

2ej 81

Universidad Nacional Autonoma de México

Facultad de Ciencias.

EVALUACION CELULAR DEL  
HIBRIDO DE DOS ESPECIES DE  
OSTRAS COMERCIALES DE MEXICO:  
ESTUDIOS CROMOSOMICOS.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIOLOGO

PRESENTA:

MARGARITA GASCA MONTES DE OCA.

FALLA DE ORIGEN

México, D.F.

1989.



## **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
RESUMEN . . . . .	3
INTRODUCCION . . . . .	6
Producción pesquera mundial . . . . .	7
Producción ostrícola . . . . .	8
Generalidades de los moluscos . . . . .	11
Biología de los ostiones . . . . .	15
Filogenia y evolución . . . . .	20
Ecología . . . . .	26
Distribución geográfica . . . . .	27
Genética . . . . .	30
Citogenética . . . . .	31
Descripción de las areas de recolecta . . . . .	35
OBJETIVOS . . . . .	42
MATERIAL Y METODOS	
Trabajo de campo . . . . .	43
Trabajo de laboratorio . . . . .	44
Procesamiento citogenético . . . . .	45
Coloraciones	
I. Giemsa pH 6.8 para cariotipo normal . . . . .	47
II. Bandas G . . . . .	48
III. Bandas C . . . . .	48
IV. Bandas Nor . . . . .	49

## RESULTADOS

Análisis del cariotipo normal en:

<u>Crassostrea virginica</u> y <u>Crassostrea rhizophorae</u> . . .	58
Descripción del cariotipo normal del híbrido . . . .	59
Patrón de bandas G en <u>Crassostrea virginica</u> . . . .	66
Patrón de bandas G en <u>Crassostrea rhizophorae</u> . . . .	76
Patrón de bandas G en el híbrido . . . . .	84
Análisis comparativo . . . . .	92
Patrón de bandas C en <u>Crassostrea virginica</u> . . . .	97
Patrón de bandas C en <u>Crassostrea rhizophorae</u> . . . .	102
Patrón de bandas C en el híbrido . . . . .	107
Análisis comparativo . . . . .	112
Patrón de bandas Nor en el híbrido . . . . .	119

## DISCUSION

Cariotipos normales . . . . .	123
Bandas G . . . . .	131
Bandas C . . . . .	143
Función de la heterocromatina en la evolución de los cariotipos . . . . .	148
Heterocromatina y morfología cromosómica . . . . .	149
Bandas Nor . . . . .	153

CONCLUSIONES . . . . .	156
RECOMENDACIONES . . . . .	161
REFERENCIAS . . . . .	163
ANEXOS . . . . .	192

## RESUMEN .

Se estudiaron dos especies de ostiones de importancia comercial de las costas mexicanas, del género Crassostrea: C. virginica, y C. rhizophorae (Mollusca-Bivalvia) de la Laguna de Términos, Campeche, México y su híbrido interespecífico.

En nuestro país el estudio de los bivalvos, ha sido objeto de varias investigaciones relacionadas con su morfología, fisiología, aspectos ecológicos, de distribución, abundancia y ciclos biológicos, por ejemplo los realizados por García-Cubas (1981, 1986), entre otros. No obstante desde el punto de vista citotaxonomico y citogenético son pocos los trabajos efectuados y solo se conocen los publicados por Rodríguez-Romero et al. (1978, 1979a, 1979b, 1979c, 1979d), en ostiones del género Crassostrea de las costas del Golfo de México y del Pacífico.

Este es el primer trabajo que se elabora en la familia Ostreidae con el fin de estudiar en forma integrada el cariotipo normal, los patrones de bandeo cromosómicos "G", "C" y "Nor" así como el comportamiento mitótico del híbrido de las especies C. virginica y C. rhizophorae.

Los organismos fueron analizados exhaustivamente bajo el criterio citogenético que incluyó: el análisis del cariotipo normal y los patrones de bandeo cromosómicos G, C y Nor que permitieron la localización de segmentos cromosómicos específicos para cada uno de los cromosomas de las especies analizadas. Los estudios previos

de taxonomía y sistemática sobre ostiones han propuesto la existencia de diferentes especies en la costa del Golfo de México con base en el criterio de la morfología y anatomía de los organismos, sin embargo algunos estudios revelan la existencia de razas fisiológicas. Desde el punto de vista citogenético se ha demostrado una gran similitud cariotípica a nivel interespecífico poniendo en duda la identidad de algunas especies. En este estudio, la obtención de la larva trocófora del híbrido interespecífico, en condiciones de laboratorio, señala la ausencia de una barrera reproductiva y de complementariedad de gametos. El análisis citogenético corroboró la afinidad de los conjuntos haploides de los progenitores y la fórmula cromosómica del híbrido.

El cariotipo normal del híbrido interespecífico presentó 20 cromosomas birrameados, en el complemento diploide, metacéntricos y submetacéntricos en pares homólogos y por sus valores de I. C. (índice centromérico) y A.R. (relación de brazos) se clasifican igual a los de Crassostrea virginica.

Los patrones de bandas "G" presentaron: 67 bandas en Crassostrea virginica, 82 en C. rhizophorae y en su híbrido 70 bandas. Se realizó un análisis comparativo de los patrones de bandas "G" encontrándose que el número de éstas, presenta diferencias mínimas debidas a las adaptaciones propias de cada entidad taxonómica.

En los patrones de bandas "C", C. virginica presentó 26 bandas, C. rhizophorae 22 y su híbrido 27 bandas; otra caracterís-

tica importante revelada por los patrones "C" fue la presencia de satélites en los telómeros superiores tanto en los progenitores como en su híbrido, en el par 2; el análisis comparativo de los patrones indica diferencias mínimas que podrían corresponder a procesos incipientes de adaptación para cada entidad.

El patrón de bandas "Nor" para el híbrido interespecífico, presenta 8 bandas que indican sitios de síntesis de ácidos nucleicos .

Se concluyó que los ostiones estudiados Crassostrea virginica y Crassostrea rhizophorae, reconocidos por otros autores como especies diferentes, se encuentran estrechamente emparentados y no existen elementos de juicio citotaxonómicos para reconocerlas como especies distintas

## INTRODUCCION.

La humanidad enfrenta en el presente una proble  
mática alimentaria y económica a nivel mundial acrecen-  
tada cada año por la explosión demográfica que se regis-  
tra; y existe la seguridad de que en un futuro no leja-  
no se produzca un constante desabastecimiento de ali-  
mentos para la población mundial, actualmente ya se pre-  
senta un déficit en alimentos, sobre todo en los países  
subdesarrollados existe hambre y desnutrición, ésta  
última afecta en alto grado a la niñez.

Ante esta situación, el hombre ha visualizado a  
los organismos acuáticos como posibles recursos alimen-  
tarios, puesto que el medio conformado por océanos, la-  
gunas y ríos ocupa la mayor superficie del planeta, y  
en él habitan 190 000 especies de seres vivos, que se-  
rían una fuente de alimentos ricos en proteínas. Actual-  
mente se obtiene un 26% de derivados proteínicos de  
origen animal aprovechados por la población mundial, por  
consumo directo o incluyendo harinas de organismos mari-  
nos en alimentos balanceados para consumo en ganaderías  
y avicultura (Anónimo, 1979).



## Producción Pesquera Mundial.

Para el año 1982 la Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y la Alimentación (FAO) reportó que los peces y mariscos representan el 1% de los alimentos humanos.

Entre las pesquerías que están desarrollándose se encuentra la de los moluscos, con una producción en aguas continentales de 261, 700 toneladas métricas (mt) para 1985; mientras que en pesquerías marítimas la producción fue de 5 840 800 mt en el mismo año, en la que se incluyen abulones, bigarros, estrombos, ostras, mejillones, vieiras, almejas, berberechos, arcas, calamares, jibias, pulpos y moluscos marinos diversos. (FAO, 1985).

Otra razón por la cual debe considerarse el incremento del aprovechamiento de los moluscos, es su alto valor nutritivo, ya que contienen vitamina A, B, C y D; compuestos glicerofosfóricos, cloruros, carbohidratos y proteínas en cantidades adecuadas y de fácil digestión. Las ostras poseen gran cantidad de yodo que interviene en el funcionamiento de la tiroides y productos antianémicos que contienen cobre y hierro.

## Producción Ostrícola:

Dentro de las 100 pesquerías de mayor importancia a nivel mundial consideradas por la FAO, el ostión ocupa el vigesimo sexto lugar, los principales países con recursos ostrícolas son, Estados Unidos, Japón, Corea, Francia y México. (FAO. 1982).

En los países con máxima producción los mayores volúmenes se dan en costas donde el cultivo es intenso. Aunque en los países donde el cultivo no se produce a tan gran escala, los volúmenes de captura son importantes regionalmente y contribuyen al interés que tiene esta actividad a nivel mundial.

La FAO considera ocho especies como las más importantes a nivel mundial, incluidas en dos géneros, para el género Ostrea spp. : Ostrea chilensis, O. edulis, O. lurida, O. lutaria y para el género Crassostrea spp.: C. gigas, C. rhizophorae, C. virginica y C. angulata.

De estas especies las más importantes por su volumen de captura anual son C. gigas y C. virginica que para 1985 fueron 567 273 mt y 271 954 mt respectivamente y son también las que más se cultivan a nivel mundial. (FAO, 1985).

Las especies explotadas del género Crassostrea spp. se ubican en diferentes regiones: en el Océano Pacífico americano, Crassostrea columbiensis y C. equatorialis; en Japón C. gigas y C. laperousis; en Indochina C. madresensis; y en las costas atlánticas europeas y americanas C. angulata y C. virginica, esta última ubicada entre los meridianos 20° y 30° en la costa de Canadá y el Golfo de México; C. rhizophorae habita en la región comprendida entre los meridianos 10° y 20° que incluye el Mar Caribe; y C. brasiliana se localiza a la altura del meridiano 20° en las Costas de Brasil.

En México también se ha incrementado el aprovechamiento de los moluscos, según el reporte hecho por la Secretaría de Pesca la captura total fue 1 464 841 ton., de éstas 80 594 ton. corresponden a moluscos, entre los que destacaron ostiones, almejas, calamares, pulpos, caracoles, abulones, etc. (SEPESCA, 1987).

Las especies capturas en nuestro país se agrupan en los géneros Crassostrea, Ostrea y Lopha. En el litoral del Pacífico están C. corteziensis, C. iridescens, C. palmula, O. angelica, L. megodon y L. fisheri; en el litoral del Golfo de México: C. virginica, C. rhizophorae y L. frons. La producción anual de ostión en México, para el año 1987 fue de 50 715 ton. (SEPESCA, 1987).

De acuerdo con la distribución y áreas de pesca, las especies que soportan una mayor explotación son, para el Golfo de México, *C. virginica*, en donde la producción anual fue de 46 325 ton., aportadas principalmente por Veracruz y Tabasco y para el Litoral de Pacífico, *C. corteziensis* y *C. iridescens*, donde se estima una captura anual de 4 390 ton producidas por los estados de Guerrero y Baja California Norte.

En el Litoral del Pacífico la producción del ostión se distribuyó en la franja costera de diez estados en 1987. Los estados con mayor producción fueron Guerrero, Baja California Norte y Sinaloa. (SEPESCA, 1987)

### Generalidades de los moluscos:

Los moluscos constituyen uno de los phylum más abundante de los invertebrados, se han descrito aproximadamente 100 000 especies vivientes y 35 000 especies fósiles. Son organismos pluricelulares, de simetría bilateral alterada secundariamente en gasterópodos.

La mayoría de los moluscos son móviles, marinos pero algunos viven en agua dulce, y solo parte de los gasterópodos son terrestres. (Barnes, 1977).

El phylum Mollusca consta de siete clases, entre las cuales se encuentra la clase Bivalvia, llamada también Pelecypoda o Lamellibranchiata, a la que pertenecen las ostras, cuyas características son las siguientes: cuerpo comprimido lateralmente e incluidos en un manto con dos lóbulos iguales. Cada lóbulo del manto secreta una valva y las dos están unidas por un ligamento o gozne.

Hay dos ctenidios, izquierdo y derecho, a veces muy agrandados y de estructura complicada. El alimento es colectado por las branquias y por los palpos labiales. Los sexos pueden estar unidos o separados, las especies marinas pasan típicamente por estados de larva trocófora y véliger. (Meglitsch, 1978).

Los caracteres de la concha, manto, sifón y branquias, son la base de la subdivisión en órdenes: Protobranchiata, Pseudolamelibranchiata, Eulamelibranchiata y Septibranchiata (Ramírez y Sevilla, 1965).

El orden Pseudolamelibranchiata, en el cual se incluyen las ostras, presentando las siguientes características: a cada lado las branquias tienen dos hileras de filamentos branquiales ó filibranquias que se extienden ventralmente y se reflejan dorsalmente. La porción reflejada externa está fusionada con el manto excepto en la familia Pectinidae (Ramírez y Sevilla, 1965).

Poseen uniones ciliares interfilamentarias o concreencias vasculares, los márgenes del manto están abiertos, carecen de sifones, poseen generalmente solo un músculo abductor, el pie es débil o carecen de él, con o sin biso. Generalmente sin dientes en la charnela (Keen, 1971).

En este Orden se incluyen tres Familias: Aviculidae, Pectinidae y Ostreidae. (Ramirez y Sevilla, 1965).

La Familia Ostreidae tiene los siguientes caracteres: valvas desiguales, con débil charnela sin dientes. La valva izquierda, que es la más cóncava, se encuentra

adherida al sustrato; la derecha más aplanada funciona como un opérculo. Poseen un solo músculo abductor, los filamentos branquiales externos están fusionados al manto y sus márgenes son orlados. Carecen de pie o este es rudimentario y sin biso, generalmente son coloniales. (Ramírez y Sevilla, 1965).

La familia incluye tres géneros vivientes: Ostrea Linnaeus, 1958; Crassostrea Sacco, 1897; y Pycnodonta Fischer Van Waldheim, 1834.

El género Crassostrea Sacco, 1897 está constituido por ostras con la valva izquierda combada, de forma elongada, la cicatriz muscular más cerca del margen que de la charnela y por lo general teñida fuertemente. (Abbot, 1974).

Presentan amplia cámara promial sobre el lado derecho, sus óvulos son pequeños y numerosos (más de 50 millones) y su larva es planctónica. El intestino no atraviesa el corazón, se encuentra con frecuencia en aguas salobres y cálidas (Ramírez y Sevilla, 1965).

Crassostrea virginica (Gmelin, 1871): su distribución comprende desde el Golfo de San Lorenzo hasta el Golfo de México. Tiene de 2 a 6 pulgadas de largo, varían en tamaño y forma. Los márgenes de las valvas son brevemente ondulados o rectos (Abbot, 1974).





### Biología de los ostiones:

Aparato digestivo. Es característico de organismos filtradores. Las corrientes ciliares que pasan a lo largo de las probóscides de los palpos o de las branquias llevan las partículas finas hasta la boca. En los lamelibranquios la cavidad bucal está reducida, nunca existe una rádula y la boca va directamente a un esófago corto que transporta el alimento hacia el estómago por medio de corrientes ciliares (Ramírez y Sevilla, 1965).

Los lamelibranquios que filtran por medio de las branquias, no ingieren partículas gruesas y tienen un estilo cristalino y placas gástricas reducidas. Las corrientes ciliares arrastran las partículas que entran en las glándulas digestivas y la digestión se completa en las células fagocíticas de éstas (fig. 1).

Cada glándula se abre en el estómago por medio de un poro único, pero generalmente en las especies actuales, los poros están divididos. Las glándulas intestinales además de efectuar la fagocitosis y la digestión intracelular, absorben el alimento digerido, segregan enzimas y colaboran en la excreción (Meglitsch, 1978).

El intestino es largo, presenta una o varias vueltas iniciales, después se curva dorsalmente y finalmente entra en la cavidad pericárdica, generalmente atraviesa el corazón, continúa posteriormente para acabar en un ano, situado cerca de la abertura exhalante. El intestino forma las heces, gracias a la secreción de mucus y la absorción del agua (Meglitsch, 1978).

Sistema circulatorio. Consta de un corazón con ventrículo y aurícula, arterias, venas, lagunas y branquias, en las cuales se verifican los intercambios gaseosos respiratorios. Las branquias son en número de cuatro y se extienden hacia atrás a lo largo del margen ventral, desde la parte posterior de los palpos.

Sin embargo, hay autores que juzgan erróneo denominar estas estructuras como branquias, ya que la consideran como aparatos colectores y filtradores de alimento (Ramírez-Sevilla, 1965).

Las branquias están compuestas de filamentos replegados, pero con filamentos adyacentes conectados por uniones interfilamentosas, a través de las cuales pasan los vasos sanguíneos.

Sistema nervioso. Es bilateral y relativamente sencillo, compuesto por 3 pares de ganglios y 2 pares de cordones nerviosos largos. A cada lado del esófago se encuentra un ganglio cerebropleural unido al lado opuesto por una corta comisura que cruza la parte superior de aquel órgano.

De cada uno de los ganglios nacen dos cordones nerviosos en dirección posterior. El primer par de nervios es superior, saliendo uno de cada ganglio, se extienden directamente hacia atrás a través de las vísceras y terminan en un par de ganglios viscerales muy próximos, situados en la superficie del músculo abductor posterior.

El segundo par de cordones que tienen su origen en los ganglios cerebropleurales, se extienden en dirección posterior y ventral al pie y conectan un par de ganglios pedales.

Los movimientos del pie son controlados por los ganglios cerebrales y pedales; los músculos abductores posteriores y los sifones por los ganglios viscerales, y la coordinación del movimiento del pie y de las valvas por los ganglios cerebrales. (Barnes, 1977).

Aparato reproductor. La mayoría son dioicos, con un par de gónadas que se abren en un par de gonoductos. (Meglitsch, 1978).

Hay una glándula diferenciada superficialmente que se encuentra entre los repliegues intestinales y cuando alcanza la madurez ésta recubre el estómago, hígado y otras vísceras. Los numerosos conductos que presenta esta glándula se unen y abren por medio de dos aberturas, una a cada lado, que descargan los productos sexuales hacia la cámara braquial incubadora exterior, según se trate de especies ovíparas o larvíparas (Ramírez y Sevilla, 1965).

La fecundidad en estos organismos es de las más altas entre los ostreidos ovíparas; las hembras de C. virginica liberan entre 15 y 115 millones de huevos por desove (Burocker, 1985). El tamaño promedio de los huevos es de 45 micra. y es de las medidas más pequeñas en ese grupo (Galtsoff, 1964).

Kennedy (1983) estima que el porcentaje de la población productora de huevos o larvas fluctúa, según la región, entre 50 y 64%. En las poblaciones de latitudes con clima templado, la temporada de reproducción abarca de 2 a 6 meses al año (Galtsoff, 1964); mientras que en las poblaciones de agua tropical, al sur del Golfo de México, se destacaron dos desoves masivos al año, uno corto en primavera (marzo- abril - mayo) y otro más

intenso y prolongado en el otoño (septiembre a diciembre) (Rogers y García-Cubas, 1981). A *C. virginica* se le encuentra a profundidades entre 1 y 15 m, en aguas cuya temperatura fluctúa entre 1° y 36°C y con salinidades entre 5 y 30‰. La temperatura adecuada para el desove varía entre 15° y 32°C (Loosanoff y Davis, 1952).

La mayoría de los moluscos presentan huevos heterolécitos en los que el vitelo es más abundante, se reparte heterogéneamente en forma de plaquetas y tiende a concentrarse en el polo inferior a consecuencia de su densidad. La polaridad del huevo queda claramente marcada por la excentricidad del núcleo, que se sitúa del lado del polo animal y su diámetro es del orden de un milímetro (Houillon, 1978).

Una vez fecundados los huevos, el cigoto se desarrolla en 10-12 hrs al estadio larval trocófora, que es ciliada y con un penacho de cilios en el extremo anterior. Después la larva se alarga, y en la mayor parte de los moluscos se transforma en larva véliger (48 hrs), que nada libremente y se alimenta fundamentalmente del fitoplancton (Neglitsch, 1972), (fig. 2 ).

En las siguientes dos semanas se haya a merced de las corrientes hasta que se encuentra un lugar adecuado

para su implantación, que en esta especie generalmente es otra concha, y se desarrolla, a pediveliger, juvenil, y adulto cerrandose así el ciclo. (Galtsoff, 1964).

#### Filogenia y evolución.

Los moluscos ancestrales que dieron lugar a los grupos que ahora viven, pudieron ser semejantes a un monoplacóforo (Yonge, 1960), a partir del cual se presentaron modificaciones secundarias: los bivalvos tienen ausencia de una cabeza, así como la adopción de una manera de vida pasiva, acompañada de tipos de nutrición filtrante o de materia orgánica proveniente de los sedimentos

Las adaptaciones más evidentes implican la formación de valvas articuladas que involucran su defensa, adherencia al sustrato y eficiencia de nutrición, por lo cual el habitat está fuertemente correlacionado con sus capacidades nutritivas, con la química de las aguas, temperatura, profundidad y movimiento de las mismas. (Newell, 1965).

Los moluscos están incluidos en los esquizocelomados al igual que los artrópodos y anélidos, los cuales

exhiben básicamente modelos de desarrollo muy parecidos.

El mesodermo prolifera típicamente a partir de células teloblásticas derivadas del endodermo y más tarde, el mesodermo se divide en una capa externa a lo largo de la pared del cuerpo y en una capa interna que rodea al tubo digestivo, de esta manera se forma una cavidad esquizocélica.

La larva fundamental es en todos los grupos una trocófora. Este estadio puede ser una larva nadadora y ciliada o bien una fase tardía en el desarrollo del embrión, a menudo otras formas larvales suceden a la trocófora antes que se produzca el adulto.

Los moluscos corresponden a los organismos primitivos desde el punto vista de permanecer insegmentados, mientras que en los anélidos y artrópodos la segmentación del cuerpo se hizo más o menos elaborada. Los moluscos, anélidos y artrópodos se encuentran actualmente entre los grupos más prósperos de todos los organismos vivientes.

La historia de los bivalvos, según el registro fósil indica que la clase Bivalvia aparece en la era Paleozoica, representada por un número considerable de grupos muy probablemente relacionados filogenéticamente. La especie de bivalvo más antigua que se reconoce por los paleontólogos es Lamellodonta simplex, que data del Cámbrico medio

(Walliser, 1976). El florecimiento de los bivalvos se ubica en la era Mesozoica, coincidentemente con la declinación de los braquiópodos, que eran sus competidores ecológicos. En el Triásico se registran los primeros bivalvos unidos a un sustrato por medio de sus valvas (p. ej. Plicatula y Placunopsis). La primera construcción arrecifal se le atribuye precisamente a Placunopsis.

Enatiostreon, del Triásico, es el organismo fósil más primitivo clasificado dentro de la familia Ostreidae, por las características aparentes del desarrollo de su concha (Holder y Schmidt-Effing, 1976).

En el Jurásico, aparecen dos nuevas familias de bivalvos. En este período se registra el florecimiento de los ostiones (Superfamilia Ostrea). Los géneros que prevalecieron entonces (Gryphaea, Exogyra y Lopha) son de poca importancia en el presente (Holder, 1976). Un hecho sorprendente es que la morfología de los ostiones en el Jurásico es muy semejante a la de los ostiones modernos (Simpson y Griffith, 1967).

C. virginica se cree que tuvo su origen posteriormente al aislamiento geográfico de una población ancestral común en las costas del Pacífico y el Atlántico, por efecto de la emersión del puente interamericano causado



por los eventos tectónicos del Mioceno y Plioceno (Stenzel, 1971). Este aislamiento dió lugar a la especie C. corteziensis en el litoral del Pacífico.

El registro fósil de este grupo de organismos permite proponer que C. virginica pudo generar a C. rhizophorae, ya que su patrón de distribución en tiempos prehistóricos (probablemente en el Cretácico) en la costa del este de América fue en forma continua y la especiación sucedió antes de que el hombre realizara actividades de cultivo y con ello removiera las barreras para la transferencia de genes (Stauber, 1950b; Korringa, 1952; y Stenzel, 1971).

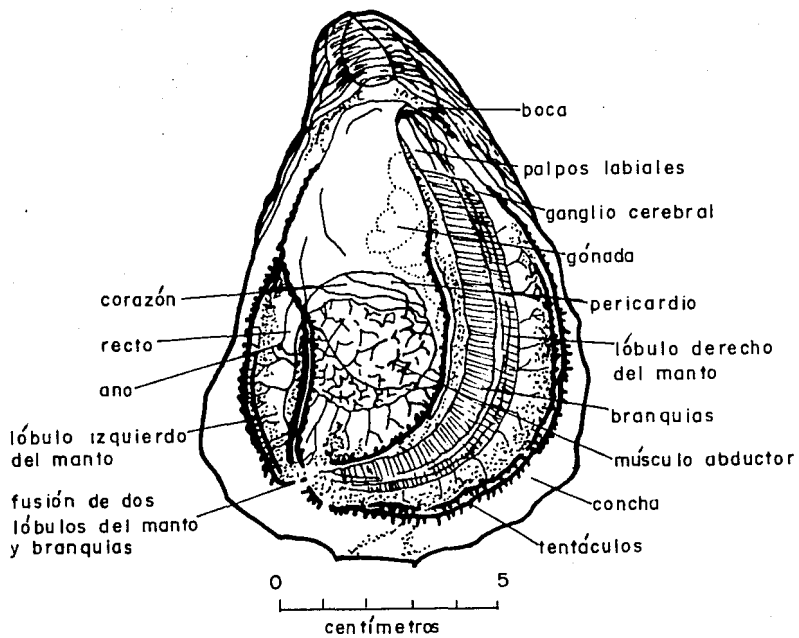


FIGURA 1. CARACTERISTICAS DE LA ANATOMIA  
DE Crassostrea sp (Galtsoff, 1964).

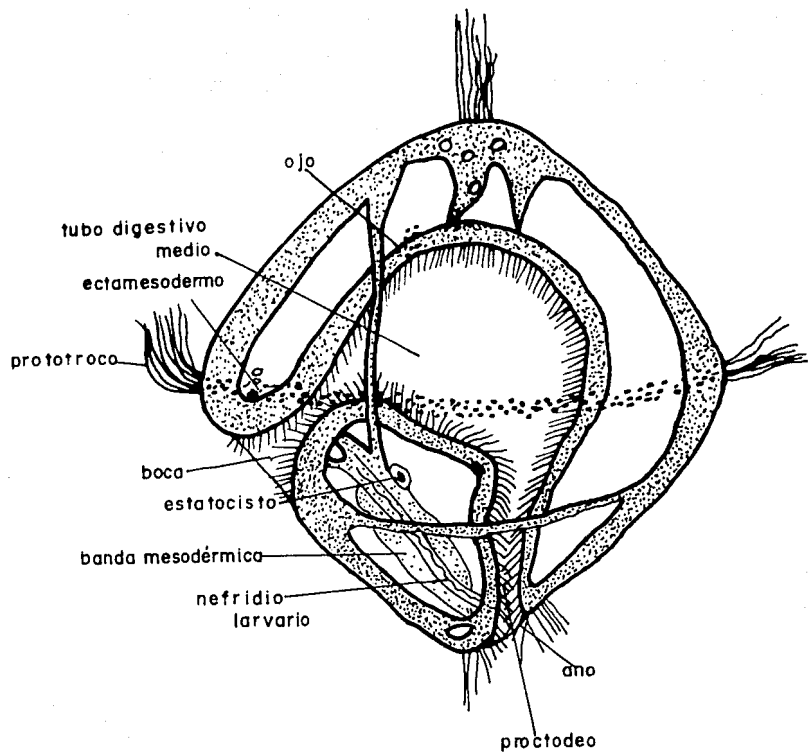


FIGURA 2. LARVA TROCOFORA ( Meglitsch, 1972).

## Ecología:

Las ostras del género Crassostrea spp. en su mayoría son habitantes típicos de los esteros, desembocaduras de los ríos, lagunas costeras y todas aquellas formaciones litorales en que se mezclan las características de las aguas oceánicas con las de los ríos, produciendo las salinidades más adecuadas y por supuesto, donde se encuentre un sustrato duro, limpio y adecuado para la fijación de larvas y adultos.

Esta fusión de aguas es necesaria a fin de lograr cierto grado de salinidad que propicia la formación de bancos ostrícolas de las especies más aprovechadas en México (Ramírez y Sevilla, 1965).

Los factores esenciales que determinan la distribución, prosperidad y abundancia relativa de los bancos de ostras son: temperatura, salinidad, condiciones del fondo, dinámica de las aguas, el pH y la presencia de sustancias contaminantes. (Ramírez y Sevilla, 1965).

En Crassostrea spp. las fluctuaciones climáticas favorecen desplazamientos latitudinales de las distintas formas, dentro de una especie.

Distribución geográfica. Actualmente las especies C. virginica y C. rhizophorae tienen una distribución continental. La especie C. virginica se distribuye a lo largo de la costa este de Norteamérica, desde Nueva Escocia, Golfo de San Lorenzo en Canadá, Florida, Golfo de México hasta las Antillas (Galtsoff, 1964; Stenzel, 1971), que representa una considerable distribución latitudinal de aproximadamente 9 000 Km (Burocker, 1983).

Tan amplia distribución se atribuye principalmente al período larval planctónico relativamente largo (de 14 a 21 días en promedio) que permite recorrer a las larvas hasta 1 300 Km en una corriente oceánica. Esta adaptación hace posible establecer el flujo génico entre poblaciones geográficas en una sola generación, permitiendo niveles altos de variabilidad genética (Grassle, 1972).

C. rhizophorae se encuentra a partir de Golfo de México, Caribe, las Antillas, Brasil y Uruguay (García-Cubas, 1981).

Habitat. C. virginica es habitante de cuerpos de agua protegidos, con preferencia hacia las aguas turbias y salobres de los canales y esteros, es eurihalina.

La especie Crassostrea rhizophorae, se encuentra restringida a la zona de manglar (en las raíces y tallos de mangle) en la subzona intermareal, en aguas de mayor salinidad y más turbiedad que Crassostrea virginica, son epifaunales e hiperhalinas.

Aunque ya se han realizado estudios diversos sobre ostiones, numerosos intentos han fracasado, a causa de la identificación errónea de las especies utilizadas, por ejemplo el trasplante de poblaciones de ostiones introducidas a localidades geográficas diferentes, cuando se ha olvidado ó no se ha logrado identificar a las especies nativas e inclusive no se han integrado los diversos aspectos de su biología ( Rodríguez-Romero et al 1979).

El problema para la clasificación de los bivalvos es históricamente complejo debido a que las características están basadas exclusivamente en las conchas, haciendo énfasis en las estructuras charnelares, impresión o huellas musculares u ornamentaciones con las cuales los paleontólogos y conquiólogos han elaborado sus clasificaciones; los malacólogos además de considerar la concha también toman en cuenta las partes blan-



das para la identificación. Los neotólogos, en cambio, se basan en características morfológicas internas, especialmente branquias, aparato digestivo y más recientemente en sus afinidades genéticas (García-Cubas, 1986).

Para la determinación de características taxonómicas a niveles superiores como los Ordenes y Subclases se toman en cuenta el grado de fusión de los bordes del manto, presencia de 1 ó 2 músculos abductores; forma y función del pie, igualdad o desigualdad de valvas y su ornamentación, detalles de la charnela, cuyas características resultan estables filogenéticamente, así como la microestructura de la concha.

Dentro de las características anatómicas se han tomado como base primaria para la división de los bivalvos a los diferentes tipos de branquias, cilios branquiales, estructura interna del estómago (Purchon, 1959), así como los tres tipos de palpos labiales (Stasek, 1963).

Los caracteres quedan agrupados de la siguiente forma: a nivel de Subclase se utilizan las características de las branquias con los filamentos branquiales no plegados y los filamentos vecinos unidos por cilios o uniones tisulares que modifican la branquia en un tabi -

que que separa la cámara inhalante de la cavidad supra-branquial. A nivel genérico se utiliza la estructura de la concha, morfología, características de los sifones, presencia de paletas, línea palial, tipos de dientes de la charnela, tipo de ligamento, características de las huellas de los músculos abductores. (García-Cubas, 1981).

Es común la confusión que se produce al tratar de identificar un molusco u otro taxón utilizando varias fuentes bibliográficas; es que lo que un autor considera como Subclase otro lo designa como Orden y los problemas a nivel de especie son aún más complejos. Esto demuestra que cada especialista da un valor taxonómico diferente a los caracteres empleados.

#### Genética:

Los estudios más importantes de expresión génica, mediante electroforesis comparada de proteínas y enzimas, que se han realizado en la familia Ostreidae son los de: Numachi (1962), More et al. (1966, 1971a, 1971b), Johnson et al. (1972), Wilkins y Mathers (1973), Fugino y Nagaya (1977), Torigoe (1978), Burocker (1979, 1982, 1983), Hedgecock y Okasaki (1984), Foltz (1986) y De la Rosa-Velez (1986) entre otros; estos reportes dan información sobre la variabilidad genética de las especies.

En diferentes poblaciones de Crassostrea virginica, en términos generales, se encontró una variación genética clinal. En la costa este de Norteamérica, la variabilidad es mayor, y está va disminuyendo hasta encontrar una baja variabilidad en la población de Campeche, México ( De la Rosa-Velez, 1986).

#### Citogenética:

La citogenética centra su atención en el estudio de los cromosomas donde reside el genoma de lo organismos. Al respecto han sido estudiadas 125 especies de bivalvos de 22 Familias recientes, en las cuales se han reportado números cromosómicos, en un intervalo de ( $2n = 14$  a  $48$ ). En 17 especies de Ostreidos:  $2n = 20$ ; en Pterimorpha  $2n = 26$  a  $28$ . En poliplacófora: 14 especies en 4 familias, su número cromosómico es bajo, en un intervalo de  $2n = 12$  a  $26$ , y con mas frecuencia  $2n = 24$ . Los Acantochitonidae presentan variabilidad en su número cromosómico  $2n = 14, 16$  y  $18$  (Nakamura, 1985).

También se ha reportado el número fundamental (FN) de 55 especies de bivalvos que varía ampliamente con un margen de FN = 20 a 76, la morfología cromosomal; en Bival-

vos la mitad del complemento cariotípico es metacéntrico y/o submetacéntrico y en la mayoría de las especies de las Familias Solemidae, Isogmonidae, Ostreidae, Margari tiferidae, Unionidae y Veneridae; mientras que en Pecti nidae y Teredinidae los cromosomas son telocéntricos y/o subtlocéntricos. En poliplacóforos sólo se conoce la morfología cromosomal de 6 especies. Así, en Acanto chitonidae varios tienen telocéntricos o subtlocéntri cos, pero la mayoría son metacéntricos y submetacéntri cos. La longitud total de los cromosomas diploides en metafase de los bivalvos cae en un intervalo de 0.5 a 10  $\mu\text{m}$ , la mayoría registran entre 1.0 a 4.0  $\mu\text{m}$  para las 20 especies reportadas; en la Familia Mytilidae 14 especies con un intervalo de 37.42 a 110.20  $\mu\text{m}$  con una media de 84.80  $\mu\text{m}$  y en Polyplacophorae solo en una especie (Nakamura, 1985).

Las ostras del género Crassostrea spp presentan un número bajo de cromosomas  $2n = 20$ , su número fundamen tal es  $FN = 40$ , son birrameados; por su morfología son metacéntricos y submetacéntricos, carecen de cromosomas sexuales, y el comportamiento en meiosis de algunas espe cies ha sido estudiado por Kobayashi (1954), Ahmed y Sparks (1970), Longwell y Stiles (1970), Nadamitsu y Shinkawa (1973), Ieyama & Inaba (1974), Ieyama (1975), Rodríguez-Romero et al. (1978, 1979 a,b,c), Thiriot-

Quiévreux y Aryraud (1982), Thiriou-Quévreux (1984).

Los avances en el campo de la citogenética han conducido al desarrollo de numerosas técnicas que permiten un análisis crítico de la morfología interna de los cromosomas.

Recientemente estas técnicas han sido adoptadas para los moluscos, en Crassostrea virginica se han realizado métodos de bandeado "G" por Rodríguez-Romero et al. (1979d).

Mientras que Dixon y Clarke (1982) han aplicado el método de intercambio de cromátidas hermanas para detectar el daño causado por la exposición a mutágenos en los cromosomas de Mytilus edulis.

En la República Mexicana, sólo se conocen los estudios citogenéticos realizados por Rodríguez-Romero et al. (1978, 1979a, 1979b, 1979c y 1979d) en ostiones del género Crassostrea.

Crassostrea virginica y Crassostrea rhizophorae han suscitado problemas biológicos y comerciales, porque se toman como especies diferentes, pero citoge-

neticamente se ha propuesto que son de la misma especie (Rodríguez-Romero et al. 1978, 1979). En los estudios de electroforesis, se plantea que Crassostrea virginica y C. rhizophorae pueden ser especies diferentes (Burocker, 1975, 1981, 1983).

Una prueba contundente para aclarar el problema es la fertilización cruzada de estos grupos, para la obtención del híbrido, cuya capacidad reproductiva demuestre la presencia o ausencia de especies diferentes.

## DESCRIPCION DE LAS AREAS DE RECOLECTA.

La Laguna de Términos está ubicada al suroeste del Golfo de México, entre los meridianos  $91^{\circ} 15'$  y  $92^{\circ} 00'$  longitud oeste y los paralelos  $18^{\circ} 25'$  y  $19^{\circ} 00'$  latitud norte, en el estado de Campeche (Fig. 3).

En su fisiología sobresalen principalmente los ríos: Palizada en el suroeste, el Chumpán en el sur y el Candelaria en el suroeste.

La Isla del Carmen en el norte, constituye una barrera natural arenosa calcárea que separa el agua del Golfo de México con la de la laguna. Su longitud es de aproximadamente 40 Km de largo y 8 Km de ancho, tiene dos bocas: que comunican a la laguna con el mar, la Boca de Puerto Real, en el oriente, constituye un flujo de entrada de aguas marinas transparentes y la Boca del Carmen, en el occidente es afectada por las aguas del Río Palizada, por ella se descarga el flujo marino y el agua es turbia por llevar sedimentos en suspensión. Ambas bocas se mantienen permanentemente abiertas (Mancilla y Vargas, 1980).

La Laguna de Términos es una laguna somera, su profundidad promedio es de 3.5 m, que se incrementa de la orilla al centro donde es de 4 m. La superficie aproximada de la cuenca principal es de  $1\ 700\ \text{Km}^2$ , pero incluyendo

pantanos y sistemas fluvio-lagunares asociados el área es de aproximadamente 2500 km<sup>2</sup> y su longitud es de 60 Km y 28 Km de ancho como máximo. (Phleger y Ayala Castañares, 1971; García Cubas, 1981).

En general, el agua es salobre, tendiendo a ser marina en el principal sector nororiental del área. En la boca oriental es completamente marina y en la boca occidental fundamentalmente salobre. Las desembocaduras de ríos son salobres hasta casi dulce-acuícolas. La salinidad varía en cuanto a la estacionalidad.

El clima es de tipo cálido húmedo. Con una temperatura máxima de 36° y una mínima de 17° C. (García-Cubas, 1981).

Los vientos tienen una dirección dominante NE y SE, sin embargo, frecuentemente se presentan vientos fuertes acompañados de lluvias, llamados "nortes", durante el otoño e invierno (Yáñez-Arancibia y Day, 1981).

La precipitación pluvial promedio es de 1980 mm, alcanzando valores de 1200 y 2000 mm; los meses de mayor precipitación son de junio a noviembre (Yáñez Arancibia y Day, 1981).



Hay dos fuentes de sedimentos de la laguna, el aporte de sedimento fluvial y los sedimentos calcáreos de la zona este. Los sedimentos calcáreos predominan en Puerto Real y a lo largo de la isla del Carmen, en la parte interior. La zona de depositación de detritus terrígeno aportados por los ríos y sus tributarios predominan en el sur y oeste (Phleger y Ayala Castañares, 1971).

La marea es de tipo mixto-diurna (Grivel-Piña y Arce, 1975) con una amplitud promedio de 0.4 m, la onda de marea penetra por ambas bocas (Mancilla y Vargas, 1980).

La dirección del flujo neto es hacia el suroeste, causada por los vientos dominantes del noreste, la corriente litoral y el aporte de los ríos conforme a este patrón de circulación, y se presenta un gradiente de salinidad, turbiedad y nivel de nutrientes (Lara Domínguez et al, 1981).

La vegetación que rodea a la laguna está constituida principalmente por palmas y manglar; sobresalen por su abundancia Avicenia germinans, Rhizophora mangle y Laguncularia racemosa; respecto a la vegetación acuática, las praderas de Thalassia testudium predominan sobre otros pastos marinos como Syringodium sp. y Halodule sp. (Day et al, 1982).

## ESTERO PARGO

Está situado en la porción suroeste de la Isla del Carmen, con una orientación oblícua en sentido NE-SO.

Tiene una área de 52 hectáreas, está directamente comunicado con la laguna de Términos mediante una boca angosta de aproximadamente 25 m de ancho, es de forma alargada proyectándose dentro de la isla del Carmen en una dirección noreste; tiene una longitud aproximada de 5,300 m y un ancho variable que va desde 14 m en la parte media hasta 251 m en el extremo interior del mismo. La profundidad promedio es de 2 m ( Day et al, 1982).

Los aportes de agua dulce al estero ocurren únicamente durante épocas de lluvia.

## BOCA DE ATASTA

Como se mencionó anteriormente, existen sistemas fluvio-lagunares anexos al cuerpo de agua principal de la laguna de Términos.

El sistema Pom-Atasta es uno de ellos, se localiza en la parte occidental de la Laguna de Términos y a él desembocan afluentes de los ríos San Pedro, San Pablo y Palizada, generando una serie de lagunas interiores sucesivas e interconectadas entre sí, denominadas Pom, Atasta,

Puerto Rico, Los Negros y Lodazal, que desembocan a la parte sur occidental de la laguna a través de la llamada Boca de Atasta (fig. 4 ).

Su fondo es poco elevado y caracterizado por un sustrato limo arcilloso (Yañez-Correa, 1963).

La variación anual de temperatura y salinidad son de 22°C a 34°C y de 0 a 34 ‰ respectivamente (Rogers y García-Cubas, 1981).

**FIGURA 3 . LOCALIZACION DE LA LAGUNA DE TERMINOS,  
CAMPECHE Y AREAS DE RECOLECTA.**

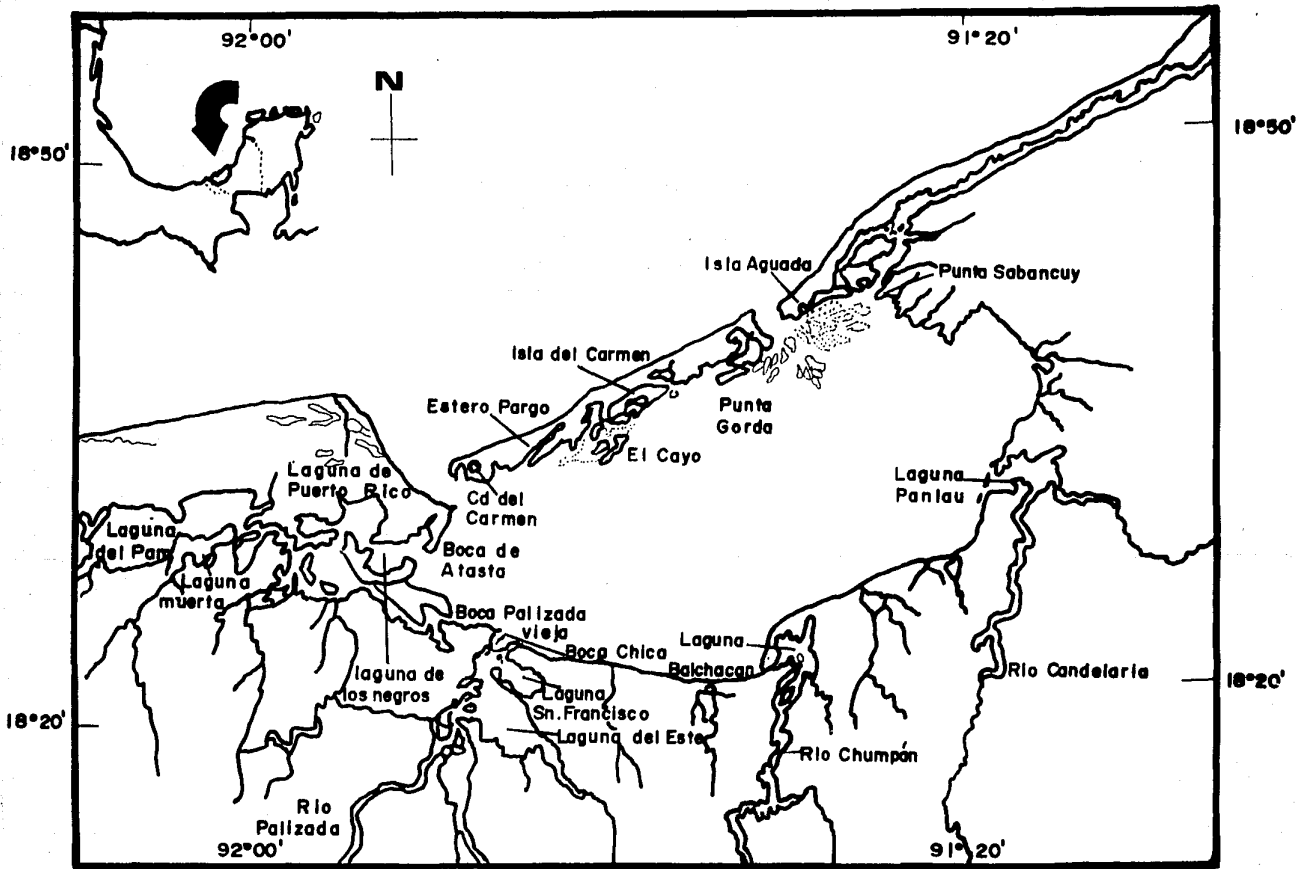
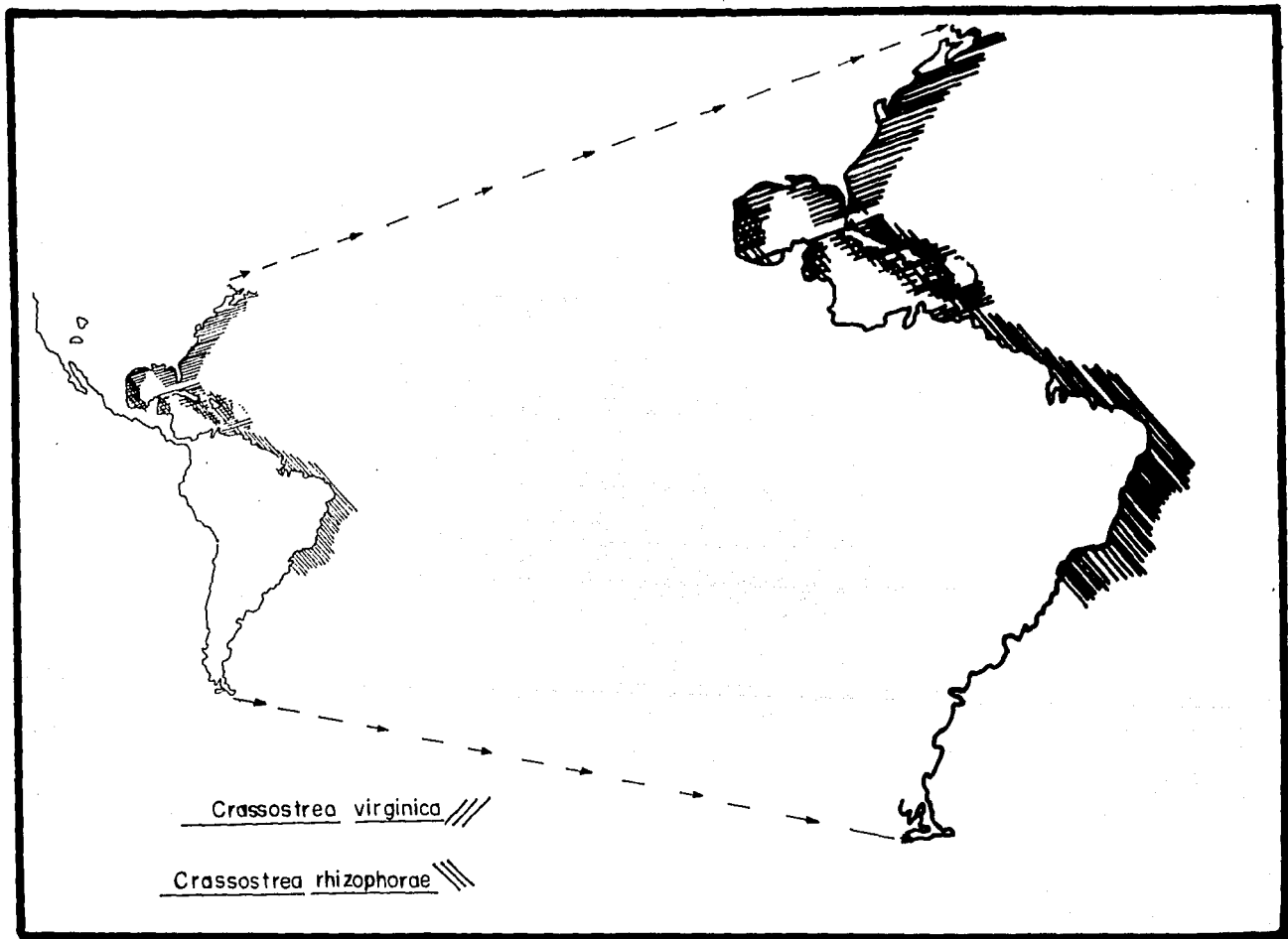


FIGURA 4 . DISTRIBUCION CONTINENTAL DE  
Crassostrea virginica y C. rhizophorae.



## OBJETIVOS

- Contribuir a la resolución de problemas taxonómicos de las especies *C. virginica* y *C. rhizophorae* de las costas de Campeche, México, por medio de evaluación citogenética exhaustiva.
- Obtener el híbrido experimental interespecífico en condiciones de laboratorio.
- Realizar un estudio profundo del comportamiento de los cromosomas de los progenitores y del híbrido, mediante técnicas de bandeado "G", "C" y "Nor", a fin de aclarar las diferencias y similitudes de estas entidades taxonómicas a través del estudio de la morfología fina de sus cromosomas.
- Determinar el criterio citogenético que define la identidad de estas especies.



## MATERIAL Y METODOS

## TRABAJO DE CAMPO:

Se realizaron las recolectas de ostiones durante julio de 1986 a noviembre de 1987. Las especies Crassostrea rhizophorae y C. virginica fueron recolectadas respectivamente en el "Estero Pargo" y "La Boca de Atasta" de la laguna de Términos, Campeche; ambas se encuentran formando conglomerados, y en el caso de C. rhizophorae se localiza adherida al mangle.

Se seleccionaron organismos con un tamaño no menor a los 6 cm, adultos y sexualmente maduros. Durante las colectas se midieron los parámetros de temperatura del agua de la superficie y del fondo y la salinidad. (tablas 1 y 2 ). Una vez colectados los organismos, fueron transportados al laboratorio de la Estación El Carmen del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, en Ciudad del Carmen, Campeche; en donde se procedió a lavar cada uno de los ostiones y se retiraron todos los organismos epibiontes que se encuentran sobre la concha tales como algas y balanos.

Posteriormente fueron colocados en acuarios con agua de mar a la salinidad y temperatura apropiados para cada especie, atendiendo a los parámetros tomados durante las colectas y los registrados en el área por otros

autores, así como oxigenados adecuadamente.

#### TRABAJO DE LABORATORIO:

##### a) Reconocimiento citológico

Se realizaron disecciones de ostiones para la determinación del sexo, esto implicó el reconocimiento anatómico, así como la localización del tejido gonádico para visualizar diferencias citológicas, tomando muestras pequeñas para observarlas al microscopio y se estableció como criterio para la selección de organismos con la presencia de óvulos y espermatozoides maduros, aptos para el ensayo de las fecundaciones "in vitro".

##### b) Producción de larvas: intraespecíficas e interespecíficas

Una vez determinado el sexo de los organismos, se disectaron las gónadas de las hembras y se colocaron en cajas de petri con agua de mar filtrada y con una mezcla acuosa de penicilina-estreptomicina a diferentes concentraciones (tablas 3,4, y 5 ) y a la salinidad requerida para cada especie. Se disgregaron los óvulos de cada gónada, se les añadió una solución de hidróxido de amonio 0.1 N a razón de 3ml/100 ml de suspensión de óvulos durante 5-10 min. Posteriormente se tamizaron usando una malla de 54  $\mu$  y se lavaron con agua de mar con antibiótico.

Las gónadas de los machos procesados también se colocaron en cajas de petri con agua de mar con antibiótico a la salinidad adecuada para cada especie, se disgregaron, tamizaron y lavaron.

Posteriormentese realizó la fecundación in vitro añadiendo a los óvulos, los espermatozoides en las concentraciones indicadas en las tablas 3, 4 y 5 . Se tomaron muestras a diferentes tiempos para observarlas al microscopio (10X y 40X) hasta que se alcanzó el estado de mórula - gástrula (5 hrs aprox.).

### c) Procesamiento citogenético

#### i. Procesamiento citogenético de larvas

La suspensión de mórulas se centrifugó a 1000 rpm durante 10 min., para centralas. Se añadió 1 ml de colchicina (Sigma Chemical) 0.04% p/v y 10 ml de citrato de sodio al 2.2% s razón de 1:10 por 1 hr. Se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos.

Y se sometieron a choque hipotónico con 5 ml de citrato de sodio 1% durante 30 min, se hicieron tres cambios de fijador alternados por centrifugaciones a 1000 rpm durante 3 min; después del tercer cambio de fijador se guardaron en el refrigerador a -4 °C durante 12 horas.

Posteriormente, los tubos se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 min, se decantó el fijador y se añadieron 5 ml de ácido acético al 50% durante 7 min a 37°C. Se agitó por suspensión para disgregar los tejidos y liberar las células en división. Se centrifugó a 1000 rpm durante 5 min, se decantó y agregó nuevamente fijador, y se realizó la resuspensión y el goteo.

ii. Procesamiento citogenético de adultos

Se disectaron las gónadas de las hembras y se colocaron en 10 ml de citrato de sodio 2.2% y 1 ml de colchicina 0.04% p/v durante 2 horas. Después se extrajeron los óvulos y se retiró el tejido restante. La solución de óvulos de cada gónada se vertió en diferentes tubos, para centrifugarlos a 1000 rpm durante 5 min; se decantó el sobrenadante. Se añadieron 5ml de citrato de sodio 1% y se dejaron reposar 30 min.

A continuación se centrifugaron a 1000 rpm durante 3 min, 3 veces, alternadas por 3 cambios de fijador (metanol y ác. acético) y con el tercer cambio de fijador se conservaron a -4°C durante 12 horas.

iii. Obtención de campos cromosómicos

La elaboración de laminillas de cromosomas de larvas y de adultos se realizó por el método de "Goteo y secado al aire" modificado por Rodríguez-Romero et al. (1978).

Se usaron portaobjetos nuevos, previamente sumergidos en alcohol al 70% y almacenados a -4 °C, secados y colocados horizontalmente sobre una superficie.

La solución de óvulos en el caso de adultos y la de mórulas-gástrulas, en el caso de larvas, se resuspendió con una pipeta Pauster y se tomaron unas gotas, que se dejaron caer sobre cada portaobjeto, a una distancia de 40 cm, las laminillas se dejaron secar al aire.

#### d) Coloraciones

Una vez obtenidas las laminillas con cromosomas de Crassostrea virginica, C. rhizophorae y del híbrido, se efectuaron las coloraciones, que a continuación se describen:

##### I. Giemsa normal pH 6.8

Buffer fosfatos pH 6.8 . . . . .	75 ml
Giemsa solución stock . . . . .	3 ml

Se tiñeron las laminillas durante 45 minutos aproximadamente, después se enjuagaron abundantemente cada una de las laminillas durante 1 min y se dejaron secar.

II. Bandas G: Tripsina-Giemsa (W. Roy Breg J.R. modificada ).

Las laminillas se incubaron a 60°C toda la noche (16 a 18 hrs). Posteriormente se incubaron en buffer Sörensen 0.025 M pH 6.8 a 56°C en baño maría por 10 min y se dejaron secar.

Se preparó la solución colorante como se describe a continuación:

Buffer Fosfatos pH 6.8 - - - - 100 ml  
 Tripsina - - - - - - - - - - -0.035 g  
 Giemsa solución stock - - - - 10.5 ml

Las laminillas se tiñeron con esta solución por 10 min, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar.

III. Bandas C: Hidróxido de Bario. (R. Tantravahi modificada)

Cada una de las laminillas se enjuagaron abundantemente en etanol al 95% y se dejaron secar. Se sumergieron 6 veces en NaCl 0.9% y se dejaron secar.

Después se introdujeron en una solución de hidróxido de bario saturada y filtrada previamente por 6 min y sin dejar secar; se sumergieron 3 veces en alcohol etílico 70% y se dejaron secar. Se sumergieron en un segundo recipiente con NaCl 0.9% también 3 veces.

A continuación se incubaron en una solución 2X SSC a 60 °C por 4 horas, se enjuagaron durante 1 minuto con agua destilada y se dejaron secar. Por último se tiñeron con Giemsa R66 preparado en buffer fosfato-citrato pH 6.8 por 5 min, se enjuagaron y se dejaron secar al aire a temperatura ambiente.

#### IV. Bandas NOR: Tinción Argéntica (R.Tantravahi)

Soluciones preparadas:

- A. Nitrato de plata 50% p/v en agua destilada
- B. 3 ml de formol añadidos a 97 ml de agua destilada. Ajustada a pH 7 con acetato de sodio cristalizado. Después ajustada a pH 4.5 con ácido fórmico.
- C. Disolver 4.5 g de nitrato de plata en 5 ml de hidróxido de amonio concentrado; la solución se aclaró con 7.5 ml de agua destilada.

Se pusieron 5 gotas de solución A en un portaobjetos, se colocaron sobre una toalla húmeda. Se expusieron bajo una lámpara de 150 W a una distancia de 10 a 20 cm aprox. que proporciona una temperatura de 55°C durante 10 min.

Luego se colocaron 3 gotas de la solución B y 2 gotas de la solución C sobre el cubreobjetos, y se cubrieron los portaobjetos; vigilándolos bajo el microscopio a 10X, hasta que las células se tornaron café dorado y oro, aproximadamente 45 segundos.

Se enjuagaron brevemente con detenedor preparado con ácido acético 1/15. Por último, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar.

Se revisaron las laminillas para la selección de campos cromosómicos bandeados de las diferentes técnicas, con un microscopio Zeiss con objetivos planoacromáticos con cámara integrada.

Se fotografiaron y amplificaron los mejores campos mitóticos y meióticos seleccionados, utilizando película Ilford Pan F 135, ASA 50 y Technical Pan ASA 100 , y papel fotográfico Kodabromide H3 y Polycontrast Rapid II.

Análisis de los cromosomas: el siguiente paso fue recortar cada uno de los diferentes campos cromosómicos, se marcaron las fotografías de los cromosomas con una corona de reloj cuyas estrías espaciadas repre-



sentan una separación de 0.5 mm de longitud, a fin de medir los cromosomas y reacomodarlos.

Los cariotipos utilizados se prepararon siguiendo la metodología propuesta por Al-Aish (1969). Los cromosomas se ordenaron en tamaño decreciente y por pares homólogos. Así mismo 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 (p) al del brazo corto (q), (p + q) y se determinaron los parámetros correspondientes a la longitud relativa (RL), índice centromérico (IC), relación de brazos (AR) y diferencia (D), según las fórmulas:

$$RL = \text{Longitud relativa} = \frac{\text{Longitud total}}{\text{Suma de las longitudes totales}} \times 1000$$

$$IC = \text{Índice centromérico} = \frac{p}{\text{Longitud total}} \times 1000$$

$$AR = \text{Relación de brazos} = \frac{P}{Q}$$

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

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

#### Bandas cromosómicas:

Los cromosomas fueron ordenados por pares homólogos y según sus afinidades en los patrones de bandas individuales. Estos patrones fueron interpretados calculando los valores promedio de cada uno de los segmentos de cada par cromosómico de homólogos. Se elaboraron los ideogramas con los patrones de bandas respectivos.

	14 al 26 julio 1986	16 Nov al 3 Dic 1986	6 al 29 de Mayo 1987	Nov 1987	TOTAL
Número de colecta	1	2      3	4      5	6	6
Temperatura C° Agua	30	28.8      s/r	s/r      s/r	s/r	
Ambiente	35				
Salinidad S %	18	15.42      s/r	s/r      s/r	s/r	
Número de org. colectados	100	100	100	100	400
Hembras procesadas	5	27	12	39	83
Machos procesados	2	16	23	13	54
Indiferenciados procesados		1	1	4	6
TOTAL ORGANISMOS PROCESADOS	7	44	36	56	143

Tabla núm 1 Recolectas de C. virginica de la Boca de Atasta.  
s/r = sin registro.

	14 al 26 julio 1986		16 Nov al 3 Dic 1986				6 al 29 Mayo 1987		Nov 1987	TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Número de colecta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	9
Temperatura C Agua Ambiente	34	s/r	s/r	28.7	s/r	25.4	s/r	30.33	s/r	
Salinidad S ‰	32	s/r	s/r	20.9	s/r	23.9	s/r	32	s/r	
Número de organismos colectados	90			94			100		100	384
Hembras procesadas	21			13			27		11	72
Machos procesados	16			20			11		18	65
Indiferenciados procesados				4			3		2	9
TOTAL ORGANISMOS PROCESADOS	37			37			41		31	146

Tabla núm 2 Recolectas de *C. rhizophorae* del Estero Pargo.  
s/r = sin registro.

FECHA	ESPECIE	TEMPERATURA °C CONDICIONES EXPERIMENTALES	SALINIDAD S ‰	HIDROXIDO AMONIO 0.1N 3ml/10ml sol. ovulos	CANTIDAD OVULOS	CANTIDAD ESPERMA	ANTIBIOTICO 250 mg/ L Agua de mar
23 Jul 1986	C. <u>r.</u>	23 - 24	25	5 minutos	1.75 X 10 <sup>4</sup>	s/r	Ampicilina
25 Jul 1986	C. <u>r.</u>	23	25	6 minutos	2.4 X 10 <sup>4</sup>	s/r	Ampicilina
26 Jul 1986	C. <u>r.</u>	24 - 29	25	5 minutos	1.75 X 10 <sup>4</sup>	s/r	Ampicilina
24 Nov 1986	C. <u>r.</u>	28	25	5 minutos	10 ml	3 ml	Estreptomici- na
11 Mayo 1987	C. <u>r.</u>	30 - 31	20	-	150 ml	25 ml	Estreptomici- na. 0.3 mg/ 1 lt.
21 Mayo 1987	C. <u>v.</u>	30	20	5 minutos	50 ml	15 ml	Estreptomici- na.

Tabla núm. 3 Parámetros de las Fecundaciones "In vitro" .  
 C. r. = Crassostrea rhizophorae. s/r = sin registro.  
 C. v. = Crassostrea virginica.

FECHA	TEMPERATURA °C CONDICIONES EXPERIMENTALES	SALINIDAD S ‰	HIDROXIDO DE AMONIO 0.1N 3ml/10ml sol. óvulos	CANTIDAD OVULOS	CANTIDAD ESPERMA	ANTIBIOTICO mg/1l Agua de mar
21 Nov 1986	25	s/r	-	30 ml	20 ml	Estreptomicina
11 Nov 1987	25	21.4	7 minutos	50 ml	15 ml	Estreptomici- na + Penici- lina G 3mg+3mg/1l
12 Nov 1987	25	21.4	5 minutos	50 ml	9 ml	" "
13 Nov 1987	25	21.4	5 minutos	50 ml	-	" "

Tabla núm. 5 . Parámetros de las hibridaciones de óvulos de  
C. virginica v.s. esperma de C. rhizophorae.

FECHA	TEMPERATURA °C CONDICIONES EXPERIMENTALES	SALINIDAD S ‰	HIDROXIDO DE AMONIO 0.1N  3ml/10 ml sol. ovulos	CANTIDAD OVULOS	CANTIDAD ESPERMA	ANTIBIOTICO mg/11 Agua de mar
11 Mayo 1987	30 - 31	20	—	150 ml	25 ml	Estreptomici- na 0.3mg/11
11 Nov 1987	25	21.4	5 minutos	50 ml	15 ml	Estreptomici- na + Penici- lina G 3 mg + 3mg/11
12 Nov 1987	25	21.4	10 minutos	50 ml	7 ml	" "
13 Nov 1987	25	21.4	10 minutos	50 ml	s/r	" "

Tabla núm 4 . Parámetros de las hibridaciones de óvulos de  
C. rhizophorae v.s. esperma de C. virginica.

## RESULTADOS

### ANALISIS DEL CARIOTIPO NORMAL

En Crassostrea virginica el análisis de los cromosomas de células en metafase corroboró que el número diploide para la población del banco ostrícola de la "Boca de Atasta", de la Laguna de Términos, Campeche es  $2n=20$ , como en el caso de otras poblaciones de la misma especie en diferentes áreas geográficas a lo largo de la costa atlántica de Norteamérica publicados con anterioridad (Longwelly Stiles, 1967, Rodríguez-Romero et al. 1978, 1979).

De igual manera, los cromosomas se presentan en pares homólogos y su clasificación es igual a la propuesta por Rodríguez-Romero et al. (1978) para esta especie. (Tabla 6) (Lám. 1).

En Crassostrea rhizophorae el análisis de los cromosomas del cariotipo normal determinó que el número diploide es igual a 20 cromosomas como el reportado por Rodríguez-Romero et al. (1978) para esta especie. Coincide, además, la homología de pares y la clasificación de los cromosomas. (Tabla 7) (Lám. 2).

### DESCRIPCION DEL CARIOTIPO NORMAL DEL HIBRIDO

Al analizar los cromosomas de células en metafase de la mitosis se logró determinar el número haploide en el cariotipo del híbrido.



Este número es de 20 cromosomas ( $2n$ ) son birrameados, forman pares homólogos y se clasifican como metacéntricos los pares 1, 3, 5, 6, 8 y 10; los pares 2, 4, 7 y 9 son submetacéntricos (Tabla 8 y Fig 5) (Lám. 3).

Se compararon en forma gráfica los valores tabulados de los índices centroméricos de *C. virginica*, *C. rhizophorae*, y los del híbrido, observándose que los valores de este último se ubican en una porción intermedia entre los valores de los progenitores (tabla 9 y fig. 6).

La clasificación formal de los cromosomas que integran el cariotipo del híbrido coincide con la clasificación existente para el cariotipo de la especie *Crassostrea virginica*.

Tabla 6 . Valores relativos para la identificación de los cromosomas de Crassostrea virginica de la Boca de Atasta de la "Laguna de Términos", Campeche.

Cromosoma	P	Q	Longitud				Clasificación
			Total	RL	CI	AR	
1	17.63	19.51	37.14	157.90	47.46	1.10	m
2	11.18	21.63	32.82	139.53	34.06	1.93	sm
3	13.80	15.58	29.38	124.90	46.97	1.12	m
4	9.00	16.92	25.92	110.19	34.72	1.88	sm
5	10.48	13.29	23.77	101.05	44.08	1.26	m
6	10.30	11.46	21.76	92.39	47.33	1.11	m
7	7.20	12.51	19.71	83.79	36.35	1.73	sm
8	7.80	9.74	17.54	74.57	44.39	1.24	m
9	4.89	9.54	14.43	61.34	33.79	1.95	sm
10	6.02	6.72	12.74	54.16	47.12	1.11	m
			235.21	999.82			

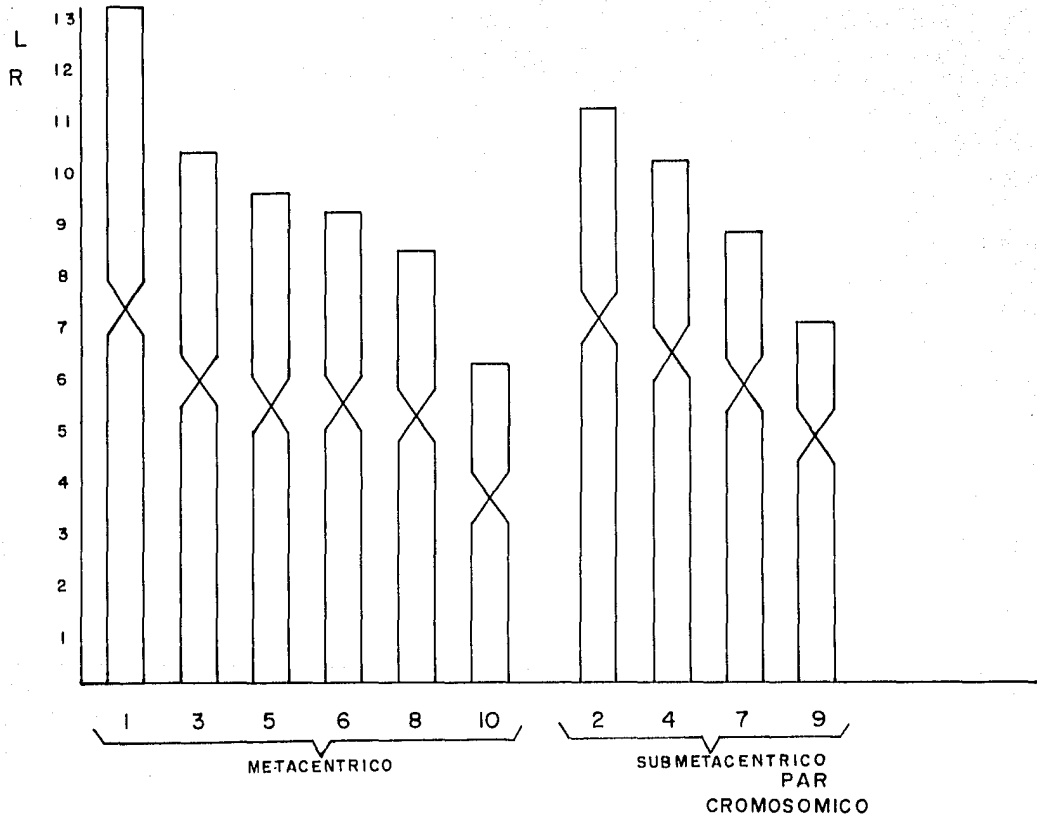
Tabla 7. Valores relativos para la identificación de los cromosomas de Crassostrea rhizophorae del Estero Pargo de la "Laguna de Términos", Campeche.

Cromosoma	P	Q	Longitud				Clasificación
			Total	RL	CI	AR	
1	12.26	15.14	27.40	156.34	44.74	1.23	m
2	8.40	15.74	24.14	137.74	34.79	1.87	sm
3	9.41	11.63	21.04	120.05	44.72	1.23	m
4	6.62	12.62	19.24	109.78	34.40	1.90	sm
5	7.72	9.85	17.57	100.25	43.39	1.27	m
6	5.72	10.87	16.59	94.66	34.47	1.90	sm
7	4.86	9.41	14.27	81.42	34.05	1.93	sm
8	5.76	7.53	13.29	75.83	43.34	1.30	m
9	3.62	8.37	11.99	68.41	30.19	2.30	sm
10	4.46	5.26	9.72	55.46	45.88	1.17	m
			175.25	999.94			

Tabla 8 . Valores relativos para la identificación de los cromosomas del híbrido de *C. virginica* vs *C. rhizophorae*.

Cromosoma	P	Q	Longitud				Clasificación
			Total	RL	CI	AR	
1	5.77	7.35	13.12	140.03	43.97	1.27	m
2	3.91	7.25	11.16	119.11	35.03	1.85	sm
3	4.41	5.93	10.34	110.36	42.64	1.34	m
4	3.68	6.45	10.13	108.12	36.32	1.75	sm
5	4.12	5.37	9.50	101.39	43.42	1.30	m
6	3.79	5.37	9.16	97.76	41.37	1.41	m
7	2.91	5.83	8.74	93.28	32.29	2.00	sm
8	3.21	5.18	8.39	89.55	38.25	1.61	m
9	2.22	4.79	7.01	74.82	31.66	2.15	sm
10	2.58	3.56	6.14	65.53	42.01	1.37	m
			93.69	999.95			

FIGURA 5 . IDEOGRAMA NORMAL DEL HIBRIDO INTERESPECIFICO  
DE Crassostrea virginica y C. rhizophorae.



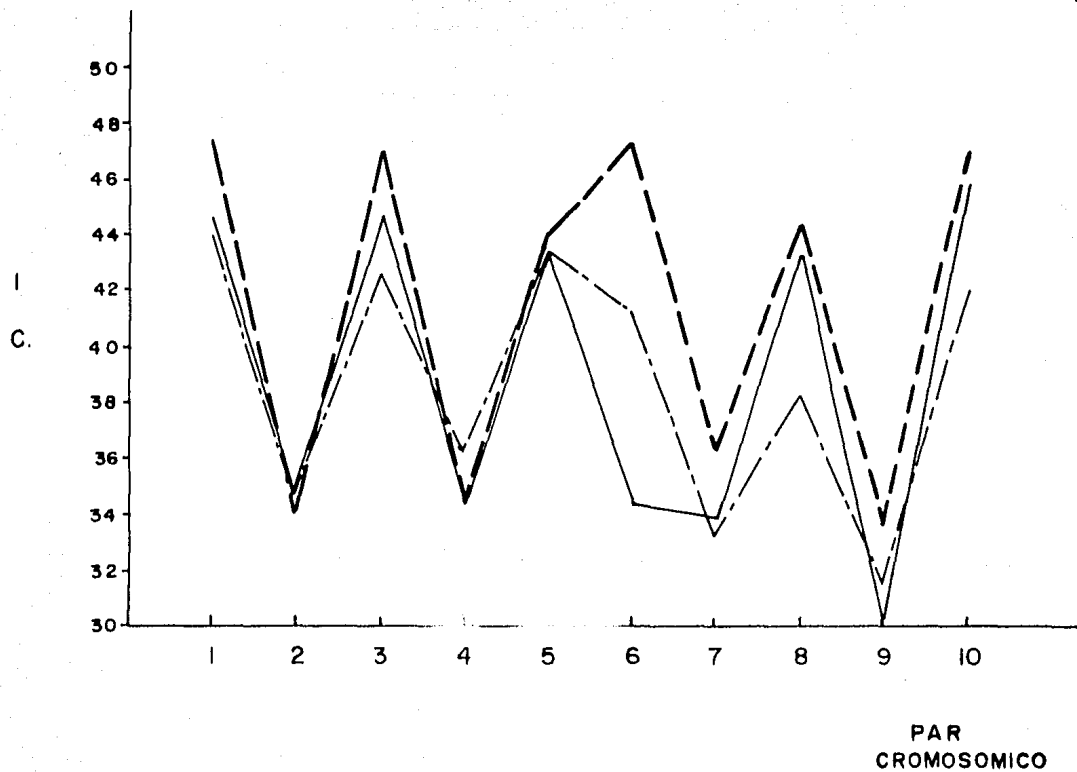
Par cromosómico	Indice	Centromérico	
	C. <u>virginica</u>	C. <u>rhizophorae</u>	híbrido
1	47.46	44.74	43.97
2	34.06	34.79	35.03
3	46.97	44.72	42.64
4	34.72	34.40	36.32
5	44.08	43.39	43.42
6	47.33	34.47	41.37
7	36.35	34.05	33.29
8	44.39	43.34	38.25
9	33.79	30.19	31.66
10	47.12	45.88	42.01

TABLA. 9 CUADRO COMPARATIVO DE INDICES CENTROMERICOS.

FIGURA 6 . GRAFICA COMPARATIVA DEL INDICE CENTROMERICO  
DE Crassostrea virginica, C. rhizophorae y  
su híbrido.



--- C. virginica  
— C. rhizophorae  
- - - híbrido



## PATRONES DE BANDAS.

### Bandas G.

Los patrones de bandas "G" determinados en los progenitores y el híbrido, presentan una diversidad de bandas a lo largo de los cromosomas que constituyen los cariotipos, con un número de bandas característico para cada especie y el híbrido; para Crassostrea virginica se definen un total de 82 bandas; en Crassostrea rhizophorae 67 bandas y en el híbrido un total de 70 bandas.

La distribución de las bandas en cada una de las especies y en el híbrido es la siguiente:

#### Crassostrea virginica (Lám. 4).

La tabla número 10 , resume el número de bandas G encontradas en el cariotipo. La figura 7 , representa el ideograma así como los patrones de bandas cuya descripción se hace a continuación.

#### Par cromosómico I:

Este par corresponde al de mayor tamaño representado en el cariotipo, son cromosomas metacéntricos. Presenta 13 bandas, 6 oscuras, 5 grises y 2 bandas claras o espacios intracromosómicos no teñidos.

La primera banda es oscura, está localizada en la porción telomérica de los brazos superiores y ocupa aproximadamente el 12.30% de la longitud total promedio del primer par; enseguida se encuentran una banda gris de un tamaño aproximado a 7.36%, una banda oscura con un tamaño de 7.80 %, una banda gris de un tamaño de 8.82 % y una banda oscura de 7.66 %.

A continuación está una banda gris que se extiende hasta aproximadamente la mitad de la región centromérica, la otra mitad está ocupada por una banda oscura que se extiende hasta el telómero inferior, los tamaños de esas bandas son 7.36 % y 8.38 % respectivamente.

En el brazo inferior se encuentra una banda clara de 7.94 %, una banda gris de 8.10 %, una banda oscura de 9.26%, una banda gris de 6.37 %, una banda clara de 3.75 % y la última banda oscura de 4.81 % aproximadamente.

Par cromosómico 2:

Este par es submetacéntrico. Presenta 10 bandas; 5 oscuras y 5 grises.

En los brazos superiores se localiza una banda oscura de un tamaño aproximado de 12.95 %, la siguiente es una banda gris con tamaño de 9.43 % y una banda oscura de de 7.60 %.

La región centromérica está ocupada por una banda gris de 9.14% aproximadamente.

En el brazo inferior y proximal a la región centromérica se localiza una banda oscura de aproximadamente 18.87% de la longitud total, luego una banda gris de 9.39%, una banda oscura de 10.53%, una banda gris de un tamaño similar a la anterior (10.14%), una banda oscura de 7.70% aproximadamente y por último una banda gris de un tamaño de 12.19%.

Par cromosómico 3:

Es un par metacéntrico, que presenta 12 bandas, de las cuales 6 son oscuras y 6 son grises; su distribución es la siguiente:

En el brazo superior se localizan una banda oscura con un tamaño de 11.33%, una banda gris con un tamaño de 7.94%, una banda oscura de 6.69%, una banda gris de 10.94% aproximadamente; y una banda oscura de 9.85% que se extiende hasta la región centromérica, contigua a esta se encuentra otra banda gris de un tamaño similar a la anterior de 9.30% que se prolonga al brazo inferior.

En el brazo inferior también se encontraron una banda oscura de 10.74%, seguida de una banda gris de 5.82%, una banda oscura con un tamaño de 7.66%, una banda

gris con un tamaño de 4.37% luego una banda oscura de 8.75% y la última banda es gris, con un tamaño aproximado de 6.56%

Par cromosómico 4:

Este par corresponde a cromosomas submetacéntricos con 8 bandas, de ellas 4 son oscuras, 3 grises y una clara.

La primera banda telomérica superior es oscura y tiene un tamaño de 14.72%; en seguida están, una banda gris de 11.15% y una banda oscura que se extiende por el brazo (p) hasta la región centromérica e inclusive a los brazos inferiores, su tamaño es de 21.10%.

En seguida se encontraron una banda gris de 11.15%, una banda oscura de 11.54%, una gris de 8%, una clara de un tamaño de 8.36% y una oscura, telomérica de 13.94%, que ocupan el brazo inferior.

Par cromosómico 5:

Estos cromosomas son metacéntricos y presentan a lo largo 9 bandas cromosómicas, 4 son oscuras, 4 grises y una es clara.

Los brazos superiores están ocupados por una primera banda telomérica oscura de 18.9%, la segunda banda es gris de un tamaño aproximado a 14.16% y la tercera

es oscura con un tamaño de 12.09%, que se extiende hacia la región centromérica; próxima a ésta se encuentra una banda gris que parte de la región centromérica al telómero inferior, con un tamaño de 12.91%.

También en el brazo inferior se ubicaron una banda oscura de 11.01%, una banda gris con un tamaño aproximado a 11.17%, una banda oscura de 9.86%, una gris de 3.28% y la última banda es clara con un tamaño de 6.57%.

Par cromosómico 6:

Este par es también metacéntrico. Tiene 7 bandas, 3 oscuras, 3 grises y una clara.

Los brazos cortos tienen una banda oscura, con un tamaño aproximado de 17.88%, una clara con 14.82% y una gris de un tamaño similar a la anterior de 14.21% aproximadamente, que se extiende a la porción media de la región centromérica. En la siguiente porción está una banda oscura de un tamaño de 17.65% que se extiende un poco hacia los brazos largos.

Contigua a esta banda, está una banda gris de 14.82%, luego una oscura de 14.08% y la final es gris con un tamaño aproximado de 6.50%.

Par cromosómico 7:

Es un par submetacéntrico con 7 bandas: 4 oscuras y 3 grises.

El brazo corto está constituido por una banda oscura de un tamaño aproximado a 15.94%, una gris de 9.21% y una oscura con un tamaño de 10.51% que se prolonga a la región centromérica, de la cual también parte una banda gris con un tamaño de 14.81% y se extiende a los brazos largos.

Próximas a esta banda, se encuentran otras bandas en el brazo largo una oscura de 13.30%, una gris intermedia de 6.14% y una oscura de un tamaño aproximado a 30.73% que corresponde a la de mayor tamaño en este cromosoma.

Par cromosómico 8:

Se trata de un par cromosómico metacéntrico. Presenta 7 bandas: 3 oscuras, 3 grises, y una clara.

La primera banda es oscura, la segunda gris, sus tamaños son de 18.45% y 15.96% respectivamente; se ubican en los brazos superiores.

La tercera banda es oscura con un tamaño de 15.06%, se ubica en seguida de la banda anterior y extendiéndose a

la región centromérica, de donde también parte una cuarta banda gris de 11.31% que se prolonga a los telómeros inferiores.

La quinta banda, localizada en los brazos inferiores, es oscura y con un tamaño de 10.34%; la sexta banda es gris y la séptima es clara, ambas con un tamaño de 14.41% aproximadamente.

Par cromosómico 9:

Está formado por cromosomas submetacéntricos. Presenta 5 bandas, 3 oscuras y 2 grises.

En el telómero superior se localizaron una banda oscura de un tamaño de 25.45% y una banda gris de un tamaño aproximado a 22.80 % que se extiende a la región centromérica e inclusive al brazo inferior.

En el brazo inferior también se encontraron otras 3 bandas, una oscura con un tamaño de 22.68%, otra gris de 23.51% y la última banda oscura de 5.53% aproximadamente.

Par cromosómico 10:

Corresponde al par cromosómico más pequeño, son metacéntricos. Presentan 4 bandas la mitad de ellas son oscuras y la mitad grises.

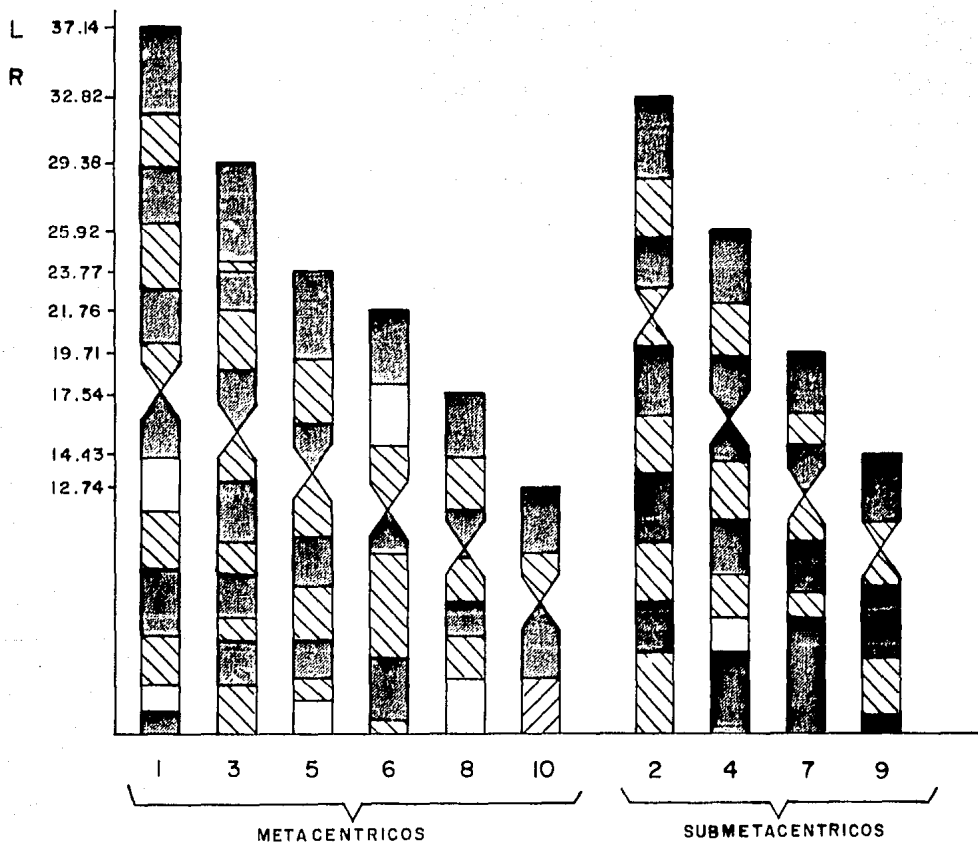


En el brazo superior están 2 bandas, la primera es oscura con un tamaño de 27.43%, la segunda es gris, su tamaño es de 19.85% y se extiende a la región centromérica, de donde también parte una banda oscura de mayor tamaño 30.42% aproximadamente que se extiende al brazo inferior, la porción restante de éste corresponde a una banda gris con un tamaño aproximado a 22.27%.

Tabla 10 . Número y tipo de bandas G en el cariotipo de Crassostrea virginica.

Par cromosómico	Bandas claras	Bandas oscuras	Bandas grises	Bandas total
1	2	6	5	13
2		5	5	10
3		6	6	12
4	1	4	3	8
5	1	4	4	9
6	1	3	3	7
7		4	3	7
8	1	3	3	7
9		3	2	5
10		2	2	4
Total	6	40	36	82

FIGURA 7 . PATRON DE BANDAS G DE  
Crassostrea virginica.



PAR CROMOSOMICO

PATRON DE BANDAS G en:  
Crassostrea rhizophorae ( Lám. 5 ) .

La tabla 11, resume el número de bandas G encontradas en el cariotipo.

La figura 8 , representa el ideograma así como los patrones de bandas cuya descripción se hace a continuación:

Par cromosómico 1:

Este primer par es metacéntrico. Presenta 11 bandas, 5 de ellas son oscuras, 5 grises y una clara.

En la región correspondiente a los brazos superiores, de arriba hacia abajo se encuentran: una banda oscura con un tamaño de 13.35%, una gris de aproximadamente la mitad del tamaño de la anterior 6.98%, una banda oscura de 10.46%, una gris de 7.82% y una banda oscura de 11.33% que se extiende hasta la región centromérica e incluso a los brazos inferiores, en donde el patrón indica la presencia de una banda gris de 8.38%, una oscura con un tamaño de 10.15%, una gris de 8.85%, una oscura de 8.78%, una gris con 6.70% y una última banda oscura cuyo tamaño es de 7.14% aproximadamente.

### Par cromosómico 2:

Se trata de cromosomas submetacéntricos. Presentan 10 bandas, 4 oscuras, 3 grises y 3 claras.

Las primeras tres bandas son: una oscura de un tamaño de 15.28%, una clara de 9.01% y una oscura de 10.39% que se extiende hasta la región centromérica.

A continuación se encuentra una banda gris, con un tamaño de 10.85%, que parte desde la región centromérica hasta el brazo largo, en donde se localizan además: una banda oscura de 9.66%, una banda gris de 9.17%, una clara de 9.93%, una gris con un tamaño de 7.64%, una clara de 11% y la última banda es oscura, con tamaño de 7.03% aproximadamente.

### Par cromosómico 3:

Está integrado por cromosomas metacéntricos. Tiene 8 bandas, 4 son oscuras, 3 grises y una clara.

En los brazos cortos se ubicaron las siguientes bandas: la primera es oscura con un tamaño de 17.89%, la segunda gris de 11.43% y la tercera es oscura con tamaño de 12.91%, que se extiende hasta una parte de la región centromérica. Enseguida hay una banda gris con el mismo tamaño que la anterior (12.91%), que se prolonga hacia los brazos largos del cromosoma.

A lo largo de los brazos inferiores se localizan una banda clara de un tamaño aproximado a 10.84%, una oscura de 10.73%, una gris de 12.17% y una oscura con un tamaño de 11.07% aproximadamente .

Par cromosómico 4:

Es un par submetacéntrico. Presentó 6 bandas: 3 oscuras. 2 grises y una clara.

Los brazos superiores están ocupados por una banda oscura con un tamaño aproximado de 23.15%, le sigue una clara de 16.06% que se prolonga a la región centromérica.

En los brazos inferiores y proximal a la banda anterior, se encontró una banda oscura de 17.01%, seguida de una banda gris con 11.48%, una oscura y una gris, sus tamaños son de 15.35% y de 16.91% respectivamente.

Par cromosómico 5:

Estos cromosomas metacéntricos, presentaron 6 bandas, 3 de ellas son oscuras, 2 grises y una clara.

En los telómeros superiores está la primera banda que es oscura con un tamaño de 22.60%, la segunda gris con 16.29% y la tercera es clara con un tamaño aproximado de 17.26%, extendiéndose hacia la región centromérica.

Las bandas restantes se ubican en los brazos inferiores: la cuarta es oscura con 14.59%, la quinta

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

gris, su tamaño es de 12.73% y la sexta obscura con un tamaño aproximado a 16.53%.

Par cromosómico 6:

Integrado por cromosomas submetacéntricos. Presenta 6 bandas, 3 oscuras, 2 grises y una clara.

Los brazos cortos de este cromosoma presentaron una banda obscura con un tamaño de 21.18% y una banda gris de 14.54% que se extiende a la región centromérica, enseguida se encuentra otra banda obscura con un tamaño aproximado a 19.77% que se prolonga a los brazos largos.

En los brazos largos hay una banda gris de un tamaño de 14.22%, una clara de 12.34% y una obscura de tamaño similar a la anterior 12.39%.

Par cromosómico 7:

Se trata de cromosomas submetacéntricos con 6 bandas, 3 oscuras y 3 grises.

Los brazos superiores presentan una banda obscura de 26.67% de tamaño, que se inicia a partir del telómero superior.

La región centromérica corresponde a una banda gris que representa el 14.53% de la longitud total promedio del par cromosómico.



Los brazos inferiores están ocupados por una banda oscura proximal a la región centromérica de un tamaño de 19.77%, una banda gris de 14.22% y las últimas son una banda oscura y una gris, ambas con un valor porcentual de 12.39%.

Par cromosómico 8:

Es un par formado por elementos metacéntricos donde se identificaron 5 bandas, 3 son oscuras y 2 grises.

Las primeras dos bandas del brazo superior son una oscura de un tamaño de 29.73%, una gris de 19.97% que se prolonga a la región centromérica, donde también se ubica una banda oscura de 29.99% que se extiende hacia los brazos inferiores.

La cuarta y quinta bandas están ubicadas en los brazos inferiores; una gris con un tamaño de 18.38% y una oscura de 13.07% aproximadamente.

Par cromosómico 9:

Esta formado por cromosomas pequeños submetacéntricos, presentan 5 bandas: 3 oscuras y 2 grises.

La primera banda telomérica superior es oscura con un tamaño de 25.09% aproximadamente, la segunda ban

da gris ocupa la región centromérica y se prolonga a los brazos inferiores su tamaño es de 16.85%.

Las bandas presentes en los brazos inferiores son: una banda oscura con un tamaño de 21.68%, le sigue una gris con un valor de 17.78% y la última es oscura de 18.58% aproximadamente.

Par cromosómico 10:

Es metacéntrico, corresponde a los cromosomas más pequeños. Presenta 4 bandas: 2 oscuras y 2 grises.

En el telómero superior hay una banda oscura con un tamaño de 36.06%

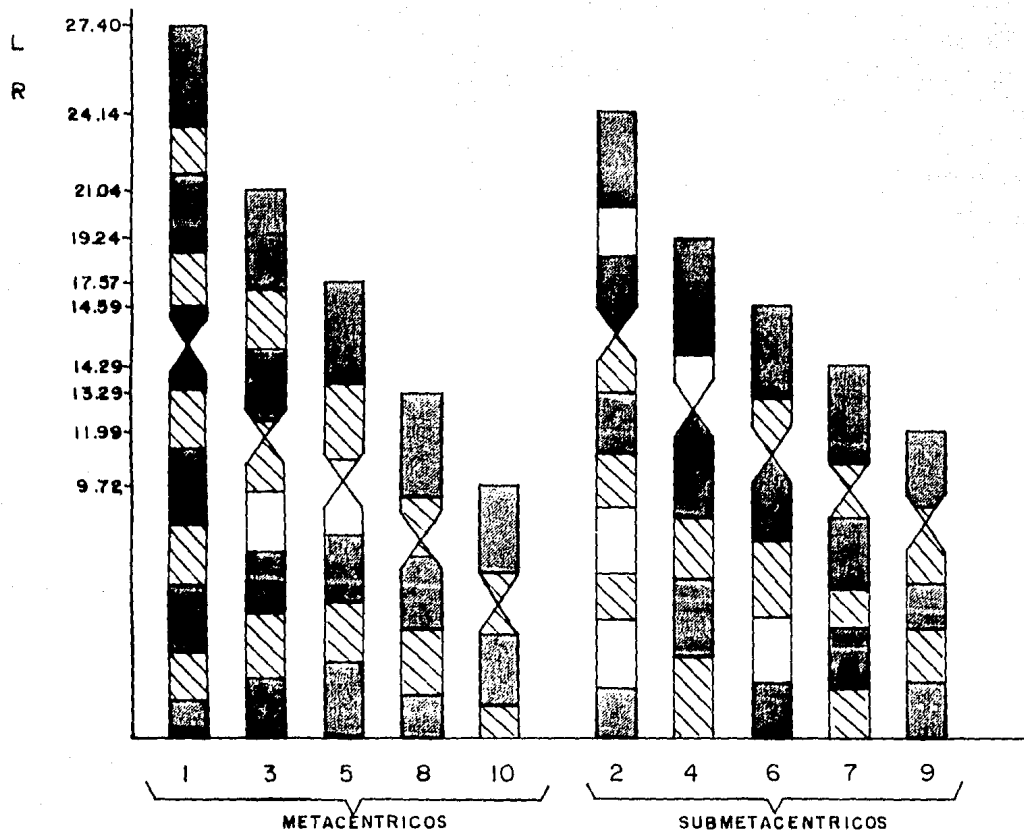
La región centromérica esta ocupada por una banda gris su tamaño es de 22.29%.

En el brazo inferior y proximal a la región centromérica esta una banda oscura con un tamaño de 28.31% y una última banda gris telomérica con un tamaño aproximado a 15.35%.

Tabla 11 . Número y tipo de bandas G en el cariotipo  
de Crassostrea rhizophorae .

Par Cromosómicos	Bandas claras	Bandas oscureas	Bandas grises	Total
1		6	5	11
2	3	4	3	10
3	1	4	3	8
4	1	3	2	6
5	1	3	2	6
6	1	3	2	6
7		3	3	6
8		3	2	5
9		3	2	5
10		2	2	4
Total	7	34	26	67

FIGURA 8 . PATRON DE BANDAS G DE  
Crassostrea rhizophorae.



PAR CROMOSOMICOS

PATRON DE BANDAS G EN EL HIBRIDO (Lám. 6).

Par cromosómico 1:

Es un par metacéntrico con 11 bandas, 6 oscuras y 5 grises.

En el brazo superior hay 4 bandas en orden descendente la primera banda es oscura con un tamaño de 12.69% en relación con la longitud total promedio del par cromosómico. La segunda es gris de 8.31%, la siguiente es una banda oscura de 9.64% y la cuarta es una banda gris de un tamaño aproximado a 9.03%.

La región centromérica está ocupada por una sola banda oscura con un tamaño de 8.31%.

En el brazo inferior y en posición proximal a la región centromérica se encuentra una banda gris de un tamaño de 7.41%, junto a ésta hay una banda oscura de 8.65%, luego una banda gris con un tamaño de 7.13%, una oscura de 8%, una gris de 10.09% y la última banda es oscura con un tamaño de 10.69% aproximadamente.

Par cromosómico 2:

Es un par submetacéntrico. Presenta 9 bandas, 3 bandas grises, 3 claras y 3 oscuras.

En los brazos cortos (p), se ubicaron: una banda gris con un tamaño de 15.24%, una clara de 10.68% y una banda gris con un tamaño de 12.45% aproximadamente que se extiende a toda la región centromérica.

En los brazos largos se ubicaron 6 bandas: la proximal al centrómero es clara de 11.28%, a continuación una banda oscura de un tamaño aproximado a 10.49%, una gris de 14.48%, una oscura de un tamaño aproximado a 11.09%, una clara de 6.33% y una última oscura de 7.92%.

Par cromosómico 3:

Se trata de un par metacéntrico que presentó 8 bandas: 3 oscuras, 3 grises y 2 claras.

En el telómero superior se localiza una banda oscura con un tamaño de 15.57% aproximadamente.

Siguiendo la descripción a lo largo del brazo y abajo de la banda anterior, se encuentran: una banda gris de 14.45% y una clara que se extiende a la región centromérica con un tamaño de 10.84%, de donde también parte una banda oscura de 14.67% prolongándose hasta el telómero inferior.

A continuación se ubica una banda gris de 13.08%, una oscura de 10.55%, una gris de 9.39% y una clara de 11.42% aproximadamente.

Par cromosómico 4:

Este par es submetacéntrico, tiene 9 bandas, 4 son oscuras, 3 grises y 2 claras.

Las bandas del brazo superior son una oscura con un tamaño aproximado a 13.86%, una banda clara de 9.36%; la siguiente es una banda oscura que se extiende hasta la región centromérica, tiene un tamaño de 12.23%, siguiendo una gris con un tamaño de 13.86% también está ocupando parte de la región centromérica y se prolonga hacia el brazo inferior.

Debajo de la anterior hay una banda oscura de 12.79%, una gris de 13.05%, una clara con un tamaño de 8.54%, una oscura de 7.04% y la telomérica inferior es gris con un tamaño de 9.23% aproximadamente.

Par cromosómico. 5.

Es un par metacéntrico con 7 bandas, 3 oscuras, 3 grises y una banda clara.

En los brazos cortos están una banda oscura con un tamaño de 18.06%, una gris de 14.34% y una banda oscura de 11.88% que se extiende hasta la región centromérica, en la cual se encuentra también una banda gris de 14.58%, que se prolonga a los brazos largos. También se ubican una banda oscura de un tamaño aproximado a 17.23%, una gris de 12.51% y la última es una banda clara con un tamaño de 11.37% aproximadamente.



Par cromosómico 6:

Es un par metacéntrico con 6 bandas, 3 oscuras, 2 grises y 1 clara.

Los telómeros superiores tienen una banda oscura de un tamaño de 21.68% y en seguida se localizó una banda clara de 15.42%.

La región centromérica está ocupada por una sola banda oscura, su tamaño es de 12.91% .

Los brazos largos tienen una banda gris de 14.01% aproximadamente, la siguiente es una banda oscura de 13.92% y la última es gris de 22.03% que es la de mayor tamaño.

Par cromosómico 7:

Este par es submetacéntrico, presenta 6 bandas, la mitad oscuras y la mitad grises.

Los brazos cortos tienen una banda oscura, su tamaño es de 18.30% y una banda gris con 16.95%, la cual se extiende a la región centromérica, luego una banda oscura con un tamaño de 17.78%, que parte de la región centromérica hasta los brazos largos.

Las siguientes bandas en los brazos largos son una banda gris, cuyo tamaño es de 15.94%, una oscura de 15.68% y una banda gris con un tamaño de 15.33% aproximadamente.

Par cromosómico 8:

Es un par metacéntrico. Tiene 6 bandas, 3 oscuras y 3 grises.

Los brazos superiores presentan 2 bandas, la primera es oscura, su tamaño es de 25.35% y la segunda es gris con un tamaño de 11.64% que se extiende hasta parte de la región centromérica.

En la región centromérica también se encuentra una banda oscura de 16.66% que se prolonga al brazo inferior.

Las siguientes bandas inferiores son una banda gris con un tamaño de 16.36%, una oscura de 17.63% y una banda gris cuyo tamaño aproximado es de 12.54%.

Par cromosómico 9:

Se trata de un par submetacéntrico. Presenta 4 bandas, 2 oscuras y 2 grises.

En los telómeros superiores se ubica una banda oscura, su tamaño es de 24.57%, y la otra banda del brazo superior es gris cuyo tamaño es de 29.25% aproximadamente la cual prolonga a la región centromérica.

En los brazos inferiores hay una banda oscura de un tamaño de 26.22% y otra banda gris cuyo tamaño es de 29.25% aproximadamente.

Par cromosómico 10:

Este par es metacéntrico, con 4 bandas, 2 oscuras y 2 grises.

La primera banda es oscura con un tamaño aproximado de 31.76% y abarca los brazos superiores.

La segunda banda es gris, su tamaño es 20.84% y se ubica en la región centromérica .

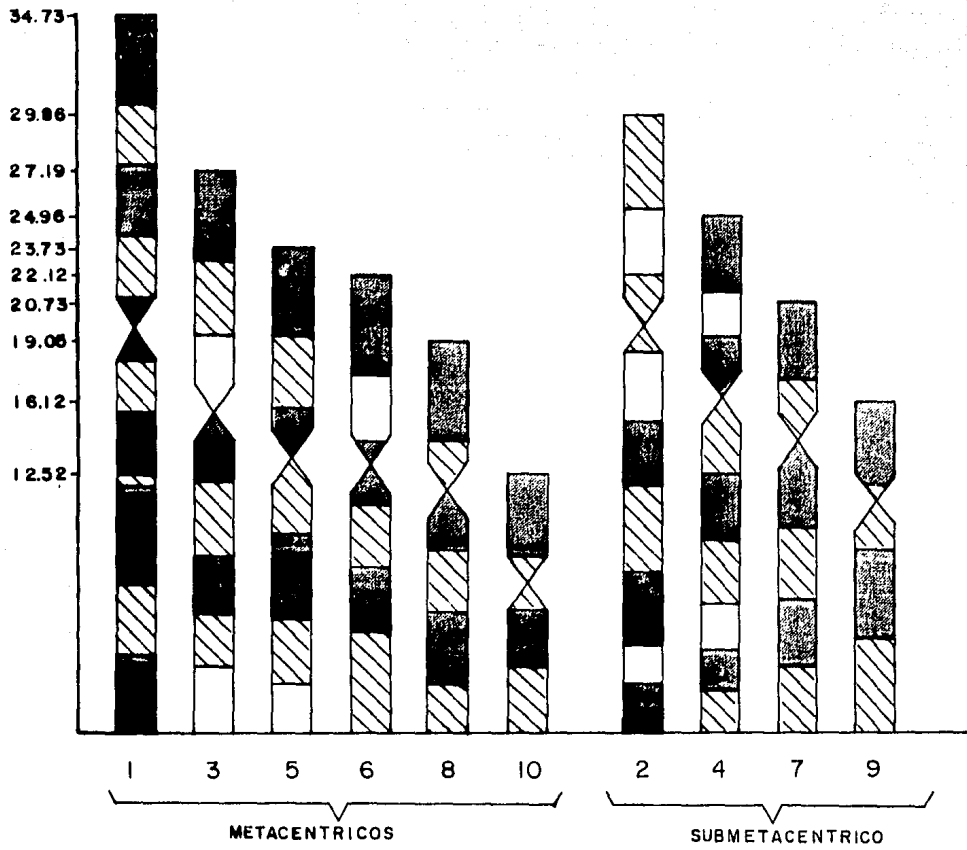
La tercera y cuarta bandas son oscura y gris; sus tamaños aproximados son 21.33% y 26.06% respectivamente, se ubicaron en el brazo largo ( figura 9 y tabla 12) .

Tabla 12 . Número y Tipo de bandas G en el cariotipo del híbrido de *C. virginica* vs *C. rhizophorae* .

Par cromosómico	Bandas claras	Bandas oscuras	Bandas grises	Total
1		6	5	11
2	3	3	3	9
3	2	3	3	8
4	2	4	3	9
5	1	3	3	7
6	1	3	2	6
7		3	3	6
8		3	3	6
9		2	2	4
10		2	2	4
Total	9	32	29	70

FIGURA 9 . PATRON DE BANDAS G DEL HIBRIDO:  
Crassostrea virginica y C. rhizophorae.

70 L



PAR CROMOSOMICO

Al analizar comparativamente el número de bandas "G" encontradas en los cariotipos de Crassostrea virginica, C. rhizophorae y el híbrido de estas especies (Campeche) y compararlas con las reportadas en Crassostrea virginica de Tabasco por Rodríguez-Romero et al. (1979) se observó lo siguiente (tabla 13):

Par cromosómico 1:

Crassostrea virginica (Tabasco), C. rhizophorae y el híbrido (Campeche) presentaron 11 bandas, mientras que C. virginica de Campeche presentó 13 bandas.

Se observó que C. virginica (Campeche) presenta 2 bandas más que las reportadas por Rodríguez-Romero et al. (1979) para la población de Tabasco.

Par cromosómico 2:

C. virginica (Tabasco) 8 bandas, el híbrido (Campeche) 9 bandas, C. virginica y C. rhizophorae (Campeche) presentan 10 bandas.

En C. virginica de este estudio se presentan 2 bandas más que las reportadas para Tabasco.

Par cromosómico 3:

C. rhizophorae y el híbrido (Campeche) presentaron 8 bandas; C. virginica (Campeche) tiene 12 bandas y

en el caso de Tabasco se reportó un total de 13 bandas.

En este par para C. virginica de Campeche se encontró una banda menos que las ya reportadas para esta especie.

Par cromosómico 4:

En C. rhizophorae (Campeche) hay 6 bandas, C. virginica (Tabasco) 7 bandas, C. virginica (Campeche) 8 bandas y para el híbrido (Campeche) 9 bandas.

C. virginica de Campeche presentó una banda más que las reportadas (Tabasco) . El número de bandas decreció en este orden: híbrido, C. virginica de Campeche , C. virginica (Tabasco) y C. rhizophorae.

Par cromosómico 5:

En C. virginica (Tabasco) se reportaron 11 bandas, C. virginica de Campeche reportó 9 bandas, el híbrido (Campeche) 7 bandas y el número de bandas en C. rhizophorae (Campeche) fue de 6 bandas.

C. virginica de Campeche presentó 2 bandas menos que las encontradas en el estudio de Tabasco. El número de bandas decreció en este orden: C. virginica (Tabasco), C. virginica (Campeche), el híbrido y C. rhizophorae (Campeche).



Par cromosómico 6:

Para C. virginica de Tabasco se reportaron 11 bandas, en Campeche esta especie presentó 7 bandas; C. rhizophorae y el híbrido (Campeche) presentaron 6 bandas.

C. virginica de Campeche presentó 4 bandas menos que las reportadas para esta especie en Tabasco.

Par cromosómico 7:

C. rhizophorae y el híbrido (Campeche) tienen 6 bandas, C. virginica (Campeche) tiene 7 bandas y para esta especie en Tabasco se reportaron 8 bandas.

Se observa que para C. virginica de Campeche hubo una banda menos que las reportadas para Tabasco.

Par cromosómico 8:

C. virginica de Tabasco y de Campeche presentaron 7 bandas; C. rhizophorae tiene 5 bandas y el híbrido 6 bandas.

C. virginica de Tabasco y Campeche coinciden en el número de bandas. El número de bandas decrece en este orden: C. virginica (Campeche y Tabasco), el híbrido y C. rhizophorae (Campeche).

Par cromosómico 9:

C. virginica de Tabasco reportó un total de 6 bandas, C. virginica y C. rhizophorae de Campeche presentaron 5 bandas y su híbrido 4 bandas.

C. virginica de Campeche presentó una banda menos que las reportadas en Tabasco; C. virginica y C. rhizophorae de Campeche presentan igual número de bandas.

Par cromosómico 10:

C. virginica de Tabasco reportó 5 bandas; C. virginica, C. rhizophorae y su híbrido (Campeche) presentaron 4 bandas.

C. virginica de Campeche presentó una banda menos que las reportadas para esta especie en Tabasco.

Número de Bandas "G" por par cromosómico

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TOTAL
<i>C. virginica</i>	Tabasco Rodríguez-Romero <u>et. al.</u> 1979	11	8	13	7	11	11	8	7	6	5	87
<i>C. virginica</i>	Campeche	13	10	12	8	9	7	7	7	5	4	82
<i>C. rhizophorae</i>	Campeche	11	10	8	6	6	6	6	5	5	4	67
híbrido interespecífico	Campeche	11	9	8	9	7	6	6	6	4	4	70

Tabla 13 . Cuadro comparativo de la distribución de bandas "G" en los cariotipos de *C. virginica*, *C. rhizophorae* y el Híbrido de ambas especies de Campeche, y *C. virginica* de Tabasco.

DESCRIPCION DE BANDAS "C" EN Crassostrea virginica (Lám. 7).

## Par cromosómico 1:

Es un par metacéntrico, presenta 3 bandas, la primera ubicada en el telómero superior tiene un tamaño de aproximadamente el 10.85% de la longitud total promedio; la segunda banda ocupa la región centromérica del cromosomas, su tamaño es de 20.31% y la tercera se ubica en el telómero inferior, su tamaño es de 11.14% aproximadamente.

## Par cromosómico 2

Este par submetacéntrico, es el único del cario tipo en el que se observan satélites en el telómero superior. Presenta 2 bandas una heterocromática en el telómero superior con un tamaño de 10.73% y otra banda en la región centromérica con una longitud relativa de 23.11% aproximadamente.

## Par cromosómico 3:

Este par metacéntrico consta de 3 bandas, las cuales se ubican en el telómero superior, en la región centromérica y en el telómero inferior, sus tamaños son de 15.65%, 22.37% y 17.89% respectivamente.

## Par cromosómico 4:

Es un par submetacéntrico con 3 bandas una telomérica superior de aproximadamente 16.30%, otra centromérica con un tamaño de 24.65% y la última telomérica

Par cromosómico 5:

Corresponde a un par metacéntrico, se encontraron 3 bandas. En el brazo corto se encuentra una banda cuyo tamaño es de 16.36%; en la región del centrómero está otra, con un tamaño de 20.15% y una última banda, en el brazo largo, mide aproximadamente 11.04% de la longitud total.

Par cromosómico 6:

Es también un par metacéntrico con 3 bandas, cuya ubicación es la misma que las descrita para el par 5, los tamaños son diferentes. La banda telomérica superior tiene 22.34%, la centromérica tiene un tamaño de 28.61% y la telomérica inferior es de menor tamaño que las anteriores, aproximadamente 14.16%.

Par cromosómico 7:

En este par submetacéntrico se encontraron 3 bandas: la primera en el brazo corto de 21.61%, otra banda de 23.37% se localiza en la región centromérica, y la tercera banda en el brazo largo, con un tamaño de 16.31% aproximadamente.

Par cromosómico 8:

Es un par metacéntrico con 2 bandas; una en el telómero superior y otra en la región centromérica, sus tamaños son de 20.30% y 24.61% respectivamente.

**Par cromosómico 9:**

Es un par submetacéntrico con 2 bandas, una en la región centromérica con un tamaño de 28.22% y la segunda en el telómero inferior de un tamaño aproximado a 22.30%

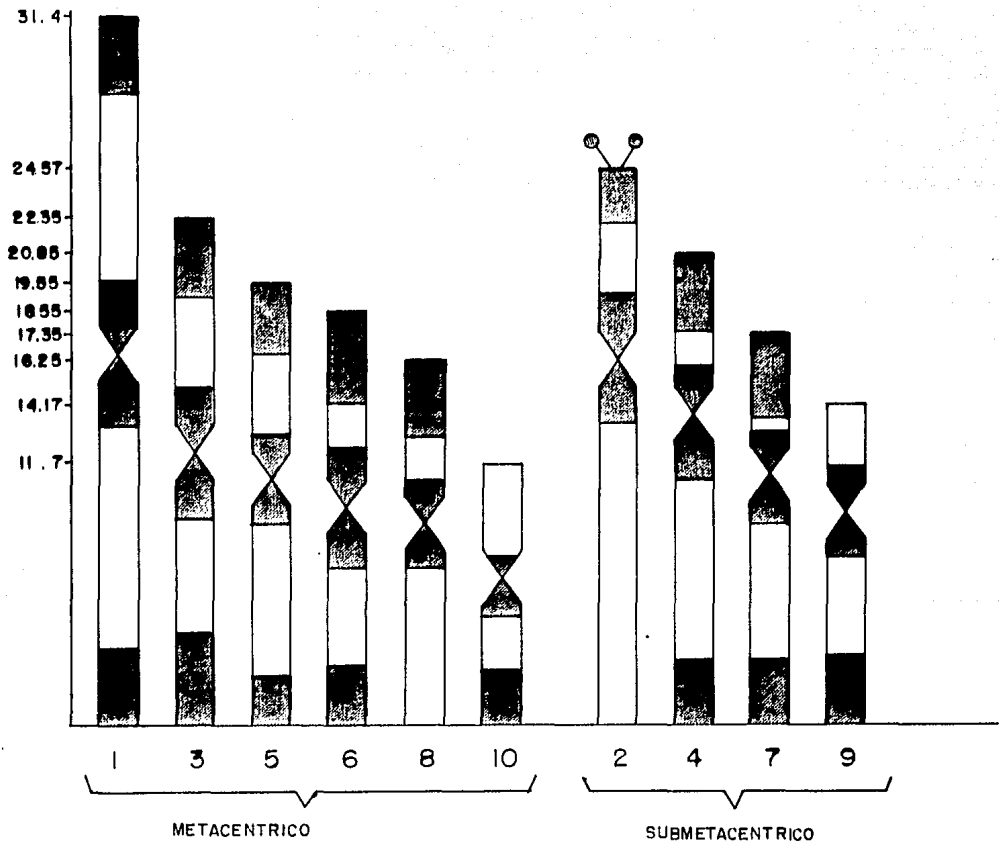
**Par cromosómico 10:**

En este par metacéntrico también se encontraron 2 bandas, cuya ubicación es la misma que se describió para el par 9. La banda centromérica tiene un tamaño de 24.63% y la telomérica inferior de 21.36% aproximadamente, (Figura 10).

En general el cariotipo de *C. virginica* presentó bandas heterocromáticas en los telómeros superiores de la mayoría de los pares cromosómicos, excepto en los pares 9 submetacéntrico y 10 metacéntrico; en las regiones centroméricas de los diez pares cromosómicos, y en los telómeros inferiores de todos los pares cromosómicos, excepto en los pares 8 metacéntrico y 2 submetacéntrico, (tabla 14)..

FIGURA 10 . PATRON DE BANDAS C DE Crassostrea virginica

L  
R



PAR CROMOSOMICO



Tabla 14 . Número de Bandas C en el Cariotipo de  
Crassostrea virginica.

Par cromosómico	Banda Telomérica superior	Banda Centromérica	Banda Telomérica inferior	TOTAL
1	+	+	+	3
2	+	+		2
3	+	+	+	3
4	+	+	+	3
5	+	+	+	3
6	+	+	+	3
7	+	+	+	3
8	+	+		2
9		+	+	2
10		+	+	2
TOTAL	8	10	8	26

DESCRIPCION DE BANDAS "C" EN Crassostrea rhizophorae

(Lám. 8).

## Par cromosómico 1:

Este par metacéntrico presenta 2 bandas heterocromáticas; una de ellas ubicada en el telómero superior con un tamaño de 25.74% de la longitud total del cromosoma, y otra banda en la región centromérica de 21.83% aproximadamente.

## Par cromosómico 2:

Es un par submetacéntrico, el cual presentó satélites en el extremo superior del brazo corto. Tiene 2 bandas, la primera en el telómero superior ocupando un 17.10% y la segunda está en la región centromérica con un tamaño de 21.42% aproximadamente.

## Par cromosómico 3:

A lo largo de la longitud de este par metacéntrico se encontraron 2 bandas. Una con un tamaño de 20.90% y otra de 22.08%, ubicadas en el telómero superior y en la región centromérica respectivamente.

## Par cromosómico 4:

Es un par submetacéntrico con 3 bandas, la primera está en el extremo superior del brazo corto con un tamaño de 18.35%, la segunda está en la región centromérica, tiene

un tamaño de 24.74% aproximadamente, y la tercera está en el extremo inferior del brazo largo, su tamaño es de 25.31%

Par cromosómico 5:

Se encontraron 2 bandas: una se ubica en el telómero superior, su tamaño es de aproximadamente 22.18% y la otra banda ocupa la región centromérica, con una longitud relativa de 27.30%.

Par cromosómico 6:

Se encontraron 3 bandas, una en el telómero superior, la segunda en la región centromérica y la tercera en el telómero inferior, sus tamaños aproximados son de 17.98%, 24.46% y 28.12% respectivamente.

Par cromosómico 7:

También tiene 3 bandas, la ubicación de las bandas es similar a las descritas en el par 6, pero con dimensiones son diferentes: la primera banda tiene un tamaño de 16.79%, la segunda de 26.11% y la tercera de 19.40% aproximadamente.

Par cromosómico 8:

Tienen 2 bandas únicamente. Una en el telómero superior y otra en la región centromérica, con un tamaño aproximado de 19.31% y 25.11% respectivamente.

Par cromosómico 9:

En este par se ubicaron 2 bandas. La primera está en la región centromérica con un tamaño de 28.33% y la segunda en el telómero inferior con 30.98% aproximadamente.

Par cromosómico 10:

En este par se encontró sólo una banda en el telómero superior del cromosoma, su tamaño es de 31.06%, (figura 11).

En general el cariotipo de esta especie presentó bandas "C" en:

Los telómeros superiores y regiones centroméricas de los pares cromosómicos, con excepción del par 9 submetacéntrico, donde no se encontró la banda telomérica superior, y en el par 10 metacéntrico donde no se encontró la región centromérica.

Los telómeros inferiores de los cromosomas submetacéntricos, únicamente (tabla 15).

FIGURA 11 . PATRON DE BANDAS C DE Crassostrea rhizophorae.

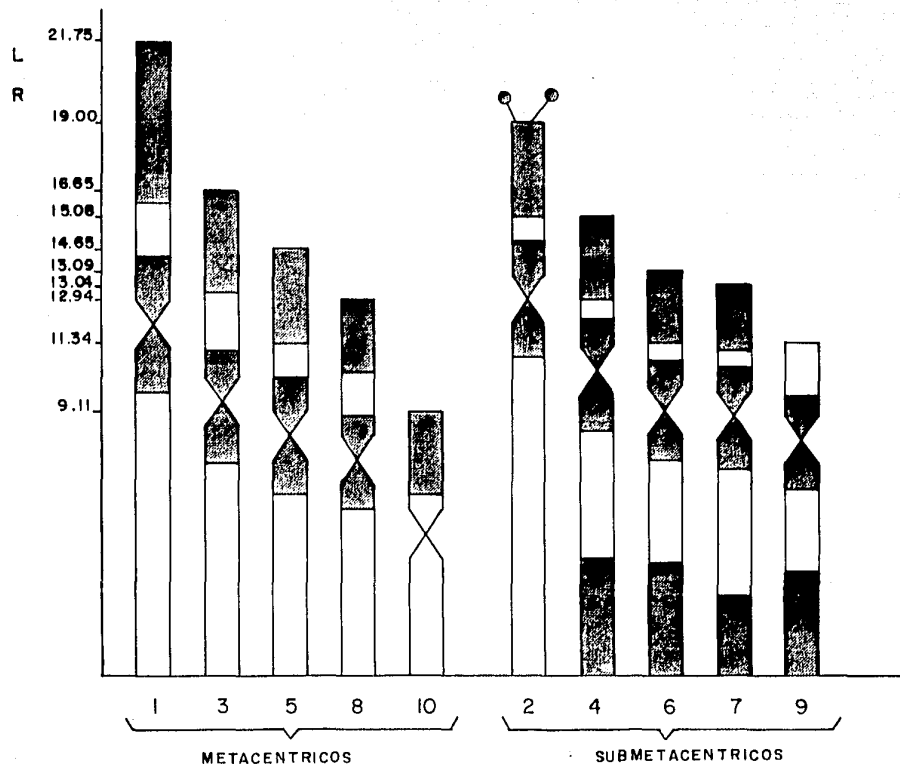


Tabla 15 , Número de Bandas C en el cariotipo de  
Crassostrea rhizophorae.

Par cromosómico	Banda Telomérica superior	Banda Centromérica	Banda Telomérica inferior	TOTAL
1	+	+		2
2	+	+		2
3	+	+		2
4	+	+	+	3
5	+	+		2
6	+	+	+	3
7	+	+	+	3
8	+	+		2
9		+	+	2
10	+			1
TOTAL	9	9	4	22

## DESCRIPCION DE BANDAS "C" EN EL HIBRIDO (Lám. 9).

### Par cromosómico 1:

Tiene 3 bandas, una en el brazo corto en la región superior con un tamaño de 9.79% de la longitud total del cromosoma, otra en la región centromérica con un tamaño de 17.15% y una última en el brazo largo que abarcó el 8.28% aproximadamente.

### Par cromosómico 2:

Es el único par del cariotipo que presenta satélites en el brazo corto (p). Presenta 3 bandas:

La primera en el telómero superior con un tamaño de 9.79%, la segunda ocupa una posición central en la región centromérica con un tamaño de 19.16% y la última banda está en el telómero inferior, su tamaño es de 7.20% aproximadamente.

### Par cromosómico 3:

Presenta 2 bandas, una en el telómero superior de 14.27% y otra centromérica de 23.65% aproximadamente.

### Par cromosómico 4:

Se localizaron 3 bandas: en el telómero superior, en la región centromérica y en el telómero inferior, sus tamaños aproximados son de 11.51%, 18.89% y 10.87% respectivamente.



Par cromosómico 5:

Tiene 2 bandas, una telomérica superior con un tamaño de 13.28% y otra centromérica de 17.69% aproximadamente.

Par cromosómico 6:

Presenta 3 bandas; la primera con, una longitud relativa de 15.93%, ubicada en el telómero superior, la segunda de un tamaño de 19.05%, con una posición central ocupando la región centromérica, y la tercera banda de 13.85% ubicada en el telómero inferior.

Par cromosómico 7:

Este par presenta también 3 bandas, la ubicación de éstas es la misma que se describe en el par 6, pero las diensiones difieren. La banda telomérica superior tiene un tamaño de 15.37%, la centromérica ocupa el 24.02% y la telomérica inferior el 12.45%, aproximadamente.

Par cromosómico 8:

Se encontraron 3 bandas, una en el telómero superior de 18.30%, otra en la región centromérica de 26.47%, y la última en el telómero inferior de un tamaño aproximado a 10.35%.

**Par cromosómico 9:**

Tiene 3 bandas. La primera ésta en el extremo inicial del telómero superior, su tamaño es de 20.47%. Muy próxima a ésta y ocupando la región centromérica se localiza otra banda con un valor porcentual de 17.42%. En el telómero inferior se encuentra otra que representa el 15.47% aproximadamente.

**Par cromosómico 10:**

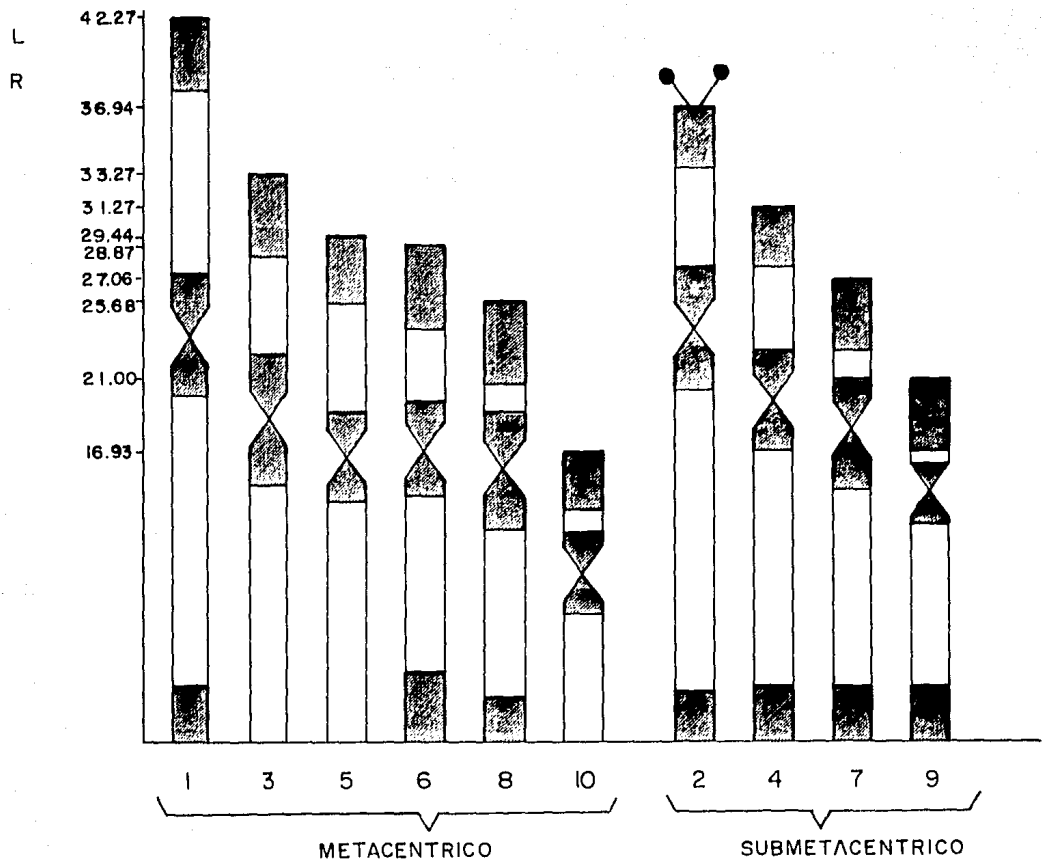
Este par presentó 2 bandas, la primera en el telómero superior, cuya dimensión es de 20.08% y la segunda en la región centromérica, de un tamaño aproximado a 28.05% (Figura 12).

En general el cariotipo del híbrido presentó bandas "C" en:

Los telómeros superiores y regiones centroméricas de todos los pares cromosómicos.

Respecto a las bandas teloméricas inferiores heterocromáticas, se localizaron en todos los pares submetacéntricos y en los pares metacéntricos 1, 6 y 8 (Tabla 16).

FIGURA 12 . PATRON DE BANDAS C DEL HIBRIDO  
INTERESPECIFICO DE Crassostrea virginica y  
C. rhizophorae.



PAR CROMOSONICO

Tabla 16 . Número de Bandas C en el cariotipo  
del híbrido interespecífico de  
Crassostrea virginica y C. rhizophorae.

Par cromosómico	Banda Telomérica superior	Banda Centromérica	Banda Telomérica inferior	TOTAL
1	+	+	+	3
2	+	+	+	3
3	+	+		2
4	+	+	+	3
5	+	+		2
6	+	+	+	3
7	+	+	+	3
8	+	+	+	3
9	+	+	+	3
10	+	+		2
TOTAL	10	10	7	27

El análisis comparativo de los cariotipos del híbrido de Crassostrea virginica y C. rhizophorae indica que:

La morfología de los cromosomas se modifica ligeramente, con alguna tendencia intermedia en cuanto a la posición de los centrómeros. No obstante, la clasificación formal de sus pares es similar a la de C. virginica.

#### SATELITES.

Se constató la presencia de satélites como un marcador citogenético estable, conspicuo, característico del par 2, tanto en C. virginica, C. rhizophorae como en el híbrido. En todos los casos, los satélites y telómeros superiores del par 2 son heterocromáticos.

#### BANDAS C.

En el híbrido las bandas heterocromáticas "C" se presentan en forma consistente en telómeros superiores y regiones centroméricas. En C. virginica las bandas teloméricas superiores están ausentes en los pares 9 y 10 mientras que en C. rhizophorae sólo el par 10 carece de banda centromérica.

La presencia de bandas C en el telómero inferior para la especie Crassostrea rhizophorae se registra en los cromosomas 4, 6, 7 y 9 (submetacéntricos).

En Crassostrea virginica, en los pares 4, 7, y 9 (submetacéntricos) y en los pares 1, 3, 5, 6, y 10 (metacéntricos). En el híbrido se presentan en los pares 2, 4, 7 y 9 (submetacéntricos) y en los pares 1, 6, y 8 (metacéntricos).

El total de bandas determinado en cada cariotipo fueron: 26 bandas en C. virginica, 22 en C. rhizophorae y 27 bandas en el híbrido (Tablas 17 y 18).

Las similitudes y diferencias tipificadas en cada uno de los pares cromosómicos de C. virginica, C. rhizophorae y el híbrido reflejan lo siguiente: ( Fig. 18 ).

Par cromosómico 1:

C. virginica y el híbrido presentaron 3 bandas: telomérica superior, centromérica y telomérica inferior, en C. rhizophorae no se encontró la telomérica inferior.

Par cromosómico 2:

En todos hay satélites. En cuanto a las bandas, en C. virginica y C. rhizophorae son teloméricas superiores y centroméricas. En el híbrido, además de presentarse las mismas bandas que en los progenitores, hay una banda más, la telomérica inferior.

Par cromosómico 3:

En *C. virginica* se encontraron las bandas telomérica superior, centromérica y telomérica inferior. En *C. rhizophorae* y el híbrido son telomérica superior y centromérica, no encontrándose la banda telomérica inferior.

Par cromosómico 4:

En los progenitores y el híbrido la ubicación de las bandas fue consistente en ambos telómeros y centrómero.

Par cromosómico 5:

En *C. rhizophorae* y el híbrido se localizaron bandas en el telómero superior y en la región centromérica. En *C. virginica* además de la telomérica superior y la centromérica, se encontró la banda telomérica inferior.

Par cromosómico 6:

La ubicación de las bandas fue consistente para los progenitores y el híbrido en los telómeros superiores e inferiores y en la región centromérica, observándose que para *C. rhizophorae* este par es submetacéntrico.

Par cromosómico 7:

En los progenitores y el híbrido, la ubicación de las bandas hetecromáticas es consistente en el telómero superior, región centromérica y en el telómero inferior.



Par cromosómico 8:

Los progenitores presentaron bandas en el telómero superior y en el centrómero, mientras que en el híbrido se encontró una banda más: la telomérica inferior.

Par cromosómico 9:

Los progenitores tienen 2 bandas y en ambos se ubicaron: una en la región centromérica, otra en el telómero inferior. En el híbrido se encontraron esta última y una banda en el telómero superior.

Par cromosómico 10:

C. virginica y el híbrido presentaron el mismo número de bandas, pero en diferentes posiciones: para C. virginica se ubicaron en el centrómero y telómero inferior; para el híbrido en el telómero superior y en la región centromérica.

En C. rhizophorae se ubicó una sola banda telomérica superior.

## Número de Bandas "C"

Par cromosómico	<u>C. virginica</u>	<u>C. rhizophorae</u>	híbrido
1	3	2	3
2	2	2	3
3	3	2	2
4	3	3	3
5	3	2	2
6	3	3	3
7	3	3	3
8	2	2	3
9	2	2	3
10	2	1	2
TOTAL	26	22	27

Tabla número 17 . CUADRO COMPARATIVO DEL NUMERO DE BANDAS "C" EN LOS PROGENITORES Y EL HIBRIDO.

1m	2sm	3m	4sm	5m
C.v 3b: ts, c, ti	C.v 2b: *ts, c	C.v 3b: ts, c, ti	C.v 3b: ts, c ti	C.v 3b:ts, c, ti
H 3b: ts, c ti	H 3b: *ts, c, ti	H 2b: ts, c	H 3b: ts c, ti	H 2b:ts, c
C.r 2b: ts, c	C.r 2b: *t.s.c	C.r 2b: ts, c.	C.r 3b: ts c ti	C.r 2b:ts, c

6m	7sm	8m	9sm	10m
C.v 3b: ts, c, ti	C.v 3b: ts, c, ti	C.v 2b: ts, c	C.v 2b:c,ti	C.v 2b:c. ti
H 3b: ts, c, ti	H 3b: ts, c, ti	H 3b:ts, c, ti	H 3b:ts, c,ti	H 2b: ts, c
	C.r 3b: ts, c, ti	C.r 2b: ts, c	C.r 2b c, ti	C.r 1b: ts,

Sm  
C.r 3b: ts, c, ti

Tabla 18 . Cuadro comparativo de bandas "C" por pares cromosómicos en los progenitores y el híbrido ( ts = telomérico superior, c = centromérico, ti = telómero inferior \* = satélite ).  
C. v = C. virginica . C. r = C. rhizophorae y H = híbrido

En Crassostrea virginica en los pares 4, 7 y 9 (submetacéntricos) y en los pares 1,3,5,6, y 10 (metacéntricos). En el híbrido se presentan en los pares 2,4,7, y 9 (submetacéntricos) y en los pares 1,6, y 8 (metacéntricos).

El total de bandas determinado en cada cariotipo fueron: 26 bandas en C. virginica, 22 bandas en C. rhizophorae y 27 en el híbrido (tablas 17 y 18 ).

Las similitudes y diferencias tipificadas en cada uno de los pares cromosómicos de C. virginica, C. rhizophorae y el híbrido reflejan lo siguiente (tabla 18 ) :

Par cromosómico 1:

C. virginica y el híbrido presentaron 3 bandas: telomérica superior, centromérica y telomérica inferior; en C. rhizophorae no se encontró la telomérica inferior.

Par cromosómico 2:

En todos hay satélites. En cuanto a las bandas, en C. virginica y C. rhizophorae son teloméricas superiores y centroméricas.

En el híbrido, además de presentar las mismas bandas que los progenitores, hay una banda más la telomérica inferior.

## DESCRIPCION DE BANDAS Nor EN EL HIBRIDO (Lám. 10).

## Par cromosómico 1:

Este par presentó 2 bandas, la primera en la región centromérica con un tamaño aproximado de 9.83% que parece ser primaria y la segunda banda en los brazos largos (q) con un tamaño de 24.24%, la cual fue definida tentativamente como primaria.

## Par cromosómico 2:

Presenta 2 bandas, una está ubicada en los telómeros superiores y otra en la región centromérica, sus tamaños son de 17.84% y 42.42% aproximadamente, la primera es secundaria y la segunda es primaria.

## Par cromosómico 3:

No presentó bandas.

## Par cromosómico 4:

Tiene 2 bandas, una telomérica superior con un tamaño aproximado de 21.50% y otra centromérica de 25.06%, son secundaria y primaria respectivamente.

## Par cromosómico 5:

Este par presenta una sola banda en el brazo corto, con un tamaño de 30.13% aproximadamente, es una banda secundaria.

Par cromosómico 6:

No presentó bandas.

Par cromosómico 7:

No presentó bandas.

Par cromosómico 8:

Tiene una única banda en los brazos superiores con un tamaño de 30.86% aproximadamente, es primaria.

Par cromosómico 9:

No presentó bandas.

Par cromosómico 10:

No presentó bandas.

En general el cariotipo del híbrido presentó bandas Nor en los pares: (Figura 13 y Tabla 19)

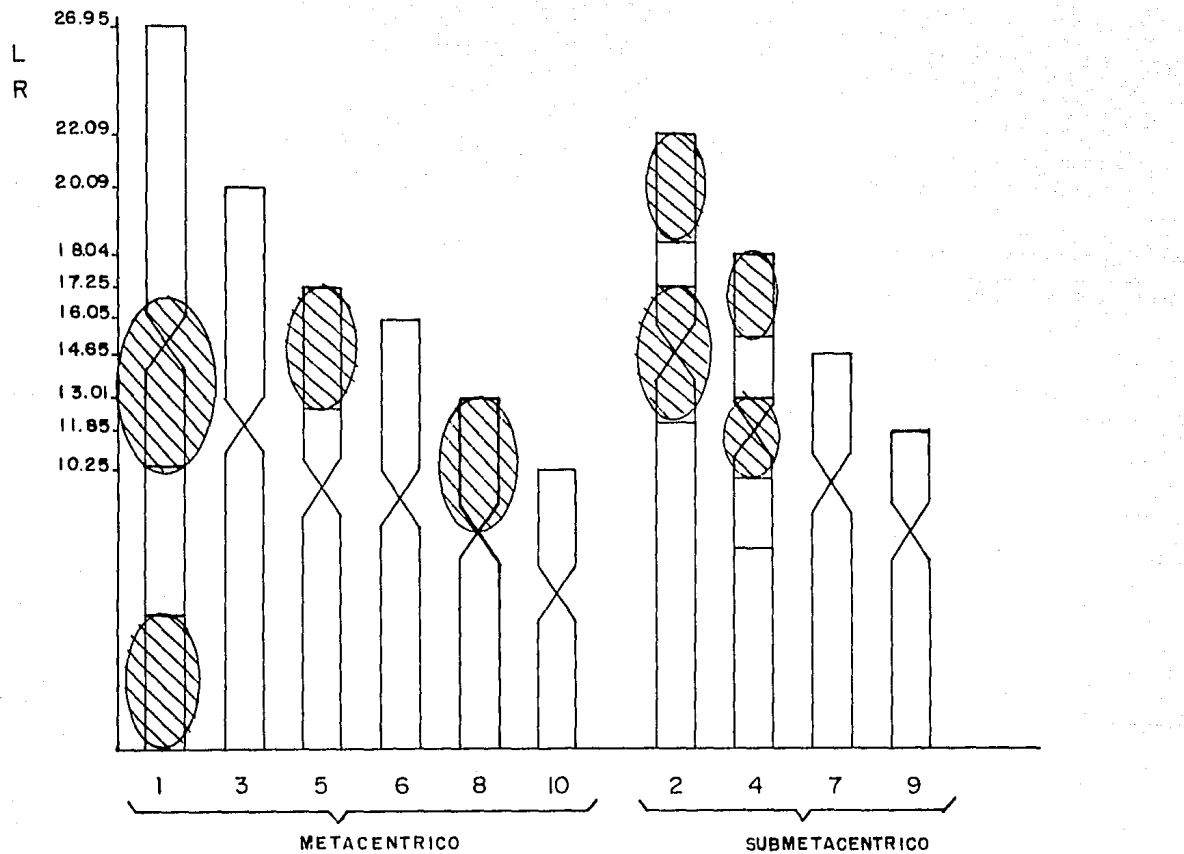
Par 1 (2 bandas), 5 y 8 (1 banda) metacéntricos; y en los pares 2 y 4 submetacéntricos (2 bandas).

La ubicación de las bandas Nor tiende a ser en los extremos superiores de los brazos cortos (p), como en los pares: 5,8,2, y 4.

En la región centromérica de los pares 1, 2, y 4.

Y sólo en un par se encontró una banda en el brazo largo (q): par cromosómico 1.

FIGURA 13 . PATRON DE BANDAS Nor DEL HIBRIDO  
INTERESPECIFICO DE Crassostrea virginica y  
C. rhizophorae.



PAR CROMOSONICO



PAR CROMOSOMICO	BANDAS Nor	UBICACION
1	1	región centromérica primaria
	1	telómero inferior primaria
2	1	telómero superior secundara
	1	región centromérica primaria
3	-	
4	1	telómero superior secundaria
	1	región centromérica primaria
5	1	telómero superior secundaria
6	-	
7	-	
8	1	telómero superior primaria
9	-	
10	-	
TOTAL BANDAS	8	

Tabla 19 . Número y distribución de bandas Nor en el  
 cariotipo del híbrido de *C. virginica* v.s.  
*C. rhizophorae*.

## DISCUSION

## CARIOTIPOS NORMALES.

Los valores estándar de los cariotipos de los progenitores del híbrido interespecífico: Crassostrea virginica y C. rhizophorae fueron comparados con los reportados por otros autores para estas mismas especies (Rodríguez-Romero et al, 1978 y 1979), encontrándose que en ambas especies el número diploide  $2n = 20$ , es el característico para el género Crassostrea y la clasificación de los cromosomas para Crassostrea virginica y C. rhizophorae tiene una sola diferencia notable en el par seis, metacéntrico para la primera y sub-metacéntrico para la segunda.

Las especies progenitoras analizadas comparten la Laguna de Términos; está es una área geográfica que sirve como un punto de intersección entre ambas, en donde cada especie se ha adaptado a las condiciones ecológicas particulares de su habitat, dado que esta laguna se comunica con el mar, mediante dos bocas abiertas permanentemente, situadas cerca de los extremos de la misma, existiendo un flujo de aguas marinas que entra por la Boca de Puerto Real y sale por la Boca del Carmen ( Mancilla y Vargas, 1980).

En el interior, el agua de mar que proviene del Golfo se mezcla con aguas dulces aportadas por los ríos Candelaria, Palizada y Chumpan y dan origen a un estrato horizontal de salinidad, cuyos valores más altos se observan en la franja costera adyacente a la costa interna de la isla del Carmen. con un decremento marcado

hacia la porción continental, presentándose valores intermedios en la parte central de la laguna, y los valores mas bajos en el área influenciada por los ríos. Las especies de Crassostrea, ocupan las regiones de la laguna con valores extremos, C. virginica cercana a la desembocadura de los ríos y C. rhizophorae restringida a la zona de manglar en la región de mayor salinidad y en particular en la Isla del Carmen (García-Cubas, 1978), esta especie ha sido ubicada por otros autores en el área del Estero Pargo (Day y Ley-Lou, 1982), el cual presenta un comportamiento hidrológico tal que se ocasiona la presencia de altas salinidades. (Figura 14 y 15).

En general puede decirse que estas dos especies en la Laguna de Términos, se encuentran condicionadas por factores ambientales como la velocidad de corrientes y la salinidad entre otros, que funcionan como una barrera ecológica dinámica que limita la libre dispersión evitando la mezcla de organismos y de células sexuales de ambos grupos, obstaculizando el libre intercambio de genes entre los organismos de estas poblaciones.

Aunque existen numerosos estudios relacionados con la biología y taxonomía de estas especies, desde hace mucho tiempo se ha planteado la interrogante respecto si Crassostrea virginica y C. rhizophorae son especies diferentes o simplemente razas fisioló-

gicas, dado que los criterios que aporta la morfología externa de los organismos y sus rasgos anatómicos han provocado controversias ( Guilding, 1828; Stauber, 1947 y 1950b; Loosanoff y Nomejko, 1951; Menzel, 1973; Burocker, 1983; y De la Rosa-Velez y Rodríguez-Romero, 1988 ).

De los resultados del estudio del cariotipo del híbrido aquí descrito, se determinó que su número cromosómico ( $2n = 20$ ) es igual al de los progenitores y constituye una evidencia de que existe complementariedad citogenética de óvulos y espermatozoides interespecíficos y de que los conjuntos cromosómicos paterno y materno se unen y sus genes se expresan armónicamente, al menos en los primeros estadios larvarios, ya que no se presentan alteraciones numéricas ni aberraciones en la expresión genética que conducen al desarrollo anatómico-fisiológico coherente de la larva del híbrido a partir de la fecundación. Esto implica, también, que experimentalmente no existe aislamiento reproductivo entre C. virginica y C. rhizophorae y que no hay diferencias citogenéticas que puedan relacionarse con la presencia de especies diferentes. Los cromosomas del híbrido son metacéntricos y submetacéntricos, como es característico en el género Crassostrea y la clasificación de sus pares cromosómicos es la misma que en C. virginica; la comparación de los índices centroméricos ( I.C ), (Figura 6 ) , indica que los valores de los pares cromosómicos del híbrido están por debajo de los valores de los progenitores, excepto en sus pares seis (metacén

trico) y siete (submetacéntrico), en donde son valores intermedios a los de Crassostrea virginica y C. rhizophorae.

Por lo anterior, se puede afirmar que filogenéticamente es tas dos especies de Crassostrea se encuentran tan estrechamente re lacionadas que desde el punto de vista citotaxonómico, no se pueden reconocer como especies distintas, ya que no existen diferencias su ficientes entre el cariotipo normal de los progenitores y del hí brido interespecífico, que indiquen la presencia de entidades taxo nómicas distintas.

Al respecto, los estudios previos de citogenética han sugerido que no existen dos especies distintas sino que más bien se trata de grupos poblacionales que deben ser considerados dentro de una misma especie. No obstante, no se descarta la posibilidad de que exista ya el inicio de un proceso de especiación (Loosanoff y Nomejko, 1951), aun cuando en el presente no se manifieste el aislamiento reproductivo "in vitro" por acción del aislamiento geográfico que puede ocasionar la hidrología de dicha laguna, acorde con el mecanismo de especiación geográfica propuesto por Mayr (1970) en el cual juega un papel importante la existencia de variaciones ecológicas y naturales que impiden el intercambio libre de genes a nivel interpoplacional en forma homogénea en este cuerpo de agua. Por otra parte, las evidencias de la existencia de razas fisiológicas en Crassostrea está bien documentada. En virtud de la extensa distribución geográ-

fica de la especie C. virginica, se sabe que ésta ha desarrollado razas fisiológicas que responden de diferente manera ante las variaciones de temperatura y turbiedad del medio en funciones, tales como la reproducción (Loosanoff y Nomejko, 1951) o la alimentación (Menzel, 1955); Loosanoff y Tommers (1948) consideraron que las diferencias en la capacidad de alimentación registradas se deben a la presencia de estas razas fisiológicas

#### Ciclo reproductor.

El aislamiento reproductor entre estas especies es de tipo estacional; el ciclo de diferenciación gonádico es diferente en cada una de las especies aquí estudiadas, C. virginica presenta un ciclo gonádico anual con tres periodos reconocidos: la fase indiferenciada (poco frecuente) de mayo a agosto; la fase de gametogénesis de marzo a octubre; la fase de reproducción es aparente durante casi todo el año, siendo más intensa de marzo a mayo y de septiembre a noviembre; la fase de postdesove en junio y julio y los desoves masivos anuales son dos, uno corto en primavera (marzo-abril- mayo) y otro más intenso y prolongado en el otoño (septiembre a diciembre) que coincide con el abatimiento de la salinidad. (Rogers y García-Cubas, 1981).

Los estudios histológicos realizados en C. rhizophorae hasta el momento ( este estudio), indican un desfase estacional

de los ciclos reproductivos entre *C. virginica* y *C. rhizophorae*, lo que corrobora la presencia de modulaciones fisiológicas en respuesta adaptativa a las condiciones particulares de cada microhábitat. Ese proceso adaptativo está motivado por las características de los parámetros ambientales, en especial la temperatura y salinidad, que cuando son óptimas, influyen en la gametogénesis y en los desoves masivos; cuando la salinidad es baja, disminuye el alimento disponible, y aparentemente esto promueve la expulsión de gametos sexuales. El aporte de nutrientes es favorecido por la turbidez, que fluctúa a causa de variación en el aporte fluvial.

**FIGURA 14. DISTRIBUCION DE LA SALINIDAD (‰)  
EN LA LAGUNA DE TERMINOS (Invierno)**



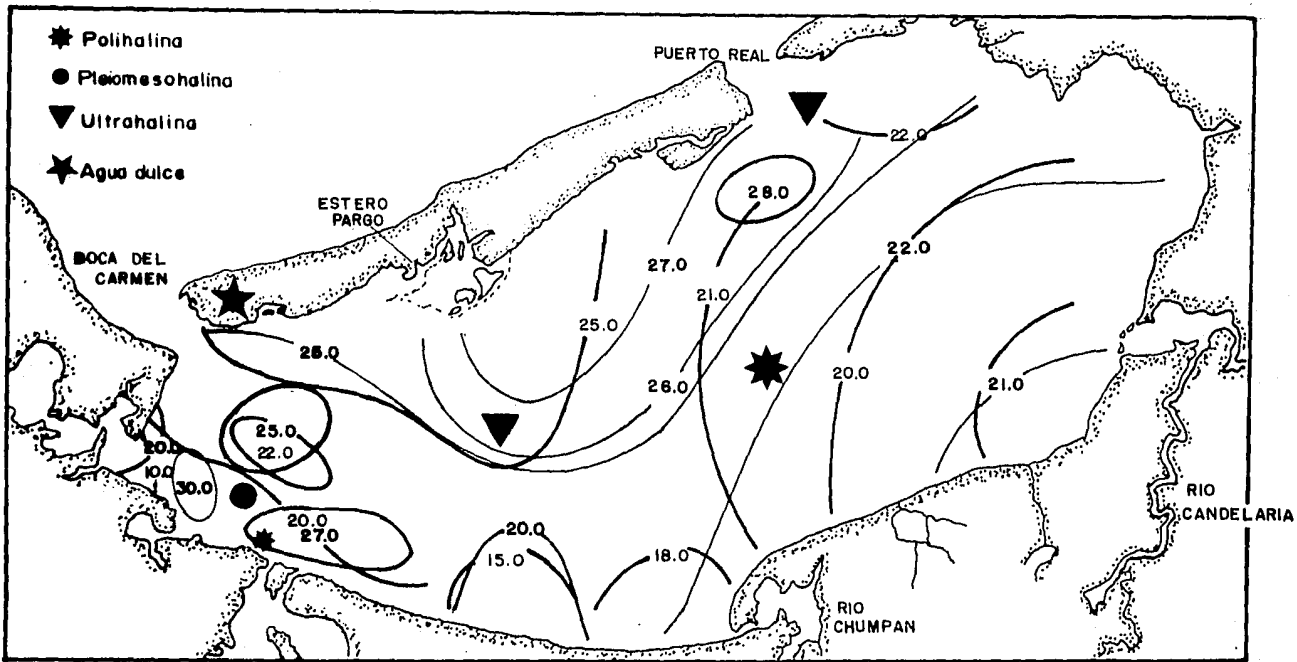
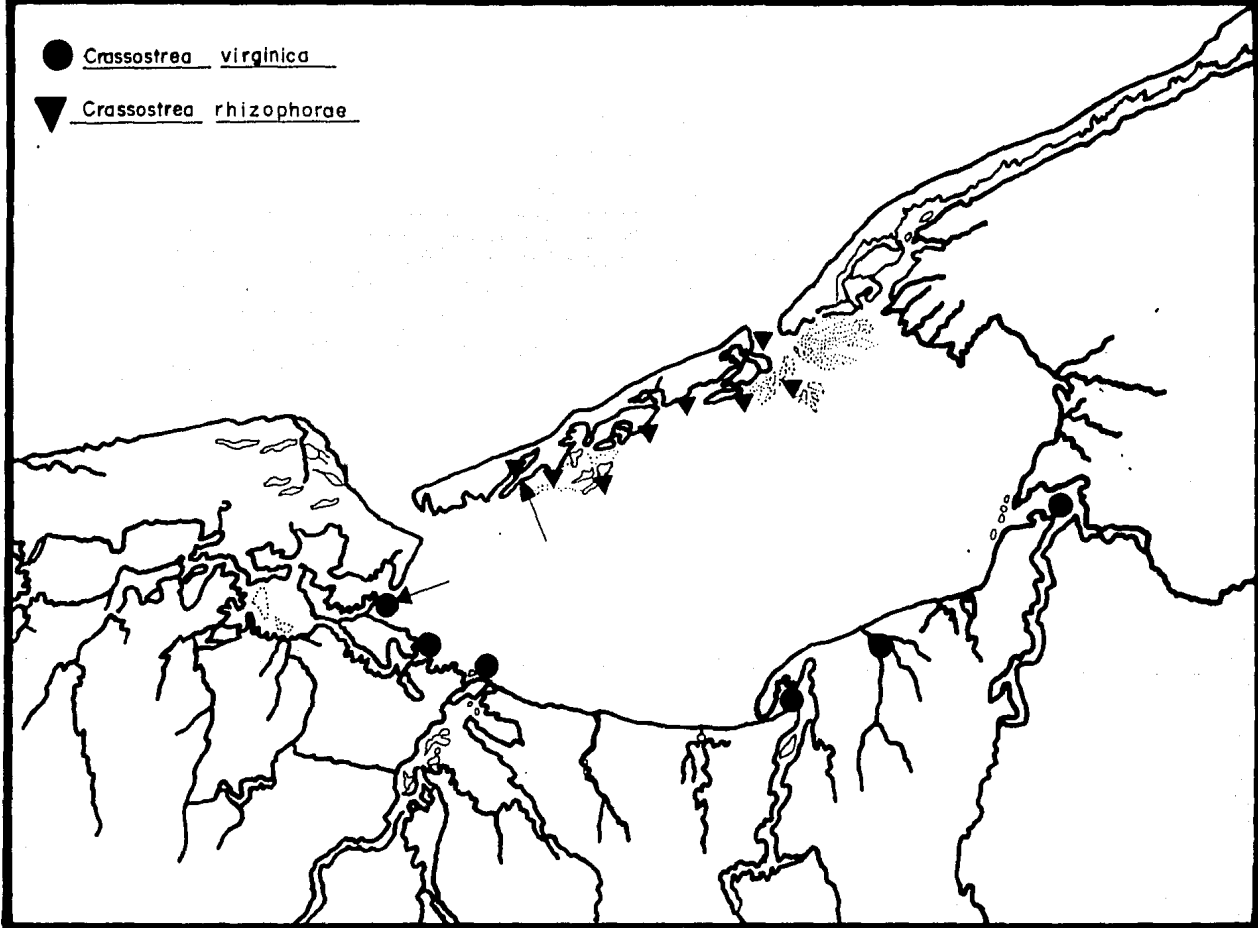


FIGURA 15 . DISTRIBUCION DE Crassostrea virginica y  
C. rhizophorae EN LA LAGUNA DE TERMINOS.

● Crassostrea virginica

▼ Crassostrea rhizophorae



## BANDAS G.

Con el objeto de establecer a un nivel más fino diferencias, similitudes y cambios ocurridos en la evolución adaptativa de los cariotipos de Crassostrea virginica y C. rhizophorae consideradas en la literatura como especies diferentes, se analizaron los patrones de bandas "G" que caracterizan los cromosomas de los progenitores y el híbrido, y se ordenó un cuadro comparativo de cada uno de ellos (tabla 20).

Los resultados son interpretados con un criterio estrictamente citogenético y su principal objetivo es coadyuvar al conocimiento citotaxonomico profundo de las modificaciones en el genoma como consecuencia de posibles procesos ecológicos que caracterizan el medio en que Crassostrea virginica y C. rhizophorae prosperan, con los siguientes elementos teóricos:

El genoma eucarionte está constituido por DNA, el cual comprende dos clases de secuencias:

- 1) secuencias de copias únicas presentes en subunidades individuales representadas una vez en un genoma.
- 2) secuencias de DNA redundante presentes en unidades repetitivas que alcanzan hasta millones de copias en un genoma.

Los cromosomas de eucariontes están químicamente constituidos por DNA asociado con proteínas histónicas básicas, proteínas no histónicas: ácidas y neutras y enzimas de la maquinaria nuclear; la organización del DNA a lo largo del cromosoma no es uniforme,

existen regiones con secuencias de copias únicas que representan genes estructurales y regiones que corresponden a secuencias de copias altamente repetitivas involucradas en la regulación genética, a las que se han denominado eucromatina y heterocromatina (Heitz, 1931) respectivamente. Las técnicas de bandeado G dan como resultado una tinción diferencial de los sitios eucromáticos a lo largo de los cromosomas, así como el reconocimiento de los pares homólogos, esta determinación es de fundamental importancia porque, como lo señala Comings (1977), ello permite identificar los sitios donde se encuentran los genes específicos o pequeños rearrreglos cromosómicos que pueden relacionar con efectos manifiestos en los fenotipos que hagan posible el mapeo cromosómico.

Asimismo, es la base para la cuantificación de daño genético a nivel cromosómico que ocurre por alteraciones ecológicas como la contaminación y la sobre explotación de los bancos ostrícolas, entre otras, el conocimiento profundo del cariotipo de estos organismos puede ser de gran utilidad, puesto que los ostiones son organismos altamente filtradores sésiles, que están expuestos a un continuo intercambio con el medio.

La contaminación es sin duda el principal factor de alteración de las condiciones ecológicas que interactúan con los organismos acuáticos. Ríos importantes como los de Coatzacoalcos y Grijalva transmiten desechos domésticos de las ciudades de Villahermosa y Coatzacoalcos, y desechos industriales de las refinerías y complejos industriales de Cosoleaque, Pajaritos, Cárdenas, y

Minatitlán, ocasionando que el grado de contaminación llegue a niveles de alto riesgo como lo han mostrado estudios recientes (Botello y Paez, 1984), y han impactado los bancos ostrícolas de la región.

Por otra parte, el antecedente de la entrada de hidrocarburos al medio costero por accidentes y operaciones ordinarias en esta industria, como el ocurrido en el pozo petrolero Ixtoc I, entre junio de 1979 a marzo de 1980 en estas áreas (Campeche y Coatzacoalcos), en el que se derramaron alrededor de 3.2 a 4 millones de barriles de crudo (Bermudez, 1984) causando daños no completamente evaluados hasta el momento (Márquez, 1984; Botello, 1978 y 1979; Botello y Mandelli, 1978b; Rosales et al. 1979 y Atlas, 1979)

Recientemente, en la zona de donde provienen los organismos de este estudio, se reportó un derrame accidental del pozo petrolero Yun I, en noviembre de 1987.

El conocimiento preciso de los niveles de contaminación, dispersión y efectos acumulativos a largo plazo y su impacto sobre los cromosomas de los organismos que allí habitan, dará criterios firmes para el establecimiento de controles adecuados y programas de manejo; ya que aunque se ha reconocido la toxicidad de contaminantes comunes, como hidrocarburos policlorinados e hidrocarburos fósiles en concentraciones importantes en algunas áreas costeras de nuestro país, (Botello, 1978 y 1979 y Atlas, 1979) aún no se tienen estudios citogenéticos que eviden-

cien el impacto de estos compuestos sobre la herencia de los organismos debido a la falta de indicadores o centinelas biológicos que reúnan las cualidades suficientes para, desde el punto de vista de la genética toxicológica ambiental, evaluar el impacto de mutágenos presentes en los cuerpos de agua costeros.

Tales indicadores deben ser sésiles, filtradores comunes de la región costera y a los cuales, se les conozca a fondo sus características citogenéticas, especialmente cariotípicas. Estos organismos pueden ser los ostiones del género Crassostrea, los cuales reúnen los requisitos antes asentados y cuya citogenética se enriquece con los resultados de este estudio, mediante el conocimiento a fondo de su cariotipo, patrones de bandas y estabilidad cromosómica (FAO, 1976).

Una explicación para justificar la estabilidad manifiesta en el cariotipo de los progenitores y del híbrido interespecífico de las especies de Crassostrea aquí estudiadas, es factible si cumple dos condiciones: que los reacomodos estructurales sean diminutos y en una escala subdivisible, en donde no obstante, la selección natural ha proveído los ajustes homeostáticos suficientes para que no se alteren los conjuntos cromosómicos, conservando la adaptabilidad de estos organismos a su medio, con variaciones ambientales (Rodríguez-Romero, 1981).

Los ostiones del género Crassostrea se enfrentan desde edad muy temprana a un medio cambiante, que en un momento dado

puede ser adverso para el desarrollo óptimo en una etapa del crecimiento de estos organismos. En efecto, en C. virginica y C. rhizophorae, tanto los óvulos como los espermatozoides, se encuentran influídos por el medio acuático directo desde antes de la fertilización.

Los resultados obtenidos por el bandedo "G" en los progenitores de Crassostrea virginica, C. rhizophorae y su híbrido interespecífico (tabla 13), fueron comparados con los de C. virginica de Tabasco (Rodríguez-Romero et al. 1978) observándose que:

- el número de bandas G para Crassostrea virginica de Campeche es de 82, mientras que en la población de Tabasco se reportaron 87 bandas.
- Crassostrea rhizophorae de Campeche tiene 67 bandas.
- el híbrido interespecífico presentó 70 bandas.
- los patrones de bandas "G" del híbrido y C. rhizophorae tienen mayor similitud y, en general, se puede observar que el número de bandas no varía en sumo grado, indicando que hay una cercanía citogenética entre los progenitores y su híbrido.

Diferencias y similitudes. (tablas 13 y 20 ).

En los pares 1 y 10 metacéntricos se observó que, tanto los progenitores como su híbrido, tienen menor variación en su número de bandas. Los pares 2, 4, 7, 9, submetacéntricos y 8 metacéntrico difieren en los progenitores y el híbrido en una sola banda.



En el par 5 metacéntrico, la diferencia es de dos bandas, mientras que en el par 3 metacéntrico es de cuatro bandas.

Los progenitores tienen el mismo número de bandas en los pares 2 submetacéntrico y 8 metacéntrico. El híbrido y *C. rhizophorae* tienen igual número de bandas en los pares: 3 metacéntrico, 7 submetacéntrico e incluso en el par 6 que es metacéntrico para el híbrido y submetacéntrico para *C. rhizophorae*; este par metacéntrico para *C. virginica* reportó una banda más.

En cuanto al análisis comparativo de *C. virginica* de Tabasco y Campeche, el único par donde se encontró igual número de bandas fue en el 8 metacéntrico; los pares restantes reportaron mayor o menor número de bandas.

Estas mínimas diferencias en el número de bandas, bien pueden ser atribuidas a consideraciones técnicas:

- 1) Falta de definición en las fotografías de los cromosomas, sobre todo en los más pequeños, en los cuales la definición en el número de bandas podría resultar dudosa.
- 2) La designación en la tonalidad de bandas, en relación con el grado de despiralización que encierra cierto grado de subjetividad.

Tabla núm. 20 Cuadro comparativo de Bandas G  
de Crassostrea virginica, C. rhizophorae  
y su híbrido por par cromosómico.

## CROMOSOMA I (m)

		<u>C. virginica</u>		<u>C. rhizophorae</u>		híbrido			
No.	banda color	RL. %	No.	banda color	RL. %	No.	banda color	RL. %	
	1	obscura	12.30						
	2	gris	7.36	1	obscura	13.35	1	obscura	12.69
	3	obscura	7.80	2	gris	6.98	2	gris	8.31
	4	gris	8.82	3	obscura	10.46	3	obscura	9.64
	5	obscura	7.66	4	gris	7.82	4	gris	9.03
CENTROMERO	6	gris	7.36	5	obscura	11.33	5	obscura	8.31
	7	obscura	8.38						
	8	clara	7.94	6	gris	8.38	6	gris	7.41
	9	gris	8.10	7	obscura	10.15	7	obscura	8.65
	10	obscura	9.26	8	obscura	8.85	8	gris	7.13
	11	gris	6.37	9	obscura	8.78	9	obscura	8.00
	12	clara	3.75	10	gris	6.70	10	gris	10.09
	13	obscura	4.81	11	obscura	7.14	11	obscura	10.69

## CROMOSOMA 2 (sm)

<u>C. virginica</u>			<u>C. rhizophorae</u>			h híbrido		
No.		RL	No.		RL	No.		RL
banda	color	%	banda	color	%	banda	color	%
1	obscura	12.95						
2	gris	9.43	1	obscura	15.28	1	gris	15.24
3	obscura	7.60	2	clara	9.01	2	clara	10.68
			3	obscura	10.39			
0 4	gris	9.14	4	gris	10.85	3	gris	12.45
5	obscura	18.87	5	obscura	9.66	4	clara	11.28
6	gris	9.39	6	gris	9.17	5	obscura	10.49
7	obscura	10.53	7	clara	9.93	6	gris	14.48
8	gris	10.14	8	gris	7.64	7	obscura	11.09
9	obscura	7.70	9	clara	11.00	8	clara	6.33
10	gris	12.19	10	obscura	7.03	9	obscura	7.92

## CROMOSOMA 3 (m)

	<u>C. virginica</u>			<u>C. rhizophorae</u>			híbrido		
	No. banda	color	RL %	No. banda	color	RL %	No. banda	color	RL %
CENTROMERO	1	obscura	11.33						
	2	gris	7.94						
	3	obscura	6.69	1	obscura	17.89	1	obscura	15.57
	4	gris	10.94	2	gris	11.43	2	gris	14.45
	5	obscura	9.85	3	obscura	12.91	3	clara	10.94
	6	gris	9.30	4	gris	12.91	4	obscura	14.67
	7	obscura	10.74	5	clara	10.84	5	gris	13.08
	8	gris	5.82	6	obscura	10.73	6	obscura	10.55
	9	obscura	7.66	7	gris	12.17	7	gris	9.39
	10	gris	4.37	8	obscura	11.07	8	clara	11.42
	11	obscura	8.75						
	12	gris	6.56						

## CROMOSOMA 4 (sm)

	<u>C. virginica</u>			<u>C. rhizophorae</u>			híbrido		
	No. banda	color	RL %	No. banda	color	RL %	No. banda	color	RL %
CENTROMERO	1	obscura	14.72				1	obscura	13.86
	2	gris	11.15	1	obscura	23.15	2	clara	9.36
	3	obscura	21.10	2	clara	16.06	3	obscura	12.23
							4	gris	13.86
	4	gris	11.15	3	obscura	17.01	5	obscura	12.79
	5	obscura	11.54	4	gris	11.48	6	gris	13.05
	6	gris	8.00	5	obscura	15.35	7	clara	8.54
	7	clara	8.36	6	gris	16.91	8	obscura	7.04
8	obscura	13.94				9	gris	9.23	

## CROMOSOMA 5 (m)

<u>C. virginica</u>			<u>C. rhizophorae</u>			híbrido			
No.		RL	No.		RL	No.		No.	
banda	color	%	banda	color	%	banda	color	%	
CENTROMERO	1	obscura	18.9	1	obscura	22.60	1	obscura	18.06
	2	gris	14.16	2	gris	16.29	2	gris	14.34
	3	obscura	12.09	3	clara	17.26	3	obscura	11.88
	4	gris	12.91				4	gris	14.58
	5	obscura	11.01	4	obscura	14.59	5	obscura	17.25
	6	gris	11.17	5	gris	12.73	6	gris	12.51
	7	obscura	9.86	6	obscura	16.53	7	clara	11.37
	8	gris	3.28						
	9	clara	6.57						

## CROMOSOMA 6

<u>(m)</u> <u>C. virginica</u>			<u>(sm)</u> <u>C. rhizophorae</u>			<u>(m)</u> híbrido			
No.		RL			RL			RL	
banda	color	%	banda	color	%	banda	color	%	
CENTROMERO	1	obscura	17.88			1	obscura	21.68	
	2	clara	14.82	1	obscura	21.18	2	clara	15.42
	3	gris	14.21	2	gris	14.54	3	obscura	12.91
	4	obscura	17.65	3	obscura	19.77			
	5	gris	14.82	4	gris	14.22	4	gris	
	6	obscura	14.08	5	clara	12.34	5	obscura	13.92
	7	gris	6.50	6	obscura	12.39	6	gris	22.03

## CROMOSOMA 7 (sm)

	<u>C. virginica</u>			<u>C. rhizophorae</u>			híbrido		
	No. banda	color	RL %	No. banda	color	RL %	No. banda	color	RL %
CENTROMERO	1	obscura	15.94						
	2	gris	9.21	1	obscura	26.67	1	obscura	18.30
	3	obscura	10.51	2	gris	14.54	2	gris	16.95
	4	gris	14.84				3	obscura	17.78
	5	obscura	13.30	3	obscura	19.77	4	gris	15.94
	6	gris	6.14	4	gris	14.22	5	obscura	15.66
	7	obscura	30.73	5	obscura	12.39	6	gris	15.33
				6	gris	12.39			

## CROMOSOMA 8 (m)

	<u>C. virginica</u>			<u>C. rhizophorae</u>			híbrido		
	No. banda	color	RL %	No. banda	color	RL %	No. banda	color	RL %
CENTROMERO	1	obscura	18.45						
	2	gris	15.96	1	obscura	29.73	1	obscura	25.35
	3	obscura	15.06	2	gris	19.97	2	gris	11.64
	4	gris	11.31	3	obscura	20.99	3	obscura	16.66
	5	obscura	10.34	4	gris	18.38	4	gris	16.36
	6	gris	14.41	5	obscura	13.07	5	obscura	17.63
	7	clara	14.41				6	gris	12.34

## CROMOSOMA 9 (sm)

		<u>C. virginica</u>		<u>C. rhizophorae</u>			híbrido		
		No.	RL	No.	RL	No.	RL		
		banda	%	banda	%	banda	%		
CENTROMERO	1	obscura	25.45	1	obscura	25.09	1	obscura	24.57
	2	gris	22.8	2	gris	16.85	1	gris	19.94
	3	obscura	22.68	3	obscura	21.68	3	obscura	26.22
	4	gris	23.51	4	gris	17.78	4	gris	29.25
	5	obscura	5.53	5	obscura	18.53			

## CROMOSOMA 10 (m)

		<u>C. virginica</u>		<u>C. rhizophorae</u>			híbrido		
		No.	RL	No.	RL	No.	RL		
		banda	%	banda	%	banda	%		
CENTROMERO	1	obscura	27.43	1	obscura	36.06	1	obscura	31.76
	2	gris	19.85	2	gris	22.29	2	gris	20.84
	3	obscura	30.42						
	4	gris	22.27	3	obscura	28.31	3	obscura	21.33
				4	gris	13.35	4	gris	26.06

## BANDAS C.

De acuerdo con el estado actual del conocimiento en Citogenética, se acepta que la información genética no está únicamente contenida en las regiones eucromáticas de los cromosomas y que existen también las regiones heterocromáticas, las que a diferencia de la eucromatina están constituidas por secuencias altamente repetitivas de ADN, aparentemente inerte, y de replicación tardía y cuya presencia al principio no se relacionó con la variabilidad y evolución de los organismos superiores (Brown, 1966).

Sin embargo, las evidencias aportadas por estudios bioquímicos en algunos mamíferos, sugieren que estas regiones de DNA repetitivo comprenden:

- 1) secuencias que son codificadas a RNAr, RNAt y proteínas histónicas (MacGregor, 1978).
- 2) secuencias no codificadoras que pueden ser transcritas al RNA pero no se traducen.
- 3) secuencias no codificadoras que jamás se transcriben a RNA

La presencia de estas secuencias en la heterocromatina motivó numerosas investigaciones sobre sus implicaciones en la expresión genética; por ejemplo su participación en el apareamiento y segregación cromosómica (Cooper, 1964; Appels y Peacock, 1978; Peacock y Miklos, 1973), variación de efecto de posición (Spofford, 1976), rearreglos cromosómicos (Kurnitt et al. 1978; Holmquist y Dancis, 1979), especiación (White, 1978; John y Miklos, 1979; Flavell, 1986; MacGregor y Sessioni, 1986; Gill y Chen, 1987;



Mc Lain et al. 1987), y recombinación (Miklos y Nankivell, 1970).

Heitz en 1928, definió con heterocromatina a las regiones de los cromosomas que permanecen condensadas durante la interfase y la profase temprana, formando cromocentros o nucleololos falsos. Existen dos tipos de heterocromatina: la facultativa, que puede revertirse al estado eucromático en ciertos periodos en respuesta a condiciones fisiológicas y del desarrollo, por ejemplo la heterocromatina localizada en el cromosomas sexual X y la heterocromatina constitutiva, que está condensada permanentemente y que en la mitosis está localizada comunmente alrededor del centrómero de todos los cromosomas en la mayoría de las especies estudiadas hasta ahora. (Hansen, 1973; y Avers, 1983).

La presencia y ubicación de la heterocromatina es una característica del complemento cromosómico que ayuda a tipificar el cariotipo de eucariontes (Arrighi y Hsu, 1970). Hay numerosos reportes sobre la ocurrencia natural de variación cuantitativa de heterocromatina en plantas y animales. (Drets et al. 1978; Barvestock, 1982; John, 1981; John y King, 1977, 1983; Pathak y Arrighi, 1973; Patton y Sherwood, 1982; Schweizer, 1980; Weimarck, 1975; Newton, 1985; Wallace y Newton, 1987; Cortes y Escalza, 1986; Dille, 1987).

Recientemente se ha encontrado que la localización de la heterocromatina en diferentes sitios a lo largo de los cromosomas,

en sus telómeros y centrómeros, puede realizarse mediante el estudio de diferentes patrones de bandas "C" de los organismos y cuya variación a nivel citológico se interpreta como un fenómeno general del genoma de eucariontes.

El polimorfismo cromosómico que usualmente persiste en las poblaciones naturales de organismos superiores se puede presentar por dos fenómenos: rearrreglos cromosómicos y diferencias cuantitativas en heterocromatina constitutiva. Por otra parte, se cree que los patrones heterocromáticos tienen algún significado adaptativo en diferentes microambientes (Dobzhansky, 1970) y que el polimorfismo tiene implicaciones en la diferenciación de especies. (Chang y Carson, 1985 ; John y Miklos, 1979).

Todo lo anterior ha conducido a considerar los patrones de bandeo "C" como necesarios en los estudios de taxonomía y relaciones evolutivas de muchos organismos. Hasta el momento se han realizado numerosos estudios evolutivos, como los de Gili y Kimber (1974b) y Hadlacky y Belea (1975); y para la detección de alteraciones a la morfología normal de los cromosomas como translocaciones (Lukaszewski y Gustafson, 1983). deleciones (Singh y Robbelen, 1979; Gustafson, 1983), entre otras.

No obstante, la utilidad de los estudios heterocromáticos o de bandeo "C" para apoyar el estudio de la taxonomía y relaciones evolutivas de los organismos, en los ostiones del género Crassostrea, no han sido realizadas investigaciones al respecto,

lo que determina que esta línea de trabajo tenga un gran potencial para contribuir al mejor conocimiento de la dinámica de la expresión genética de los ostiones a través del tiempo y a la configuración de un criterio más amplio sobre los problemas taxonómicos y a la adecuada identificación de las especies.

Como una aportación al conocimiento de los patrones de distribución heterocromática en los ostiones del género Crassostrea, se realizó el estudio de bandas "C" en C. virginica y C. rhizophorae, y su híbrido interespecífico (tabla 17), y se encontró que:

- el número total de bandas C para C. virginica fue de 26
- C. rhizophorae tiene 22 bandas
- y en su híbrido fueron 27 bandas.

Diferencias y similitudes.

De los patrones de bandas heterocromáticas de los progenitores y su híbrido, comparados en la tabla 18, se observó que existen similitudes entre C. virginica y el híbrido en el par 1 metacéntrico, presentando bandas en ambos telómeros y en el centrómero; entre C. rhizophorae y el híbrido en los pares 3 y 5 metacéntricos, presentando bandas telomérica superior y centromérica; entre los progenitores C. virginica y C. rhizophorae en los pares 2 submetacéntrico y 8 metacéntrico, con bandas telomérica superior y centromérica y en el par 9 submetacéntrico, las bandas telomérica inferior y centromérica; y entre los progenitores y su híbrido en los pares 4 y 7 submetacéntricos y en el par 6 donde se encontraron

ambas bandas teloméricas y centromérica, otra característica común fue la presencia de satélites en el par 2 submetacéntrico.

La presencia de las bandas heterocromáticas es consistente en los centrómeros y telómeros superiores, mientras que en los telómeros inferiores no lo son en todos los pares cromosómicos.

Aunque se encuentran algunas diferencias en los cariotipos de los grupos analizados, éstas pueden deberse en parte a diferentes causas que quizá enmascaren la diferencia real, destacan por un lado las variaciones por impresiones técnicas y por otro los eventos dinámicos citológicos como la heterocromatización propuesta por Ohno (1970), quien indica que la condición heterocromática es un estado temporal de inactividad, asumido por un cromosoma o una región cromosómica dada, por ejemplo: en el núcleo interfaásico de las células somáticas de hembras de mamíferos se presenta el corpúsculo de Barr que representa uno de los dos cromosomas X en estado condensado mientras que esto no sucede en el macho. En el humano, el par de cromosomas sexuales XX que determina el sexo femenino, presenta estados temporales de heterocromatización en los cuales la heterocromatina inerte puede pasar al estado de cromatina funcional o eucromatina. A esta se le ha llamado heterocromatina facultativa. (Ohno et al. 1959).

En el caso de los ostiones no se ha determinado la presencia de cromosomas sexuales hasta el momento (Kobayashi, 1954:

Ahmed y Sparks, 1967; Longwell et al. 1967; Menzel, 1968b; Nadamitsu y Shinkawa, 1973; Ieyama e Inaba, 1974; Ieyama, 1975; Rodríguez-Romero et al. 1978 y 1979; Thiriote-Quievreux y Ayraud, 1982; Thiriote-Quievreux, 1984).

En el presente trabajo tampoco se observó heteroploidismo que indique la presencia de cromosomas sexuales. Este resultado es consecuente con la impresión de otros especialistas que consideran a los moluscos bivalvos evolutivamente más sencillos que los gasterópodos, en los cuales los cariotipos de algunas especies ya presentan cromosomas sexuales citogenéticamente diferenciados (Rodríguez-Romero, 1981).

Función de la heterocromatina en la evolución de los cariotipos.

El material genético en los cromosomas permanece más o menos constante en condiciones normales, excepto si ocurren mutaciones génicas en los pares de bases del DNA, recombinaciones ó alteraciones cromosómicas como: deleciones, translocaciones, inversiones, movimientos robertsonianos (fusión-escisión) entre los cromosomas homólogos. De los anteriores eventos, son los rearrreglos por movimientos robertsonianos son los que más contribuyen a la evolución en animales (Keith, 1977; Hirokami, 1978) y, tanto en plantas como en animales, se detectó que la heterocromatina tiene un papel importante en el rompimiento cromosómico, porque los genes implicados parecen no ser comunes (Jackson, 1971).

Los sucesos de rompimiento y rearreglo dependen en gran parte de la presencia de DNA repetitivo (Yoon y Richardson, 1978). Jackson (1971) propone que para los rearreglos estructurales, las rupturas deben darse a través de porciones no funcionales del material genético ó de un cistrón funcional duplicado en otra parte del genoma.

Por otra parte, Caspersson et al. (1972); San Román y Bobrow (1973); Jacobs et al. (1974); Nakagome y Chiyo (1976); Yu et al. (1978), proponen que no todos los cromosomas estructurales tendrán igual número de rearreglos y los puntos de ruptura que no son azarosos ocurren a lo largo de los cromosomas y frecuentemente en los centrómeros y en las regiones terminales. Al respecto consideran que los cromosomas con rearreglos primitivos tienen muy pocos sitios heterocromáticos, con relación a los cromosomas con rearreglos recientes (John y King, 1977).

#### Heterocromatina y morfología cromosómica.

Un incremento en la longitud total estándar de un cromosoma, puede ser atribuible a un aumento en la dotación de heterocromatina presente en una célula dada. Esta cantidad extra de heterocromatina puede extenderse a otras células en la descendencia por efectos de reproducción celular. La cantidad extra de cromatina será distribuida y empaquetada en regiones selectas del cromosoma y el resultado final podrá ser una longitud mayor del mismo. (Holmes y Shaw, 1971).

Duffey (1972), ha propuesto que la adición de heterocromatina en los telómeros superiores es dada por adición y delección; y en los telómeros inferiores por inversiones que resultan en la variación de la longitud total. (Arrighi y Hsu, 1971).

Aunque en *C. virginica* y *C. rhizophorae* y su híbrido se en contraron diferencias en los telómeros inferiores, estas son mínimas.

Entre los objetivos de este trabajo no estaba determinar los movimientos cromosómicos ni la cantidad total de heterocromatina por cariotipo.

Los resultados obtenidos por Carson (1982a) y Chang y Carson (1985), concuerdan con lo propuesto.

No existen diferencias citogenéticas en especies estrechamente relacionadas, aunque un cambio citogenético no es un prerrequisito para la especiación. En contraste, muchos taxa citogenéticamente diferentes son virtualmente similares en el grueso de su morfología (Baimai, 1988). De modo que los cambios cromosómicos están fuertemente relacionados con el grado de especiación (White, 1978).

En los ostiones de este estudio existe similitud cariotípica de sus patrones heterocromáticos, que indican una estrecha relación de ambas especies denotada por su híbrido interespecífico, y las diferencias son mínimas; se desconoce cual es el tiempo para que sean acumuladas diferencias y conduzcan a un cambio significativo en sus cariotipos. De acuerdo con el criterio citogenético, no

difica el criterio citotaxonómico de especie.

Aunque recientemente se han hecho estudios de la variabilidad genética por medio de electroforesis de isoenzimas en diferentes poblaciones de Crassostrea virginica a lo largo del Golfo de México (De la Rosa-Velez y Rodríguez-Romero, 1988), estos estudios no han sido extendidos a la especie Crassostrea rhizophorae, para permitir la evaluación del grado parentesco o separación en términos de distancia y similitud genética, quedando aun por estudiarse cuál es la dinámica de evolución de estas especies, sus procesos de adaptación, así como su plasticidad en respuesta al medio, que proporcione información sobre su evolución.

A pesar de que encontraron algunos campos cromosómicos con un número cromosómico mayor al caracterizado para las especies, estos no fueron frecuentes y se cree que pueden ser resultado de artefactos durante el desarrollo de la técnica de "Goteo y Secado al Aire", ocasionando por ejemplo, que dos campos cromosómicos que daran intercalados en un solo campo, de tal modo que no podría considerarse poliploides naturales.

En cuanto a la ocurrencia de crossing over entre los cromosomas, se observaron algunas figuras que presentaron el arreglo característico de los cromosomas homólogos en diacinesis y el proceso de terminalización con evidencia de quiasmas, como anteriormente fuera descrito por Rodríguez-Romero et al. (1978).



Por otra parte, aunque el planteamiento de los modelos de especiación en relación a la diferencia heterocromática, parecen especulativos son un dato citogenético que indica algunas implicaciones de la heterocromatina en la afinidad filogenética y en consecuencia con la divergencia evolutiva.

## BANDAS Nor.

La técnica de tinción amoniacal desarrollada por Goodpasture y Bloom (1975) y Howell et al. (1975), ha sido usada con éxito en la detección específica de cistrones ribosomales activos para la transcripción en una amplia variedad de especies. (Miller et al. 1976a ; Tantravahi et al. 1976; Howell, 1977 y Ward, 1977). Asimismo, este procedimiento ha sido aplicado al estudio de bandas Nor, a las que se les ha definido como regiones del organizador nucleolar que codifican el RNA ribosomal y que adquieren relevancia a nivel citogénético porque facilitan el marcaje cromosómico.

En general el DNA satélite se distribuye en todos los cromosomas pero a veces se localiza preferentemente (Peacock et al. 1977), por ejemplo en la heterocromatina del cromosoma y del hombre (Cooke, 1976), en ratón el DNA satélite tiene de 9 y 18 a 240 pares de bases (Southern, 1975 y Biro et al. 1975) que se encuentran restringidas a regiones Nor definidas en los cromosomas y en el nucleolo (Jackson, 1971). Pardue y Gall (1970), localizaron este DNA satélite de ratón en las regiones heterocromáticas de los centrómeros; mientras que en Drosophila se ha sugerido que las bandas Nor están confinadas a los cromosomas sexuales (Verma et al. 1986; Bicudo y Richardson, 1977.

Aunque se han realizado estudios de bandeo cromosómico Nor en otras especies, no existe alguno en ostiones del género Crassostrea.

En este trabajo, se obtuvo el patrón de bandas Nor del híbrido interespecífico de dos especies: C. virginica y C. rhizophorae (tabla 19 y fig. 13 ), en el cual se presentaron bandas Nor en los pares cromosómicos 1, 5, y 8 metacéntricos y en los pares 2 y 4 submetacéntricos; las bandas Nor encontradas fueron cinco primarias y tres secundarias en relación con el grado de condensación menor o mayor, respectivamente y designadas como sitios principales de producción de ácidos nucleicos a las primeras, y sitios con alguna actividad de síntesis a las segundas.

En cuanto a la presencia de regiones Nor activas en los cromosomas, Miller et al (1976) observó que están significativamente involucradas con sucesos de translocaciones robertsonianas, indicando que el nucleolo juega un papel en su origen.

En híbridos de plantas y animales se propone que la variada actividad de los genes ribosomales provee información sobre las relaciones dominantes o epistáticas de la regulación de Nors (Wilkinson, 1944; Wallace y Langridg, 1971; Eliceri y Green, 1969; Cassidy y Blackler, 1974 y Bicudo y Richardson, 1977). En entrecruzamientos recíprocos con una fuerte influencia materna, frecuentemente se encuentra una dominancia de actividad de Nors (Bicudo y Richardson, 1977 y Ohno, 1969), y en las células híbridas de dos especies diferentes: hombre y ratón hay una supresión de RNAr de una de las especies involucradas afectada por los cromosomas específicos que son segregados en línea celular (Marshall et al. 1975 y Croce et al, 1977).

La supresión completa o parcial de la transcripción del DNA ribosomal de un genoma progenitor, inducida por la presencia de otros genes, se ha reportado en muchos híbridos interespecíficos (Cuñaño et al. 1986).

Los estudios citogenéticos del híbrido basados en el análisis de su cariotipo normal, patrones de bandeo G y C, no han reflejado la existencia de una gran distancia entre los progenitores Crassostrea virginica y C. rhizophorae, lo cual permite pensar que no existen eventos de sobredominancia y probablemente las bandas Nor del híbrido representan las bandas Nor de sus progenitores, estudios posteriores lo avalarán.

Desde el punto de vista citogenético y citotaxonomico, en este estudio se concluyó lo siguiente:

- 1) Los cariotipos de Crassostrea virginica y C. rhizophorae aquí estudiados se ajustan a los ya reportados por otros autores (Rodríguez-Romero et al., 1978 y 1979).
- 2) Citológicamente no se observan diferencias morfológicas en las células sexuales entre Crassostrea virginica y C. rhizophorae.
- 3) La fertilización interespecífica fue espontánea en las condiciones de laboratorio descritas.
- 4) El desarrollo embrionario del híbrido reportó la obtención de morúlas-gastrulas en un intervalo de 7 hrs. aproximadamente. Entre las etapas del desarrollo embrionario no se reflejaron alteraciones ni deformaciones.
- 5) Los cromosomas de origen paterno y materno que integran el cariotipo del híbrido se comportan en forma complementaria.
- 6) El cariotipo del híbrido presenta al igual que las especies progenitoras, 20 cromosomas birrameados, metacéntricos y submetacéntricos en pares homólogos y sus valores de índice centromérico (I.C.) y Relación de brazos (A.R.) se clasifican igual que los de Crassostrea virginica; no obstante los números del I.C. indicaron una posición intermedia entre los valores de C. virginica y C. rhizophorae.

- 7) Los patrones de Bandas "G" para Crassostrea virginica observados en este estudio indican 82 bandas; para Crassostrea rhizophorae 67 bandas y para el híbrido 70 bandas.

El patrón de bandas "G" de Crassostrea virginica es similar al reportado en la población de Tabasco para esta misma especie, presentando 87 bandas (Rodríguez-Romero et al. 1979).

Además los patrones de bandas G revelaron igual número de bandas en :

- a) los progenitores, en los pares 2 y 8 metacéntricos
- b) los progenitores y su híbrido en los pares 1 y 10 metacéntricos
- c) Crassostrea rhizophorae y el híbrido, en los pares 3 metacéntrico, 6 submetacéntrico y metacéntrico respectivamente y en el par 7 submetacéntrico.

En general, no existe gran variación en el número de bandas, las diferencias son mínimas y son debidas a adaptaciones propias de cada entidad taxonómica.

Todo ello hace concluir que existe una cercanía citogenética entre Crassostrea virginica y Crassostrea rhizophorae.

- 8) Los patrones de Bando "C" indican 26 bandas para Crassostrea virginica, 22 en Crassostrea rhizophorae y 27 bandas en el híbrido.

En general, la distribución de bandas C corresponde a telómeros y centrómeros, encontrándose algunos pares cromosómicos sin banda telomérica inferior, solo dos cromosomas sin banda telomérica superior y un par sin banda centromérica; estas diferencias mínimas corresponden a procesos de adaptación evolutiva de cada entidad.

Los patrones de bandas C son similares en :

- a) los progenitores, en los pares 8 metacéntricos y en los pares 2 y 9 submetacéntricos
- b) los progenitores y el híbrido, en los pares 4 y 7 submetacéntricos; en el par 6 metacéntrico para Crassostrea virginica y el híbrido, y submetacéntrico para Crassostrea rhizophorae.
- c) Crassostrea virginica y el híbrido en el par 1 metacéntrico.
- d) Crassostrea rhizophorae y el híbrido en los pares 3 y 5 metacéntricos.

Otra característica importante fue la presencia de satélites en los telómeros superiores del par 2, tanto en los progenitores como en su híbrido.

En general, existe gran similitud entre los patrones de bandas C de las entidades taxonómicas aquí estudiadas, que indican nuevamente una relación de parentesco muy estrecha entre Crassostrea virginica y Crassostrea rhizophorae, evidenciada en su híbrido.

Los estudios de Bando "G" y "C" indicaron una gran similitud entre los progenitores y su híbrido, lo que permite pensar que probablemente no existen elementos de sobredominancia en la actividad de Nors, y que las bandas Nor del híbrido descritas en este estudio, representan a las bandas Nor de Crassostrea virginica y Crassostrea rhizophorae.

- 9) En el patrón de Bandas "Nor" del híbrido, se encontraron 8 bandas distribuidas en cinco pares cromosómicos: 1, 5 y 8 metacéntricos y en los pares 2 y 4 submetacéntricos. De las cuales cinco son primarias, indicando sitios principales de producción de ácidos nucleicos y tres bandas secundarias que indican alguna actividad de síntesis.

En resumen, de los resultados obtenidos de esta investigación se puede concluir que los ostiones estudiados y reconocidos por otros autores como especies diferentes, se encuentran tan estrechamente emparentadas que no existen ele-



mentos de juicio citogenéticos para reconocerlos a este nivel como especies distintas. No obstante existen pequeñas diferencias que reflejan procesos adaptativos que pueden en alguna forma limitar el libre flujo genético entre estas entidades taxonómicas.

## R E C O M E N D A C I O N E S

Se sugiere extender los estudios aquí realizados a otras especies del mismo género, por ejemplo a Crassostrea cortezensis del Pacífico entre otras especies comerciales y comunes de las costas mexicanas, que permitan profundizar en el conocimiento de la genética, citología, taxonomía y filogenia del género Crassostrea.

1. Es recomendable establecer las bases técnicas para trabajar con células reproductoras de progenitores libres de contaminación.
2. Controlar las condiciones de crecimiento homogéneas, con variación de un solo parámetro, para evaluar su respuesta.
3. Realizar estudios que permitan conocer las respuestas fisiológicas de los organismos producidos en condiciones controladas y variables definidas en un sistema experimental, considerando los factores que afectan el desarrollo: temperatura, salinidad, pH, oxígeno, etc., en condiciones externas o internas y su impacto en algunos parámetros poblacionales como natalidad y tasa de mortalidad, por ejemplo.

Determinar si la larva del híbrido interespecífico avanza en su desarrollo normal hasta la maduración gonádica, comparando su desarrollo con testigos, de igual manera que en las especies progenitoras.

4. Realizar investigaciones que permitan conocer de los progenitores, lo siguiente: su productividad, defensas, adaptaciones, patrones de reproducción y potenciales bióticos.
  
5. Realizar investigaciones encaminadas a conocer qué pasa con el híbrido en los estadios más avanzados, cómo se desarrolla poblacionalmente, cómo es su heterosis y su estructura genética poblacional.
  
6. Realizar estudios citogenéticos relacionados con:
  - a) El intercambio de cromátidas hermanas con 5-bromodeoxyuridina (BUdR) que indica cual es la dinámica de recombinación de estos organismos.
  - b) Estudios de patrones de bandeo Q con mostaza de crinacrina u otros fluorocromos, en busca de los paquetes de genes sexuales intracromosómicos.
  - c) Estudios de citogenética molecular empleando enzimas de restricción para evaluar la expresión de los genes en este estudio.

## R E F E R E N C I A S

ABBOT, R.T., 1974. American Seashells. The Marine Mollusca of the Atlantic Pacific Coast of North America. Segunda ed. Van Nostrand Reinhold Co., New York. 666 p.

AHMED, M. y A.K, SPARKS, 1967. A preliminary study of chromosomes of two species of oyster (Ostrea lurida and C. gigas), J. Fish.Res. Biol. 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.

AL-AISH, M., 1969. Human chromosome morphology. I. Studies on normal chromosome characterization, classification and karyotyping. Can. Jour. Gen. and Cytol., 11:370-381.

ANDREWS, J., 1971. Sea shells of the Texas coast. University of Texas Press, Austin and London, San Antonio. 298 p.

ANONIMO, 1979. El Océano y sus recursos. ed. Progreso, Moscú, 165 p.

APPLES, R. y W.J, PEACOCK, 1978. The arrangement and evolution of highly repeated (satellite) DNA sequences with special reference to Drosophila. Inv. Rev. Cytol. Suppl., (8): 69-126.

ARRIGHI, F.E. y T.C. HSU, 1971. Localization of heterochromatin in human chromosomes. Cytogenetics, 10: 81-86.

ARTAVANIS, S. SCHEDL, P. TSCHUDI, C. PIRROTA, V. STEWARD  
y W. GEHRING, 1977. 5s Genes of Drosophila melanogaster.  
Cell, 12 (4): 1057-1067.

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

AVERS, J.C., 1983. Biología celular. Ed. Iberoamericana,  
México. 532 p.

BAIMAI, V., 1988. Constitutive Heterochromatin differentiation  
and evolutionary divergence of karyotype in Oriental  
Anopheles cellia Pacific. Science, 42 (1-2): 13-27.

BARNES, R.D., 1977. Zoología de Invertebrados. 2a. ed., Ed. Inter-  
americana, México. 826 p.

BARVESTOCK, P.R., 1982. Cytogenetics studies of Australian  
rodent, Uromys caudimaculatus a species showing extensive  
heterochromatin variation. Chromosoma (Berl), 84: 517-533.

BERMUDEZ, G., 1984. El oro negro empobrece las aguas. Información Científica y Tecnológica. C.D.N.A.C.Y.T., 6 (97): 15-20.

BICUDO, H.E.M. y R.H. RICHARDSON, 1977. Gene regulation in Drosophila mulleri, D. Arizonensis, and their hybrids: The nucleolar organizer. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74 (8): 3498-3502.

BIRO, P.A., A. CARR-BROW, E.M.SOUTHERN, y P.M.B. WALKER, 1975 Partial sequence analysis of mouse satellite DNA: evidence of short-range periodicities. J. Mol. Biol., 94 : 71-86.

BOSTOCK, C.J., S.CHRISTIE, y F.T. HATCH, 1976. Accessibility of DNA in condensed chromatin to nuclease digestion. Nature, 262: 516-519.

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. 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, México., Bull. Environ. Contam. Toxicol., 19 (2): 162-170.

BOTELLO, A.V. y F.O. PAEZ, 1984. Evaluación geoquímica del Río Coatzacoalcos y áreas adyacentes, 1982-1983. Inst. de Ciencias del Mar y Limnología, U.N.A.M., Reporte presentado al Centro de Ecodesarrollo.

BROWN, S.W., 1966. Heterochromatin. Science, 151: 417-425.

BRUTLAG, D.L., 1980. Molecular arrangement and evolution of heterochromatic DNA. Ann. Rev. Genet., 14: 121-144.

BUROCKER, N.E., 1975. Genetic variation in the Pacific oyster Crassostrea gigas. J. Fish. Res. Board. Can., 32: 2471-2477.

BUROCKER, N.E., 1979 . Population-genetics of the family Ostreidae 2. Interspecific studies of the genera Crassostrea y Saccostrea. Mar. Biol., 54 (2): 171-184.

BUROCKER, N.E., 1982. Allozyme variation in three nonsibling Ostrea species. J. Shellfish. Res., 2: 157-163.

BUROCKER, N.E., 1983. Population genetics of the American oyster Crassostrea virginica along the Atlantic Coast and the Gulf of Mexico. Mar. Biol., 75: 99-112.

CARSON, H.L., 1982a. Speciation as a mayor reorganization of polygenic balances. 411-433 p. In: Barigozzi, C. (ed). Mechanism of speciation. Alan' R. Liss., New York.

CASSIDY, D.M. y A.W., BLACKLER, 1974. Repression of nucleolar organizer activity in an interespecific hybrid of genus Xenopus. Dev. Biol., 41 (1): 84-96.

CASSPERSON. T., U. HAGLUND, B. LINDELL y L. ZECH, 1972. Radiation-induced nonrandom chromosome breakage. Expl. Cell. Res., 75: 541-543.

COMINGS, M.D., 1977. Chromosome banding and chromosomal proteins. Human Cytogenetics. ICN-UCLA. Symposia on Molecular and Celular Biology. VII: 65-74.

COOKE, H.J., 1976. Repeated sequence specific of human males. Nature, 262: 182-186.

COOPER, K.W., 1964. Meiotic conjuntive elements not involving chiasmata. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 52: 1248-1255.

CORTES, F. y P. ESCALZA, 1986. Analysis of different banding patterns and late replicating in chromosomes of Allium cape, A. sativum and A. nigrum. Genetica, 71: 39-46.



CROCE, C.M., A. TALAVERA, C. BASILICO y O.J. MILLER, 1977.

Suppression of production of mouse 28 ribosomal-RNA in mouse-hybrids segregation mouse chromosomes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74 (2): 694-697.

CUÑADO, N., M.C. CERMEÑO y J. ORELLANA, 1986. Nuclear organizer activity at meiosis in wheat-rye hybrid plants. Can. J. Genet. Cytol., 28 (2): 227-239.

CHANG, L.S. y H.L. CARSON, 1985. Metaphase karyotype identity in four homosequential Drosophila species from Hawaii. Can. J. Genet. Cytol., 27: 308-311.

DAY, Jr., J.W., R.H. DAY, M.T. BARREIRO, F. LEY-LOU y C. MADDEN, 1982. Primary production in the Laguna de Terminos, a tropical Estuary in the Southern Gulf of México, Lasserre P. and H. Postman (Eds.) Coastal Laggons. Oceanologica Acta, Vol. Spec. 5 (4): 269-276.

DE LA ROSA-VELEZ, J., 1986. Variabilidad Genética Poblacional en ostiones de la especie Crassostrea virginica del Golfo de México. Tesis Doctoral. Colegio de Ciencias y Humanidades. Centro de Ciencias del Mar y Limnología, U.N.A.M., 124p.

DILLE, J.E., 1987. Topographical changes in rye chromosome ultra structure caused by the C-Banding procedure. Can. J. Genet. Cytol., 29 (6): 817-822.

DIXON, D.R. y K.R. CLARKE, 1982. Sister chromatid exchange: A sensitive method for detecting damage causes by exposure to environmental mutagens in the chromosomes of adult Mytilus edulis. Mar. Biol. Lett., 3 (3): 163-172.

DOBZHANSKY, T., 1970. Genetics of the Evolutionary Process. New York. Columbia, 505 p.

DRETS, M.E., G.A. FOLLE y D.E. COMINGS, 1978. Mechanism of chromosome and nuclear changes induced by photo-oxidation and their relation to R-banding with C-antibodies. Chromosoma, 69: 101-112.

DUFFEY, P., 1972. Chromosome variation in Peromyscus: New Mechanism. Science, 176 (40-41): 1333-1334.

ELICERI, G.L. y H. GREEN, 1969. Ribosomal-RNA synthesis in human-mouse hybrids cells. J. Mol. Biol., 41: 253-260.

FAO, 1976. Manual of methods in aquatic environment research. Food and Agriculture Organization of United Nations. F.A.O., 150. 79 p.

FAO, 1982. Anuario estadístico de pesca, capturas y desembarques. Food and Agriculture Organization of United Nations. F.A.O., 54. 394 p.

FAO, 1985. Anuario estadístico de pesca, capturas y desembarques.

Food and Agriculture Organization of United Nations. F.A.O.,  
60. 461 p.

FOLTZ, D.W., 1986. Segregation and linkage of allozyme loci in pair cross of oyster Crassostrea virginica. Biochemical Genet., (11-12): 941-956.

FLAVELL, A., 1986. Repetitive DNA and chromosome evolution in plantas. Phil. Trans. R. Soc. London B., 312: 227-242.

FUGINO, K. y N. NAGAYA, 1977. Biochemical polymorphism in the Pacific oyster. I. Variants in myogin and esterases. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48 (8): 983-988.

GALTSOFF, P.S., 1964. The american oyster Crassostrea virginica (Gmelin). Fish. Bull. of the Fish wildlife Service, 64: 480.

GARCIA-CUBAS, A. y E. CHAVEZ-MARTINEZ, 1978. Desarrollo larvario del ostión Crassostrea virginica (Gmelin) en el sistema fluvio-lagunar Atasta-Pom, Campeche, 31 p. In: Resúmenes del VI Congreso Nacional de Oceanografía, Ensenada, B.C., México, 10 - 13 abril 1978. Ciencias Marinas, Univ. Autón. Baja California. 188 p.

GARCIA-CUBAS, A., 1981. Moluscos de un sistema lagunar tropical en el sur del Golfo de México. An. Ins. Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nal. Autón. México. Publ. Esp. 5: 1-182.

GARCIA-CUBAS, A., 1986. Elementos para la sistemática de las categorías superiores de moluscos Bivalvos y Gasterópodos marinos.

27-50. In: Mem. II Reun. Nal. Malacología y Conquiología, Villahermosa, Tabasco, México. Facultad de Ciencias. Univ. Nal. Autón. México, 380 p.

GILL, B.S. y G. KIMBER, 1974b. Giemsa C-banding wheat. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 71: 4086-4090.

GILL, B.S. y P.D. CHEN, 1987. Role of cytoplasm-specific introgression in the evolution of the polypoid wheats. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 6800-6804.

GOODPASTURE, C. y S.E.B. BLOMM, 1975. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver stain. Chromosoma (Berl), 53: 37-50.

GRASSLE, J.E., 1972. Species diversity, genetic variability and environmental uncertainty. In: B. Battaglia (Ed). Proc. 5<sup>th</sup> Mar. Biol. Symp., Piccin editore, Padua, 19-26 p.

GRIVEL-PIÑA, F. y R. ARCE, 1975. Configuración cotidiana en la Laguna de Términos, Camp. An. Inst. Geof. U.N.A.M., 21: 139-144.

GUILDING, L., 1828. Observations of the zoology of the Caribbean islands: Ostrea rhizophorae. Zool. J., 3 (12): 542.

- GUSTAFSON, J.P., A. LUKASZEWSKI y M.D. BENNETT, 1983. Somatic deletion and redistribution of télomeric heterochromatin in genus Secale and in Triticale. Chromosoma, 88: 293-298.
- HADLACZKY, C. y A. BELEA, 1975. C-banding wheat evolutionary cytogenetics. Plant. Sci. Lett., 4: 85-88.
- HANSEN, K.M., 1973. Heterochromatin (C-Bands) in bovine chromosome. Hereditas, 73: 65-70.
- HEDGECOCK, D. y N.B. OKASAKI, 1984. Genetic diversity within and between populations of American oysters (Crassostrea). Malacology, 25: 539-549.
- HEITZ, E., 1931. Nucleolen und chromosomen in der Gattung Viccia Planta, 15: 495-505.
- HIROTAMI, T.I., 1978. The origin of telocentric chromosomes in mammals. J. Theor. Biol., 71: 619-637.
- HOLDER, H. 1976. The Jurassic. In: Bernhard Grzimek (Ed.), Encyclopedia of Evolution., Van Norstrand Reinhold Co., New York. 292-340 p.

HOLDER, H. y R. SCHMIT-EFFING, 1976. The Triassic. The beginning of the Mesozoic Era. In: B. Grzmek (Ed), Encyclopedya of Evolution, Van Norstrand Reinhold Co., New York 254-280 p.

HOLMES, G.A. y W.M. SHAW, 1971 Polymorphism of human constitutive heterochromatin. Science, 174

HOLMQUIST, G.P. y B. DANCIS, 1979. Telomere replication kinetochore organizer and satellite DNA evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 4566-4570.

HOOD, L., J.H. CABELL y S.C.R. EIGINS, 1975. The organization expression and evolution of antibody genes and other multigene families. Ann. Rev. Genet., 9:305-353.

HOUILON, C. H., 1978. Sexualidad. Colección Métodos, Ed. Omega, Barcelona. 202 p.

HORZ, W., I. T. IGO-KEMENES, W. PFEIFER y H.G. ZACHAU, 1976. Specific cleavage of chromatin by restriction nucleases. Nucleic Acid. Res., 3: 3213-3226.

HOWELL, W.H., T.E. DENTON y J.R. DIAMOND, 1975. Differential staining of satellite regions of human acrocentric chromosomes. Experientia (Basel), 31: 260-262.

IEYAMA, H., 1975. Chromosome numbers of three species in three families of Pteriomorpha (Bivalvia). Venus. Japan. J. of Malacol., 34 (112): 26-32.

IEYAMA, H. y A. INABA, 1974. Chromosome numbers of ten species in four families of Pterimorpha (Bivalvia). Venus. Japan. J. of Malacol., 33 (3): 129-137.

JACKSON, R.C., 1971. The karyotype in systematics. Ann. Rev. Ecology and System., 2 : 327-368.

JACOBS, P.A., K.E. BUCKTON, C. CUNNINGHAM y M. NEWTON, 1974. An analysis of the break points of structural rearrangements in man. J. Med. Genet., 11: 50-64.

JOHN, B., 1981. Heterochromatin variation in natural populations. Chromosome Today, 7: 128-137.

JOHN, B. y M. KING, 1977. Heterochromatin variation in Cryptobothrus chrysophorus. I. Chromosome differentiation in natural populations. Chromosoma (Berl), 64: 219-239.

JOHN, B. y M. KING, 1983. Population cytogenetics of Atractomorpha similis. I. C-band variation. Chromosoma (Berl), 88: 57-68.

JOHN, B. y G. MIKLOS, 1979. Functional aspects of satellite DNA and Heterochromatin. Inv. Rev. Cytol., 58: 1-114.

JOHNSON, A.S., E.F. UTTER y K. NIGGO, 1972. Electrophoretic variants of aspartate aminotransferase and adductor muscle proteins in the native oyster (Ostrea lurida). Anim. Blood. Grps. Biochem. Genet., 3: 109-113

JONG, S.Y. y R.H. RICHARDSON, 1977. A mechanism rearranges the role of heterochromatin and ecotopic joining. Genetics, 88: 305-316.

KEEN, M.A., 1971. Sea shells of tropical West America. Marine Mollusks from Baja California. Mexico to Peru. 2nd ed., Stanford Univ. Press., California. 1064 p.

KEEN, M. y E. COAN, 1974. Marine Mollusca genera of western American on illustrated key. 2nd ed., Stanford Univ. Press., California 208 p.

KEITH, J., 1977. The role of Robertsonian change in karyotype evolution in higher plants. Chromosoma Today, 6: 121-129



KENNEDY, V., 1983. Sex ratios in oysters emphasizing C. virginica from the Chesapeake Bay, Maryland. Veliger, 25: 329-338.

KOBAYASHI, H., 1954. Über die der zwei Arten von japanischen Auster. Cytologia, 19 (4): 371-376.

KORRINGA, P., 1952. Recent advances in oyster biology the quarterly review of biology. The Williams y Willions Co. Baltimore. USA 27: 266-303.

KURNITT, D.M., F.L. BROWN y J.J. MAIO, 1978. Mammalian repetitive DNA sequences in a stable Robertsonian system. Characterization, in situ hybridizations and cross-species hybridization of DNAs in calf, sheep and goat chromosomes. Cytogenet. Cell. Genet., 21: 145-167.

LARA-DOMINGUEZ, A.L., A. YAÑEZ-ARANCIBIA y F. AMEZCUA, 1981. Biología y ecología del bagre Arius melanopus Gunter en: La Laguna de Términos, sur del Golfo de México (Pisces: Aridae). An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 8: 267-304.

LEVAN, A., K. FREDGA y A. AVERY SANDBERG, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Inst. of Genetics, Lund. Sweden and Roswell Park Memorial Inst. Buffalo. New York, USA: 201-220.

LIPCHITZ, L. y R. AXEL, 1976. Restriction endonuclease cleavage of satellite DNA in intact bovine nuclei. Cell, 9 (2): 355-364.

LONGWELL, A.C. y S.S. STILES, 1970. El sistema genético y el potencial reproductor de la ostra americana. Endeavour, 19 (107): 94-99.

LONGWELL, A.C., S.S. STILES y D.G. SMITH, 1967. Chromosome complement of american oyster Crassostrea virginica as seen in meiotic and cleaving eggs. Can. J. Genet. Cytol., 9: 845-856.

LOOSANOFF, V.I. y H.C. DAVIS, 1952. Temperature requirements for maturation of gonads of northern oysters. Biol. Bull. ( Woods Hole, Mass ), 103: 80-96.

LOOSANOFF, V.I. y C.A. NOMEJKO, 1951. Existence of physiologically different races of oyster, Crassostrea virginica. Biol. Bull. ( Woods Hole, Mass ), 103: 80-96.

LOOSANOFF, V.I. y F.D. TOMERS, 1948. Effect of suspended silt and other substances on rate of feeding oysters. Science, 106: 69-70.

LUKASZEWSKI, A.J. y J.P. GUSTAFSON, 1983. Translocation and modifications of chromosomes in triticale x wheat hybrids. Theor. Appl. Genet., 64: 239-248.

MACGREGOR, H.C., 1978. Some trends in the evolution of very large chromosomes. Phil Trans. R. Soc. Lond. B., 285: 309-318.

MACGREGOR, H.C. y S.K. SESSIONS, 1986. The biological significance of variation in satellite DNA and heterochromatin in newts of the genus *Triturus* evolutionary perspective. Phil Trans. R. Soc. London B., 312: 243-259.

MC LAIN, D.K., K.S. RAI y M.J. FRASER, 1987. Intraspecific and interspecific variation in the sequence and abundance of highly repeated DNA among mosquitoes of the *Aedes albopictus* subgroup. Heredity, 58: 373-381.

MANCILLA, P.M. y M.F. VARGAS, 1980. Los primeros estudios sobre la circulación y el flujo neto de agua a través de la Laguna de Términos Campeche. An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 7 (2): 1-2

MARQUEZ, M.D., 1984. Las lecciones del Accidente del Pozo Ixtoc I. Cuadernos sobre perspectiva Energética. 48. El Colegio de México.

- MARSHALL, C.J., S.D. HANDMAKER y M.E. BRANWELL, 1975. Synthesis of ribosomal-RNA in synkaryons and heterokaryons formed between human and rodent cells. J. Cell. Sci., 17 (2): 307-325.
- MAYR, E., 1970. Populations, species and evolution. Belknap Press., Harvard, Mass. 453 p.
- MEGLITSCH, P.A., 1978. Zoología de Invertebrados. Ed. H. Blume, Madrid, 906 p.
- MENZEL, R.W., 1955. Some phases of the biology of Ostrea equestris (Say) and a comparison with Crassostrea virginica (Gmelin). Publ. Ins. Mar. Univ., Texas, 4 (1): 69-151.
- MENZEL, R.W., 1968a. Cytotaxonomy of species of clams (Mercenaria) and oysters (Crassostrea). Proc. Symp. Mollusca. Mar. Biol. Assoc., India. Part I: 75-84.
- MENZEL, R.W., 1968b. Chromosome number in nine families of pelecypod mollusks. Nautilus, 82 (2): 45-63.
- MENZEL, R.W., 1973. Some species affinities in the oyster genus Crassostrea. Bull. Am. Malacol. Union. Inc., 38 (Abstract).

MIKLOS, G.L.G. y R.N. NANKIVELL, 1976. Telomeric satellite DNA functions in regulating recombination. Chromosoma, 56: 143-167.

MILLER, D.A., V.G. DEV, R. TANTRAHAHI y O.J. MILLER, 1976. Suppression of human nucleolus organizer activity in mouse-human somatic hybrids cells. Expl. Cell. Res., 101: 235-243.

MILLER, O.J., D.A. MILLER, V.G. DEV, R. TANTRAHAHI y C.M., CROCE, 1976. Expression of human and suppression of mouse nucleolus organizer activity in mouse-human somatic cell hybrids. Proc. natn. Acad. Sci. USA, 73: 4531-4535.

MILLER, O.J., D.A. MILLER, R. TANTRAHAHI y V.G. DEVI, 1978. Nucleolus organizer activity and the origin of Robertsonian translocations. Cytogenet. Cell. Genet., 20: 40-50.

MORE, D., Mt. MORE, J. POISEBAI y R. MONNET, 1966. Application de la méthode de "Disc-electrophoresis" a l' etude de proteines solubles des muscle adducteurs de Ostrea edulis L., C. angulata Lmk, Tapes decustus, L. Mytilus edulis L. et Mya arena. L. Bull. Soc. Pharm. Ovest., 8: 135-142.

MORE, P., Mt. MORE, J. POISEBAI y R. MONNET, 1971a. Electrophorèse en gel de polyacridamide des protéines solubles la partie transparente du muscle adducteur. C.R. Hebd. Sences. Acad. Sci. Ser. D. Sci. Nat. Paris., 272 (2): 222-225.

MORE, P., Mt. MORE, J. POSEIBAI y R. MONNET, 1971b. Electro-phorèse en gel de polycryamide des protéines solubles de la partie nacrée de muscle adducteur de l'espèce d'ostreï. C.R. Hebb. Sencés. Acad. Sci, Ser. D. Sci. Natl. Paris, 272(10): 904-906.

NADAMITSU, S. y H. SHINKAWA, 1973. On the chromosomes of the Japanese oyster (Crassostrea gigas). Chromosome Inf. Serv., 15: 29-30.

NAKAGOME, Y. y H. CHIYO, 1976. Non-random distribution of exchange points in patients with structure rearrangements. Am. J. hum. Genet., 28: 31-41.

NAKAMURA, H.K., 1985. A Review of Molluscan Cytogenetic Information based on the CISMOCH- Computerized Index System for Molluscan Chromosomes. Bivalvia, Polyplacophora and Cephalopoda. Venus, Jap. J. Malacol., 44 (2): 193-225.

NEWELL, D.N., 1965. Classification of the Bivalvia. Amer. Mus. Novitates, (2206): 1-25.

NEWTON, M.E., 1985. Heterochromatin diversity in two species of Pellia (Hepaticae) as revealed by C-, Q-, N-, and Hoechst 33258-banding. Chromosoma, 92: 378-386.

- NUMACHI, K., 1962. Serological studies of species and race in oysters American. Naturalist, 96 (889): 211-217.
- OGAWA, N y A.P. GALICIA, 1982. Dispersión de la mancha de petróleo del Pozo Ixtoc -I. Secretaría de Marina. Dirección General de Oceanografía. Informes sobre el accidente del Pozo Ixtoc -I. 1982, 35-67 p.
- OHNO, S. W.D. KAPLAN y R. KINOSITA, 1959. Formation of the sex chromatin by a single X-chromosomes in liver cells of R. norvegicus. Expt. Cell. Research 18: 415-418.
- OHNO, S., 1969 Heterospecific Genome Interaction. Ed. Defendi V. Wistar Institute Press, Philadelphia. P.A. 137-150 p.
- OHNO, S., 1970. Evolution by Gene Duplication. Ed. Springer Verlag New York. 160 p.
- PARDUE, M.L. y J.G. GALL, 1970. Chromosomal localization of mouse satellite DNA. Science, 168: 1356-2358.
- PATHAK, S. y F.E. ARRIGHI, 1973. Loss of DNA following C- banding procedures. Cytogenet. Cell. Genet., 12: 414-422.

PATTON, J.L. y S.W. SHERWOOD, 1982. Genome evolution in pocket gophers ( genus Thomomys ) I. Heterochromatin variation and speciation potential. Chromosoma (Berl), 85: 149-162.

PEACOCK, W. J. y G.L.C. MIKLOS, 1973. Meiotic drive in Drosophila: New interpretation of segregation distorter and sex chromosome systems. Adv. Genet., 17: 361-409.

PEACOCK, W.J., R. APPLES, P. DUSMUIR , A.R. LOHE y W.L. GERLACH, 1977. Highly repeated DNA sequences: chromosomal localization and evolutionary conservatism. In: Brinkley y Porter (Eds.) International Cell Biology. New York, Rockefeller Univ. Press, 494-506 p.

PHLEGER, F.B. y A. AYALA-CASTAÑARES, 1971. Processes and History of Terminos Lagoon, México. Bull. Am. Ass. Petrol. Geol., 55 (2): 2130-2140.

PURCHON, R.D., 1959. Phylogenetic classification of the lamellibranchia with special reference to the Protobranchia. Proc. Malacol. Soc. London, 33: 224-230.



RAGGHIANI, M., S. BUCCI-INNOCERI y S. MANCINO, 1977. An ammonia-cal silver staining technique for mitotic chromosome of Triturus (Urodela. Salamandridae). Experientia (Basel), 33: 1319-1321.

RAMIREZ, G.R. y M.L. SEVILLA, 1965. Las ostras de México. Datos bibliográficos y planeación de su cultivo. Publ. Inst. Nal. Inv. Biol. Pesq., (7): 1-96.

REEDER, R.H., D.D. BROWN, P.K. WELLAUER y I.B. DAWID, 1976. Patterns of ribosomal DNA spacer lengths are inherited. J. Mol. Biol., 105 (4): 507-516.

ROGERS, P. y A. GARGIA-CUBAS, 1981. Evolución gonádica a nivel histológico de Crassostrea virginica (Gmelin. 1791) del sistema fluvio-lagunar Pom-Atasta, Laguna de Términos, Camp., México. (Mollusca: Bivalvia) An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 8 (1): 1-314.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., 1981. Estudios cromosómicos y de expresión génica en moluscos bivalvos de importancia económica de las Costas Mexicanas. Tesis Doctoral. Fac. Ciencias, Univ. Nal. Autón. de México. 122 p.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., A. LAGUARDA, M. URIBE Y M.L. ROJAS, 1979 d.  
Distribution of "G" Bands in the karyotype of Crassostrea virginica.  
Venus. Jap. J. Malacol., 38(3): 180-184.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., M. URIBE y A. LAGUARDA, 1978. Cytogenetic  
study of an oysters population of the species Crassostrea virginica  
(Gmelin), from Coasts of Tabasco, México. Venus. Jap. J. Malacol.,  
37 (20): 83-86.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., M. URIBE y A. LAGUARDA, 1979a. The karyo-  
type of Crassostrea corteziensis (Hertlein, 1951) (Mollusca-  
Ostreidae). An. Centro de Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal.  
Autón. México, 6 (1): 19-24.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., M. URIBE y A. LAGUARDA, 1979b. Comparative  
analysis of the karyotype of two oysters species of the genus  
Crassostrea from Mexico: C. virginica and C. corteziensis. 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).  
Venus. Jap. J. Malacol., 38 (2): 135-140.

ROSALES, M.T., A.V. BOTELLO, H. BRAVO y F. MANDELLI, 1979.

PCBS and organochlorine insecticides in oysters from Coasts  
Lagoons of the Gulf of Mexico- Mexico. Bull. Envirom. Contam.  
Toxicol., 21: 652-656.

SAN ROMAN, C. y M. BOBROW, 1973. The sites of radiation induced-  
breakage in human lymphocyte chromosomes, determined by quinacrine  
fluorescence. Mut. Res., 18: 325-331.

SCHWEIZER, D., 1980. Fluorescent chromosome banding in plants.  
Applications mechanisms and implications for chromosome structure.  
61-72 p. In: D.R. Davies and R.A. Hopwood (Eds.) Proc 4<sup>th</sup> John  
Innes. John Innes Chanty, Norwich.

SECRETARIA DE PESCA, (1988, Noviembre). Anuario Estadístico de  
Pesca 1987. SEPESCA. México.

SHANG, X. M., R.C.JACKSON y H.T. NGUYEN, 1988. Heterochromatin  
diversity and chromosome morphology in wheats analyzed by the  
HKG banding technique. Can. J. Gen. and Cytol., 30: 956-965.

SIMPSON, J.G. Y R.C. GRIFFITH, 1967. The Fisheries resoucers of  
Venezuela and their explotación. Recursos y Explor. Pesq., 1:  
171-206.

- SINGH, R. y G. ROBBELEN, 1976. Giemsa banding technique reveals deletion within rye chromosomes in addition lines. Z., Pflanzenzuecht, 76: 11-18.
- SMITH, G.P., 1973. Unequal crossover and the evolution of multi-gene families. Cold. Spring Harbor. Symp. Quant. Biol., 38: 507-514.
- SMITH, G.P., 1976. Evolution of repeated DNA sequences by unequal crossover. Science, 191: 528-534
- SOUTHERN, E.M., 1975. Long range periodicities in mouse satellite DNA. J. Mol. Biol., 94: 51-69.
- SOUTHERN, E.M., 1980. Base sequence and evolution of guinea-pig alpha satellite DNA. Nature, 227: 794-798.
- SPORFFORD, D.J., 1976. Position effect variegation in Drosophila. In: Genetics and Biology of Drosophila. 1c (Ed.) Ashburner. E. Novistki. 995-1018.
- STAUBER, L.A. , 1947. On the possible physiological species in the oyster Ostrea virginica. (abstract). Anat. Rec., 99 (4): 59.
- STAUBER, L.A., 1950b. The problem of physiological species with special reference to oysters and oysters drills. Ecology, 31 (1): 109-118.
- STASEK, CH. R., 1963. Synopsis and discussion of the association of ctenidia and palps in the bivalved mollusca. Veliger, 6 (2): 91-97.

STENZEL, H.B., 1971. Oysters. In: Treatise on Invertebrate Paleontology (R.C. Mook. Ed.) Part No. 3: Mollusca (Bivalvia) 4-272 p.

TANTRAHAHI, R., D.A. MILLER, V.G. DEV y O.J. MILLER, 1976. Detection of nucleolus organizer regions in chromosomes of human, chimpanze, gorilla, orangutan and gibbon. Chromosoma, 56: 15-27.

TANTRAHAHI, R., D.A. MILLER y O.J. MILLER, 1977. Ag-staining of nucleolus organizer regions of chromosomes after Q, C, G, or R banding procedures. Cytogenet. Cell. Genet., 18: 364-369.

TATOFF, K.D., 1975. Redundant genes. Ann. Rev. Genet., 9: 355-385.

THIRIOT-QUIEVREUX, C., 1984. Les caryotypes de quelques Ostreidae et Mytilidae. Malacologia, 25 (2): 465-476.

THIRITOT-QUIEVREUX, C. y N. AYRAUND, 1982. Les caryotypes de quelques especies de bivalves et de gastéropodes marins. Mar. Biol., 70: 165-175.

TORIGOE, K., 1978. Electrophoretic variants of adductor muscle proteins in Crassostrea gigas. Venus. Jap. J. Malacol., 37 (4): 241-244.

VARLEY, J.M. y G.T.MORGAN, 1978. Silver staining of the lampbrush chromosomes of Triturus cristatus canifex. Chromosoma (Berl), 67: 233-244.

VARLEY, J.M. y HORNER, no publicado. In: Varley, J.M. y Morgan, 1978. Silver staining of the lampbrush chromosomes of T. cristatus canifex. Chromosoma (Berl), 67: 233-244.

VERMA, R.S., J. RODRIGUEZ, A. BABU, S. GHEMITIGANTI, M. COLEMAN, R.T. SILVER y H. DOSIK, 1986. Role of heterochromatin during preferential 9q; 22q translocation in chronic myelogenous leukemia. Can. J. Gen. and Cytol., 28 (6): 998-1002.

WALLACE, H. y W.H.LANGRIDG, 1971. Differential amphiplasty and control of ribosomal-RNA synthesis. Heredity, 27 (Aug): 1-13.

WALLACE, A.J. y M.E. NEWTON, 1987. Heterochromatin diversity and cyclic responses to selective silver staining in A. aegyptic (L). Chromosoma, 95: 89-95.

WALLISER, O.H. 1976. Invertebrate evolution in The Paleozoic Era.

In: B. Grzimek, Ed. Encyclopedia of Evolution. Von Norstrand Reinhold Co., New York., 162-216 p.

WARD, O.G., 1977. Dimorphic nucleolar organizer regions in the frog *Rana blaini*. Can. J. Gen. and Cytol., 19: 51-57.

WEIMARCK, A., 1975. Heterochromatin polymorphism in rye Karyotype as detected by the Giemsa C-banding technique. Hereditas, 79: 293-300.

WELLAUER, P.K., I.B. DAWID, D.D. BROW y R.H. REEDER, 1976.

Molecular basis for length heterogeneity in ribosomal DNA from Xenopus laevis. J. Mol. Biol., 105 (4): 461-486.

WHITE, M.J.D. 1978. Modes of Speciation. Ed. Freeman, S. Francisco, 150 p.

WILKINS, N.P. y N.F. MATHERS, 1973. Enzyme Polymorphism in the European oyster. Ostrea edulis L. Anim. Blood. Grps. Biochem. Genet., (4): 41-47.

WILKINSON, J., 1944. The cytology of *Salix* in relation to its taxonomy. Ann. Bot. (London), 8: 269-284.

YÁÑEZ-ARANCIBIA, A. y J.W. DAY, 1981. Ecological characterization of Terminos Lagoon, a tropical lagoon estuarine system in the southern Gulf of Mexico. Proceedings. International Symp. on coastal lagoons, Bordeaux, France, 8-14 Sep, 191: 247-261.

YÁÑEZ-CORREA, A., 1963. Batimetría, salinidad, temperatura y distribución de los sedimentos recientes en la Laguna de Términos Campeche, México. Bol. Inst. Geol. Univ. Nal. Autón. México, 67 (1): 1-47.

YONGE, O.M., 1960. Oysters. Collins, London. 209 p.

YOON, J.S. y R.H. RICHARDSON, 1978. A mechanism of chromosomal rearrangements. The role of heterochromatin and ectopic joining. Genetics, 88: 305-316.

YU, C.W., D.S. BORGAONKAR y D.R. BOLLING, 1978. Break points in human chromosomes. Hum. Hered., 28: 210-225.



## ANEXOS.



Lámina 1 CARIOTIPO NORMAL DE  
Crassostrea virginica

01 11 13 15 17

19 21 23 25 27

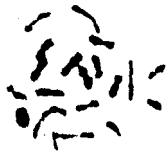


Lámina 2 CARIOTIPO NORMAL DE  
Crassostrea rhizophorae

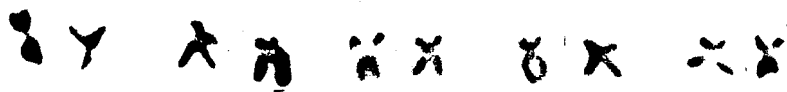


Lámina 3 CARIOTIPO NORMAL DEL  
HIBRIDO INTERESPECIFICO

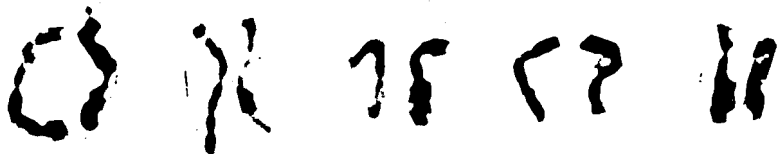


Lámina 4      DISTRIBUCION DE BANDAS G EN  
                  LOS CROMOSOMAS DE  
Crassostrea virginica



Lámina 5

DISTRIBUCION DE BANDAS G EN  
LOS CROMOSOMAS DE

Crassostrea rhizophorae

1. P. 20 35 55

2. 0 1 2 3 4 5

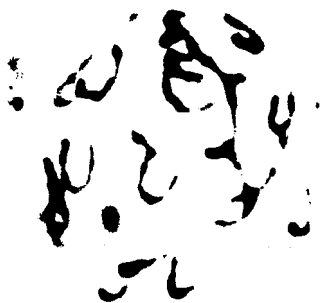


Lámina 6 DISTRIBUCION DE BANDAS G EN  
LOS CROMOSOMAS DEL HIBRIDO  
INTERESPECIFICO



Lámina 7 DISTRIBUCION DE BANDAS C EN  
LOS CROMOSOMAS DE  
Crassostrea virginica





Lámina 8    DISTRIBUCION DE BANDAS EN  
                  LOS CROMOSOMAS DE  
Crassostrea    rhizophorae

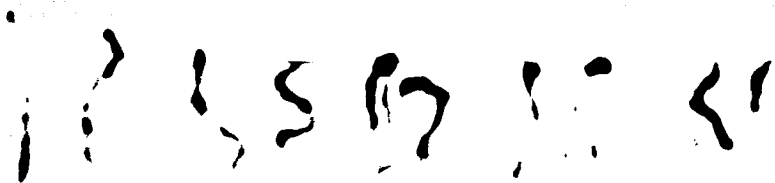


Lámina 9 DISTRIBUCION DE BANDAS C EN  
LOS CROMOSOMAS DEL HIBRIDO  
INTERESPECIFICO

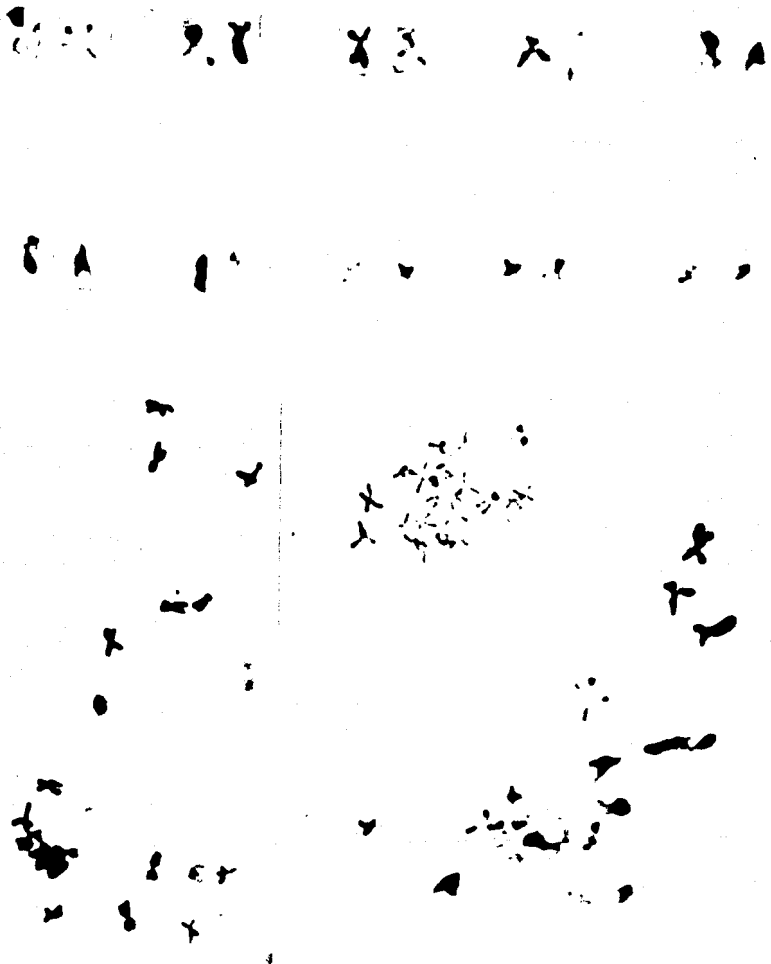


Lámina 10    DISTRIBUCION DE BANDAS Nor EN  
                  LOS CROMOSOMAS DEL HIBRIDO  
                  INTERESPECIFICO