

00381

1ej. 2



Universidad Nacional Autónoma de México
FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIOS CROMOSOMICOS Y DE EXPRESION GENICA
EN MOLUSCOS BIVALVOS DE IMPORTANCIA ECONOMICA
DE LAS COSTAS MEXICANAS

T E S I S

Que para optar por el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P r e s e n t a

FAUSTINO RODRIGUEZ ROMERO

1 9 8 1

TESIS CON
FOLIA 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 está 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.

I N D I C E

	Página
SUMMARY	3
RESUMEN	4
INTRODUCCION	5
Antecedentes	7
Perspectivas	8
Objetivos	10
MATERIAL Y METODOS	11
RESULTADOS	
Estudios cromosómicos	
Familia Ostreidae, Género <u>Crassostrea</u>	
<u>C. virginica</u>	20
<u>C. rhizophorae</u>	28
<u>C. corteziensis</u>	34
<u>C. gigas</u>	40
Familia Ostreidae, Género <u>Ostrea</u>	
<u>O. iridescens</u>	
<u>O. palmula</u>	41
Familia Ostreidae, Género <u>Pycnodonte</u>	
<u>P. fisheri</u>	41
Bandas cromosómicas	42

Familia Isognomonidae. Género <u>Isognomon</u>	
<u>I. alatus</u>	49
Estudios cromatográficos	
Familia Ostreidae. Género <u>Crassostrea</u>	
<u>C. virginica</u>	58
<u>C. corteziensis</u>	58
<u>C. rhizophorae</u>	59
Familia Ostreidae. Género <u>Ostrea</u>	
<u>O. equestris</u>	59
Familia Isognomonidae. Género <u>Isognomon</u>	
<u>I. alatus</u>	60
DISCUSION	71
Citogenética	
Cromosomas y citotaxonomía	75
Bandas cromosómicas	85
Heteromorfismo cromosómico y sexo	88
Modulación de la expresión génica en el sexo de los ostiones.	89
Cromatografía	92
Perfiles cromatográficos	93
BIBLIOGRAFIA	104
APENDICE	123

S U M M A R Y

Various oyster populations of the genus Crassostrea, Ostrea and Isognomon of the Mexican Coast were studied in their cytotaxonomy and genetic expression with the purpose of characterizing their chromosomic patterns as well as their chromatographic profiles.

The chromosomes of three species of the genus Crassostrea were extensively examined: C. virginica, C. corteziensis and C. rhizophorae.

Crassostrea gigas presented like other Crassostrea species, twenty chromosomes, clasified as meta and submetacentric chromosomes. Two species of the genus Ostrea: O. palmula and O. iridescens and one of Pycnodonte: P. fischeri also presented the diploid number of 20 chromosomes.

The studies of C. gigas from the State of Washington, U.S.A. suggest that the enviroment is one of the fundamental factors in determining the expression of genes related to the sex.

The existence of karyotypic races from a chromosomic point of view is suggested.

Specific chromatographic patterns were obtained as a consequence of the study of free aminoacids of the abductor muscle in Ostreidae: Ostrea, Crassostrea and Pycnodonte; and Isognomonidae: Isognomon.

R E S U M E N

Se estudiaron varias poblaciones de bivalvos de los géneros Crassostrea, Ostrea e Isognomon de las costas mexicanas en sus aspectos de Citogenética, Citotaxonomía y de expresión génica, a fin de caracterizar sus patrones cromosómicos y sus perfiles cromatográficos.

En el género Crassostrea, fueron examinados exhaustivamente tres especies: C. virginica, C. corteziensis y C. rhizophorae con respecto a sus cromosomas. C. gigas presentó al igual que otras especies del género, veinte cromosomas somáticos clasificados como meta y submetacéntricos. Asimismo, en los géneros Ostrea: O. palmula y O. iridescens y Pycnodonte: P. fischeri, se encontraron 20 cromosomas en el complejo diploide, por lo que se concluye que en la familia Ostreidae el número cromosómico operacional es 20. En Isognomon alatus se presentan 28 cromosomas en el número diploide.

En C. gigas procedente del Estado de Washington, se sugiere que la influencia del medio ambiente es un factor fundamental en la expresión de los genes ligados al sexo.

Se propone la existencia de razas cariotípicas desde el punto de vista cromosómico.

Los perfiles cromatográficos revelaron especificidad en cuanto al número de bandas y a los factores de corrimiento en cada una de las especies estudiadas.

INTRODUCCION

La especiación, como un proceso cladogénico fundamental, implica la formación de linajes que evolucionan independientemente a partir de una entidad ancestral. Para estudiar los procesos de especiación, es necesario comprender la naturaleza de las fuerzas selectivas, la cantidad de diferenciación genética involucrada y la acción de la separación geográfica en función del flujo génico entre las poblaciones relacionadas con el proceso de generación de especies.

Ciertos tipos de rearrreglos cromosómicos pueden jugar un papel determinante en los procesos de especiación en muchos grupos animales. Sin embargo, para asegurarse de que tales cambios cariotípicos no son meros epifenómenos del proceso de especiación por la presencia de especies homocucenciales, es conveniente conocer todo respecto a la función de estos rearrreglos en los híbridos interraciales y también a nivel interespecífico; esto es, entre la descendencia de las cruzas que ha alcanzado varios estados de divergencia evolutiva.

Dado que la Citogenética estudia la base hereditaria de los organismos en función del comportamiento cromosómico, la utilización de las características morfológicas de los cromosomas en la resolución de problemas de especiación, evolución cariotípica y de taxonomía relacionados con la discriminación de especies estrechamente emparentadas ha cobrado importancia en la actualidad sobre todo en aquellos organismos en donde es común el polimorfismo externo como consecuencia de la interacción ambiental.

Por otra parte, una estrategia adecuada que puede ayudar a dilucidar diferencias y similitudes pequeñas interpoblacionales es aquella que aplica los fundamentos de las técnicas cromatográficas y electroforéticas - mediante las cuales se puede conocer la expresión de algunos genes en los individuos integrantes de esas poblaciones. Este procedimiento se complementa en forma excelente con los estudios citotaxonómicos de las poblaciones, tanto silvestres como aquellas sometidas a domesticación.

ANTECEDENTES

La taxonomía y sistemática basada solamente en la forma, tamaño, color y textura de las conchas de algunos adultos bivalvos es considerada en la actualidad insuficiente y poco precisa debido al enorme rango de variación individual ocasionado por una diversidad de condiciones ecológicas, tales como la naturaleza del substrato, salinidad, velocidad de las corrientes, acción de las olas y la profundidad, que pueden producir infinidad de formas y texturas que hacen conflictiva la identificación de cada una de ellas. En el caso de los ostiones aún cuando los caracteres anatómicos son de utilidad en la solución de este tipo de problemas (Menzel, 1956; Castillo, 1977), es aceptado comúnmente que su capacidad de discriminación se limita por ahora, al nivel de género, siendo de poca utilidad en la discriminación de especies estrechamente emparentadas como es el caso del género Crassostrea. (Menzel, 1968b).

En los moluscos, los estudios de genética a nivel cromosómico no son muy abundantes, con excepción de los pertenecientes al grupo de los gasterópodos que han sido estudiados más ó menos extensamente (Burch, 1965; Patterson, 1967, 1968, 1973). En la familia Ostreidae, sólo destacan los realizados por Longwell, et. al., (1967), Longwell (1968), Longwell y Stiles, (1970), Menzel, (1978b) y Ahmed, et. al. (1970), mientras que en Pteridae, sólo se conoce el trabajo publicado por Wada (1978) en Isoognomon alatus. En cuanto a los estudios de expresión génica mediante la cromatografía y electroforesis relacionados con la familia Ostreidae, son de importancia los realizados por Hillman (1964), Numachi (1962), More et. al. (1966), 1971a, 1971b), Johnson et. al. (1972), Wilkins y Mathers (1973), Fugino y Nagaya (1977) y Torigoe (1978).

En la República Mexicana, sólo se conocen los estudios realizados por: Rodríguez-Romero et. al. (1978, 1979a, 1979c y 1979d) y Rodríguez-Romero y Laguarda Figueras (1979) en especies de Crassostrea de la costa del Golfo de México. En la costa del Océano Pacífico se han realizado estudios por Rodríguez-Romero et. al. (1979a, 1979b) y por Rodríguez-Romero y Laguarda Figueras (1979) en especies del mismo género.

PERSPECTIVAS

Es evidente la necesidad de complementar dichos estudios con el aporte de nuevas investigaciones en especies no estudiadas, pues existen problemas como el de las ostras en las cuales se han identificado razas fisiológicas que podrían ser consideradas como variaciones resultantes a consecuencias de las alteraciones correspondientes que tienen lugar en su medio ambiente, (Stauber, 1947; Loosanoff y Nomejko, 1951). Los cambios fenotípicos resultantes en poblaciones sujetas a presión ambiental cambiante, corresponden en su mayor parte a la natural norma de expresión del genotipo. Por otra parte, muchos de los fenómenos adaptativos que ocurren en los individuos, no se reflejan a nivel del número cromosómico por lo que se hace necesario estudiar a fondo los caracteres morfológicos fundamentales de los cariotipos de las especies, mediante la aplicación de las técnicas que dan acceso al análisis crítico de los cariotipos estandard (Taylor, et. al., 1957; Caspersson, et. al., 1968; Caspersson, et. al., 1970; Caspersson, et. al., 1971; Palmer, 1970; Duriallaux y Lejeune, 1971; Drets y Shaw, 1971; Finaz y Grouchy, 1971; Seabright, 1971; Summer, et. al., 1971; Dutrillaux y Couturier, 1972; Summer, 1972; Wray,

1972; Dutrillaux, 1973, 1975a, 1975b; Latt, 1973; Mendelsohn, et. al., 1973; Verma y Dosik, 1976; Dutrillaux, 1977; Ikushima, 1977; Balik y Pataki, 1978). Al possibilitarse la identificación de los rearrreglos a nivel subcromosómico se enriquece el conocimiento de la biología evolutiva de los organismos, cuyo conocimiento es para la resolución de problemas diversos, relacionados con la taxonomía, la identificación de poblaciones específicas, el delineamiento evolutivo de los cariotipos de especies diferentes, la modificación del genoma a nivel cromosómico en correspondencia a las modificaciones ambientales, y daño genético manifestado por la presencia de mutaciones o aberraciones cromosómicas, especialmente en relación con aquellas que reflejan cambios en la expresión genética a nivel cromatográfico. La expresión génica constituye un campo de investigación amplio, que en la actualidad es casi desconocido en la mayoría de las especies de los moluscos pelecípodos.

OBJETIVOS

Dado que los estudios de Citogenética y de Genética Bioquímica en los moluscos pelecípodos son muy escasos y que con respecto a la fauna de nuestro país no se tienen antecedentes reportados por otros autores, es objeto del presente trabajo el reportar los resultados de las investigaciones a nivel cromosómico y molecular realizadas en especies de importancia económica de las costas mexicanas, a fin de contribuir al mejor conocimiento de la genética de estos organismos para configurar criterios tanto acerca de las cualidades cariotípicas, como del comportamiento de la expresión génica a nivel molecular, lo que posibilitará un mejor conocimiento de sus relaciones evolutivas que den a su vez, una mayor consistencia a su estudio taxonómico. Asimismo se contribuye al estudio de sus capacidades adaptativas al medio ecológico estuarino que está actualmente sometido a fuertes presiones resultantes de la revolución tecnológica que pueda alterar su composición hasta el grado de conducir a la muerte de las faunas marinas.

MATERIAL Y METODOS

RECOLECCION:

Para la realización de este estudio, se hicieron colectas de moluscos pertenecientes a los géneros Crassostrea, Ostrea, Pycnodonte (Ostreidae) e Isognomon (Isognomonidae) (Láminas 17 a 24). Durante los años de 1975 a 1979 en diferentes localidades de las costas mexicanas del Océano Pacífico y Golfo de México. (Tablas 1 y 2, Figuras 1 y 2).

IDENTIFICACION:

Las especies fueron identificadas en el Laboratorio de Malacología del Centro de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, en base a sus caracteres conchológicos y anatómicos.

TECNICAS CITOGENETICAS:

Se estudiaron inicialmente mediante disecciones los organismos colectados a fin de reconocer los diferentes órganos y aparatos para precisar la posición del tejido gonádico y la determinación del sexo. Se mantuvo el tejido gonádico en una solución estabilizadora de citrato de sodio al 2.2% p.v., durante un tiempo de 1-3 horas en presencia de una solución de colchicina al 0.1% p.v. en una proporción de 2 gotas por cada 5 ml de suspensión celular, a fin de bloquear las divisiones en metafase. El tejido fue disgregado con pinzas de disección hasta formar una suspensión homogénea. Se centrifugó durante 10 minutos a 500 RPM, se decantó el sobrenadante y se

trató al botón celular con una solución hipotónica de citrato de sodio al 1% p.v., luego se dejó reposar durante 10-20 minutos para centrifugar nuevamente durante 5 minutos a 800 RPM. Se decantó el sobrenadante y se sometió a 3 cambios de fijador metanol-acético (3:1) centrifugando y decantando sucesivamente para garantizar la fijación del material celular.

La suspensión celular final fue mantenida en reposo durante 4-24 horas antes de la elaboración de laminillas.

Antes de obtener las preparaciones por goteo, el botón celular fue resuspendido. Algunas laminillas fueron secadas al aire y otras fueron flameadas y teñidas con el colorante Giemsa. Finalmente, se lavaron las preparaciones con agua corriente durante un minuto, se dejaron secar al aire, se aclararon con xilól y se montaron en bálsamo.

Las laminillas fueron revisadas al microscopio. Se fotografiaron y amplificaron los mejores campos mitóticos y meióticos seleccionados. Se marcaron las fotografías de los cromosomas con una corona de reloj cuyas es--trías espaciadas representan una separación de 0,5 mm de longitud.

Los cariotipos utilizados se prepararon siguiendo la metodología - propuesta por Al-Aish (1969). Se recortaron y ordenaron las fotografías de cada uno de los cromosomas en orden de tamaño decreciente y por pares homólogos. Asimismo, se midieron los brazos largos y cortos de los cromosomas y se sacó el valor promedio de cada uno de ellos. Se calculó la longitud total del cromosoma sumando el valor del brazo largo al del brazo corto - - ($p + q$) y se determinaron los parámetros correspondientes a la longitud re-

lativa (RL), Índice centrómerico (IC), Arm ratio (AR) y la Diferencia (D) según las siguientes fórmulas:

$$RL = \text{Longitud relativa} = \frac{\text{Longitud total}}{\text{Suma de las longitudes totales}} \times 1,000$$

$$CI = \text{Índice Centromérico} = \frac{P}{\text{Longitud total}} \times 100$$

$$AR = \text{Arm ratio} = \frac{P}{Q}$$

$$D = \text{Diferencia} = \frac{10 (AR-1)}{AR + 1}$$

Los idiogramas fueron elaborados en base a los resultados obtenidos en los análisis estadísticos de los cariotipos en mitosis. La clasificación de los cromosomas se realizó tomando en cuenta la posición del centrómero, de acuerdo con lo propuesto por Levan, et. al. (1964).

MEIOSIS:

Los cromosomas en meiosis fueron interpretados y ordenados en forma decreciente en el cariotipo meiótico.

BANDAS CROMOSOMICAS:

En el caso de las especies de Crassostrea virginica e Isognomon alatus, se realizaron técnicas para la obtención de bandas "G" en mitosis y meiosis respectivamente, mediante la metodología de Baker et. al. (1975).

Los cromosomas fueron ordenados por pares homólogos según sus afinidades en los patrones de bandas individuales. Estos patrones fueron interpretados calculando los valores promedios de cada uno de los segmentos de cada par de homólogos en la mitosis y los valores de cada complejo en paquiteno en las células en meiosis. Se elaboraron los ideogramas con los patrones de bandas respectivos.

TECNICAS CROMATOGRAFICAS:

Los individuos colectados en los muestreos de poblaciones de ostiones en diferentes entidades de la República Mexicana (Tablas 1 y 2) fueron procesados a fin de obtener los respectivos patrones cromatográficos de moléculas libres en el tejido muscular.

Los ejemplares seleccionados fueron lavados en abundante agua corriente, a fin de eliminar la contaminación por la presencia de lodos en la superficie de la cara externa de las conchas. Se realizaron disecciones a fin de extraer una porción de un milímetro cúbico de tejido muscular aproximadamente. Este tejido fue colocado en una solución de alcohol etílico y agua destilada en una proporción de 4:1 a fin de separar las moléculas libres en las regiones intersticiales del tejido muscular. El tejido disgregado se dejó reposar durante un mínimo de 24 horas, a fin de garantizar la extracción. Se utilizaron cantidades equivalente a 10 microlitros para correr las muestras en papel filtro Watman #3 en un sistema de solventes butanol-acético-agua en una proporción 60-15-25 durante 24 horas. El material fue revelado con una solución de Ninhidrina-Isatina-Lutina, en una propor--

ción de 50-1-200 y fijado con una solución al 6.5% p.v. de sulfato de níquel. Los cromatogramas obtenidos fueron analizados a trasluz; las huellas se pasaron a papel albanene con tinta china y se fotografiaron. Finalmente, se calcularon los factores de corrimiento Rfs de cada uno de los individuos procesados y se calcularon los promedios en las poblaciones muestreadas. Se compararon las muestras por especies y por género, relacionando los diferentes estratos encontrados.

TABLA No. 1 ESPECIES Y AREAS DE COLECTA EN LA COSTA DEL PACIFICO
(Fig. 1)

ESPECIE	AREA DE COLECTA	CLAVE	AÑO DE COLECTA
<u>Ostrea iridescens</u>	Playa de Puerto Angel, Oaxaca - - - -	PO-5	1975
	Playa de "Puerto Angelito", Puerto Escondido, Oaxaca - - - - - - - - - -	PO-6	1975
	"La Piedra Blanca", Puerto San Blas, Nayarit - - - - - - - - - -	PN-7	1976
<u>Crassostrea corteziensis</u>	Estero del Pozo, Puerto San Blas, Nayarit - - - - - - - - - -	PN-7	1976 1978
	Estero "El Castillo", Sinaloa, México	PSi-8	1978
	Laguna de Yávaros, Sonora - - - - -	PSo-9	1978
<u>Ostrea palmula</u>	Estero "El Soldado", Guaymas, Sonora	PSo-10	1978
	Estero de "Los Algodones", Bahía de Las Guásimas, Guaymas, Sonora	PSo-11	1978
<u>Pycnodonte fischeri</u>	Estero "El Soldado", Guaymas, Sonora	PSo-10	1978
	Estero de "Los Algodones", Bahía de Las Guásimas, Cuaymas, Sonora - - - -	PSo-11	1978
<u>Crassostrea gigas</u>	Cooperativa "Chapalita", Bahía Falsa, San Quintín, Baja California - - - -	PBc-12	1977 1979

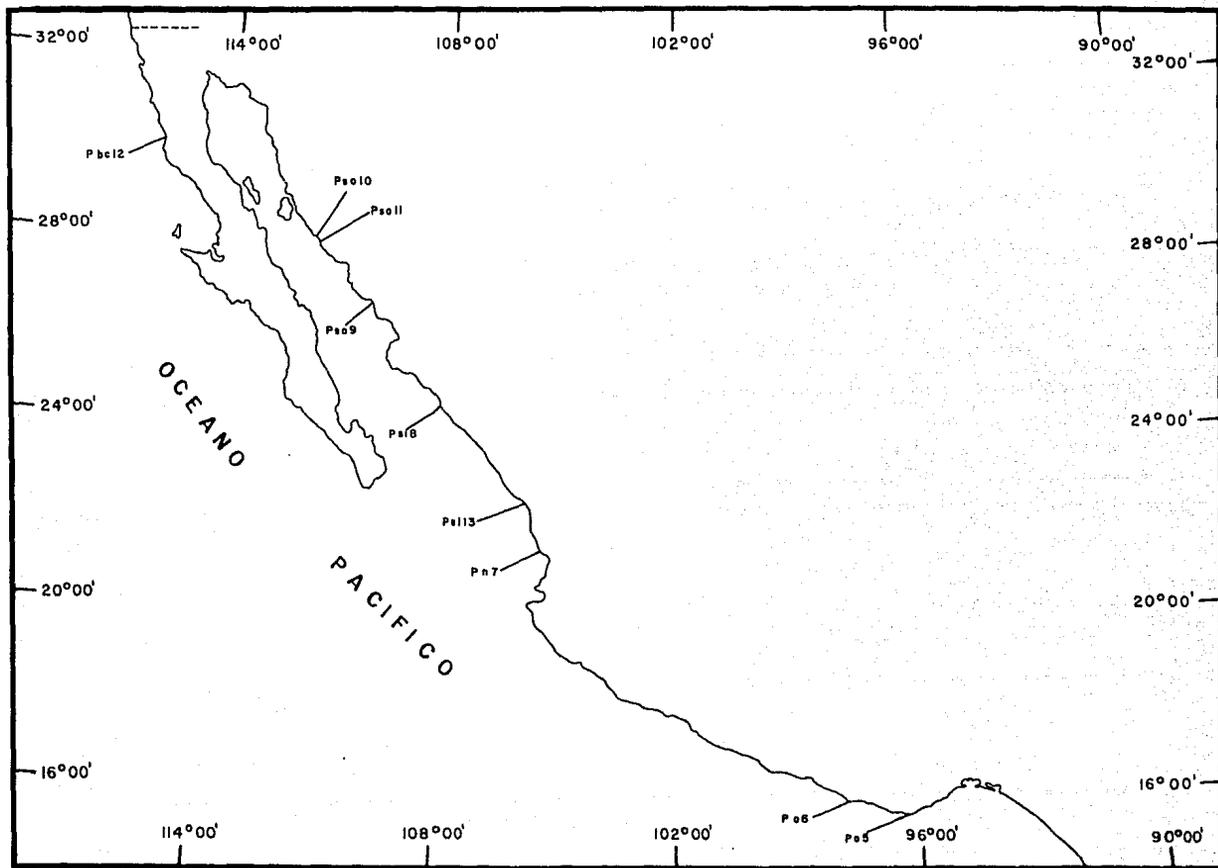


Fig. 1 Areas de colecta en las costas del Pacífico.

TABLA No. 2. ESPECIES Y AREAS DE COLECTA EN LA COSTA DEL GOLFO DE MEXICO

(Fig. 2).

ESPECIE	AREA DE COLECTA	CLAVE	AÑO DE COLECTA
<u>Isoqomon alatus</u>	Laguna de la Mancha, Municipio de Actopan, Veracruz - - - - -	GV-1	1979
	Isla Jaina, Campeche - - - - -		1980
<u>Crassostrea virginica</u>	Banco "El Varal", en el Sistema Lagunar El Carmen-Machona, Municipio de Sanchez Magallanes, Tabasco - - - - -	GT-2	1976
	Banco "El Palón" en la Laguna de Términos, Campeche - - - - -	GC-3	1977
<u>Crassostrea rhizophorae</u>	Estero del Pargo, Isla del Carmen, Campeche	GC-4	1977
	Laguna de la Mancha, Municipio de Actopan, Veracruz - - - - -	GV-1	1979
<u>Ostrea equestris</u>	Laguna de Sontecomapan, Veracruz	GV-2	1980

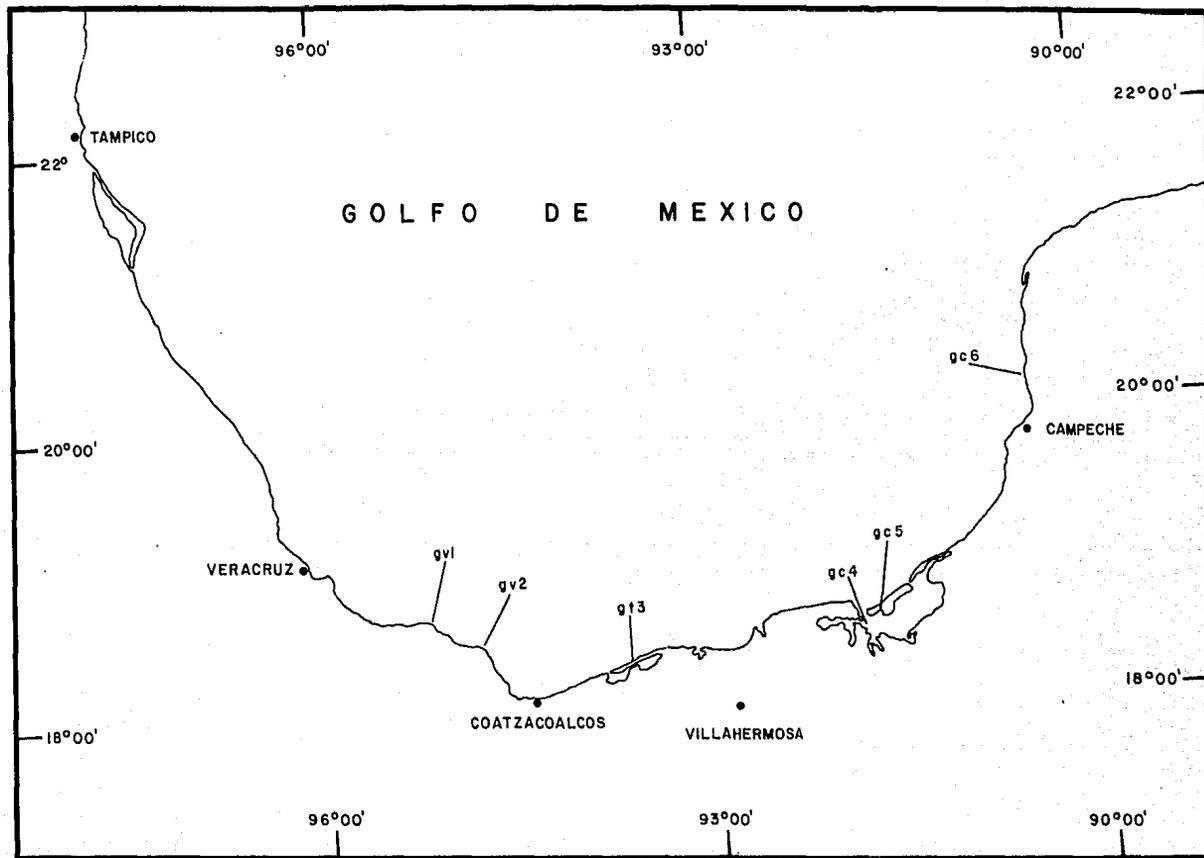


Fig. 2 Areas de colecta en la costa del Golfo de México

RESULTADOS

ANÁLISIS CROMOSÓMICO

GENERO Crassostrea

Crassostrea virginica Gmelin, 1791 (12 ejemplares estudiados)

MITOSIS:

El número de cromosomas en las células mitóticas correspondientes - al complemento diploide fue de 20 ($2n$). Todos los cromosomas que constituyen el cariotipo de estas especies son del tipo birrameado, es decir, presentan una morfología constituida por dos brazos. Los resultados de la clasificación permiten identificar a los pares 1, 3, 5, 6, 8 y 10 como metacéntricos, con el centrómero en la región media (m); y a los pares 2, 4, 7 y 9 - como submetacéntricos, con el centrómero en la región submedia (sm).

No se encontró heteromorfismo cromosómico, ni se registraron casos de heteropignosis que pudieran sugerir la presencia de cromosomas sexuales.

En algunos campos mitóticos fue factible observar la presencia de una constricción secundaria en uno de los cromosomas del primer par.

El número de brazos cromosómicos en el cariotipo diploide es de 40, que es el número que corresponde al fundamental en esta especie. (Tabla 3, Figs. 3 y 4, Láminas 1 y 2).

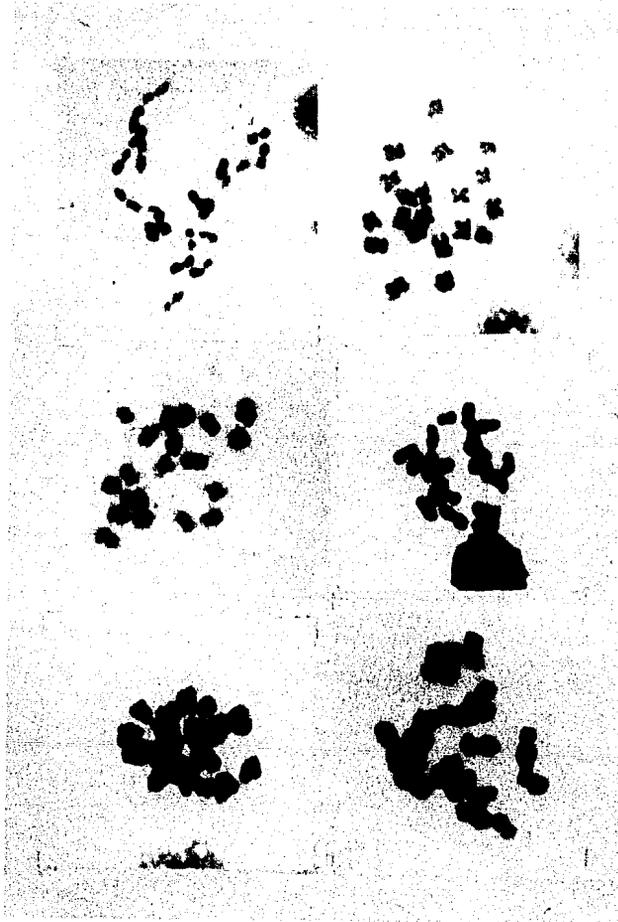


Lámina I Cromosomas mitóticos de Crassostrea virginica

$2n = 20$

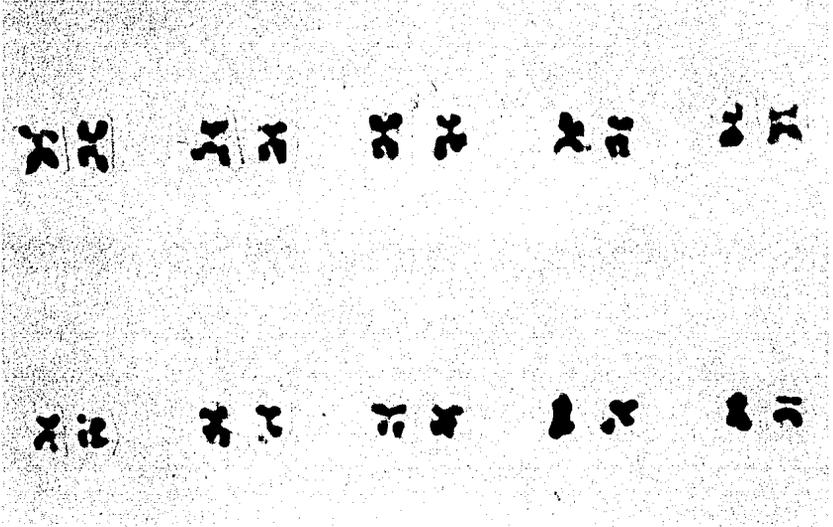


Lámina 2 Cariotipo de Crassostrea virginica

Tabla 3. Valores relativos para identificación de cromosomas de Crassostrea virginica

Cromosomas	P	Q	Longitud total	RL	CI	AR	D	Clasificación
1	6.79	7.58	14.37	136.5969	47.24	1.11	0.52	m
2	4.52	8.34	12.86	122.2433	35.14	1.84	2.95	sm
3	5.38	6.15	11.54	109.6958	46.66	1.14	0.65	m
4	4.07	7.43	11.51	109.4106	35.38	1.82	2.90	sm
5	5.20	5.92	11.31	105.7984	46.77	1.13	0.61	m
6	5.05	5.27	10.32	98.0989	48.94	1.04	0.19	m
7	3.60	6.60	10.25	97.4334	35.15	1.83	2.95	sm
8	3.85	4.60	8.46	80.4182	45.58	1.19	0.86	m
9	2.86	5.52	8.41	79.9429	34.03	1.93	3.17	sm
10	3.04	3.31	6.35	60.3612	47.84	1.08	0.38	m

105.20 999.9996

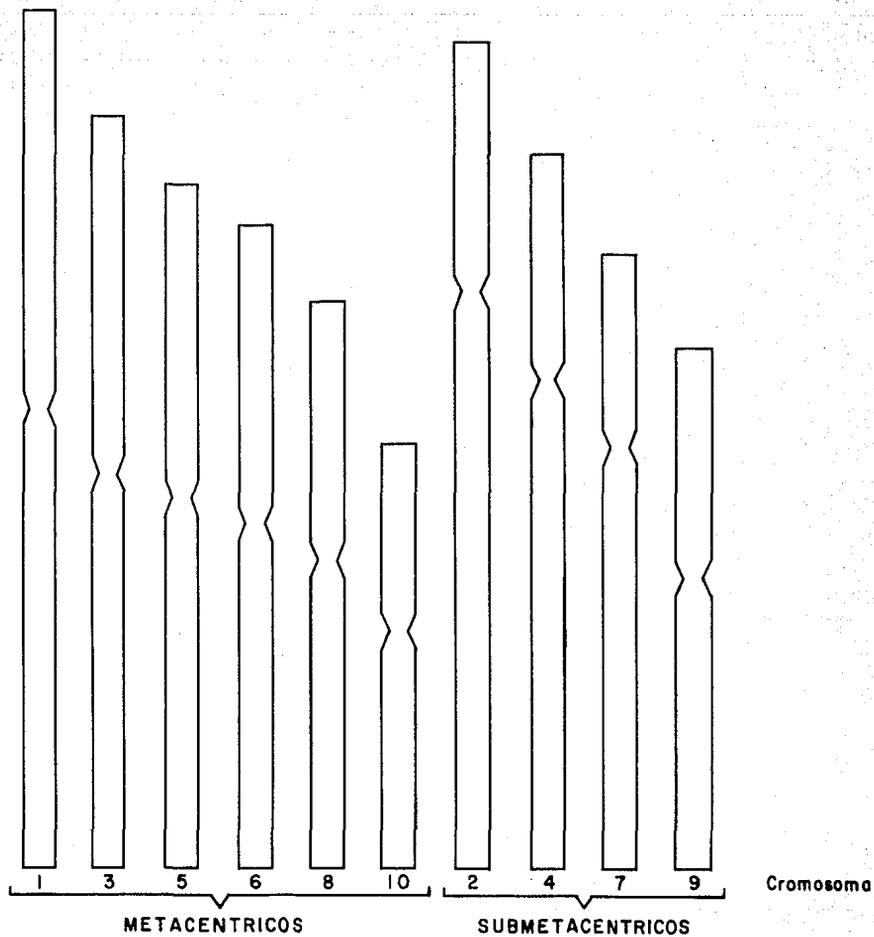


Fig. 3 Ideograma de *Crassostrea virginica*

MEIOSIS:

El número haploide deducido del número de complejos meióticos en diacinesis fue de 10. El análisis de estos complejos demostró la presencia de figuras típicas en las que se acoplan los pares de cromosomas homólogos para la recombinación génica. (Láminas 3 y 4).

El análisis de los cromosomas en profase meiótica intermedia corroboró el número haploide evidenciado en diacinesis y en prometafase I. Asimismo, en la fase leptoténica fue posible comprobar la estrecha homología sugerida durante la mitosis por la exactitud en el apareamiento de los cromosomas tal como fueron observados en el microscopio óptico, en el inicio de la formación del complejo sinaptonémico. No fueron detectadas alteraciones en este proceso de acoplamiento de homólogos.

Observaciones citogenéticas complementarias: Algunas de las observaciones más relevantes en el material celular analizado permitieron determinar la presencia de óvulos maduros portadores de complejos cromosómicos meióticos en estadios de diacinesis y prometafase. Otras zonas del tejido gonádico presentaron óvulos en diferentes grados de maduración con núcleos interfásicos y en profase de la primera división meiótica. Los cromosomas se observaron al microscopio con sus bandas naturales indicando zonas eucromáticas y heterocromáticas. En los espermatoцитos, la condensación cromática es considerable y el reforzamiento de la membrana nuclear dificulta el análisis de la morfología de los cromosomas meióticos; sin embargo, fue posible corroborar el número haploide en dicho material. Se observó la disposición cromosómica normal característica de la anafase mitótica.

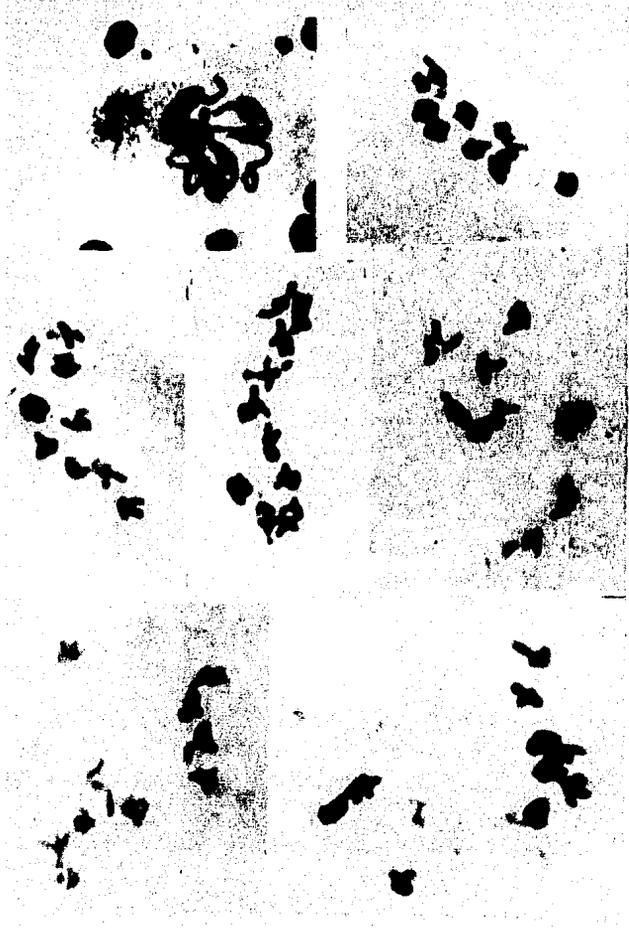


Lámina 3 Cromosomas meióticos en Crassostrea virginica

n=10

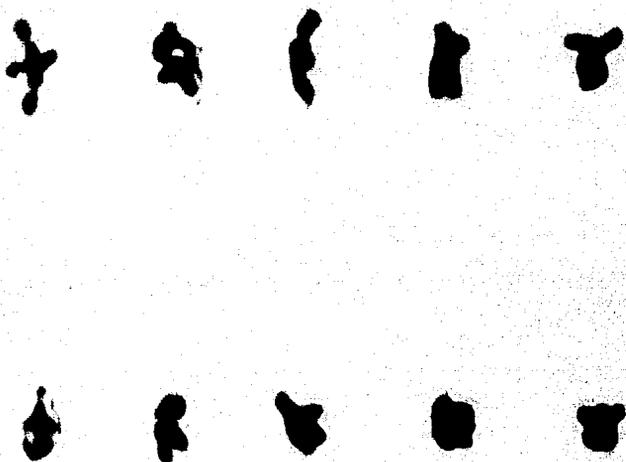


Lámina 4 Cariotipo de los cromosomas en meiosis de

Crassostrea virginica

Crassostrea rhizophorae Guilding, 1828 (14 ejemplares estudiados)

MITOSIS:

El análisis de los cromosomas en células en metafase de la mitosis permitió determinar el número diploide en el cariotipo de esta especie. - Este número es de 20 cromosomas (2n).

Todos los cromosomas analizados presentaron una morfología general correspondiente a entidades birrameadas, es decir, que cada cromosoma se encuentra formado por dos brazos que en la metafase mitótica aparecen replicados. Los resultados de la clasificación permitieron identificar a los pares 1, 3, 5, 8 y 10 como metacéntricos y a los pares 2, 4, 7 y 9 como submetacéntricos.

No fue detectado heteromorfismo cromosómico sistemático y de validez estadística que pudiera sugerir la presencia de cromosomas sexuales.

No fueron identificados otros rasgos de la morfología cromosómica - tales como constricciones secundarias y satélites. Tabla 4, Fig. 4, Láminas 5 y 6).

MEIOSIS:

El número haploide deducido por un número de complejos meióticos en diacinesis fue de 10 (n).

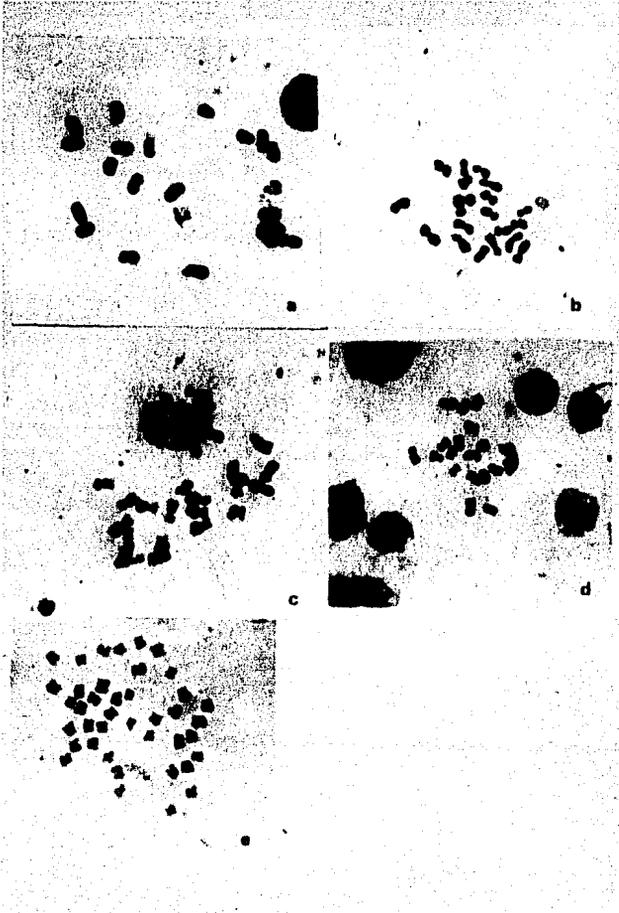
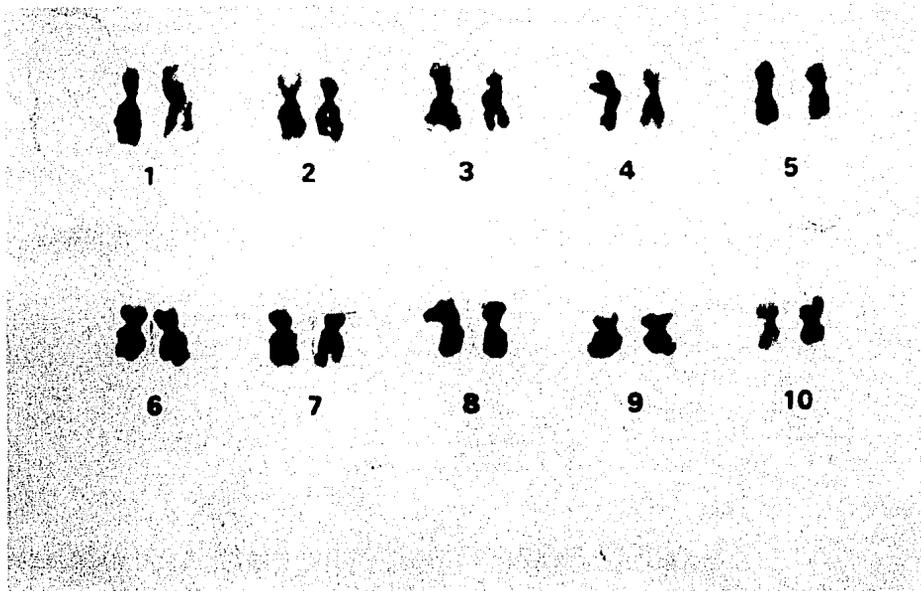


Lámina 5 a-d. Cromosomas meióticos en Crassostrea rhizophorae ($2n=20$)

e. Tetraploide



Lamina 6 Cariotipo de Crassostrea rhizophorae

T a b l a 4

Valores Relativos para la Identificación de los Cromosomas de
Crassostrea rhizophorae Guilding, 1828.

CROMOSOMA	P	Q	Longitud Total	R L	C I	A R	CLASIFICACION
1	11.72	13.78	25.50	138.86	45.96	1.17	m
2	7.5	13.98	21.48	116.97	34.91	1.86	sm
3	9.	11.33	20.83	113.43	45.60	1.10	m
4	6.93	12.94	19.87	108.20	34.87	1.86	sm
5	8.51	10.38	18.89	102.86	45.05	1.12	m
6	6.17	11.80	17.97	97.85	34.33	1.91	sm
7	5.27	11.11	16.38	89.20	32.17	2.10	sm
8	6.78	8.94	15.73	85.66	43.10	1.31	m
9	4.75	9.95	14.70	80.05	32.17	2.10	sm
10	5.5	6.78	12.28	66.87	44.76	1.23	
			183.63	999.95			

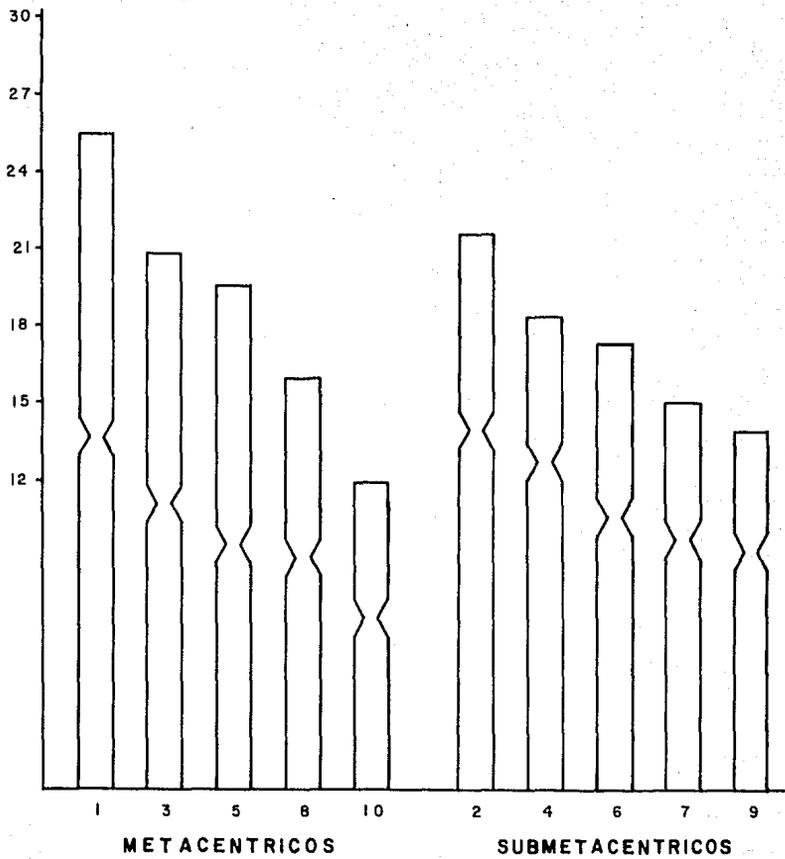


Fig. 4 Ideograma de *Crassostrea rhizophorae*

El análisis de estos complejos demostró la presencia de figuras típicas en las que se aparecen los pares de cromosomas homólogos.

Los cromosomas correspondientes a las fases cigoténticas corroboraron, por su número, el valor del número haploide evidenciado en la prometafase de la primera división.

Crassostrea corteziensis Hertlein, 1951 (11 ejemplares estudiados)

MITOSIS:

Todos los campos mitóticos analizados presentaron un número de 20 - cromosomas que corresponden al estado diploide de la especie Crassostrea - corteziensis. La morfología de los cromosomas que integran el cariotipo permite clasificarlos como birrameados. En el cariotipo, se observa que el conjunto de cromosomas difiere muy poco en tamaño, con excepción del primero y el último par. Los cromosomas ordenados por pares de homólogos fueron clasificados como metacéntricos con excepción de los pares 2, 4 y 7 que son - submetacéntricos. El número de brazos o número fundamental, es de 40. La región del cinetocoro en cada cromosoma es fácilmente reconocible. No fueron identificadas otras características de la morfología cromosómica tales como zonas heteropignóticas, constricciones secundarias, ni satélites. - (Tabla 5, Fig. 5, Láminas 7 y 8).

MEIOSIS:

Las figuras cromosómicas observadas, correspondieron a aquellas que se encuentran presentes durante la profase y prometafase de la primera división meiótica, siendo las más comunes, las correspondientes a las fases de cigonema y diacinesis; en ellas, se observó un número de complejos cromosómicos bivalentes iguales a 10. Durante la diacinesis, algunas de las figuras presentaron el arreglo característico de los cromosomas homólogos durante el proceso de terminalización, con evidencia de quiasmas. (Lámina 9).

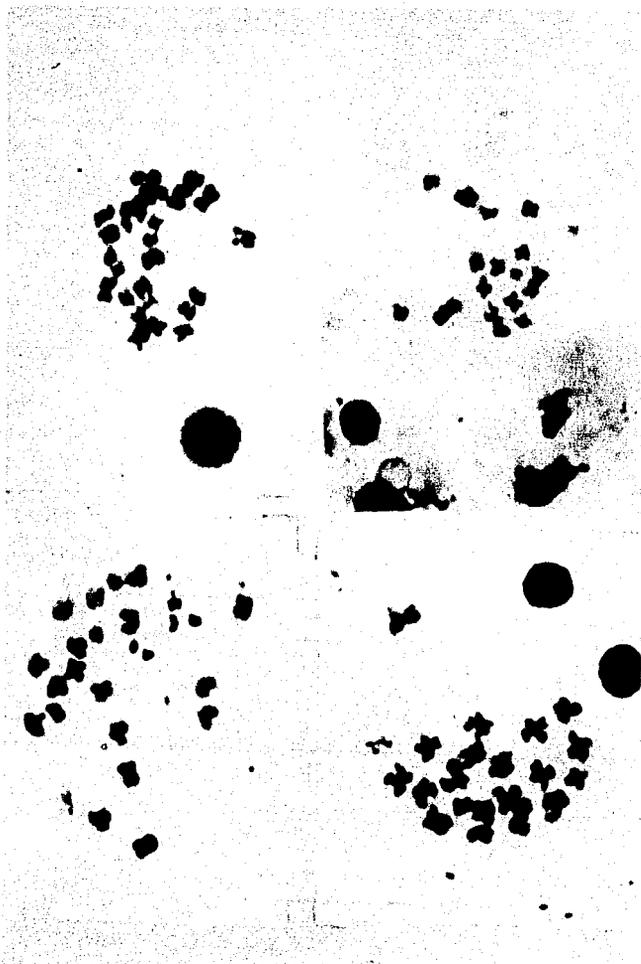


Lámina 7 Cromosomas mitóticos en Crassostrea corteziensis

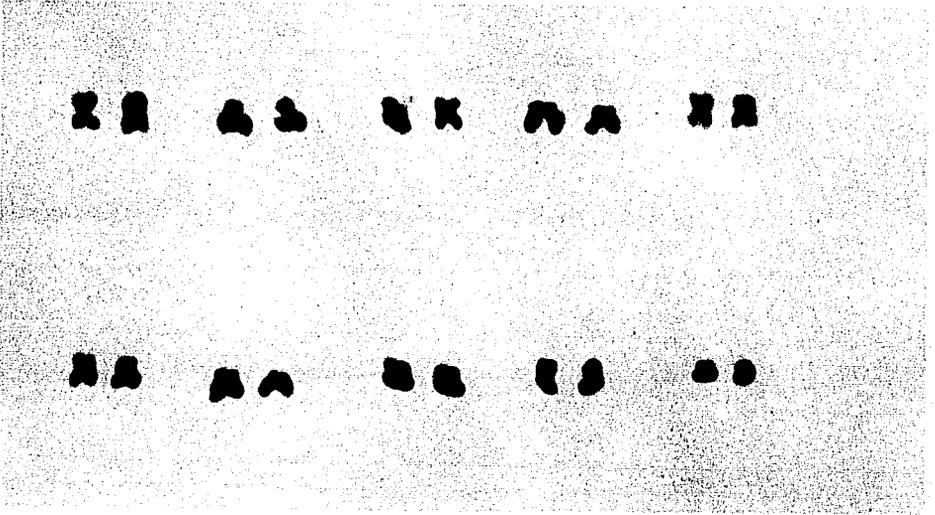


Lámina 8. Cariotipo de Crassostrea corteziensis

Tabla 5. Valores relativos para la identificación de los cromosomas de Crassostrea corteziensis

Cromosoma	P	Q	Longitud total	R L	C I	A R	D	Clasificación
1	7.86	8.97	16.83	129.9112	46.70	1.14	0.65	m
2	4.92	11.29	16.21	125.1254	30.35	2.29	3.92	sm
3	7.04	7.68	14.72	113.624	47.82	1.09	0.43	m
4	4.48	9.5	13.98	107.912	32.04	2.12	3.58	sm
5	6.23	7.19	13.42	103.5893	46.42	1.15	0.69	m
6	5.89	6.67	12.56	96.9509	46.89	1.13	0.41	m
7	3.87	8.17	12.04	92.937	32.18	2.11	3.56	sm
8	5.15	5.98	11.13	85.9127	46.27	1.16	0.74	m
9	4.62	5.69	10.31	79.5831	44.81	1.23	1.03	m
10	3.68	4.67	8.35	64.4538	44.07	1.26	1.15	m
			129.55	999.9994				

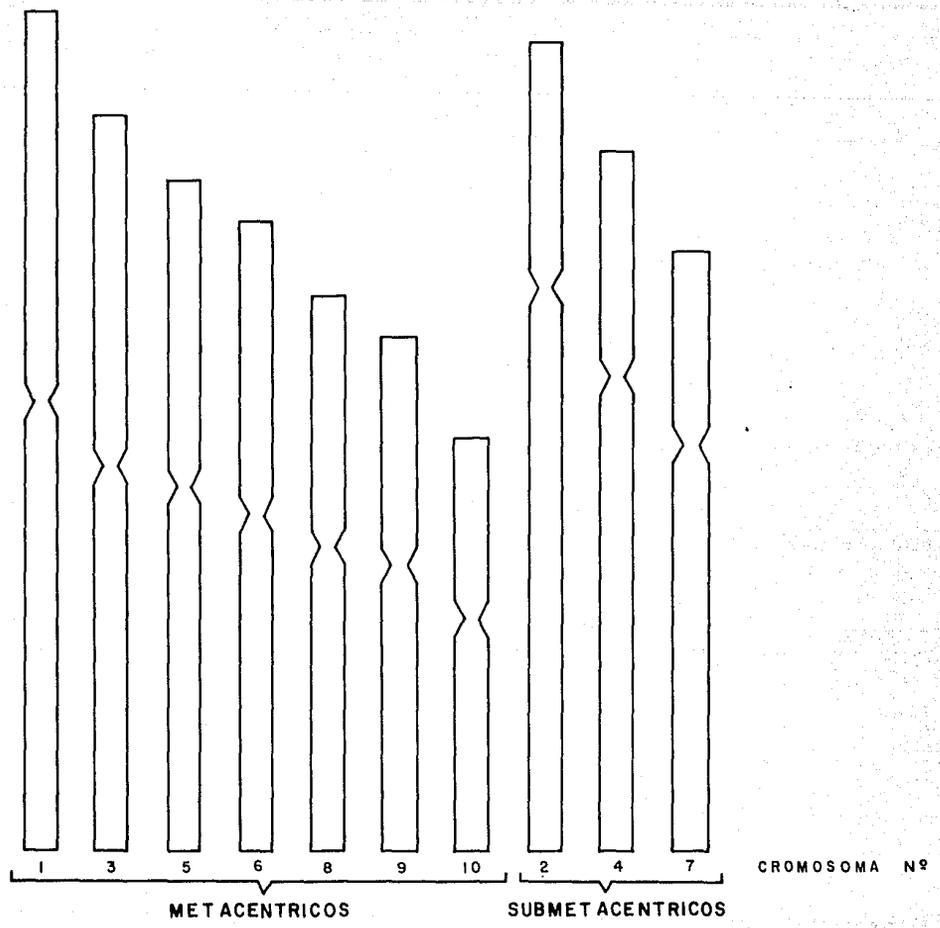


Fig. 5 Ideograma de Crassostrea corteziensis



Lámina 9 Cromosomas meioticos en Crassostrea corteziensis

Crassostrea gigas Turnberg, 1793 (300 ejemplares estudiados)

Como se ha reportado anteriormente, (Ahmed, 1973) en esta especie se presenta un número cromosómico diploide igual a 20 como en las otras especies de Crassostrea estudiadas en la presente tesis.

En el caso de la población procedente de la Bahía de San Quintín, - Baja California, México, el estudio de la proporción de sexos demostró en los 300 especímenes estudiados, que todos los organismos eran del sexo masculino en las colectas realizadas en 1977 y 1979. La determinación del número cromosómico pudo ser inferida mediante el estudio de los complejos meióticos en profases I de la espermatogénesis (espermatocitos primarios). No fue posible el análisis crítico de las cualidades cromosómicas en mitosis, en virtud de las características citológicas presentes durante la espermatogénesis de esta especie.

GENERO Ostrea y Pycnodonte

Ostrea iridescens Hanley, 1854, O. palmula Carpenter, 1857; Pycnodonte - fischeri Dall, 1914.

Ostrea iridescens se encuentra representada desde las costas de Oaxaca hasta las de Sonora. Los ejemplares analizados demostraron la presencia de 20 cromosomas, cuya morfología general es la de cromosomas birrameados. No se analizaron en forma crítica las cualidades cromosómicas de esta especie. En el caso de Ostrea palmula, se colectaron 8 ejemplares vivos a lo largo de la costa de Sonora desde Guaymas, (Estero el Soldado), hasta el Estero los Algodones en un recorrido que comprende aproximadamente 75 Km de costa. Por el estado de los ejemplares, éstos tampoco resultaron adecuados para el análisis citogenético crítico. Sin embargo, las evidencias logradas a nivel de células en meiosis de tejido gonadal, demostraron la presencia de números haploides con valores de 10 por lo que se infiere que el número diploide en esta especie es asimismo, igual a 20. Pycnodonte fischeri fue extraordinariamente rara en las áreas correspondientes a las costas del Sur de Sonora y Norte de Sinaloa desde Guaymas hasta la desembocadura del Río Culiacán. Por esta circunstancia, no fueron analizadas citogenéticamente en forma exhaustiva.

BANDAS 6 EN Crassostrea virginica (5 ejemplares estudiados)

Del análisis de las bandas cromosómicas se pudo observar que existen patrones consistentes y similares en los dos cromosomas homólogos, lo que facilita su identificación.

Los patrones de bandas representativos de cada par cromosómico en el cariotipo, son diferentes en cada caso y representan peculiaridades propias (Lámina 10).

La tabla número 6, resume el número de bandas encontradas en el cariotipo.

La figura 6, representa el idiograma así como los patrones de bandas cuya descripción se hace a continuación:

Par cromosómico 1: Está representado por el par de cromosomas de mayor tamaño en el cariotipo de C. virginica, dichos cromosomas son metacéntricos. Presentan 11 bandas; 4 oscuras, 2 grises y 5 espacios intracromosómicos, no teñidos, considerados como bandas claras. La primera banda es gris y se encuentra en la porción telomérica de los brazos superiores; ocupa aproximadamente el 9% de la longitud total del promedio del primer par; en seguida se encuentra una banda clara de un grosor aproximado al 4% de la longitud total; sigue una banda oscura con un grosor aproximado del 20%; en continuación, una banda clara de grosor similar a la segunda. La región centromérica se distingue como una banda oscura cercana al valor de 10% de la longitud, junto a ella se localiza una banda clara similar a las anteriores;

sigue otra banda oscura de más ó menos un 14% de la longitud; una banda clara gruesa de aproximadamente el 10%, una banda oscura con un valor de 12% aproximadamente; una banda clara próxima al 10% y finalmente una banda gris de valor cercano al 8% en el telómero opuesto.

Par cromosómico 2: Presenta 8 bandas; tres oscuras, una gris y cuatro claras. El brazo corto, presenta una banda clara distal que incluye la región del telómero que comprende aproximadamente el 12% de la longitud total del cromosoma. En seguida, se localiza una banda oscura angosta (5%), y una banda clara de grosor intermedio (12%) aproximadamente, a continuación se identifica una banda oscura hasta las proximidades del centrómero, seguida por una clara que abarca 10% en las cercanías del centrómero en el brazo largo. Más abajo, se identifica una banda oscura gruesa de 20% aproximadamente, a la que le sigue una zona ancha y clara, muy visible, que ocupa aproximadamente la cuarta parte de la longitud total promedio de este par de cromosomas.

Finalmente, una banda gris, que comprende la porción distal del brazo largo de este cromosoma.

Par cromosómico 3: En este par se localizan 14 bandas: 6 oscuras, una gris y 6 claras. En la parte superior se localiza una banda terminal oscura; le sigue una clara angosta, otra oscura de dimensiones similares a la primera y luego una clara similar a la segunda. Antes de la región centromérica, son visibles dos bandas de dimensiones intermedias, una oscura y una clara (más ó menos el 10% de la longitud total del cromosoma para la zona clara); dicha región centromérica se encuentra dentro de los lími-

tes de una banda oscura que se prolonga hasta el extremo proximal del otro brazo. Una banda clara angosta, una oscura y otra clara ocupan a continuación la primera mitad del brazo inferior. Finalmente, se observa una banda clara que ocupa aproximadamente el 15% de la longitud total del cromosoma - seguida por una banda gris que llega hasta el telómero de este par de cromosomas.

Par cromosómico 4: Este par de cromosomas que son submetacéntricos presenta 7 bandas: 3 oscuras, una gris y 3 claras. El brazo corto presenta 3 bandas, de un tercio aproximadamente de su longitud cada una; las bandas de los extremos son oscuras y la central es clara. En el brazo largo, se distinguen 4 bandas: una banda clara en las proximidades del centrómero, de tamaño intermedio igual, aproximadamente al 12% de la longitud total del cromosoma, seguida por una banda oscura ancha, que junto con la banda clara que está a continuación ocupan la mayor parte de la longitud del brazo largo de este par de cromosomas. Finalmente, se encuentra una banda gris que llega hasta el telómero.

Par cromosómico 5: Es un par formado por elementos metacéntricos - con 11 bandas: 5 oscuras, una gris y 5 claras. En el brazo superior, según el ideograma, se encuentra en el extremo una banda oscura, después una clara y una oscura. Estas 3 bandas de dimensión parecidas abarcan la mitad de este brazo; les sigue una banda clara más ó menos ancha (15% aproximadamente de la longitud total del cromosoma) y una banda oscura angosta - que llega hasta el centrómero. Al iniciarse el brazo inferior y unida al centrómero, se localiza una banda clara muy angosta que en algunos carioti-

pos no es visible con precisión; a esta banda le siguen una oscura y una clara de dimensiones parecidas, que abarcan el primer tercio de la longitud de este brazo. Una banda oscura ocupa el tercio siguiente y le siguen dos bandas, una clara y una gris, que ocupan el último tercio.

Par cromosómico 6: Integrado por cromosomas metacéntricos se distinguen en él 11 bandas: 4 oscuras, 2 grises y 5 claras. El brazo superior consta de una banda gris angosta en el extremo, seguida por una clara y una gris, una clara y una oscura; estas bandas no difieren mucho en dimensiones. En el brazo extremo del brazo inferior del centrómero, se distinguen una banda clara angosta, una oscura, una clara, una oscura, una clara y finalmente una oscura; todas ellas de dimensiones más ó menos parecidas.

Par cromosómico 7: Formado por cromosomas submetacéntricos, presenta 8 bandas: 2 oscuras, 2 grises y 4 claras. En el extremo del brazo corto, se localiza una banda clara que ocupa el primer tercio de este brazo; le sigue una oscura de dimensiones parecidas y una clara similar, que abarca la región centromérica que llega hasta el extremo proximal del brazo largo; luego se encuentra una banda gris angosta a la que sigue una clara muy angosta, un tanto difícil de observar, aunque está presente en la mayoría de las mitosis analizadas; a ésta le sigue una banda oscura de dimensiones intermedias (12-15% de la longitud total del cromosoma) que se limita con una banda clara ancha de posición intermedia al brazo largo; al final, se localiza una banda gris con un grosor cercano al 15% del total de la longitud promedio de este par.

Par cromosómico 8: En este par se identificaron exclusivamente bandas oscuras y claras. En el extremo del brazo superior, se identificó una banda oscura seguida por una clara de dimensiones cercanas (12% aproximadamente para cada una); más abajo, se encuentra una banda gruesa con un valor cercano al 20% de la longitud total del cromosoma; muy cerca del centrómero, se identificó una banda angosta clara. El brazo inferior se inicia, en su posición proximal al centrómero, con una banda oscura de dimensiones intermedias que ocupa el primer tercio superior de este brazo; le sigue una banda clara y finalmente una oscura de dimensiones parecidas.

Par cromosómico 9: Está formado por cromosomas pequeños submetacéntricos con 6 bandas: 3 oscuras, distribuidas en la porción media del brazo corto, media del brazo largo y terminal del brazo largo; estas bandas son similares en cuanto a sus dimensiones. Las bandas claras se encuentran en el brazo corto terminal, en la región centromérica y en la región subterminal del brazo largo; las dos últimas son de dimensiones intermedias y la primera es angosta.

Par cromosómico 10: Está formado por el par de cromosomas más pequeños, se distinguen 5 bandas: una oscura, 2 grises y 2 claras. El brazo superior presenta en su primer tercio una banda de color gris, seguida de una banda clara que se prolonga hasta un poco más allá del centrómero, dentro de los límites del brazo inferior; le sigue otra banda gris, una clara y una oscura en la porción terminal, las cuales ocupan cada uno de los tercios del brazo inferior de la longitud promedio de este par.

Tabla No. 6. Número y tipos de bandas-G en el cariotipo de: Crassostrea virginica.

Par cromosómico	Bandas claras	Bandas oscuras	Bandas grises	Total
1	5	4	2	11
2	4	3	1	8
3	6	6	1	13
4	3	3	1	7
5	5	5	1	11
6	5	4	2	11
7	4	2	2	8
8	3	4	-	7
9	3	3	-	6
10	2	1	2	5
Total	40	35	12	87



Lámina 10 Patrón de bandas G en el cariotipo de

Crassostrea virginica

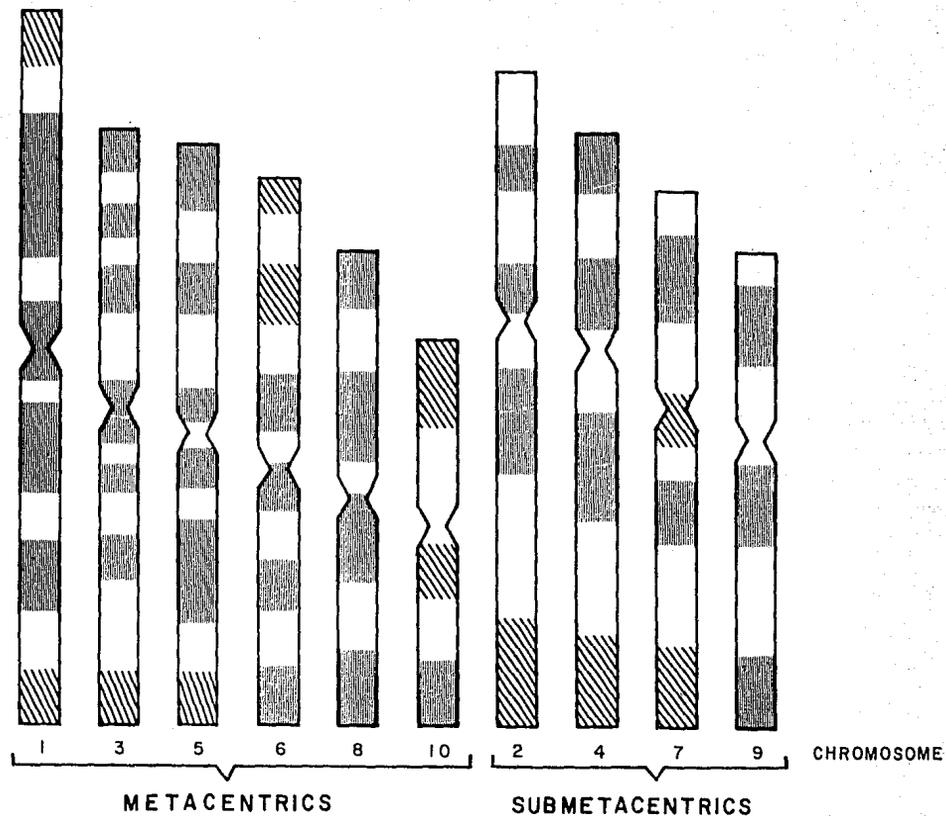


Fig. 6 Patrón de Bandas "G" en *Crassostrea virginica*

GENERO Isognomon

Isognomon alatus: Gmelin, 1791 (14 ejemplares estudiados)

MITOSIS:

El número diploide encontrado ($2n$) es de 28. La morfología de los cromosomas integrantes del cariotipo comprende los pares de cromosomas meta céntricos: 1, 3, 4 y 6; los pares submetacéntricos: 2, 5, 7, 8, 9, 12 y 13; el par 10 subtelocéntrico y los pares acrocéntricos: 11 y 14. El número fundamental o número de brazo es de 48. Aunque es posible que existan constricciones secundarias en el par 5, no pudieron ser observadas en forma consistente mediante las técnicas utilizadas. No fueron identificados cromosomas sexuales o heterocromosomas indicadores de diferenciación sexual cariotípica. (Tabla 7, Fig. 7, Láminas 11 y 12).

MEIOSIS:

El número haploide encontrado en células meióticas en fase cigoténica y en diacinesis es de 14 (n). Los complejos cromosómicos presentaron la configuración clara de bivalentes. No fue identificada heteropinosis que sugiera la presencia de cromosomas sexuales. Láminas 13 a 16.

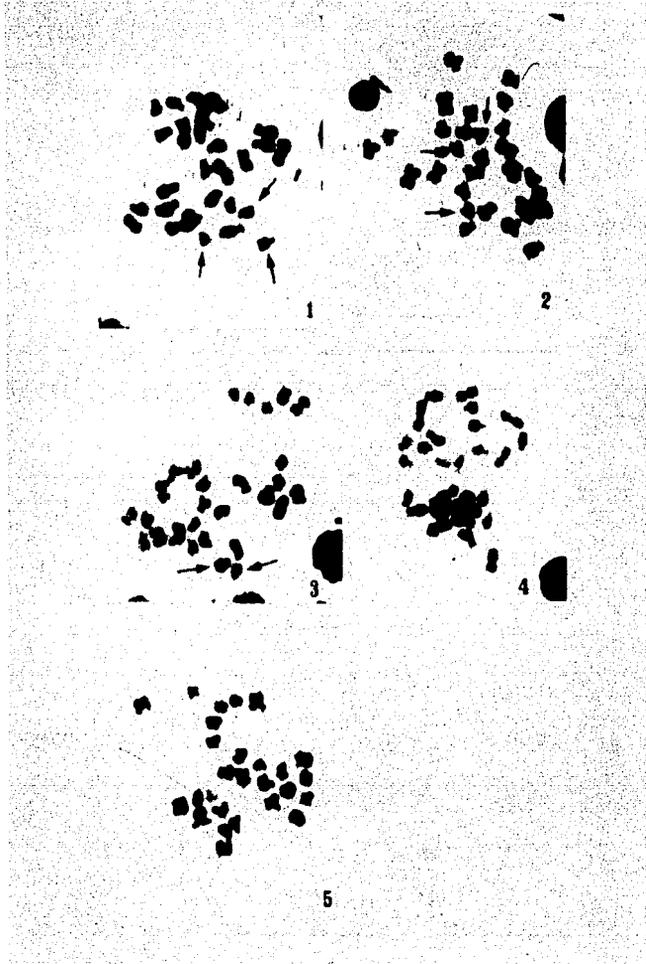


Lámina II Cromosomas mitóticos en Isognomon alatus ($2n = 28$)

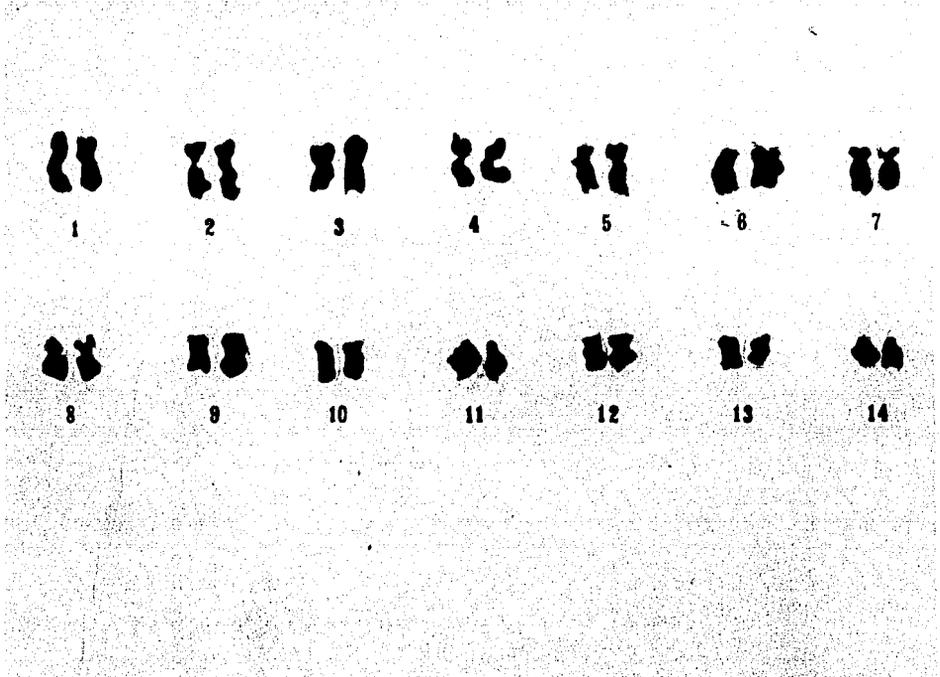
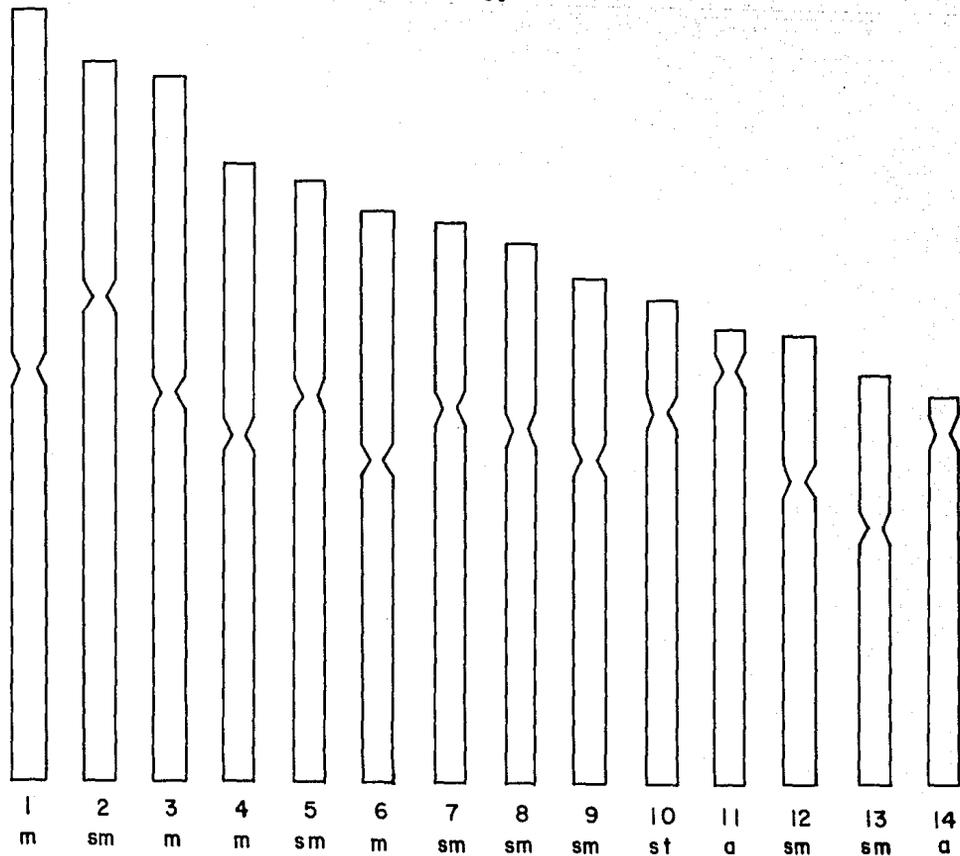


Lámina 12 Cariotipo de Isognomon alatus

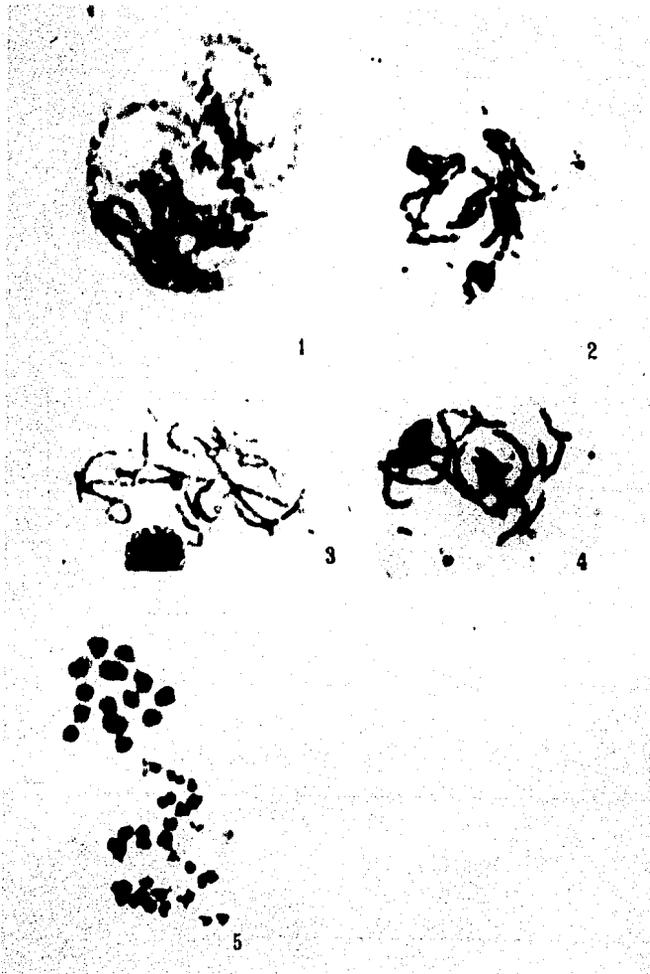
Tabla 7. Resultados del Análisis Estadístico de la Medición de los Cromosomas de Cariotipos Mitóticos de Isognomon alatus.

CROMOSOMA	P	Q	P + Q	L. R.	Indice	RELACION DE BRAZOS	DIFERENCIA	CLASIFICACION
				$\frac{p + q}{p + p}$ (1000)	Centromérico $\frac{p}{p + q}$ (100)			
1	9.8	11.16	20.96	99.5535	46.75	1.14	.6542	m
2	6.43	13.05	19.48	92.5239	33.05	2.03	3.3993	sm
3	8.35	10.64	18.99	90.1966	43.97	1.27	1.1894	m
4	7.32	9.42	16.74	79.5098	43.72	1.28	1.228	m
5	5.63	10.68	16.31	77.4674	34.51	1.89	3.0795	sm
6	6.66	8.86	15.52	73.7152	42.91	1.33	1.4163	m
7	4.97	10.19	15.16	72.0053	32.78	2.05	3.4426	sm
8	4.84	9.7	14.54	69.0605	33.28	2	3.3333	sm
9	4.79	8.94	13.73	65.2132	34.88	1.85	2.9824	sm
10	2.97	10.08	13.05	61.9834	22.75	3.39	5.441	st
11	1.43	10.95	12.38	58.8011	11.55	7.66	7.6905	t
12	3.87	8.25	12.12	57.5662	31.93	2.13	3.6102	sm
13	4.15	6.99	11.14	52.9115	37.25	1.68	2.5373	sm
14	.94	9.48	10.42	49.4917	9.02	10.08	8.1949	t
LONG. C. HAP. 210.54				999.9993				

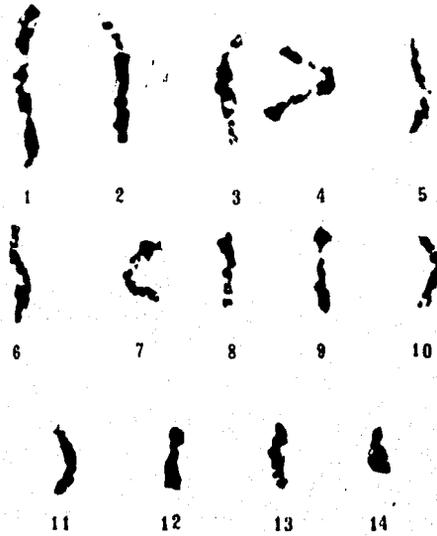


PARES CROMOSOMICOS

Fig. 7 Ideograma de Isognomon alatus



Lamina 13 Cromosomas meióticos en cigonema de Isognomon alatus



CIGOTENIC "G" BANDED
CHROMOSOMES OF Isognomon alatus
Gmelin 1791.

Lámina 14 Cromosomas cigoténicos con bandas G en Isognomon alatus

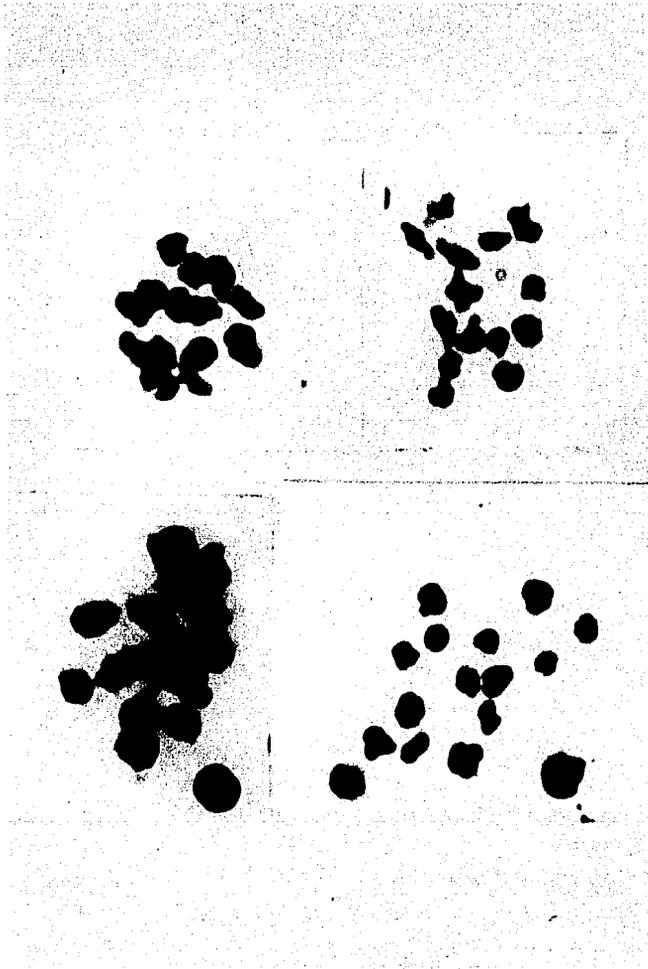


Lámina 15 Prometafase I de la meiosis en Isognomon alatus

(n=14)

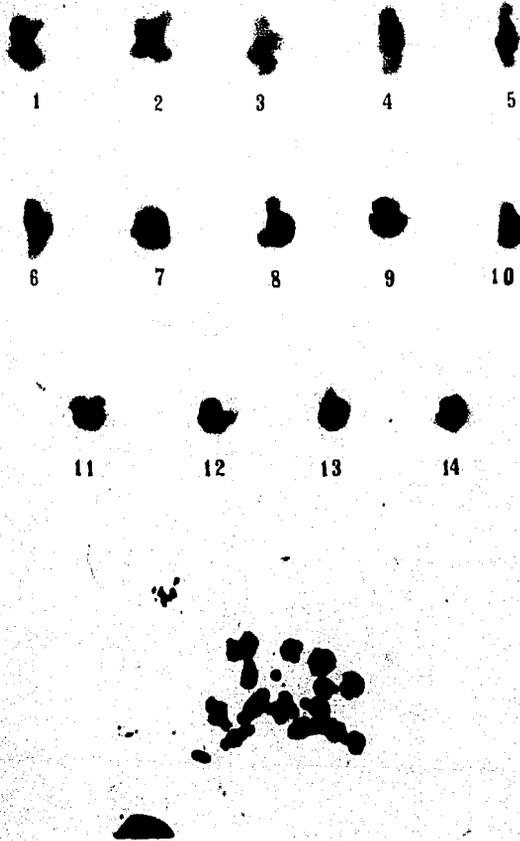


Lámina 16 Cariotipo meiótico de Isognomon alatus (n = 14)

RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS CROMATOGRÁFICOS

GENERO Crassostrea

Crassostrea virginica (10 ejemplares estudiados)

El resultado del análisis poblacional de los patrones cromatográficos en esta especie demostró que pueden ser identificadas claramente 6 bandas o estratos a lo largo del substrato que se manifiestan como huellas en diversos tonos de morado. Las moléculas separadas por este método (Fig. 8), tuvieron factores de corrimiento constantes, cuyos valores se enlistan en la Tabla 8.

Las bandas se presentaron con formas diversas y por las tonalidades, se deduce que no contienen cantidades equivalentes de aminoácidos libres.

Crassostrea corteziensis (10 ejemplares estudiados)

Esta especie quedó caracterizada a nivel de la expresión cromatográfica por 7 estratos diferentes en la cromatografía unidimensional. Uno de ellos, el segundo en avance, no es fácilmente identificable, dada su posición intermedia entre dos estratos, sin embargo, la resolución cromatográfica mediante muestras a diferentes concentraciones permitió su identificación al determinarse el cálculo de su factor de corrimiento con precisión. Además, su color pardo característico, ayudó en su discriminación (Fig. 9).

La Tabla 9 contiene en detalle la localización promedio de los estratos según las impresiones a partir de sus factores de corrimiento respectivos.

Al igual que en la especie Crassostrea virginica, la forma de las impresiones es irregular y la intensidad de la coloración en los cromatogramas antes de la fijación demuestra la presencia de tonos amarillo, morado y pardo.

Crassostrea rhizophorae (10 ejemplares estudiados)

El análisis cromatográfico resultante del procesamiento de los ejemplares de esta especie permite su identificación por la presencia de 6 bandas con morfología y concentraciones diversas.

La Tabla 10 presenta los valores promedios de los factores de corrimiento, calculados a partir de las impresiones de cada uno de los organismos procesados en esta especie. (Fig. 10).

Género Ostrea

Ostrea equestris (10 ejemplares estudiados)

La expresión cromatográfica de los aminoácidos libres en músculo en esta especie demostró la presencia de 6 bandas; cuatro de ellas, las de menor avance (Rfs. 0.13, 0.19, 0.24 y 0.27 están muy cercanas a las cuatro primeras en los cromatogramas de Crassostrea virginica. En la Figura 13 se puede observar que las diferencias existentes entre estas dos especies, son

aparentes en los estratos cinco y seis, en los que la curva de comportamiento se mantiene por debajo de los valores para éstos mismos estratos en Crassostrea virginica. La Tabla 11 presenta los valores obtenidos en el análisis de los patrones cromatográficos en esta especie. La coloración de las huellas se manifestó en tonos fundamentales del morado-azul antes de la fijación que viró a rojo-carmín después del tratamiento con el fijador a base de sulfato de níquel.

Género Isognomon

Isognomon alatus (10 ejemplares estudiados)

Esta especie conocida como "ostiones aplanados de árbol" fue la más notoria en cuanto a las diferencias manifiestas en su perfil cromatográfico; ya que se presentaron únicamente cuatro bandas con los siguientes factores de corrimiento: 0.20, 0.24, 0.26 y 0.32. Una de las principales características de este patrón cromatográfico consiste en que, además de el número de estratos, la posición de las huellas está en el nivel más bajo (Rf 0.20), separándose notablemente del paquete de huellas restantes. Este tipo de moléculas está en cantidades menores al resto de las que se manifiestan en cromatografía. (Tabla 12, Fig. 12).

Es evidente (Gráfica 14) que no existe relación cercana entre Isognomon alatus y las especies de Ostrea y Crassostrea que han sido analizadas en este trabajo, según el comportamiento gráfico que demuestra una clara separación en los niveles de expresión cromatográfica.

Tabla 8. Crassostrea virginica Colecta de primavera, 1980.

Laguna La Machona, Sánchez Magallanez, Tabasco
 Banco: Los Arrieros OS - 11 OS - 17 Silvestre.

Identificación	L. total	Longitud de huellas							RF = $\frac{LN}{LT}$					
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6
OS - 11	41.5 cm	5.5	7.7	10	10.5	14	16		0.13	0.18	0.24	0.25	0.33	0.38
OS - 12	41.4	-	8.4	10.2	11.6	14	15.7		-	0.20	0.24	0.28	0.33	0.37
OS - 13	41.5	6.2	8.8	11.2	12.6	15.2	16.2		0.14	0.21	0.26	0.30	0.36	0.39
OS - 14	41.5	5.7	8.5	11.0	12.7	14.5	16.5		0.13	0.20	0.26	0.30	0.34	0.39
OS - 15	41.2	-	8.3	10.5	12.0	14.5	15.7		-	0.20	0.25	0.29	0.35	0.38
OS - 16	41.4	-	8.5	10.5	12.0	14.5	15.7		-	0.20	0.25	0.28	0.35	0.37
OS - 17	41.5	5.4	7.8	10.0	12.0	14.0	15.8		0.13	0.18	0.24	0.28	0.33	0.38
Promedios									0.135	0.19	0.24	0.28	0.34	0.38

OBSERVACIONES:

Se tomaron las medidas en centímetros y con exactitud, hasta milímetros

La marca se situó aproximadamente al centro de la huella en cada individuo.

Se calculó el RF como:

$$RF = \frac{\text{Longitud de recorrido de la huella}}{\text{Longitud total}}$$

$$RF = \frac{LN}{LT}$$

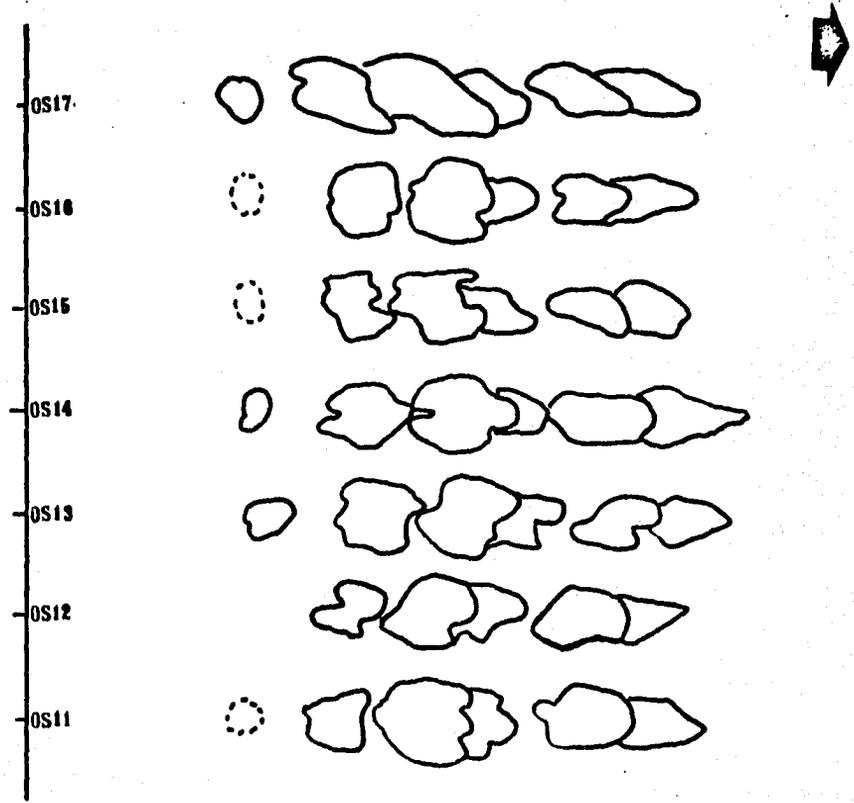


Fig. 8 Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en músculo abductor de Crassostrea virginica.

Tabla 9. Crassostrea corteziensis Colecta de primavera, 1980.

C15 - C20 Fijación libre. San Blas, Nayarit.

C21 - Silvestre Estero de "Camichín", Teacapán, Sinaloa

Identificación	L. total	Longitud de las huellas							RF = $\frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$						
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
		C15	44.3 cm	4.3	7.0	9.5	11	13.1	14.7	16.0	0.09	0.15	0.21	0.24	0.29
C16	44.3	5.2	8.5	11.5	13.2	15.7	17.0	18.3	0.11	0.19	0.25	0.29	0.35	0.38	0.41
C17	44.3	5.6	8.5	11.4	13.3	15.4	17.1	18.5	0.12	0.19	0.25	0.30	0.34	0.38	0.41
C18	44.3	-	8.4	11.1	12.4	15.1	16.8	18.0	-	0.18	0.25	0.27	0.34	0.37	0.40
C19	44.3	6	9	11.5	13	15.5	17.0	18.1	0.13	0.20	0.25	0.29	0.34	0.37	0.40
C20	44.3	6.2	9.3	12	13.5	16.2	17.7	19.2	0.13	0.20	0.27	0.30	0.36	0.39	0.43
C21	44.3	5.8	8.2	12	13.7	16.3	18.2	19.5	0.13	0.20	0.27	0.30	0.36	0.41	0.44
Promedios C15 - C20									0.12	0.19	0.25	0.28	0.34	0.37	0.40

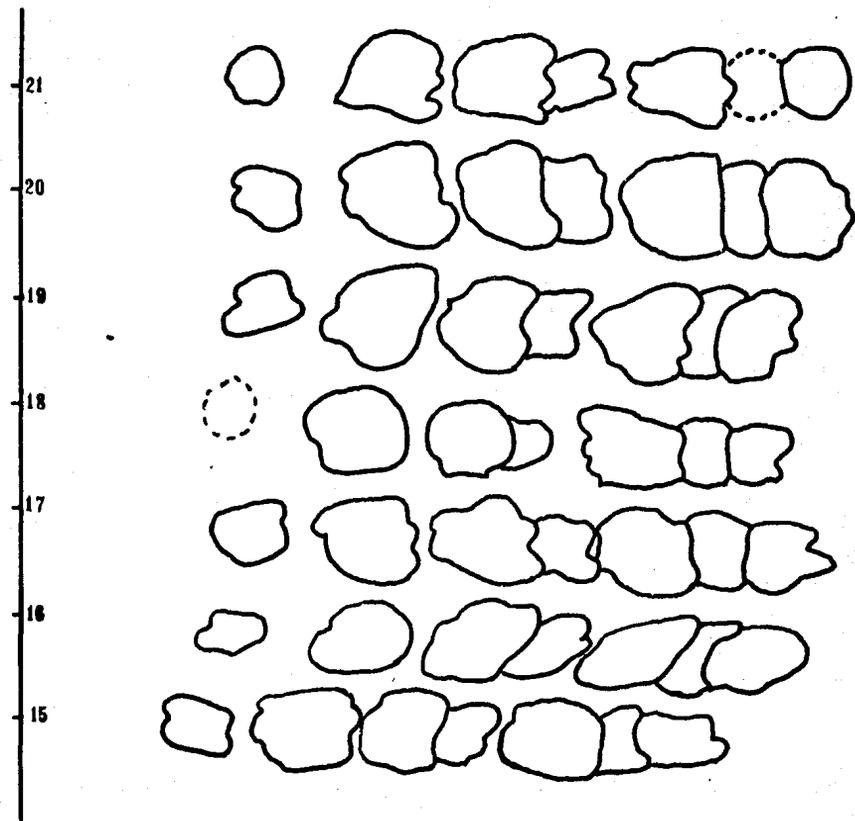


Fig. 9 Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en músculo abductor de Crassostrea corteziensis.

Tabla 10. Crassostrea rhizophorae Colecta de primavera, 1980.

Localidad: Isla del Carmen, Campeche.

Banco: Estero del Pargo OS 36 - OS 42 Silvestre.

Identificación	L. total	Longitud de las huellas							RF = $\frac{\text{Longitud huella}}{\text{Longitud total}}$						
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	
OS - 36	44.4 cm	10	12.5	14.2	16.5	18	19.5		0.22	0.28	0.31	0.37	0.40	0.43	
OS - 37	44.5	10	12.6	14.5	16.5	18.1	19.4		0.22	0.28	0.32	0.37	0.40	0.43	
OS - 38	44.6	10.2	12.5	14.2	16.2	17.7	19		0.22	0.28	0.31	0.36	0.39	0.42	
OS - 39	44.7	10	12.4	14	16	17.6	18.7		0.22	0.27	0.31	0.35	0.39	0.41	
OS - 40															
OS - 41	44.8	10.2	11.5	13	14.7	16.4	17.5		0.22	0.25	0.29	0.32	0.36	0.39	
OS - 42	44.9	9.5	11.8	13.4	15.2	16.5	17.5		0.21	0.26	0.29	0.33	0.36	0.38	
		Promedios								0.22	0.27	0.30	0.35	0.38	0.41

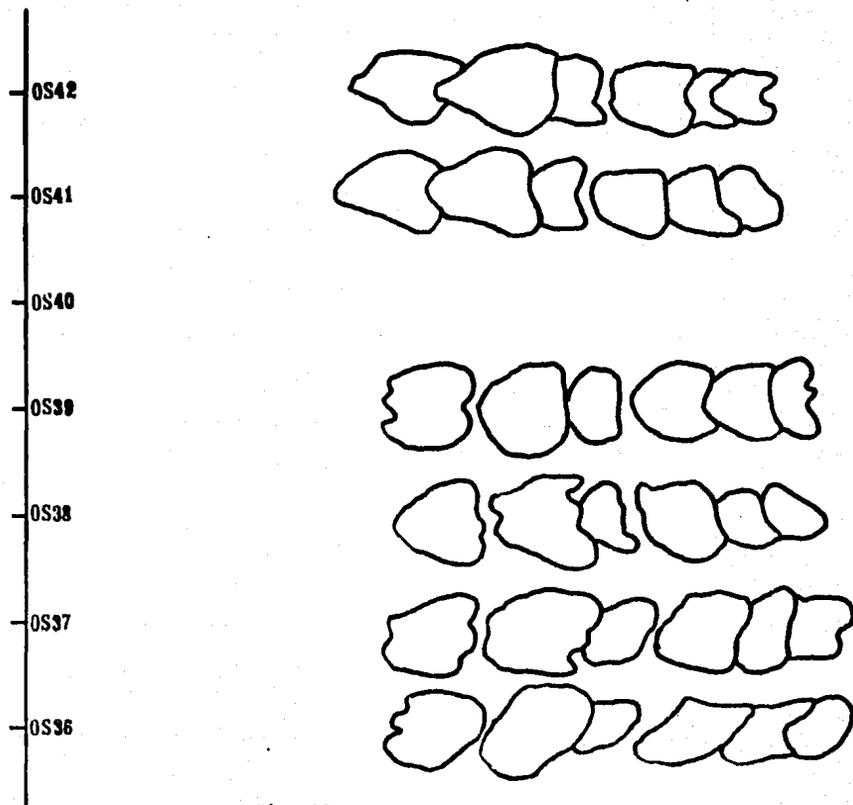


Fig. 10 Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en músculo abductor de Crassostrea rhizophorae

Tabla 11. Ostrea equestris Colecta de primavera, 1980

Localidad: Laguna de La Machona, Sánchez Magallanes,
Tabasco.

Banco: Los Jiménez
Silvestre

Identificación	L. total	Longitud a la huella						RF = $\frac{\text{Longitud a la huella}}{\text{Longitud total}}$					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Eq - 34	54 cm	-	10.2	12.6		16.5	18.7	-	0.188	0.233	-	0.305	0.346
Eq - 35	54	7.3	10.6	13	14.5	16.5	19	0.135	0.196	0.24	0.268	0.305	0.351
Eq - 32	54	6.7	9.8	12	13.5	15.5	17.9	0.124	0.181	0.222	0.25	0.287	0.331
Eq - 33	54	-	11	13.5	15.6	17	19.4	-	0.203	0.25	0.288	0.314	0.359
		Promedios						0.13	0.19	0.24	0.27	0.30	0.35

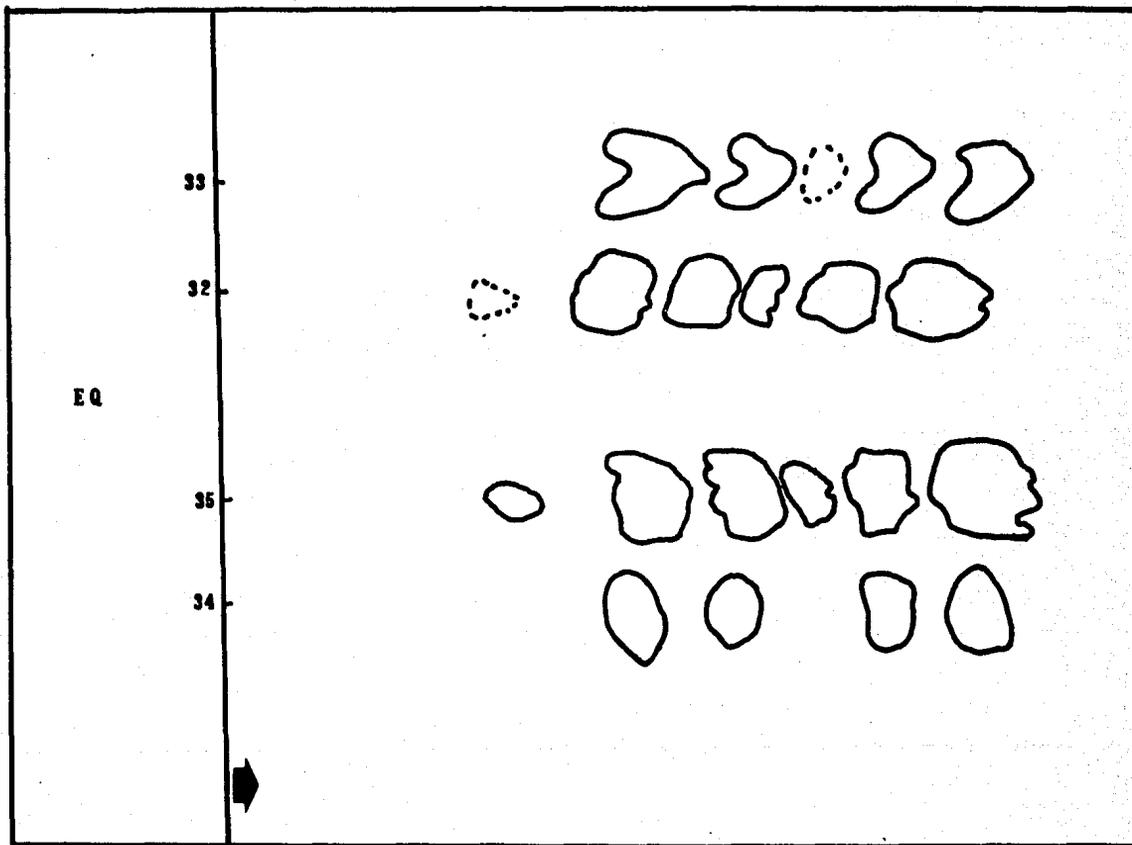


Fig. 11 Interpretación de la separación de aminoácidos en músculo abductor de Ostrea equestris.

Tabla 12. Isognomon alalus Colecta de primavera, 1980.

Localidad: Isla de Jaina, Campeche,
Silvestre

Identificación	L. total	Longitud a la huella						RF = $\frac{\text{Longitud a la huella}}{\text{Longitud Total}}$					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Is - 11	47 cm	9.1	11	12.2	14.6			0.193	0.234	0.259	0.31		
Is - 12	47	7.4	9.1	10.3	13			0.157	0.193	0.219	0.276		
Is - 13	47	8.1	10	11.1	13.7			0.172	0.212	0.236	0.291		
Is - 14	47	9.7	12.3	13.9	15.6			0.206	0.261	0.295	0.331		
Is - 15	47	10.2	12.4	13.8	16.5			0.217	0.263	0.293	0.351		
Is - 16	47	11	12.3	13.3	16.4			0.234	0.261	0.282	0.348		
		Promedios						0.20	0.24	0.26	0.32		

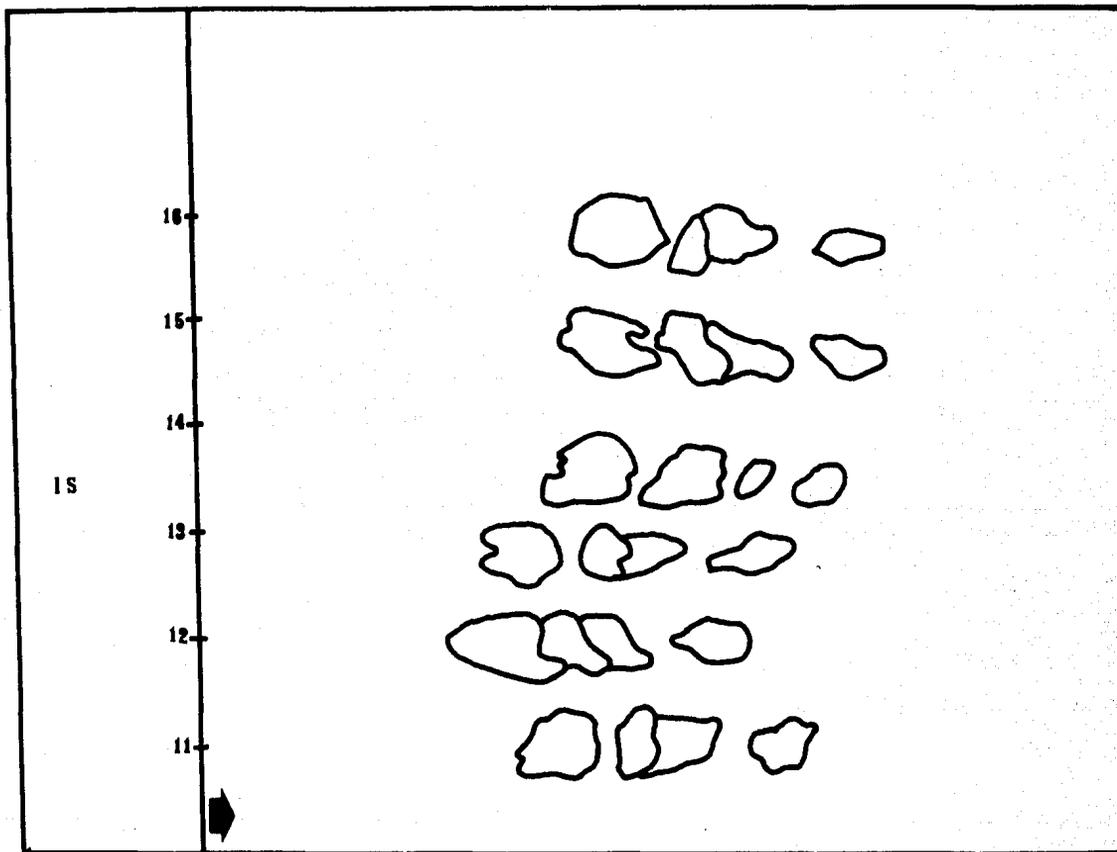


Fig. 12 Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en músculo abductor de Isognomon alatus

DISCUSION

Una de las características más relevantes de las comunidades animales, es aquella que se refiere a su diversidad, la cual a su vez se puede definir como el número de especies presentes y su abundancia relativa. Ha sido ampliamente aceptado que las regiones tropicales soportan una fauna más diversa que aquellas regiones de mayor latitud y que en el caso del medio acuático, es el hábitat marino el que contiene una mayor riqueza de especies, si se le compara con las regiones salobres. Las razones por las que ciertos ambientes albergan muchos tipos de organismos, mientras que otros contienen un número reducido de especies no está aclarado. Se han propuesto varias teorías basadas en el tiempo, estabilidad climática, estabilidad espacial, competencia, predación y productividad para explicar estas diferencias en la diversidad béntica marina. En el caso de los ostiones, se desconoce el grado de interacción y sus consecuencias en las comunidades con su gran diversidad característica.

La familia Ostreidae, se encuentra representada en las costas mexicanas por los géneros Ostrea y Crassostrea. Existen reportes hasta el momento que discuten la presencia del tercer género Pycnodonta. (Gunter, 1951; Buttler, 1954; García-Cubas, en prensa; Gutiérrez, 1973; De Lara, 1972; Ramírez-Sevilla, 1965; Roger y García-Cubas, 1978; Stuardo y Martínez, 1975; Stuardo, 1965; Toledano y Flores, 1978).

En el caso de el género Isognomon, se trata de un taxón perteneciente a la familia Isognomonidae que se encuentra filogenéticamente alejado de

Ostreidae; aún cuando inicialmente se le consideró en el grupo de la familia Ostreidae con el nombre de Ostrea alata (Gmelin, 1791). En la actualidad aún se le identifica con el nombre común de ostión aplanado de árbol (Flat tree oyster).

Desde el punto de vista de la taxonomía tradicional, se han reconocido entre 9 ó 10 especies diferentes de ostiones de los géneros Crassostrea y Ostrea (Olsson, 1961 y Kenn, 1971). Sin embargo, los trabajos de Thomson, (1954); Stenzel, (1971); Ramírez y Sevilla, (1965) y Stuardo y Martínez, (1975) han señalado la plasticidad morfológica de las conchas, como causa principal de las dudas prevalentes acerca de la legitimidad de algunas especies desde el punto de vista taxonómico; estos mismos autores han considerado la posibilidad de la existencia de morfos ecológicos cuya expresión fenotípica se manifiesta en forma diversa en función de las cualidades del medio ambiente en el que se desarrollan.

De esta manera, han sido confundidas especies de ostiones con la consecuente incertidumbre en la taxonomía y sistemática de estos organismos (Mattox, 1949). Como ejemplo de lo anterior, se indican a continuación la sinonimia de Crassostrea corteziensis según Hertlein (1951):

1. Ostrea chilensis
2. Ostrea cibialis
3. Ostrea longiscula
4. Ostrea virginica
5. Ostrea iridescens
6. Ostrea coracoides

7. Ostrea californica
8. Ostrea englekyi
9. Ostrea columbiensis

Como se puede notar, existen errores no sólo a nivel de especie, si no también a nivel de género, ya que Crassostrea se le trata como Ostrea.

Es por esta razón que la clasificación de los ostiones basada únicamente en la forma, tamaño, color y textura de las conchas de los adultos es insuficiente e imprecisa debido al amplio rango de variación individual en las características de las conchas, ocasionadas por condiciones ecológicas variables tales como: la naturaleza del sustrato (rocoso, grava, arenoso o fango), salinidad, velocidad de las corrientes, acción del oleaje y profundidad, que pueden producir una variedad de formas y texturas cuyo tratamiento taxonómico resulta absurdo.

Otro de los factores importantes que contribuye a esta confusión, es el transplante a gran escala de poblaciones de ostiones a localidades geográficas diferentes, lo cual probablemente ha originado una mezcla de caracteres a tal grado, que algunas especies bien definidas han desaparecido por completo (Galtsoff, 1964).

Dada la variedad en la forma de las conchas de los ostiones adultos y de la influencia que sobre éstos ejerce el medio ambiente, se han buscado otros métodos más seguros que permitan la clasificación e identificación. Ranson, (1945); Menzel, (1956); Forbes, (1967) han realizado estudios de tipo taxonómico basados en las características de las conchas larvarias, en las que se ha encontrado que la prodisoconcha temprana es de

poca utilidad en los estudios taxonómicos, debido a que el provínculo está poco diferenciado o aún está indiferenciado. La segunda fase del estado de prodisoconcha, la larva umbada, tiene una gran utilidad en la identificación de ostiones, en virtud de que su provínculo muestra características de la dentición y también porque su forma en cada especie es muy constante. Una de las grandes ventajas en el uso de las larvas para estos fines, consiste que la concha larvaria no está influenciada por el sustrato.

Por su parte, Nelson (1938) apunta el valor taxonómico de la cámara promial, la cual permite la separación del manto derecho de las vísceras. Este rasgo anatómico es característico del género Crassostrea.

Sin embargo, para algunos malacólogos, los caracteres anatómicos son considerados todavía de utilidad limitada, especialmente cuando la clasificación depende exclusivamente de los caracteres conchológicos, por lo que, dichas peculiaridades anatómicas han sido ignoradas por la mayoría de los taxónomos.

Respecto al origen de los ostiones, el registro fósil indica que se conocen muchas especies pertenecientes al Cretácico; no obstante, las especies recientes no aparecen antes del Cuaternario temprano. Debido a que estos grupos no han sido sometidos a presión evolutiva intensa, la mayoría de los ostiones vivieron en aguas profundas con salinidades elevadas. Con el tiempo, empezaron a invadir las aguas costeras con excepción del género Pygnodonta. Es muy probable que las especies recientes provienen de aquellas escasas que desde el Cretácico proliferaron en las aguas costeras (Melendez, 1970).

En base a los hábitos sexuales de los ostiones, se pueden establecer dos categorías distintas: a) las especies no incubadoras, pertenecen al género Crassostrea y b) las incubadoras o larvíparas al género Ostrea.

La salinidad, turbiedad y la profundidad del agua son mencionados frecuentemente en la descripción de varias especies. No obstante, a pesar de su importancia, los datos ecológicos son hasta el momento de ayuda muy limitada para la clasificación, ya que con excepción de algunas especies comerciales que han sido adecuadamente estudiadas, poco se conoce acerca de los requerimientos ambientales de las poblaciones de otras especies. En forma general, se puede decir que Crassostrea tolera mejor el agua de poca salinidad que Ostrea, que se presenta en un ambiente francamente marino.

Cromosomas y Citotaxonomía

La utilización de las características morfológicas de los cromosomas en la resolución de problemas taxonómicos ha cobrado importancia desde hace algunos años en virtud de que la citogenética se ha derivado del conocimiento sobre la herencia de los organismos (Jackson, 1971). Las características estructurales, a su vez dependen de la expresión del conjunto de genes. La medición y el tratamiento estadístico de las formas y de las características definidas de estos cuerpos cromosómicos, obtenidos a partir de un número de individuos suficiente para ser representativo de una población o una especie, constituye su cariotipo. El cariotipo estandar representa las cualidades poblacionales que permiten hacer comparaciones y que sustentan la base citológica de este tipo de taxonomía. Las principales características que se evalúan son:

a) Número cromosómico. Tanto en el estado diploide como en el haploide, este número es generalmente constante en las poblaciones de cada especie. Sin embargo, en aquellos organismos que se encuentran en plena evolución, es frecuente encontrar alteraciones en este aspecto. El género Crassostrea, en todos los casos hasta ahora reportados, e incluso los del presente trabajo, presenta un número cromosómico constante que corresponde a 20 para el valor diploide y 10 para el haploide. En ocasiones cuando este número no puede ser observado directamente en células mitóticas, puede ser inferido a partir de figuras meióticas, dado que de los complejos cromosómicos de la meiosis generalmente involucran únicamente a los cromosomas homólogos, o bien, a porciones homólogas de diferentes cromosomas.

En términos de evolución cariotípica, los números cromosómicos pueden ser indicadores de estabilidad, si se presentan en número reducido (menor a 12 en el valor haploide), según la opinión discutida ampliamente por White (1951). En base a este criterio, es posible afirmar que el estado diploide en el género Crassostrea manifiesta un grado de estabilidad del genoma, consecuente con la proposición paleontológica que afirma que estos organismos se han mantenido como tales sin grandes cambios desde épocas remotas.

Este mismo parámetro cariotípico ha generado conceptos de mayor amplitud como el de "número operacional" que se refiere a los números cromosómicos similares en varios géneros de la misma familia (Sota, 1967). En el caso de los ostiones de la familia Ostreidae hasta el momento estudiados, se puede asegurar que el número cromosómico igual a 20 es vigente como operacional, ya que este valor persiste tanto en Ostrea como en Crassostrea. Se -

ignoran los números cromosómicos en la mayoría de las especies del tercer género, Pygnodonta de la misma familia. Algunos autores no están de acuerdo sobre la posición taxonómica de esta entidad genérica, en virtud de los antecedentes filogenéticos en este taxón.

En conclusión, dado que el número cromosómico en las especies de Ostrea y Crassostrea estudiadas presentan un valor constante, y que no se aprecian cambios numéricos intrapoblacionales que sugieran una dinámica evolutiva al nivel de los cariotipos en estos invertebrados, es posible inferir que los ostiones tanto del género Ostrea como del de Crassostrea sean portadores de un genoma cuya estabilidad adaptativa se manifiesta por el número y la morfología de los componentes cariotípicos en estas especies.

b) Morfología cromosómica. Otro de los elementos que contribuyen a la tipificación de los cariotipos y que son de fundamental importancia en estudios extensivos de evolución, filogenia y taxonomía mediante los análisis cariológicos, son aquellos que se refieren a la morfología cromosómica. Los más relevantes son:

Posición del centrómero. El centrómero o cinetócoro, es considerado como un segmento especializado en cada cromosoma de los eucariontes, el cual se asocia con las fibras del huso durante la división celular. Esta estructura se identifica por las reacciones de tinción que tiñen específicamente a las regiones heterocromáticas (Arrighi y Tsu, 1971; Mase, et. al., 1972; Summer A. T., 1972; Denton et. al., 1977; Ved et. al., 1979; Yasmíneh y Yunis, 1969). En algunos cromosomas, aparecen estrechamientos -

semejantes a cinetocoros con razgos morfológicos característicos denominados constricciones secundarias. Hasta ahora no se ha aclarado si todas estas regiones tienen la misma función. No obstante, hay evidencia en favor de que muchas de ellas representan regiones en donde se sintetiza material nucleolar.

En varias especies, uno ó más cromosomas presentan un segmento terminal conocido como satélite cromosómico que se localiza separado del resto del cromosoma por una constricción. Este estrechamiento no debe ser confundido con centrómeros supernumerarios como en el caso de los cromosomas dicéntricos o policéntricos. Se ha demostrado que el centrómero se encuentra formado esencialmente por material heterocromático (Yunis y Yasmineh, 1971). A la fecha, se desconoce el número de moléculas de ADN que le constituyen y la forma en que, a nivel molecular se relacionan los centrómeros en virtud de su configuración irregular en los genóforos. Sin embargo, es copartícipe de algunas características comunes, tanto estructurales como funcionales con el ADN contenido en la eucromatina (Bahr, 1977).

Desde el punto de vista citotaxonómico, la posición de los centrómeros en regiones específicas del cuerpo cromosómico facilita la clasificación de los cromosomas en el cariotipo. Esta clasificación, sumada al número cromosómico, sienta las bases de la caracterización de los cariotipos con los que trabaja la citotaxonomía. A este respecto, se han reportado numerosos trabajos sobre la metodología adecuada que permita en forma confiable la clasificación sistemática de los cromosomas (Al-Aish, 1969; Levan et al.,

1964; Grandlung et al., 1976; Moore ll., 1973; Ledley y Ruddle, 1966 - Moller et al., 1970; Casperson et al., 1970; Gilbert, 1966; Harris et al., 1973; Rutovitz, 1968; Habbema, 1979).

El género Crassostrea contiene cromosomas clasificados como meta-céntricos en un alto porcentaje en las especies estudiadas:

<u>Crassostrea virginica</u>	60%
<u>Crassostrea corteziensis</u>	70%
<u>Crassostrea rhizophorae</u>	50%

En el caso de C. iridescens se tiene tanto el número diploide (2n) igual a 20, cuanto un alto porcentaje de meta y submetacéntricos. Sin embargo, los estudios cariotípicos críticos no fueron realizados en virtud de las dificultades técnicas que presentó dicho material biológico.

Ostrea palmula por su parte presenta 20 cromosomas, distribuidos en pares homólogos a juzgar por las figuras observadas en la fase cigoténica de la meiosis.

White (1951) indica que aquellas especies cuyos cariotipos se encuentran configurados por un número bajo de cromosomas (de menos de 12 para los valores haploides), presentan un alto porcentaje de cromosomas metacéntricos y están sujetos a una variación menor en su número de cromosomas. Por otra parte, los grupos caracterizados por números cromosómicos altos (de más de 14 en el complemento haploide), muestran en conjunto una variación mayor en el mismo parámetro. En este último estaban especies tales como Isoqnomon alatus (Wada, 1978; F. Rodríguez-Romero, et al., 1979e; Díaz, 1980) y - -

Brachidontes recurvus (Diupotex-Chong, 1975; Diupotex-Chong et. al., 1978) en los que, el número cromosómico haploide es de 14. Además, en B. alatus, se encuentran cromosomas subtelocéntricos en el par 10 y acrocéntricos en los pares 11 y 14, lo que podría sugerir una mayor disposición al reajuste de la organización de los empaquetamientos de genes como consecuencia de mecanismos de adaptabilidad cariotípica. Esto sería de importancia en estudios de Genética y Ecología dado que los organismos del tipo de los ostiones estarían menos predispuestos al cambio adaptativo como consecuencia de presiones de variación ambiental, en comparación con algunos organismos de especies pertenecientes a las familias Mytilidae (Ahmed y Sparks, 1970) y Pteriomorpha (Ieyama e Inaba, 1974), los cuales a su vez, podrían ser utilizados como organismos indicadores que por medio del estudio de sus cariotipos permitieran la identificación de las alteraciones cromosómicas ocasionadas por elementos nocivos concentrados en el medio ambiente tal y como se ha demostrado en la citogenética de mamíferos, especialmente en humanos y en roedores. (Rees y Jones, 1972; Hatch et. al., 1976; Hatch y Carrano, 1978; Ikushima, 1977).

c) Constricciones secundarias y satélites. Con anterioridad se ha señalado que las constricciones secundarias y los satélites son indicadores morfológicos que cuando están presentes, se localizan en el extremo de uno de los brazos del cromosoma. En cuanto a su función, se les ha relacionado con la síntesis de ARN nucleolar, en virtud de que se ha demostrado la síntesis de este tipo de ácido nucleico en las regiones que ocupan la construcción secundaria (Brown y Gurdon, 1964; Angelier et. al., 1979). La observación al microscopio, tanto óptico como electrónico, ha revelado una relación

estrecha entre constricciones secundarias y nucleolos, con un probable contacto físico entre las dos estructuras. No obstante, es posible que no siempre exista una relación de uno a uno entre ambas, (Palmer, 1970).

Desde el punto de vista de la citogenética, la presencia de estas características en los cariotipos es generalmente constante, lo que permite que sean utilizadas como indicadores seguros en la identificación de los cromosomas que los portan en un cariotipo dado.

En los ostiones aquí estudiados, se reporta la presencia de constricciones secundarias solamente en Crassostrea virginica, que a su vez tipifican mejor el cariotipo y permiten diferenciarlo de los cariotipos correspondientes a Crassostrea rhizophorae y a Crassostrea corteziensis. Dichas estructuras no se han reportado en los géneros Ostrea e Isognomon.

Aún cuando se conoce algo respecto a la morfología y a la fisiología de las constricciones secundarias, no se sabe con certeza cual puede ser su importancia en la diferenciación específica (Miller et al., 1978). En ostiones, se presenta con carácter de especie aún cuando, no parece interferir en el éxito de la hibridación de gametos a nivel interespecífico (Menzel, 1968b).

Tomando en consideración las alteraciones estructurales en los cromosomas, es posible formular algún criterio resultante del análisis de la evolución cromosómica. Las aberraciones o rearrreglos cromosómicos tienen su origen en varios mecanismos que ocurren espontáneamente o en forma indu-

cida en las poblaciones mendelianas. Las más comunes son: 1) Las deleciones, que conducen a la pérdida de una porción terminal o intestinal del cromosoma. 2) Las duplicaciones, que ocurren cuando un fragmento cromosómico es incorporado a su homólogo del complemento normal. En general, los efectos fenotípicos de las duplicaciones son menos perjudiciales que los causados por las deleciones. 3) Las inversiones, que ocurren cuando un cromosoma se parte en dos regiones y el fragmento resultante se combina en relación espacial inversa con los otros dos fragmentos terminales. Las inversiones pueden ser paracéntricas cuando el segmento invertido no incluye el centrómero y pericéntricas cuando el segmento invertido incluye al centrómero. Las inversiones paracéntricas, en contraste con las pericéntricas producen cambios morfológicos poco visibles en los cromosomas, que se reconocen microscópicamente durante el paquinema de la primera división meiótica. Los cariotipos con patrones de bandas, especialmente las denominadas Bandas G y Bandas Q son efectivos indicadores de éste y otros tipos de aberraciones cromosómicas. Las traslocaciones implican un intercambio de partes entre dos cromosomas no homólogos. En la traslocación recíproca se produce un cromosoma birrameado y un centrómero libre con material genético escaso que se pierde. En forma semejante al de las inversiones, las traslocaciones pequeñas producen alteraciones ligeras en la morfología del cromosoma (Crispens, 1971).

En las especies de ostiones del género Crassostrea estudiadas aquí no se encontraron detectadas modificaciones en la morfología cromosómica cuya frecuencia pudiera indicar procesos evolutivos al nivel intrapoblacio-

nal, lo que a su vez coincide con la constancia del número cromosómico y con la constancia en la clasificación de los cromosomas, parámetros que no presentaron cambios apreciables en las poblaciones analizadas de una misma especie. Básicamente se han detectado las mismas características cariotípicas en poblaciones de Crassostrea virginica procedentes de Chesapeake bay, de Massachusetts y de la Laguna La Machona del sistema lagunar El Carmen-Machona de Tabasco (Longwell et. al., 1967 y Rodríguez Romero et al., 1978, Rodríguez Romero y Laguarda Figueras, 1979).

No obstante que se han demostrado la existencia de las similitudes cariotípicas intraespecíficas señaladas antes, ha sido posible tipificar algunas pequeñas diferencias dentro del género Crassostrea. Estas diferencias se refieren fundamentalmente a la posición del centrómero en un par de cromosomas tanto en C. corteziensis como en C. rhizophorae, si se toma como base el cariotipo de C. virginica. Estas dos especies también difieren del "ostión americano" en cuanto a la ausencia de constricciones secundarias y satélites.

Con referencia a los intentos realizados para explicar mediante los principios de la evolución cromosómica las pequeñas diferencias observadas al nivel microscópico, únicamente se registraron algunas estructuras anómalas que siguen la ocurrencia de inversiones pericéntricas (Imai, 1978; Imai y Murayama, 1978; Rodríguez Romero et al., 1980) dado que no existen alteraciones en el número diploide. Tampoco aparecen alteraciones indicativas de deleciones, a juzgar por los promedios de las longitudes relativas de los pares de cromosomas. Por otra parte, estos cromosomas no fueron sometidos a la metodología propuesta por Duffey (1972) que posibilita el análisis de

modificaciones morfológicas como consecuencia de la adición heterocromática a los telómeros como un evento más dentro de la evolución cariotípica de los ostiones. Sin embargo, este análisis no sería el más objetivo, dado que no es la longitud relativa de los cromosomas lo que aparentemente cambia, sino más bien la posición del centrómero la que obliga a modificar su clasificación.

No ha sido posible realizar ninguna comparación interespecífica con Isognomon, debido a que los dos únicos trabajos reportados se refieren a la misma especie, Isognomon alatus. No obstante, podrían existir algunas diferencias intraespecíficas, dado que Wada (1978) reporta únicamente cromosomas meta y submetacéntricos para dicha especie; mientras que en este trabajo, se demuestra la presencia de cromosomas subtelocéntricos y acrocéntricos (Lámina 17.1-17.3). Esta diferencia puede estar fundamentada en una mayor aptitud de adaptación del cariotipo de esta especie inferida por su número cromosómico ($n = 14$) y por la presencia de cromosomas diferentes a los meta y submetacéntricos. Empero, es pertinente hacer notar que la metodología utilizada en cada caso es diferente, lo que puede dar como resultado errores de interpretación.

Los estudios cromosómicos de la primera profase meiótica, han permitido, no solo la corroboración de los números cromosómicos en las especies aquí estudiadas, sino también la perspectiva de la estandarización de técnicas citogenéticas de fácil acceso lo que ayudaría al mejor conocimiento del grado de parentesco entre las especies en estudio, tales como las técnicas de hibridación celular, de mapeo y de marcaje cromosómico y algunos de here

dabilidad a nivel citológico, lo que proporcionaría un acceso factible al análisis de cromosomas en mitosis y en meiosis. Asimismo, los patrones de bandas pueden ser tipificados rápidamente. A criterio del autor, las técnicas mencionadas tienen relevancia para la investigación taxonómica basada en la investigación citológica de estos organismos, en virtud de la dificultad que tienen dichos estudios como consecuencia de las limitaciones técnicas que interfieren considerablemente con el análisis cromosómico tanto en mitosis como en meiosis.

Bandas cromosómicas

Aún cuando se han reportado indicadores morfológicos de las conchas y de la anatomía interna, uno de los principales problemas para la identificación de Crassostrea virginica, es la dificultad para la identificación tanto de los adultos como de las formas larvarias. Es evidente que en algunos casos, el problema no ha sido resuelto satisfactoriamente, sugiriéndose la posibilidad de heterogeneidad genética en dichas poblaciones que se puede manifestar como heterogeneidad fisiológica, según lo señalan Stauber (1949) y Loosanoff y Nomejko (1951).

Entre los estudios cromosómicos realizados por Lonwell et al., (1967) y Rodríguez Romero et al., (1978), se encontró una gran similitud en los caracteres cariotípicos, aún cuando las poblaciones estudiadas se encuentran muy distantes geográficamente; la primera está situada en Connecticut, Massachusetts, y la segunda en Tabasco, México.

Lo anterior podría sugerir que ambas poblaciones no fueron sometidas a presiones adaptativas de tal magnitud que condujeran a los posibles reordenamientos de los genes que alteraran el número y morfología cromosómica general. Sin embargo, es factible la ocurrencia de reordenamientos que solamente son detectables mediante las técnicas de bandeo cromosómico, que permiten hacer comparación precisa entre las diferencias estructurales finas de los cromosomas en comparación.

El estudio del cariotipo de esta especie mediante estas técnicas, permitió el análisis en detalle de la morfología cromosómica en virtud de la presencia de indicadores finos que brindan mayor precisión al manejo citotaxonómico, mediante la descripción de estas peculiaridades cromosómicas.

Este tipo de examen será útil, ya que la consistencia comprobada de estos patrones puede ser tomada como base para detectar cambios estructurales de menor magnitud a aquellos que se reflejan en las modificaciones del número y morfología cromosómica; tanto en condiciones normales como experimentales (Abe y Sasaki, 1977). La aparente estabilidad evolutiva de los cariotipos de estos moluscos puede deberse a que los reordenamientos estructurales sean diminutos y que, su ausencia aparente en el cariotipo estandar presente en las poblaciones naturales no excluye a los reordenamientos que tienen lugar en una escala subcromosómica.

El patrón de bandas "16" aquí presentado, fue consistente en las células analizadas aunque en algunos casos no todos los cromosomas presentaron bandas claras.

Otro resultado aportado en el análisis cromosómico mediante este tipo de bandedo, es la confirmación clara de la presencia de constricciones secundarias en el primer par de cromosomas, que tipifica el cariotipo de esta especie en particular.

Es evidente por otra parte, que el patrón seguido permite el fácil reconocimiento de los cromosomas homólogos y simplificando el laborioso método de la medición y análisis estadístico (Comings, 1977), ya que al permitir el reconocimiento de los pares homólogos con mayor precisión se puede llegar a identificar en estudios sistematizados, los sitios en los que se localizan genes específicos o pequeños rearrreglos cromosómicos que se puedan relacionar con efectos manifiestos en los fenotipos y que hagan posible el mapeo cromosómico. Esta opción citogenética puede brindar apoyo firme a investigaciones relacionadas con la cuantificación de daño genético a nivel cromosómico que sean imputables a alteraciones ecológicas en el hábitat de las poblaciones de ostiones. A este respecto, es conveniente señalar que en las costas mexicanas, han sido detectados diversos contaminantes especialmente en el medio estuarino cuyo impacto en las comunidades no ha sido evaluado. (Botello, 1978, 1979; Botello y Mandelli, 1978; Rosales et. al., 1979; Atlas, 1979).

Recientemente, el intercambio entre cromatidas hermanas, ha sido utilizado como indicador de alta sensibilidad de alteraciones cromosómicas (Latt, 1974; Hayashi, et. al., 1978).

Heteromorfismo Cromosómico y Sexo

De los diferentes moluscos que han sido estudiados citogenéticamente, son los gasterópodos los mejor conocidos (Burch, 1965; Patterson, 1967, 1968, 1973). En éstos, se ha tipificado la presencia de heteromorfismo cromosómico como consecuencia de la presencia de cromosomas sexuales diferenciados.

En los bivalvos, no se tiene noticia de la existencia de cromosomas sexuales, por lo que ha sido aceptado que los genes encargados de la expresión relacionada con el sexo se encuentran distribuidos en los cromosomas somáticos, ignorándose asimismo, si dichos genes se encuentran en diferentes grupos de encadenamiento.

Este concepto ha sido fortalecido en estas investigaciones, tanto por la simetría de las diacinesis como por la correspondencia de las bandas cromosómicas en los cromosomas homólogos. De lo anterior se deduce que el grado evolutivo de los cariotipos en ostiones no implica la especialización de empaquetamiento genético diferencial para la expresión del sexo.

MODULACION DE LA EXPRESION GENETICA EN EL SEXO DE LOS OSTIONES

Frecuentemente las investigaciones relacionadas con los mecanismos que determinan la maduración sexual en ostiones se ha referido a la influencia medio ambiental como uno de los factores principales que determinan el sexo durante cada maduración gonádica. En términos generales se sabe que los ostiones maduran inicialmente como machos por primera vez y que en las maduraciones subsecuentes son impredecibles los sexos.

Una de las posibles explicaciones a este comportamiento puede residir en el hecho de que el ostión se enfrenta desde edad muy temprana a un medio ambiente cambiante, que en un momento dado puede ser adverso para el desarrollo óptimo en una etapa del crecimiento de este organismo. En efecto, en Crassostrea tanto óvulos como espermatozoides se encuentran interaccionados por el medio acuático directo desde antes de la fertilización. Durante las primeras etapas larvarias, el organismo es desnudo y está expuesto a los cambios del medio. Después de la fijación, continúa creciendo y conformando su protección. Durante este período madura sexualmente por primera vez.

Las observaciones realizadas en este trabajo en Crassostrea gigas parecen estar en concordancia con lo anterior, dado que del resultado de la determinación del sexo en 300 ostiones colectados en 1976 y en 1979 en el Campo Ostrícola Chapalita, en la Bahía de San Quintín, Baja California demostró la presencia de organismos únicamente del sexo masculino. Por otra parte, la ausencia de fijaciones sugirió la falta de producción de larvas. Estos resultados pueden ser explicados si se toma en cuenta que estos ostio

nes son obtenidos en calidad de semilla procedente de un medio geográfico - distinto y con condiciones ecológicas diferentes (Islas, 1975a, 1975b). - Por otra parte, el medio acuático en el cual es cultivada esta semilla, es de características francamente adversas respecto a la salinidad para ostiones como Crassostrea gigas que prospera en condiciones salobres. En este respecto, Chávez y Alvarez (1974) han tipificado esta área como un antiestuario. En otras palabras, estos ostiones parecen crecer en condiciones - poco propensas para permitir que la expresión genética del sexo mediante ma duraciones gonádicas equilibradas, aporten suficientes células sexuales, - tanto óvulos como espermatozoides que permitan la fertilización y la producción masiva de larvas, por otra parte, estos ostiones cuentan con nutrientes y temperatura adecuados para su crecimiento acelerado.

El mismo fundamento sería aplicable a aquellas poblaciones de ostiones que originalmente prosperaron en las costas del norte de Sinaloa y Sonora y que probablemente sucumbieron a consecuencias de la falta de aporte de agua dulce por los ríos que mantenían las condiciones estuarinas. Al ser interceptados los afluentes naturales a estos ecosistemas, se incrementó la temperatura, aumentó la evaporación y se elevó la salinidad sobre todo en - los cuerpos de agua somera (Rousse!l, 1980) produciéndose las condiciones - que caracterizan a un antiestuario.

Por otra parte, estos cambios ecológicos favorecerían la proliferación de organismos de ambiente marino, tales como los gasterópodos Cerithium maculosum, Nassarius luteostoma y Cymathium gibbosum que resultan ser depredadores activos de los ostiones de esas costas con la consecuente desaparición

cion de poblaciones enteras, especialmente del género Crassostrea (Iruegas, 1968).

Para generalizar finalmente en cuanto a los resultados de los estudios cromosómicos en los ostiones aquí analizados, se puede resumir lo siguiente:

1. a) La familia Ostreidae compuesta por tres géneros presenta en las especies estudiadas un número cromosómico constante - igual a 20 (2n).
b) Existe una amplia estabilidad cariotípica.
c) No se presentan cromosomas sexuales.
2. Filogenéticamente, las especies del género Crassostrea se encuentran tan estrechamente relacionadas, que desde el punto de vista citotaxonomico no se puede hablar de especies distintas, sino de razas, o tal vez subespecies cariotípicas, a pesar de que cada una de ellas presenta pequeñas diferencias cromosómicas que han quedado bien definidas.
3. Isognomon alatus por su parte, se encuentra alejado cromosómicamente de la familia Ostreidae y más cercano a la familia Mytilidae. Este criterio es acorde con otros estudios anatómicos y de morfología externa.
4. Todos los bivalvos estudiados aquí son accesibles a las técnicas que permiten la revisión simultánea de figuras mitóticas y meióticas.

CROMATOGRAFIA

Se ha dado el nombre de quimiotaxonomía a la disciplina que se ocupa del estudio de biomoléculas, con el propósito de precisar mejor la Taxonomía de los seres vivos, ésta ha sido entendida en términos de las características específicas que presentan algunos tipos de moléculas susceptibles de ser detectadas mediante procedimientos bioquímicos sencillos y de su clara relación directa con la expresión de los genes que las originan.

Aunque poco explotada en la actualidad, esta disciplina promete - aportaciones valiosas por su amplia perspectiva dentro de la Taxonomía y de la Sistemática de los ostiones. Además, mediante la determinación de la variabilidad genética en estos moluscos, con procedimientos de expresión genética molecular, tales como la cromatografía y la electroforesis, será posible la evaluación de la heterocigocidad de aquellos genes heteróticos que influyen sobre el valor adaptativo. En este aspecto los mejores avances se han logrado en el estudio de moléculas de carácter protéico o de sus componentes; sin embargo, estos estudios se encuentran limitados en algunos casos - en cuanto a su aplicación a nivel biogeográfico, debido a la complejidad de los procesos específicos involucrados, como en el caso de la electroforesis en aloenzimas. (Torígoe, 1978; Johnson, *et. al.*, 1972; Fujino, K., 1977; Numachi, K., 1962; Torígoe e Inaba, 1975 y Wilkins, 1973; Wada, 1975).

Otra opción con amplias posibilidades la ofrece la metodología empleada en estudios cromatográficos mediante los que, es posible la realización de exploraciones extensivas por medio de procedimientos simplificados

que permiten el estudio de la expresión de genes a nivel de poblaciones en función de su frecuencia en las mismas, en forma clara y rápida.

En el trabajo que aquí se presenta, se tipificó el comportamiento de algunos aminoácidos que pudieran conformar los perfiles de expresión cromatográfica en poblaciones homo y heteroespecíficas, con la finalidad de obtener patrones cuyos factores de corrimiento sean de utilidad como estándares en la comparación de las taxa en estudio.

Perfiles cromatográficos en Crassostrea

a) Crassostrea virginica. Como se observa en la Tabla No. 8 (Fig. 8) el número de bandas tipificadas para esta especie de ostiones es de 6. Para los muestreos de primavera de 1980 en el Banco de Arrieros de la Laguna La Machona, Tabasco, fueron registrados valores consistentes en cuanto a los factores de corrimiento (Rfs) característicos. La mayor desviación fue del orden de 0.02, lo cual indica una correspondencia de bandas en la población analizada.

Los valores 0.13, 0.19, 0.24, 0.28, 0.34 y 0.38 sitúan las posiciones promedio de las bandas 1-6 respectivamente. El análisis cualitativo de estas bandas hace posible el reconocimiento de algunas de ellas en virtud de que difieren en su coloración; estas peculiaridades pueden ser explicadas como el producto de la alta concentración en unos casos y en otros como la expresión característica específica de aminoácidos, según sus cualidades moleculares.

Dado que estas características han sido persistentes en cada uno de los ejemplares de la población en estudio, podrán ser considerados como indicadores estables de utilidad para la identificación de poblaciones de estos moluscos. Esta estabilidad en la expresión, es lo que otorga valor taxonómico a este tipo de análisis por cromatografía.

b) Crassostrea rhizophorae. Fueron determinadas seis bandas de aminoácidos libres en esta especie para poblaciones de ostiones de la Laguna de Sontecomapan, Veracruz y del Estero del Pargo, Isla del Carmen, Campeche. Los promedios 0.22, 0.27, 0.30, 0.35, 0.38 y 0.41, indican el patrón típico de distribución de bandas en estas dos poblaciones (Fig. 10).

Es claro que el perfil cromatográfico de esta especie difiere respecto del de Crassostrea virginica en cuanto a la posición de las bandas que parecen recorrerse en un estrato, es decir, que la banda dos de Crassostrea virginica se corresponde en forma aproximada al de la banda uno de Crassostrea rhizophorae y así sucesivamente para el resto de los estratos. Esto podría implicar la ausencia de una banda en el primer nivel de los cromatogramas en Crassostrea rhizophorae y constituye, sin duda, una diferencia estable de carácter posiblemente específico de utilidad para la identificación de estos "ostiones de mangle".

c) Crassostrea corteziensis. El análisis cromatográfico de ostiones de la especie Crassostrea corteziensis procedente de las costas de Nayarit, México, permitió determinar un total de siete bandas cuyos valores promedios 0.20, 0.26, 0.28, 0.34, 0.37 y 0.40 los sitúan en posición muy cerca

na a los valores encontrados en Crassostrea virginica. Una notable diferencia es evidente, por la presencia de una banda más, que por su factor de corrimiento promedio se sitúa en la parte más alta del cromatograma. Esta banda establece la principal diferencia con respecto a las cromatografías de Crassostrea virginica y Crassostrea corteziensis. (Fig. 9).

La manifestación de un color característico permitió reconocer a la banda número 6 por su tonalidad parda. Se puede dificultar la identificación de esta banda, ya que en algunos casos, existe una sobreposición con la última banda número 7. Sin embargo, la diferencia de colores permite separarla de este último estrato. Los valores promedios de los factores de corrimiento tipifican el patrón de distribución de impresiones en la cromatografía de esta población de Crassostrea corteziensis.

Perfil cromatográfico en Ostrea

Ostrea equestris. Ha quedado establecido mediante la aplicación de criterios anatomofisiológicos que el género Crassostrea está claramente separado de Ostrea. En el análisis comparativo a nivel cromatográfico no se encuentran diferencias en cuanto al número de bandas con respecto a Crassostrea virginica y a Crassostrea rhizophorae aunque sí se pueden encontrar diferencias con Crassostrea corteziensis. El comportamiento de las bandas, indica una similitud con las primeras 4 bandas de Crassostrea virginica. Se pueden encontrar algunas diferencias en las dos últimas bandas. Estas diferencias son las únicas que de momento pueden ser reconocidas a nivel genérico en las poblaciones estudiadas.

Los valores promedios encontrados para los factores de corrimiento de los estratos que constituyen el perfil cromatográfico en Ostrea equestris fueron consistentes en los organismos analizados.

Perfil cromatográfico en Isognomon

Isognomon alatus. Se identificaron cuatro bandas en la cromatografía de estos moluscos, con factores de corrimiento característicos que difieren notablemente de los géneros Crassostrea y Ostrea, (Fig 12, Tabla 12). Este estudio es acorde con la diferencia filogenética que existe entre las especies analizadas, ya que tanto Ostrea como en Crassostrea pertenecen a la familia Ostreidae, mientras que Isognomon pertenece a la familia Isognomoniidae que está situada bastante lejos de Ostreidae; no obstante, que en un principio fueron confundidas con ostiones.

Así como el criterio anatómico y citogenético reflejan una separación definida entre estas familias, su distancia también se refleja al nivel molecular en la expresión de sus genes, ya que cromatográficamente se encuentran diferencias tanto en el número como en la posición de las bandas que configuran el perfil cromatográfico de estos organismos.

Se puede resumir que existen patrones definidos para cada uno de los taxa analizados. Asimismo, ha sido evidente una estrecha relación entre especies de ostiones de las especies de Crassostrea que se analizaron, aún cuando cada una de ellas presenta peculiaridades que permiten su identificación. La similitud en la expresión cromatográfica se complementa con los estudios meramente biológicos que comprueban el estrecho parentesco tanto anatómico como

fisiológico. Las diferencias encontradas al nivel cariotípico y citotaxonomico no sugieren que las especies estudiadas de Crassostrea sean especies distintas. Sin embargo, se encontraron pequeñas modificaciones que corresponden a las variaciones en la expresión génica demostrables mediante la cromatografía. (Fig. 13).

Por otra parte, el género Ostrea equestris manifiesta perfiles cromatográficos estrechamente relacionados con C. virginica. Los resultados hasta cierto punto son sorprendentes, en virtud de que se esperaría una mayor diferencia entre géneros distintos. Este es válido para Isognomon alatus, en donde la diferencia no es tan sólo a nivel genérico, sino de familias distintas. Sin embargo, los factores de corrimiento de las dos últimas bandas, difieren lo suficiente para ser tomadas en cuenta como caracteres específicos de Ostrea equestris.

A pesar de todo, no debe soslayarse la posibilidad de que la expresión génica a este nivel esté modulada por el complejo medioambiental. En el caso de C. virginica y O. equestris las dos especies viven simpáticamente en el mismo banco ostrícola, lo que justificaría la similitud en el comportamiento de los perfiles cromatográficos como la expresión cromatográfica de la modulación ambiental en las moléculas en estudio. (Figs. 13 y 14). En este respecto, los estudios enfocados a la determinación de perfiles cromatográficos de tipo estacional en un mismo banco ostrícola, pueden ser de valor en la estrategia de investigaciones de la expresión genética en virtud de que se han encontrado diferencias de expresión como consecuencia de diferencias ambientales (Hilman, 1964). Por otra parte, los trabajos de Stauber (1947) y

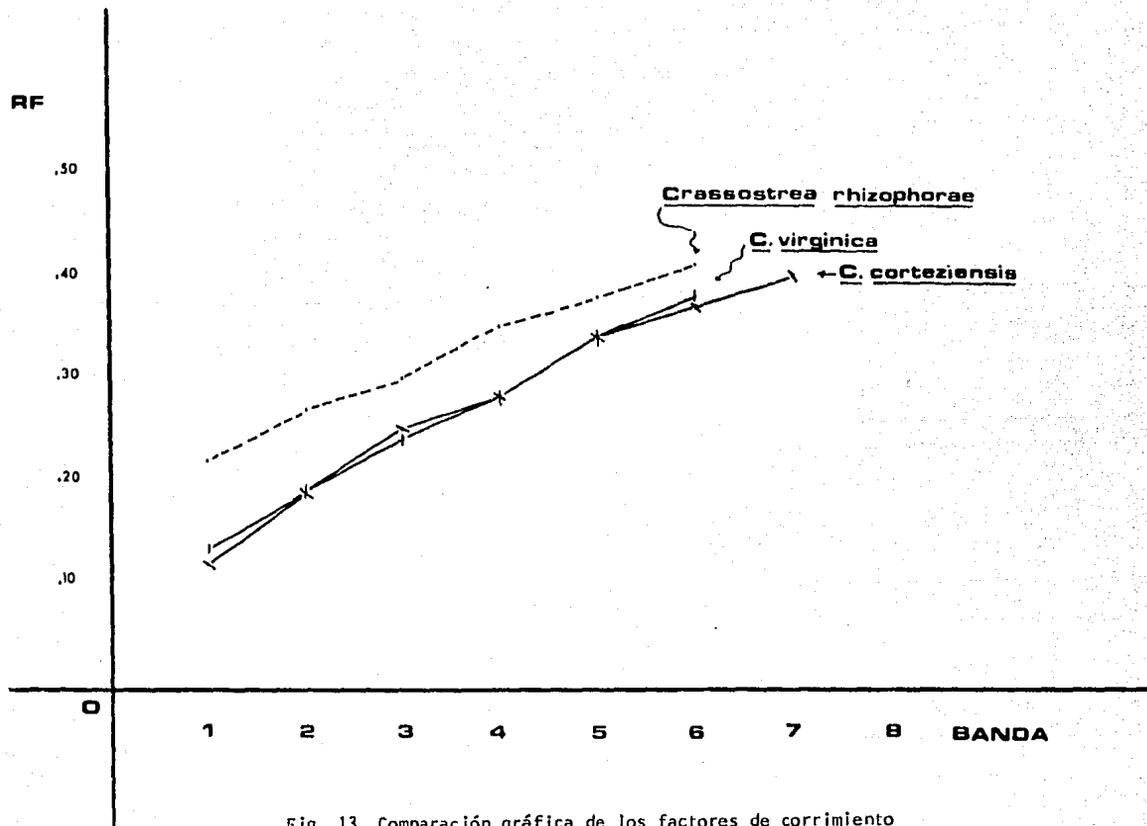


Fig. 13 Comparación gráfica de los factores de corrimiento en tres especies de Crassostrea.

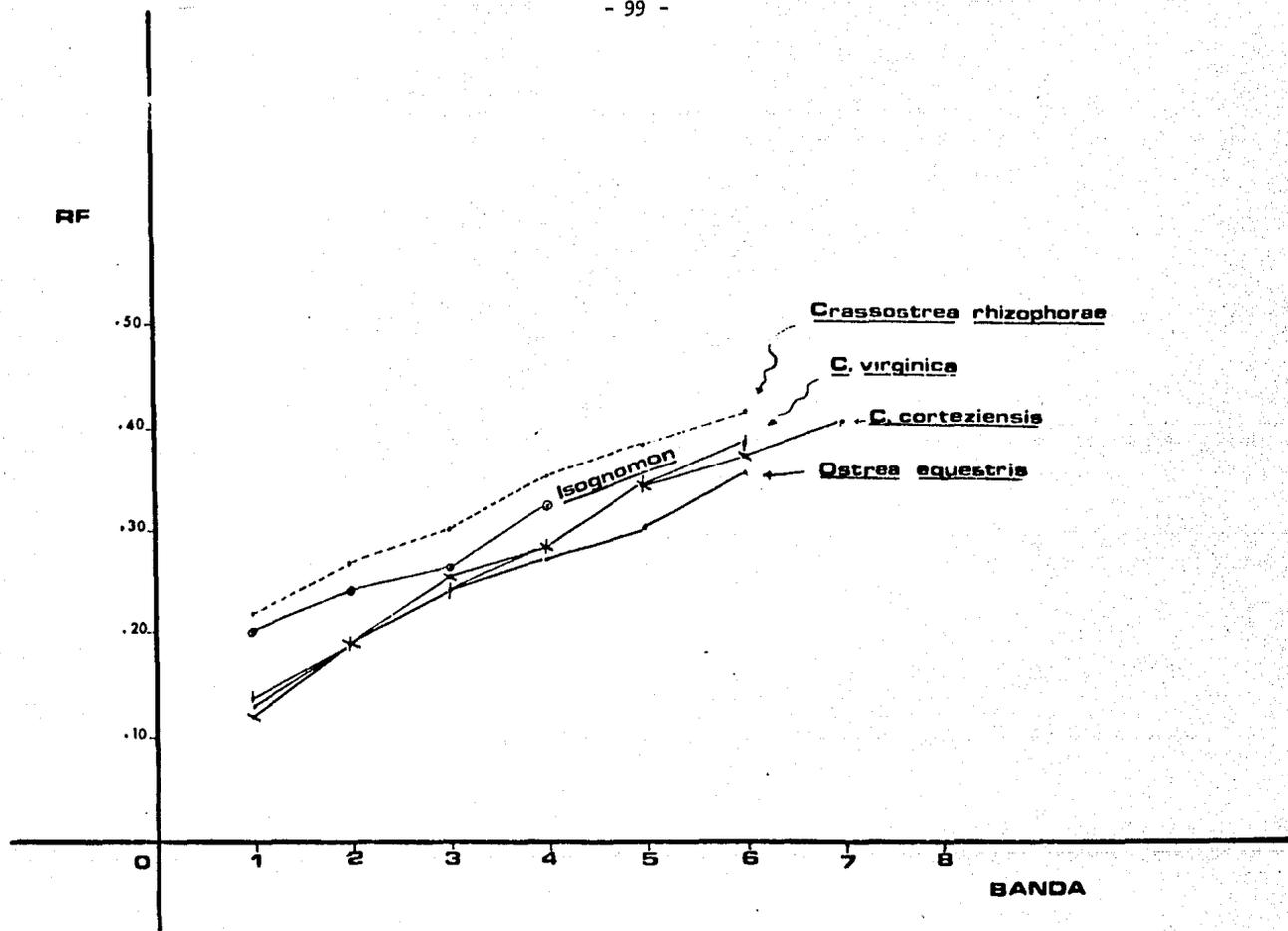


Fig. 14 Comparación gráfica de los factores de corrimento en las especies estudiadas.

Loosanoff y Nomejko (1951) referentes a la presencia de razas fisiológicas, que se originan por la maduración gonádica diferencial como consecuencia de condiciones ambientales diferentes, se encuentran en excelente concordancia con las diferencias cromatográficas que aquí se señalan, sería conveniente la implementación de un programa de investigación con el objeto de corroborar que la expresión génica en aminoácidos libres en músculo abductor en ostiones cambia estacionalmente en función de los cambios metabólicos que por su adaptación a condiciones variables, exige en estos organismos. Las perspectivas se amplían si se tiene presente la diversidad de técnicas utilizadas para estos fines, tales como la cromatografía bidimensional en papel; la cromatografía en capa fina y la electroforesis en papel y en gel. Se dispone de la versatilidad que ofrece el realizar estudios en sus diversas modalidades cromatográficas de distintos tejidos como el de músculo abductor y el tejido gonádico, por ejemplo, en la investigación cualitativa y cuantitativa de hormonas esteroideas involucradas en la evolución sexual de los ostiones (Stock y Rice, 1974).

Finalmente, caben hacer algunas consideraciones acerca de las perspectivas de este tipo de investigación en cuanto a su aplicabilidad en estudios encaminados a la resolución de problemas bioecológicos especialmente aquellos que tienen su origen en la contaminación. En este respecto, los estudios cromosómicos sistemáticos pueden indicar a través de la presencia de aberraciones cromosómicas, e intercambio de cromátidas hermanas los niveles de toxicidad de los contaminantes más comunes en la actualidad, tales como los hidrocarburos policlорinados y aquellos hidrocarburos fósiles que se han detec

tado en concentraciones importantes en algunas áreas costeras de nuestro país, dado que las cualidades tóxicas de tales sustancias han sido ampliamente demostradas (Botello, 1978, 1979; Atlas, 1979).

En el caso de las técnicas bioquímicas que posibilitan la detección de alteraciones en el metabolismo, se tiene en los perfiles cromatográficos un recurso para medir el efecto de las cualidades del medio ambiente sobre los organismos en estudio.

Otra opción que debe considerarse, es aquella referente a la mejora de especies mediante las alternativas de la genética, que incluyen a la selección como a la hibridación. Mediante ésta última se complementan los criterios acerca de las relaciones de parentesco entre especies como las del género Crassostrea (Trip, 1966; Menzel, 1968a).

Además, la heterocigocidad demostrada en un buen número de bivalvos marinos dentro de los cuales quedan incluidos los ostiones estuarinos del género Crassostrea (Torigoe e Inaba, 1975) alientan la búsqueda de caracteres fenotípicos cuya heredabilidad sea lo suficientemente alta para asegurar los beneficios derivados del vigor del híbrido en estas especies (Longwell y Stiles, 1973; Newkirk, et. al., 1977; Singh y Zouros, 1978).

La metodología de la cromatografía en papel y en capa fina ha encontrado gran aplicación en diversas facetas de la investigación biológica, demostrando su gran versatilidad en la identificación y separación de diversas biomoléculas, especialmente aminoácidos. Actualmente es ampliamente utilizada, por ejemplo, en la detección de alteraciones metabólicas de origen hereditario en humanos.

Hilman, (1964) realizó una investigación utilizando cromatografía en papel, a fin de detectar variaciones en la expresión a nivel de aminoácidos libres en dos poblaciones diferentes de la misma especie de ostiones. De sus resultados, infirió la posible existencia de diferencias poblacionales intraespecíficas expresadas cromatográficamente.

De los resultados aquí obtenidos, es posible afirmar que la metodología seleccionada a base de cromatografía en papel para conocer algo acerca de la expresión genética en moluscos mediante patrones estandar, es un campo - fértil que debe explotarse en investigaciones taxonómicas enfocadas a la identificación poblacional a lo largo de grandes extensiones. Además, existe la perspectiva de que estudios cromatográficos estacionales que informen acerca de la modulación de la expresión génica en función del ciclo anual de los ostiones.

Finalmente, estas investigaciones tanto de tipo cromosómico como las que se realizaron mediante cromatografía, reflejan un paralelismo en sus resultados que es congruente con las relaciones filogenéticas entre estos organismos.

La investigación citogenética por su parte, refleja una estabilidad cariotípica que puede ser indicativa de la estabilidad adaptativa correspondiente en estos organismos. Si bien se encontraron algunas diferencias cariotípicas, es claro que los parámetros citotaxonómicos de mayor peso como son - el número diploide y el porcentaje de cromosomas birrameados en Crassostrea, los cariotipos presentan pequeñas diferencias en la definición de sus cromosomas.

mas. Estas similitudes pueden indicar la existencia de un grado de parentez co intraespecífico estrecho en Crassostrea, en donde desde el punto de vista cromosómico no existen evidencias de especies distintas, sino más bien de semiespecies o de razas cariotípicas. Sin embargo, para que este criterio alcance no sólo el punto de vista cariológico, es necesario que se conduzcan investigaciones a fin de evaluar la supervivencia de los híbridos. Por otra parte, los estudios cromatográficos pueden brindar mayor información acerca de pequeñas similitudes y diferencias intrapoblacionales, dado que esta metodología es más sensible a los cambios diminutos. En términos generales, se puede concluir que los estudios cromatográficos reflejan diferencias y similitudes paralelas en concordancia con las detectadas por medio de la citogenética. Este tipo de investigaciones serán la base, junto con las que se hagan sobre heterocigocidad en poblaciones, para la obtención de criterios firmes que posibiliten la utilización de la genética aplicada en su enfoque sobre la selección de genes de utilidad biológica y comercial, dado que las especies analizadas son las que tienen mayor perspectiva comercial en nuestras costas.

B I B L I O G R A F I A

- ABE, S. y M. SASAKI, 1977. Chromosome Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in Chinese Hamster Cells Exposed to Various Chemicals. J. Natl. Cancer Inst. 58 (6): 1635-1641.
- AHMED, M. y A. K. SPARKS, 1967. A preliminary Study of chromosomes of two species of oyster (Ostrea lurida and Crassostrea gigas). J. Fish. Res. Bd. Can. 24: 2155-2159.
- AHMED, M. y A. K. SPARKS, 1970. Chromosome Number, Structure and Autosomal Polymorphism in the Marine Mussels Mytilus edulis and Mytilus californianus. The Biol. Bull. 138 (1): 1-13.
- AHMED, M., 1973. Cytogenetics of Oysters. Cytologia 38: 337-346.
- AL-AISH, M., 1969. Human Chromosome Morphology. I. Studies on Normal Chromosome Characterization, Classification and Karyotyping Can. Jour. Gen. and Cytol. 11: 370-381.
- ANGELIER, N., D. HEMON and M. BOUTEILLE, 1979. Mechanisms of Transcription in nucleoli of Amphibian Oocytes as Visualized by High-Resolution Autoradiography. J. Cell. Biol. 80: 277-290.
- ARRIGHI, F. E., y T. C. HSU, 1971. Localization of heterochromatin in human Chromosomes. Cytogenetics. 81-86.

ATLAS, E., 1979. Synthetic Organics in the Gulf of Mexico. A Review the Department of Chemistry Texas A and M. University College Station, Texas. 43 p.

BAHR, C. F., 1977. Chromosomes and chromatin structure. In: Junis J. J. (ed.) Molecular Structure of Human Chromosomes. Academic Pres. 143-203.

BAKER, R. W., S. L. WENGER y J. H. TURNER, 1975. A rapid, colcemid free, banding-pattern technique for sequential analysis of rat bone marrow karyotypes. Mamm. Chromosomes News, 3 (16): 133-135.

BALICK, R. y J. PATAKI, 1978. Indirect Chromosomal Fluorescence with antibody to 7-12 Dimethylbenz (a) anthracene. Biochem. Biophys. Res. Comun. 82 (1): 81-84.

BOTELLO, A. V., 1978. Presencia de Hidrocarburos fósiles en sistemas costeros y estuarinos del Golfo de México. Tesis Doctoral Colegio de Ciencias y Humanidades. Centro de Ciencias del Mar y Limnología, U.N.A.M. 155 p.

BOTELLO, A. V., 1979. Niveles actuales de hidrocarburos fósiles en ecosistemas estuarinos del Golfo de México. An. Centro de Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 6 (1): 1-368.

- BOTELLO, A. V. y E. F. MANDELLI, 1978b. Distribution of n-paraffins in sea grasses, benthic algae, oysters and recent sediments from Terminos Lagoon, Campeche, Mexico. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19 (2): 162-170.
- BROWN, D. D. y J. B. GURDON, 1964. Absence of ribosomal RNA synthesis in the anucleolate mutant of Xenopus laevis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 51: 139-146.
- BURCH, J. B., 1965. Chromosome Numbers and Systematics in Euthyneuran Snails. Proc. First Europ. Malacol. Congr. 1962. 215-241.
- BUTLER, 1954. Summary our knowledge of oyster in Gulf of Mexico. Fish. Bull. of the F. W. S. 89 (55): 479.
- CASPERSSON, T., S. FABER, G. T. FOLEY, J. KUDYNOWSKY, E. J. MODEST, E. SIMONSSON, W. WAGH y L. ZECH, 1968. Chemical differentiation along metaphase chromosomes. Exp. Cell. Res. 49: 219-222.
- CASPERSSON, T., L. SECH y C. JOHANNSON, 1970. Diferential Binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. Experimental Cell. Research, 60: 315-319.
- CASPERSSON, T., G. LOMAKKA y A. MOLLER, 1971. Computerized chromosome identification by aid of quinacrine mustard fluorescence Technique. Hereditas 67: 103-110.

- CASTILLO, Z.G.R., 1977. Contribución al estudio taxonómico de algunas especies mexicanas de la familia Ostreidae. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México. 108 p.
- CHAVEZ, A.M. y S. ALVAREZ, 1974. Hidrología de la Bahía de San Quintín, Baja California en Invierno y Primavera. Ciencias Marinas 1 (2): 31-60.
- COMINGS, D.E., 1977. Chromosome banding and Chromosomal Proteins. Human Cyto genetics. VII: 65-74.
- CRISPENS, C.G., 1971. Essentials of medical Genetics. Medical Department Harper & Row, Publishers. New York, Evanston, London. pp. 79-94.
- DE LARA, A.R., 1972. Evaluación de los Recursos Ostrícolas de las Lagunas Mecoacán, Machona y del Carmen, Tabasco. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, U.N.A.M. 33 p.
- DENTON, J.E., W.R. BROKE y W.M. HOWEL, 1977. A technique for simultaneous staining of both nucleolar organizer regions and Kinetochores of Human Chromosome with silver. Stain Technol. 52: 311-313.
- DIAZ Y LOPEZ, M.G.E., 1980. Estudios cromosómicos en una población de moluscos bivalvos de la especie Isognomon alatus Gmelin. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, U.N.A.M.

DIUPOTEX CHONG, M.E., F. RODRIGUEZ ROMERO, M. URIBE y A. LAGUARDA, 1978.

Karyotypic Characters of Brachidontes recurvus Rafinesque 1820, (Pelecípoda: Mytilidae). An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 5 (1): 55-58.

DIUPOTEX CHONG, M. E., 1975. Estudios Citogenéticos en Brachidontes recurvus Rafinesque 1820, (Mollusca-Mytilidae). Tesis Profesional Facultad de Ciencias, U.N.A.M. 151 p.

DRETS, M. E. y M. W. SHAW, 1971. Specific banding patterns of human chromosomes. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 68: 2073-2077.

DUFFEY, P. A., 1972. Chromosome variation in Peromyscus. A New Mechanism. Science 176 (4041): 1333-1334.

DUTRILLAUX, B. y J. LEJEUNE, 1971. Sur une nouvelle technique d'analyse dy caryotype humain, C. R. Hebd. Seance Acad. Sci., 272: 2638-2640.

DUTRILLAUX, B. y J. COUTURIER, 1972. Techniques d'analyses Chromosomiques, Biologic clinique. Expansion scientifique francaise, Paris. 5-12.

DUTRILLAUX, B., 1973. Nouveau systeme de marquage chromosomique. Les Bandes T. Chromosoma 41, 395-402.

- DUTRILLAUX, B., 1975a. Traitements discontinus par le BrdU et coloration par l'acridine orange; obtention de marquages R, Q et intermediaries. Chromosoma 52, 261-273.
- DUTRILLAUX, B., 1975b. "Sur la nature et l'origine des chromosomes humains". Monogr. Ann. Genet. Expansion Scientifique française, Paris.
- DUTRILLAUX, B., 1977. New Chromosome Techniques. In: YUNIS, J.J. (Ed) Molecular Structure of Human Chromosomes. Academic Press. 233-265.
- FINAZ, C. y J. DE GROUCHY, 1971. Le caryotype Humain apres traitement par l'-chymotrpsin. Ann. Genet., 14: 309-311.
- FORBES, M. L., 1967. Generic Differences in prodissoconchs of Gulf of Mexico Oysters. Bull. of Mar Sci., 17 (2): 338-347.
- FUGINO, K. y N. NAGAYA, 1977. Biochemical Polymorphism in the Pacific oyster I variants in Myogen and Esterases. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 48 (8): 983-988.
- GALTSOFF, P.S., 1964. The American Oyster Crassostrea virginica C. virginica (Gmelin). Fish. Bull. of the Fish Wild Life Service. 64: 480 p.

GARCIA CUBAS, A., En prensa. Moluscos de un sistema lagunar tropical al sur del Golfo de México. (Laguna de Términos, Campeche) Publicaciones especiales, Centro de Ciencias del Mar y Limnología Univ. Nal. Autón. México.

GILBERT, C.W., 1966. A computer Programme for the Analysis fo Human Chromosomes Nature 212 (5069): 1437-1440.

GRANDLUNG, G.H., G.W. ZACK, I.T. YOUNG y M. EDEN, 1976. A Technique for multiplic-cell Chromosome Karyotyping. The Jour of Histocho. and Cytoch. 24 (1): 160-167.

GUNTER, G., 1951. The west Indian tree oyster on the Louisiana Coast, and notes on the growth of three Gulf Coast Oyster. Science, 113: 516-517.

GUTIERREZ, V.E., 1973. Establecimientos de Elementos Bioecológicos Básicos para el Cultivo del Ostión Crassostrea virginica (Gmelin) en el Sistema Lagunar Carmen M. Tabasco. Tesis Profesional. UNAM. 69 p.

HABBEMA, J.D.F., 1979. Statistical Method for Classification of Human Chromosomes. Biometrics 35: 103-118.

HARRIS, J.E., C.E. NASJLETI y CH. J. KOWALSI, 1973. Discrimination between Groups of Chromosomes and Individual Chromosomes in the Normal Human Karyotype. Chromosoma (Berl.) 40: 269-284.

HATCH, F.T., A.J. BODNER, et. al., 1976. Satellite DNA and Cytogenetic Evolution. Chromosoma (Berl.), 58: 155-168.

- HATCH, F.T. y A.V. CARRANO, 1978. Satellite DNA, Heterochromatin, and Rearrangement of the Genome, Mutation Research, 53: 129-186.
- HAYASHI, KENSHI, T.GOLFSTAETTER y N. YAMURA, 1978. Asymmetry of Chromatin Subunits Probed with Histone H1 in an H1-DNA Complex. Biochemistry, 17 (10): 1880-1883.
- HERTLEIN, L.G., 1952. Descriptions of two new species of marine pelecypods from west Mexico. Bull. Cal. Acad. Sci., 50 (2): 68-75.
- HILLMAN, R.E., 1964. Chromatographic evidence of intraspecific genetic differences in the eastern oyster Crassostrea virginica. Syst. Zool. 13: 12-18.
- IEYAMA, H. y A., INABA, 1974. Chromosome Numbers of ten Species in four Families of Pteriomorpha. (Biv.) Venus, The Japanese Jour of Malacol., 33: 129-137.
- IKUSHIMA, T., 1977. Role of Sister Chromatid Exchanges in Chromatid Aberration Formation. Nature, 268 (5617): 235-236.
- IMAI, H.T., 1978. On the Origin of Telocentric Chromosomes in Mammals. J. Theor. Biol., 71: 619-637.
- IMAI, H.T., y MURAYAMA, 1978. Karyotype Evolution by Pericentric Inversion as a Stochastic Process. J. Theor. Biol., 70: 253-261.
- IRUEGAS, V.E., 1968. Tratamiento químico para el control de gasterópodos depredadores del ostión y su efecto sobre algunos pelecípodos en la Bahía de los Guásimas, Sonora. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, U.N.A.M. 41 p.

- ISLAS, O. R., 1975a. El Ostión Japonés (Crassostrea gigas) en Baja California. Ciencias Marinas, 2 (1): 58-59.
- ISLAS, O. R., 1975b. Establecimiento de un laboratorio para la obtención de larvas de moluscos en Ensenada, Baja California. Ciencias Marinas, 2 (1): 43-46.
- JACKSON, R. C., 1971. The Karyotype in Systematics. Dep. of Biol. Texas Tech University, Lubbock, Texas, 2: 327-367.
- JOHNSON, A. G., F. M. UTTER y K. NIGGOL, 1972. Electrophoretic variants of aspartate amino transferase and adductor muscle proteins in the native oyster (Ostrea lurida). Anim. Blood Grps. Biochem. Genet., 3: 109-113.
- KEEN, A. M., 1971. Sea Shells of Tropical West America. Stanford Univ. Press. 1064 p.
- LATT, S. A., 1973. Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 70: 3395-3399.
- LATT, S. A., 1974. Localization of sister chromatid exchanges in human chromosomes. Science. (185): 74
- LEDLEY, R. S. y F. H. RUDDLE, 1966. Chromosome analysis by computer. Sci. Am. 214 (4): 40-46.

- LEVAN, A.K., FREDGA y A. SANDBERG, 1964. Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.
- LONGWELL, A.C., S.S. STILES y SMITH D.G., 1967. Chromosome Complement of the American Oyster Crassostrea virginica as Seen in Meiotic and Cleavin Eggs. Can. J. Genet. Cytol., 9: 845-856.
- LONGWELL, A.C., 1968. Removal of yolk from oyster eggs by soxlet extraction for clear chromosomes preparation. Stain Technology, 48 (2).
- LONGWELL, A.C., S.S. STILES, 1973. Oyster genetics and the probable future role of genetics in Aquaculture. Malac. Rev. 6: 151-177.
- LONGWELL, A.C., S.S. STILES, 1970. El Sistema Genético y el Potencial Reprodutor de la Ostra Americana. Endeavour., 19 (107); 94-99.
- LOOSANOFF, V.L. y C.A. NOMEJKO, 1951. Existence of physiologically different races of oysters, Crassostrea virginica. Biol. Bull. (Woods Hole), 2: 151-156.
- MACE, M.L., JR., S.S. TEYETHIA y B.R. BRINKLEY, 1972. Differential immunofluorescent labeling of Chromosomes with antisera specific for single strand D.N.A. Exp. Cell. Res., 75: 521-523.
- MATTOX, N.T., 1949. Studies on the biology of the edible oyster, Ostrea rhizophorae Guilding in Puerto Rico. Ecol. Monogr., 19: 339-356.

- MELENDEZ, B., 1970. Paleontología. Tomo I. Parte General e Invertebrados. Paraninfo. Madrid. p.p. 375-400.
- MENDELSON, M.L., B.H. MAYALL, E. BOGART, D.H. MOORE II and B. H. PERRY, 1973. DNA content and DNA-based centromeric index of the 24 human chromosomes, Science, 179: 1126-1129.
- MENZEL, R.W., 1956. Some additional differences between Crassostrea virginica and Ostrea equestris in the Gulf of Mexico Area. Proc. Natl. Shellfish. Assoc. (46): 76-81.
- MENZEL, R.W., 1968a. Chromosome Number in Nine Families of Marine Pelecypod Mollusks. Nautilus, 82 (2): 45-58.
- MENZEL, R.W., 1968b. Cytotaxonomy of cleams (Mercenaria) and oyster (Crassostrea). Proc. Symp. Moll., (1): 75-87.
- MILLER, O.J., D.A. MILLER, R. TANTRAVAHU and V.G. DEV, 1978. Nucleolus organizer activity and the origin of Robertsonian Translocations. Cytogenet. Cell. Genet., 20: 40-50.
- MOLLER, A., H. NILSSON, T. CASPERSSON y G. LOMAKKA, 1970. Identification of human chromosome regions by aid of computerized pattern analysis. Exptl. Cell. Res., 70: 475-478.
- MOORE II, D.H., 1973. Do homologous differ? Two statistical tests. Cytogenet. Cell. Genet., 12: 305-314.

MORE, P., M.T. MORE, J. POISEBAI y R. MONNET, 1966. Application de la méthode de "Disc-electrophoresis" a l'étude de protéines solubles des muscle adducteurs de *Ostrea edulis* L., *Crassostrea angulata* Lmk., *Tapes deussatus* L., *Mytilus edulis* L et *Mya arenaria* L. Bull. Soc. Pharm. Ouest., 8: 135-142.

MORE, P., M.T. MORE, J. POISEBAI y R. MONNET, 1971a. Electrophorèse en gel de Polyacrylamide des protéines solubles de la partie transparente du muscle adducteur de cinq espèces d'Ostreidae. C. R. Hebd. Sances Acad. Sci. Ser. D. Sci. Nat. (Paris) 272 (2): 222-225.

MORE, P., M.T. MORE, J. POISEBAI y R. MONNET, 1971b. Electrophorèse en gel de Polyacrylamide des protéines solubles de la partie nacrée de muscle adducteur de cinq espèces d'Ostreidae, C.R. Hebd. Seances. Acad. Sci. Ser. D. Sci. Nat. (Paris)., 272 (10): 904-906.

NELSSON, T.C., 1938. The feeding mechanism of the oyster I. On the pallium and the branchial Chambers of *Ostrea virginica*, - *O. edulis* and *O. angulata*, with comparisons with other species of the genus. Jour. Morphology, 63 (1): 1-161.

NEWKIRK, G.F., 1977. Genetics of larvae and Spet Growth Rate in the Oyster *Crassostrea virginica*. Mar. Biol., 41: 49-52.

- NUMACHI, K., 1962. Serological studies of species and race in oysters
American Naturalist, 96 (889): 211-217.
- OLSSON, A.A., 1961. Mollusks of the Tropical eastern Pacific, particularly
from The southern half of the Panamic-Pacific faunal province
(Panama to Peru). Panamic-Pacific Pelecypoda. Paleontological
Research Institution, Ithaca, N. Y. 574 p.
- PATTERSON, C.M., 1967. Chromosome Numbers and Systematics in
Streptoneurean Snails. Malacol. Rev., 5 (2): 11-125.
- PATTERSON, C.M., 1968. Chromosomes of Molluscs. Proc. Symp. Moll.
Mar. Biol. Assoc. India Symp. Serv., 3 (2): 635-686.
- PATTERSON, C.M., 1973. Cytogenetics of Gastropod Mollusks. Malacol.
Rev. 6: 141-150. Michigan, U.S.A.
- PALMER, C.G., 1970. 5-Bromodeoxyridine induced constrictions in human
chromosomes. Can. J. Genet. Cytol., 12: 816-830.
- RAMIREZ, G.R. y M.L. SEVILLA, 1965. Las Ostras de México. Datos
biológicos y planeación de su cultivo. INIBP. SIC., CNCP.
7: 7-100.
- RANSON, G., 1945. Prodissoconques et classification des Ostreides
vivants. Bull. Mus. Roy. d'Hist. Nat. de Belgique 24: 1-12.
- REES, H., R.N. JONES, 1972. The Origin of the Wide Species Variation
In Nuclear DNA Content. Int. Rev. Cytol., 32: 53-92.

- RODRIGUEZ-ROMERO, F., M. URIBE y A. LAGUARDA, 1978. Cytogenetic Study of an Oyster Population of the Species Crassostrea virginica Gmelin, from the Coasts of Tabasco, Mexico. Jap. Jour. Malac. (VENUS) 37 (2): 83-86.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., A. LAGUARDA y M. URIBE, 1979a. Comparative Analysis of the Karyotypes of two Oyster Species of the Genus Crassostrea from Mexico: C. virginica and C. corteziensis. An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México., 6 (1): 19-24.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., M. URIBE y A. LAGUARDA, 1979b. The Karyotype of Crassostrea corteziensis Hertlein, 1951. (Mollusca-Ostreidae) An. Centro de Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México 6 (1): 15-18.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., M. URIBE, A. LAGUARDA y M. E. DIUPOTEX, 1979c. The Karyotype of Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828). Jap. Jour. Malac. (VENUS) 38: (2): 135-140.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., A. LAGUARDA, M. URIBE y M.L. ROJAS, 1979d. Distribution of "G" Bands in the Karyotype of Crassostrea virginica. Jap. Jour. Malac. (VENUS) 38 (3): 180-184.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F. y A. LAGUARDA, 1979. The Chromosomic inversions as an adaptative Mechanism in the karyotype of three species of Crassostrea AMU. 1979 Bull. (En prensa)
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., M.E. DIAZ, A. LAGUARDA y A. GARCIA-CUBAS, 1979e. The Karyotype of Isognomon alatus Gmelin, 1791 (Pterioida-Isognomonidae) AMU. 1979 Bull. (En prensa).

- ROGER, P. y A. GARCIA CUBAS, 1978. Observaciones sobre la Biología y Pesquería de Crassostrea virginica Gmelin y Rangia cuneata (Gray, 1831) del sistema fluvio-lagunar Atasta Pom. Campeche, México. VI Congreso Nacional de Oceanografía, Ensenada, B.C., México.
- ROSALES, M.T.L., A.V. BOTELLO, H. BRAVO y F. MANDELLI, 1979. PCBS and organochlorine insecticides in Oysters from Coasts Lagoons of the Gulf of México, México. Bull. Environ. Contsm. Toxicol. 21: 652-656.
- ROUSSEL, G., 1980. Comunicación Personal.
- RUTOVITZ, D., 1968. Automatic chromosome analysis. Br. Med. Bull. 24 (3): 260-267.
- SEABRIGHT, 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet, 11: 971-972.
- SINGH, S.M. y E. ZOUROS, 1978. Genetic variation associated with growth rate in the american oyster (Crassostrea virginica). Evolution, 32 (2): 342-353.

- SOTA DE LA, R.S., 1967. La taxonomía y la revolución de las ciencias biológicas. Departamento de asuntos científicos, unión panamericana, Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Washington, D.C. pp. 10-14.
- STAUBER, L.A., 1947. On possible physiological species in the oyster Ostrea virginica. Anat. Rec. 99 (4): 614.
- STENZEL, H.B., 1971. Oysters In: R.C. Mook (Ed), Traitise on Invertebrate Paleontology. Part. N. 3 Mollusca 6 (Bivalvia) IV-272 p.
- STOCK, R. y C.B.F. RICE., 1974. Chromatographic Methods Science Paper backs 383 p.
- STUARDO, B.J., 1965. Distribución de los Moluscos Marinos Litorales en Latinoamérica. Bol. Inst. Biol. Mar. Mar de Plata 7: 79-91.
- SUMMER, A.T., 1972. A simple technique for demostrating centromeric heterochromatin. Exp. Cell. Res., 75: 304-306.
- STUARDO, J. y A. MARTINEZ., 1975. Relación entre algunos factores ecológicos y la Biología de poblaciones de Crassostrea corteziensis Hertlein 1951, de San Blas, Nayarit, México. An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nat. Autón. México.
- SUMMER, A.T., H.J. EVANS y R.A. BUCKLAND., 1971. New technique of distinguishing between human chromosomes. Nature (London), New Biol. 232: 31-32.

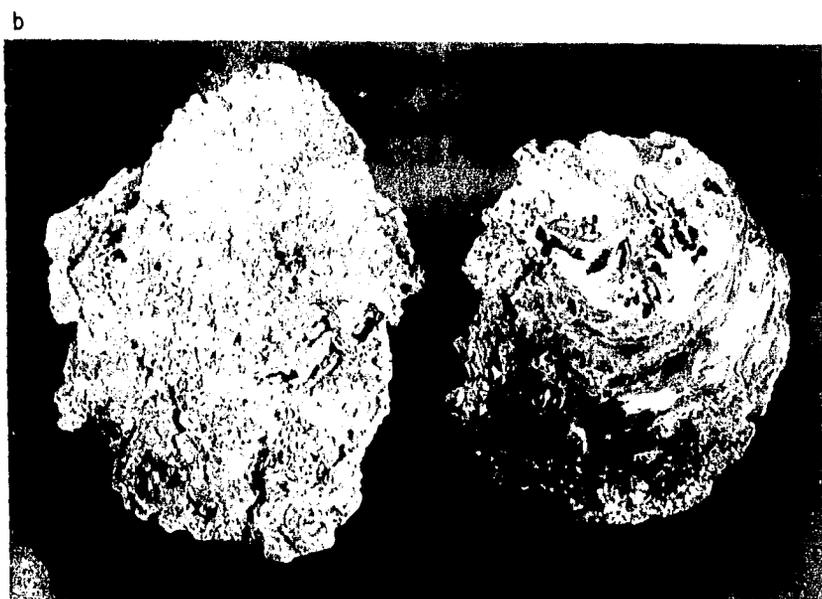
- TAYLOR, J. H., P. S. WOODS y W. L. HUGHES, 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium labelled thymidine. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 43: 122-128.
- TOLEDANO, G. ARTURO y F. FLORES, 1978. Estudio Prospectivo de los Moluscos de Importancia Económica en la Laguna de la Mancha, Ver., Méx. Biología de Campo, Fac. de Ciencias, U.N.A.M. México (no publicado).
- THOMSON, J. M., 1954. The genera of oysters and the Australian species. Aust. J. Mar. Freshwat. Res., 5 (1): 132-168.
- TORIGOE, K. y A. INABA, 1975. Electrophoretic Studies on Some Oysters Jap. Jour Malac. (VENUS), 33 (4): 177-183.
- TORIGOE, K., 1978. Electrophoretic variants of Adductor Muscle Proteins in Crassostrea gigas. Jap. Jour. Malac. (VENUS), 37 (4): 241-244.
- TRIP, M. R., 1966. Hemagglutinin in Blood of the Oysters Crassostrea virginica. Jour. Inv. Path., 8: 478-484.
- VED, S. B., R. S. VERMA y H. DOSIK, 1979. A simplified Technique for Simultaneous Staining of Nucleolar Organizer Regions and Kinetochores. Stain Tech., 54 (1): 107-108.

- VERMA, R.S. y H. DOSIK, 1976. An improved method for photographing fluorescent human chromosomes. Jour. of Microscopy, 108: 339-341.
- WADA, K.T., 1975. Number and Gross Morphology of Chromosomes in the Pearl Oyster, Pinctada fucata (Gould), Collected from two Regions of Japan. Jap. Jour. Malac. (VENUS), 35 (1): 9-14.
- WADA, K.T., 1978. Chromosome Karyotypes of Three Bivalves: The Oysters Isognomon alatus and Pinctada imbricata, and the Bay Scallop, Argopecten irradians irradians. Biol. Bull., 155: 235-245.
- WADA, K.T., 1975. Electrophoretic variations of leucin amino peptidase of the Japanese Pearl Oyster Pinctada fucata (Gould). Bull. of the Nat. Pearl. Lab. 19: 2152-2156.
- WHITE, M.J.D., 1951. Citología animal y evolución. Espasa-Calpe, Argentina. pp. 11-169.
- WILKINS, N.P. y N.F. MATHERS, 1973. Enzyme Polymorphism in the European Oyster, Ostrea edulis L. Anim. Blood. Grps. Biochem. Gent., (4): 41-47.
- WRAY, W., 1972. Mammalian metaphase chromosomes with light molecular weight DNA isolated at pH 10.5. Nature (London) New Biology, (238): 237-238.

YASMINEH, W.G. y J.J. YUNIS, 1969. Satellite DNA in mouse autosomal heterochromatin. Biochem. Biophys. Res. Commun., 35: 779-782.

YUNIS, J.J. y W.G. YASMINEH, 1971. Heterochromatin, satellite DNA. and Cell function. Science, 174: 1200-1209.

A P E N D I C E



Platina 17 a. Vista interior de las valvas de Crassostrea iridescens

b. Vista exterior

d



b



Lámina 18 a. Vista interior de las valvas de Crassostrea corteziensis

b. Vista exterior



Lámina 19 a. Vista interior de las valvas de Ostrea palmula

b. Vista exterior

a

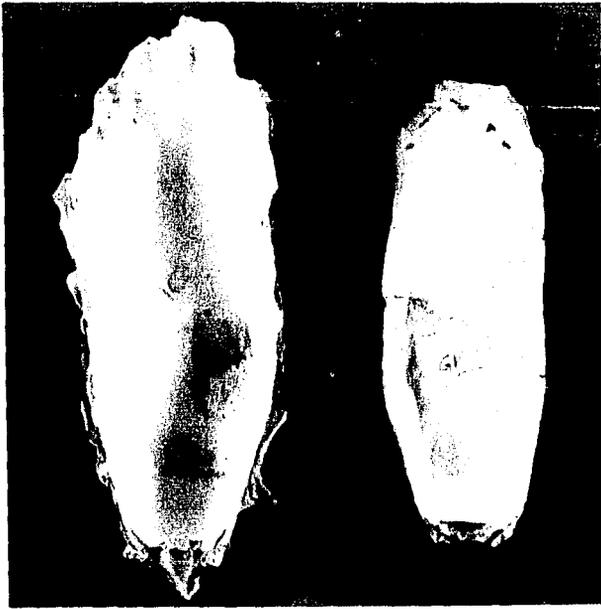


b



Lámina 20 a. Vista interior de las valvas de Pycnodonte fisheri
b. Vista exterior

a



b

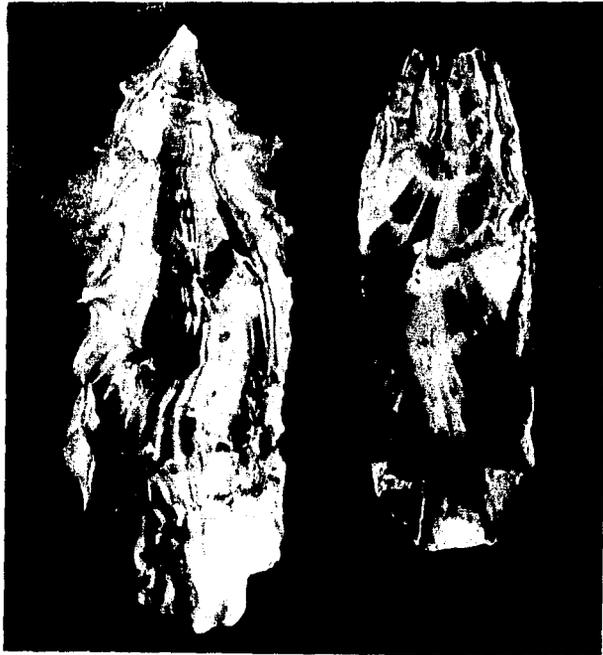
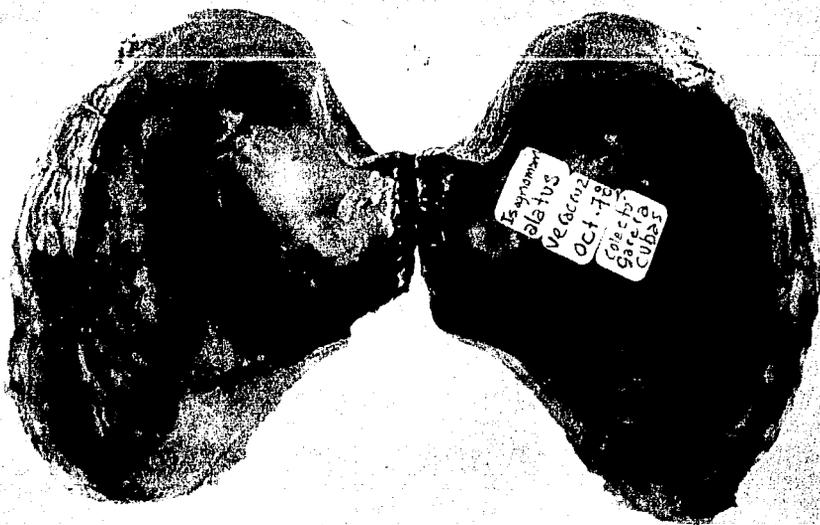


Lámina 21 a. Vista interior de las valvas de Crassostrea gigas

b. Vista exterior

a



b

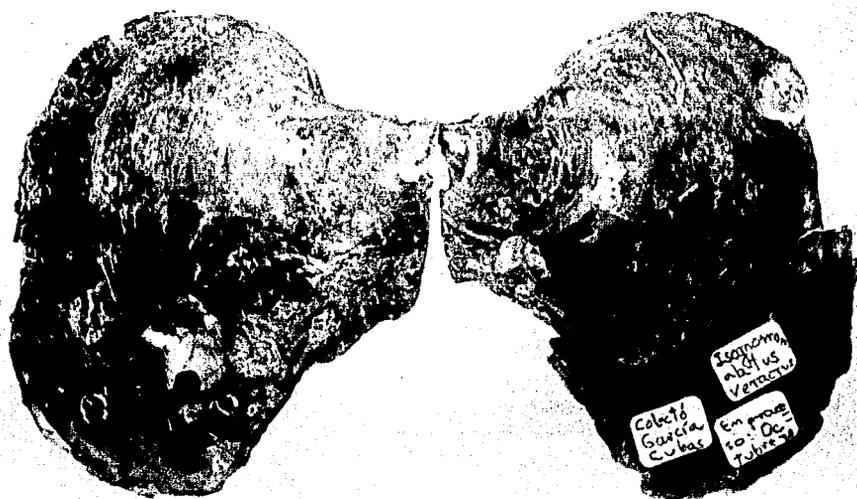


Lámina 22 a. Vista interior de las valvas de Isognomon alatus

b. Vista exterior



Lámina 23 a. Vista interior de las valvas de Crassostrea virginica

b. Vista exterior

d



b

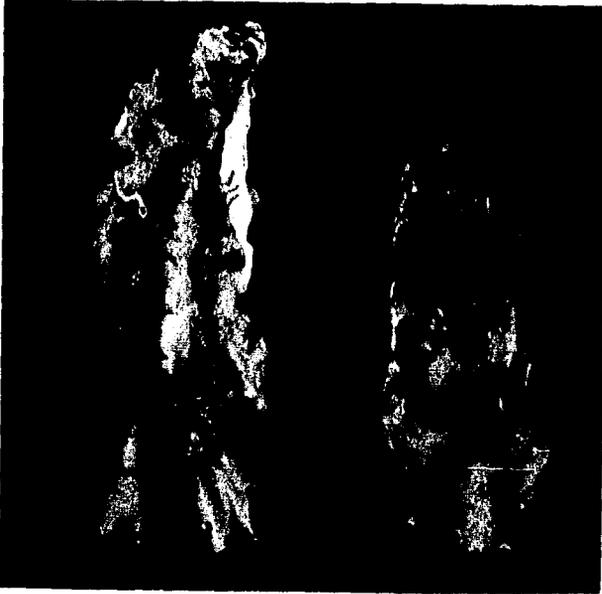


Lámina 24 a. Vista interior de las valvas de Crassostrea rhizophorae

b. Vista exterior