B., 1994. Appearance and fate of a beta-galactanase, alpha, beta-galactosidases, heparan sulfate and chondroitin sulfate degrading enzymes during embryonic development of the mollusc *Pomacea sp.* *Biochim Biophys Acta* 18;1200(3):241-246
- Osorio S.M., 1987. Aspectos reproductivos del caracol de agua dulce *Pomacea patula catemacensis*, con observaciones en laboratorio y campo. Tesis de Licenciatura en Biología Universidad Veracruzana.
- Pain T. y Arias S.C., 1958. Descripción de una especie de *Pomacea* de Venezuela. *Noved. Cient. Mus. Hist. Nat. La Salle, Serie Zoológica.* Caracas 24 5-11 pl.1-2
- Pain T., 1964. The *Pomacea flagellata*, complex in Central America. *Journal Conch. London* 25:6 224-31.
- Patterson, C.M., 1966. Chromosome numbers and systematics in Streptoneuran snails. *Malacologia*, 5:1 37-39.
- Patterson, C.M., 1969. Chromosomes of mollusks. *Proc. Symp. on Moll. II, Mar. Biol. Assoc. India*, 1968. 635-686.
- Patterson, C.M. y Burch, J.B., 1978. Chromosomes of pulmonate mollusks. In *Pulmonata 2A.*, Fretter, V. and Peake, J., eds., Academic Press 171-217.
- Pilsbry, H.A., 1927. Revision of the Ampullariidae of Jamaica and Cuba. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philad.* Philadelphia, 79: 247-253.

- Rangel, L.J., 1984. Estudio taxonómico de algunos gasterópodos dulceacuícolas de la región de los Tuxtlas, Veracruz, México. Tesis Profesional Facultad de Ciencias UNAM 69.
- Rangel, Ruiz R.J., 1987. Estudio Morfológico de *Pomacea flagellata* (Say, 1827). (Gastropoda- Ampullariidae) y algunas consideraciones sobre su taxonomía y distribución geográfica en México. *An. Inst. Biol. Univ. Nl. Auton. Mex. Zool.* 58 (1987) Ser. Zool. 1:21- 34 p. 15-VII-1988
- Rhoades, M, M., 1940. Studies of telocentric chromosome in maize with reference to the stability of its centromeres. *Genetics* 25:483- 520.
- Riley, R., 1977. The evolution of karyotypes- An Introduction. *Chromosome* .6 119- 120.
- Sáez, F.A. y Cardoso, H., 1978. Citogenética básica y biología de los cromosomas Eva V. Chesnau, Washington 124.
- Sautto, L., 1983. Estudios preliminares para introducir al cultivo del caracol dulceacuícola *Pomacea flagellata* CINCESTAV, Mérida, México. Comunicación interna.
- Sautto, L., 1983. Influencia de la dereza en el cultivo de *Pomacea flagellata* II Congreso de Acuicultura IMAC 88. Xalapa Ver. México. 5-9 Dic.
- Scholmick D.A., Snyder G.K., Spell A.R., 1994. Acid base status of a pulmonate land snail (*Helix aspersa*), and a prosobranch amphibious snail (*Pomacea bridgesi*) during dormancy. *Journal Exp. Zool.* 15,268(4):293-298
- Selander, R.K. y Kaufman., 1973. Genetic variability and strategies of adaptation in animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 70: 1875- 1877.
- Sinnot, E.W., L.C. Dunn y T. Dobzhansky., 1961. Principios de genética. Editorial Omega, S.A. Barcelona, España 378.
- Smith, A.C., 1988. Indirect tissue electrophoresis: a new method for analyzing solid tissue protein. *Com. Biochem. Physiol.*, B 90B:4, 791-794.
- Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Garther, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J. y Klenk, D.C., 1985. Measure of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150: 76- 85.
- Stuardo, G., 1964. Contribución a un catálogo de moluscos gasterópodos chilenos de agua dulce. "Gayana" Instituto Central de Biología No. 1 Universidad Concepción, Chile, 17.
- Suzuki, T., Hara A., Yamaguchik and Mori, K., 1992. Purification and immunolocalization of a vitellin like protein from the pacific oyster *Crassostrea gigas* *Marine Biology* 113. 239-245

Teles H.M., Leite R.P., Rodrigues F.L., 1991. Lymnitic molluscs from Alto Araguaia area. *Rev. Saude Publica* 25(3):179-183

Tharapel S.A., Dev V.G., 1997. Direct karyotyping of unstimulated newborn blood: a rapid diagnostic method for the clinical management of critically ill newborns. *Am. J. Med. Genetic* 31;72(3):351-353

Thiriou, Q.C., 1994. Advances in cytogenetics of aquatic organisms. Genetics and evolution of aquatic organisms. Beaumont, A.R. (Ed). School of Ocean Sciences (University of Wales, Bangor UK) 369-388

Tomkins J., Fox M. Lovegrove J.U., Parrington J., Hopkinson D.A., Whitehouse D.B., 1997. Molecular and cytological investigations of phosphoglucomutase (PGM1) in the K562 cell line. *Ann. Hum. Genet.* 61(Pt 2):99-108.

Tsurusaki, N., Nakano, S. and Katakura, H. 1993. Karyotypic differentiation in the phytophagous ladybird beetles *Epilachna vigintioctomaculata* complex and its possible relevance to the reproductive isolation with a note on supernumerary and chromosomes found in *E. pustulosa* *Zoological Science* 10:997-1015

Tullner, H.U. 1979. Statocyst controlled orientation in the Prosobranch Gastropod *Pomacea paludosa*. *Zool. J. and Physiol.* 8:1 1- 20.

Uribe, A.M., 1977. Estudios citogenéticos en algunas especies de roedores y lagomorfos de México. Tesis Doctoral *Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autónoma de México México, Distrito Federal* 169.

Uribe, A. M., Rodriguez R. and Laguarda F. A., 1977. Cytogenetic contribution to the taxonomy of the volcano mouse *Neotomodon alstoni* (Cricetidae:Rodentia) *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Aut. de México*; 48, Ser. Biol. Exp. (1): 45-56

Uribe, A.M. y Ramírez E.A., 1989. Comparación citogenética entre las especies del género *Dormitator* (Pisces:Gobiidae). *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nac. Aut. de Mexico*; 16(1): 75-80

Uribe A.M., Valdés N.M., Díaz, J.P., Hornelas, O.Y. y Arenas V.F., 1996. Comparación de los cariotipos de las poblaciones central y sureña de la anchoveta *Engraulis mordax*, Girard 1854 (Engraulidae:Pisces) *Ciencias Marinas* 22(3):16

Van der Zee A., Mooi F., Van Embden J., Musser J., 1997. Molecular evolution and host adaptation of *Bordetella* sp: phylogenetic analysis using multilocus enzyme electrophoresis and typing with three insertion sequences. *Journal Bacteriological* 179(21):6609-6617

Werner C.A., Dohner H., Barth T.F., Stilgenbauer S., Plesch A., Lichter P., Bentz M. 1998. Molecular cytogenetic analysis of low-grade B-cell neoplasias: a comparative genomic hybridization study. *Recent Results Cancer Res.* 144:53-60

White, M. J. D., 1951. Citología animal y evolución España Calpe Argentina, S.A. Argentina. : 11-27, 81-107 y 179-269.

White, M.J.D., 1954. Animal cytology and evolution Cambridge Univ. Press London 188.

White, M.J.D., 1968. Models of speciation *Science* 159: 1065-1070.

White, M.J.D., 1978. Chain processes in chromosomal speciation. *Systematic Zoology* 27:17- 26.

Yamaura I, Koga T, Matsumoto T, Kato T., 1997. Purification and some properties of endo-1,4-beta-D-xylanase from a fresh-water mollusc. *Pomacea insularis* (de Ordigny). *Biosci Biotechnol. Biochem.* apr.;615-620

Yam Keb E., 1986. Análisis cariológico de la especie *Pomacea Patula catemacensis* (Baker, 1922) Tesis de licenciatura Facultad de Ciencias Univ. Nac. Auton. de Mex. 29p.

Zulma J.A.C., 1994. Los invertebrados Tomo III Primera parte. Moluscos los celomados (excluido artropodos) J.E. Urriburu Buenos Aires Argentina. 206p.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de un prosobranquio (Barnes, 1977).....	14
Figura 2. Identificación de las especies del género <i>Pomacea</i> analizadas.....	19
Figura 3. Morfología de la concha de <i>Pomacea flagellata</i> (Say, 1827).....	20
Figura 4. Localización geográfica de las zonas de muestreo en el Estado de Veracruz	
A) Río Misantla.....	25
B) Alvarado, Tlacotalpan y Laguna de Catemaco.....	26
Figura 5. Zonas de colecta en el Estado de Tabasco	
A) "El Espino".....	27
B) San Miguel.....	28
Figura 6. Localización de la Laguna "El Vapor" en el Estado de Campeche.....	29
Figura 7. Ideograma de <i>Pomacea patula catemacensis</i>	34
Figura 8. Citogenética del caracol <i>Pomacea patula catemacensis</i>	
A) Cariotipo B) Mitosis.....	36
Figura 9. Ideograma de <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de	
A) "El Espino" B) San Miguel.....	37
Figura 10. Ideograma de <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de Misantla a y Misantla b.....	40
Figura 11. Ideograma de <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de Misantla c y Tlacotalpan	
en el Estado de Veracruz.....	43
Figura 12. Ideograma de <i>Pomacea flagellata</i> procedente de Alvarado Veracruz y Laguna	
"El Vapor" Campeche.....	46
Figura 13. Cariotipos representativos de la especie <i>Pomacea flagellata</i> .	
A) "El Espino", en el Estado de Tabasco	
B) San Miguel, en el Estado de Tabasco.....	50
C) Misantla a, en el Estado de Veracruz	
D) Misantla b, en el Estado de Veracruz	
E) Misantla c, en el Estado de Veracruz.....	51
F) Tlacotalpan, en el Estado de Veracruz	
G) Alvarado, en el Estado de Veracruz	
H) "El Vapor", en el Estado de Campeche.....	52
Figura 14. Comparaciones de Longitudes Relativas.....	53
Figura 15. Comparaciones de Índice Centromérico.....	54
Figura 16 a Valores canónicas para Índice Centromérico.....	55
Figura 16 b Valores canónicas para Longitud Relativa.....	56

INDICE DE TABLAS

TABLA I. Clasificación de los cromosomas de acuerdo a la posición del centrómero (Levan <i>et al.</i> , 1964).....	31
TABLA II. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea patula catemacensis</i> proveniente de la Laguna de Catemaco.....	35
TABLA III. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de El Espino en el Estado de Tabasco.....	38
TABLA IV. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de San Miguel en el Estado de Tabasco.....	39
TABLA V. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de Misantla (a) en el Estado de Veracruz.....	41
TABLA VI. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de Misantla (b) en el Estado de Veracruz.....	42
TABLA VII. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de Misantla (c) en el Estado de Veracruz.....	44
TABLA VIII. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de Tlacotalpan en el Estado de Veracruz.....	45
TABLA IX. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de Alvarado en el Estado de Veracruz.....	47
TABLA X. Valores relativos para la identificación de cromosomas $2n=26$ de la especie <i>Pomacea flagellata</i> proveniente de El Vapor en el Estado de Campeche.....	48
TABLA XI. Valores comparativos entre pares de cromosomas $n=13$ de las diferentes poblaciones de <i>Pomacea flagellata</i> con <i>Pomacea patula catemacensis</i>	49

TABLA XII. Punto isoeléctrico de las proteínas encontradas en los extractos de <i>Pomacea patula catemacensis</i>	64
TABLA XIII. Punto isoeléctrico de las proteínas encontradas en los extractos de <i>Pomacea flagellata</i>	64
TABLA XIV. Peso Molecular de las proteínas encontradas en los extractos de <i>Pomacea patula catemacensis</i>	70
TABLA XV. Peso Molecular de las proteínas encontradas en los extractos de <i>Pomacea flagellata</i>	70
TABLA XVI A. Similitudes en las bandas de proteínas (Punto Isoeléctrico) en diferentes regiones del Sureste de México. Datos correspondientes a la Figura 19.....	65
TABLA XVI B. Similitudes de las bandas de proteínas (Punto Isoeléctrico) en diferentes regiones del Sureste de México. Datos correspondientes a la Figura 20.....	66
TABLA XVII A. Similitudes en las bandas de proteínas (Peso Moléculal) en diferetes regiones del Sureste de México. Datos correspondientes a la Figura 21.....	71
TABLA XVII B. Similitudes de las bandas de proteínas (Peso Moléculal) en diferentes regiones del Sureste de México. Datos correspondientes a la Figura 22.....	72