

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**PERFILES CROMATOGRAFICOS DE LOS
AMINOACIDOS LIBRES EN BIVALVOS DE
IMPORTANCIA ECONOMICA DE LAS
COSTAS MEXICANAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A

GERARDO CAMPOS POLITO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

	Pags .
Resumen	1
Summary	2
1.0 Introducción	3
1.1 Antecedentes	6
1.2 Objetivo	7
2.0 Material y Metodo	8
2.1 Colecta	8
2.2 Disecciones	8
3.0 Resultados	10
4.0 Discusion	32
4.1 <u>Crassostrea virginica</u>	36
4.2 <u>Crassostrea rhizophorae</u>	39
4.3 <u>Crassostrea corteziensis</u>	44
4.4 <u>Ostrea equestris</u>	45
4.5 <u>Isognomon alatus</u>	46
5.0 Recomendaciones	49
6.0 Literatura citada	50
Agradecimientos	

"PERFILES CROMATOGRAFICOS DE LOS AMINOACIDOS LIBRES EN BIVALVOS DE IMPORTANCIA ECONOMICA DE LAS COSTAS MEXICANAS".

RESUMEN

Se estudió la expresión cromatográfica en diversas poblaciones de ostiones, mediante el análisis cualitativo de los perfiles de los aminoácidos libres en músculo abductor de las especies: -- Crassostrea virginica; Crassostrea rhizophorae; Crassostrea corteziensis; Ostrea equestris; e Isognomon alatus, provenientes de: la Boca de Atasta, Laguna de Términos, Campeche y del sistema lagunar el Carmen, en el municipio de Sánchez-Magallanes, Tabasco; -- del estero del Pargo en la Isla del Carmen, Campeche; del estero de Teacapan, Sinaloa y del estero del Pozo del puerto de San Blas, Nayarit y de la Isla de Jaina, Campeche.

Se encontraron diferencias en cuanto al número y disposición de las bandas, así como de los factores de corrimiento (Rf's) en los patrones específicos con los cuales se caracterizan a cada una de las especies estudiadas.

En virtud de que la cromatografía de partición en papel para la separación de aminoácidos libres o péptidos pequeños revela un alto grado de reproductibilidad y de consistencia en los resultados en estas especies, se discute la utilidad de esta metodología en la discriminación de taxa estrechamente emparentados, en apoyo a los criterios ya existentes.

"CHROMATOGRAPHIC PROFILES OF FREE AMINOACIDS IN OYSTERS OF ECONOMIC IMPORTANCE FROM THE MEXICAN COASTS"

S U M M A R Y

Several oyster populations of the genus Crassostrea, Ostrea and Isoqnomon were studied in their chromatographic expression - with the purpose of characterizing their patterns, by means of a qualitative analysis of the profiles of free aminoacids of the abductor muscle in: Crassostrea virginica, Crassostrea rhizophorae, Crassostrea corteziensis, Ostrea equestris and Isoqnomon alatus proceeding from different places of the Mexican coasts.

The specific chromatographic patterns, showed differences in number, disposition of the bands and Rfs. These results are important in order to make a differentiation of species nearly related like for instance the ones includes in the genus Crassostrea.

Ostrea equestris demonstrated a chromatographic pattern very similar with Crassostrea virginica and Crassostrea rhizophorae and the qualitative analysis in Isoqnomon alatus verificated the physiological and anatomical differences between this specie and the belongs at the family Ostreidae.

1.0 INTRODUCCION

La vida se expresa sobre la tierra en una multitud de formas de complejidad muy diversa, en algunos grupos, cada especie ocupa solamente una parte bien delimitada del mundo y, asimismo, cada una de las especies, un área que varía debido a la competencia de éstas por un espacio y alimento que son limitados en los ecosistemas (Cox et. al., 1978).

Por otra parte, la distribución de organismos en el espacio y en el tiempo esta relacionada con la historia evolutiva que cada especie ha tenido en sus procesos biológicos y que son eficientes dentro de un rango de condiciones medio ambientales específicas. Esto implica un conocimiento interdisciplinario relacionado con Ciencias como: Geología, Geofísica, Climatología, Paleontología, Fisiología, Genética, Ecología, Taxonomía y Sistemática, entre otras.

La tendencia a este tipo de conocimientos no está inspirada únicamente por el afán del conocimiento mismo, sino también por la necesidad de dar solución a problemas humanos importantes como lo es la alimentación.

En la actualidad se requiere de nuevas fuentes alimenticias y es muy probable que en un futuro, no muy lejano, se tendrá que pensar en la utilización de especies animales y vegetales, hasta ahora no explotadas, en lo referente a su valor alimenticio, asimismo, se orientarán investigaciones con el fin de modificar algunas otras especies mediante programas de hibridación y selección que conduzcan a obtener ventaja genética en los organismos.

Para lograrlo, es necesario poseer un conocimiento detallado de la biología, así como de la distribución geográfica de las especies en estudio, con la finalidad de conocer con precisión como y en que ambientes prosperan, como consecuencia de las complejas interacciones existentes entre los factores físicos y químicos, por un lado, y los bióticos, por el otro.

En nuestro país existen 1.5 millones de hectáreas de ambientes estuarinos (Carta Intersecretarial, 1958) y 12,555 Km² de superficie de lagunas costeras real y potencialmente productivas -- (Cárdenas, 1969), esto permite considerar la posibilidad de una mayor utilización de recursos bióticos representados por organismos estuarinos de importancia económica, entre los que se encuentran los moluscos pertenecientes a la Clase Bivalvia, que incluyen organismos tales como: los ostiones, mejillones, almejas etc. que representan un recurso de alto valor comercial (Ramírez y Sevilla, 1965).

Otro aspecto de interés que permite justificar las investigaciones aquí referidas, está relacionado con la taxonomía clásica de la familia de los Ostreidos reconocida como un grupo de difícil identificación a nivel de las especies que la constituyen, debido principalmente, a que es común el polimorfismo externo como consecuencia de la interacción ambiental, que ha conducido a una taxonomía poco precisa (Galtsoof, 1964).

En los últimos años la Citotaxonomía ha sido utilizada en la resolución de problemas sistemáticos y taxonómicos, tales como la diferenciación de entidades en grupos críticos y en el estable-

cimiento de las relaciones de parentesco mediante un análisis de los caracteres cariotípicos estandar de los taxa en estudio (De la Sota, 1967).

Del conocimiento de estas características se ha obtenido información mediante la cual ha sido posible comprender mejor algunos de los mecanismos de especiación en estos moluscos, así como algunas de las causas más relevantes que favorecen su desarrollo.

En cuanto a las investigaciones a nivel molecular en los ostriones, solo en la actualidad se le ha concedido importancia al enfoque quimiotaxonómico, en virtud de que se ha demostrado su bondad al aplicarlo al estudio de la bioquímica comparada, especialmente en lo referente a la discriminación de poblaciones.

Por otra parte, este enfoque deja abierta la posibilidad de evaluar tanto cualitativa como cuantitativamente fluctuaciones estacionales y algunas diferencias fisiológicas que son consecuencia de la adaptación de las poblaciones.

En el caso de las ostras, se han identificado razas fisiológicas, que podrían ser consideradas razas ecológicas o ecotipos (Stauber, 1947 y Loosanoff y Nomenjko, 1951); las variaciones fenotípicas resultantes en poblaciones sujetas a presión ambiental dinámica, probablemente corresponden en su mayor parte a la norma natural de expresión del genotipo (Rodríguez-Romero, 1981), y que pueden ser cuantificadas mediante técnicas cromatográficas.

1.1 Antecedentes

En nuestro país se han realizado estudios en bivalvos en cuanto a su morfología, fisiología y aspectos ecológicos de distribución (García-Cubas, 1980), y de manera interdisciplinaria aquellos incluidos en el nivel celular con fines citotaxonómicos (Rodríguez-Romero, 1981 y Rodríguez-Romero et al., 1979a, 1979b, 1979c y 1979d).

Sin embargo, en lo referente a estudios de expresión genética mediante la cromatografía y electroforesis relacionados con la familia Ostreidae, no existen antecedentes en especies comunes a las costas mexicanas; a pesar de que en otros países destacan los realizados por: Cheng, 1964; Hillman, 1964; Numanchi, 1962; More et al., 1966, 1971a y 1971b; Johnson et al. 1972; Wilkins y Mathers, 1973; Fugino y Nagayama, 1977 y Torigoe, 1978.

En este aspecto, los mayores avances se han obtenido en el estudio de moléculas de carácter protéico o de sus componentes; sin embargo estos estudios se encuentran por el momento limitados en algunos casos en cuanto a su aplicación a nivel biogeográfico, debido a la complejidad de los procesos específicos involucrados, como es el caso específico en aloenzimas (Fugino, 1977; Torigoe e Inaba, 1975 y Wada, 1978).

1.2 Objetivo

En virtud de que los estudios referentes a la quimiotaixonomía en Ostreidae e Isognomonidae de las costas mexicanas son relativamente escasos, es objeto del presente trabajo presentar las investigaciones respecto de la expresión cromatográfica de aminoácidos libres en algunas especies de bivalvos, como un intento de tipificar patrones cromatográficos que permitan un mejor conocimiento -- de sus relaciones evolutivas, en busca de una mayor normalización en el estudio taxonómico de estos organismos.

2.0 MATERIAL Y METODO

2.1 Colecta

El material biológico utilizado proviene de diferentes localidades de las costas mexicanas: Crassostrea virginica, Gmelin, es originario de la Boca de Atasta, laguna de Términos, Campeche y -- del sistema lagunar el Carmen, en el municipio de Sánchez-Magallanes, Tabasco; Crassostrea rhizophorae, Guilding, del estero del Pargo, Isla del Carmen, Campeche; Crassostrea corteziensis, Hertlein, del estero de Teacapan, Sinaloa y del estero del Pozo, San Blas, - Nayarit; Ostrea equestris, Say, del sistema lagunar el Carmen, en el municipio de Sánchez-Magallanes, Tabasco y por último, Isognomon alatus, Gmelin, originario de la Isla de Jaina, Campeche. (Fig. 1), los organismos fueron colectados en la primavera de 1980. Para seleccionar a los organismos con las características adecuadas, se aplicó el criterio del tamaño comercial, así mismo, para la identificación de éstos, se utilizó la clasificación según Abbott (1974).

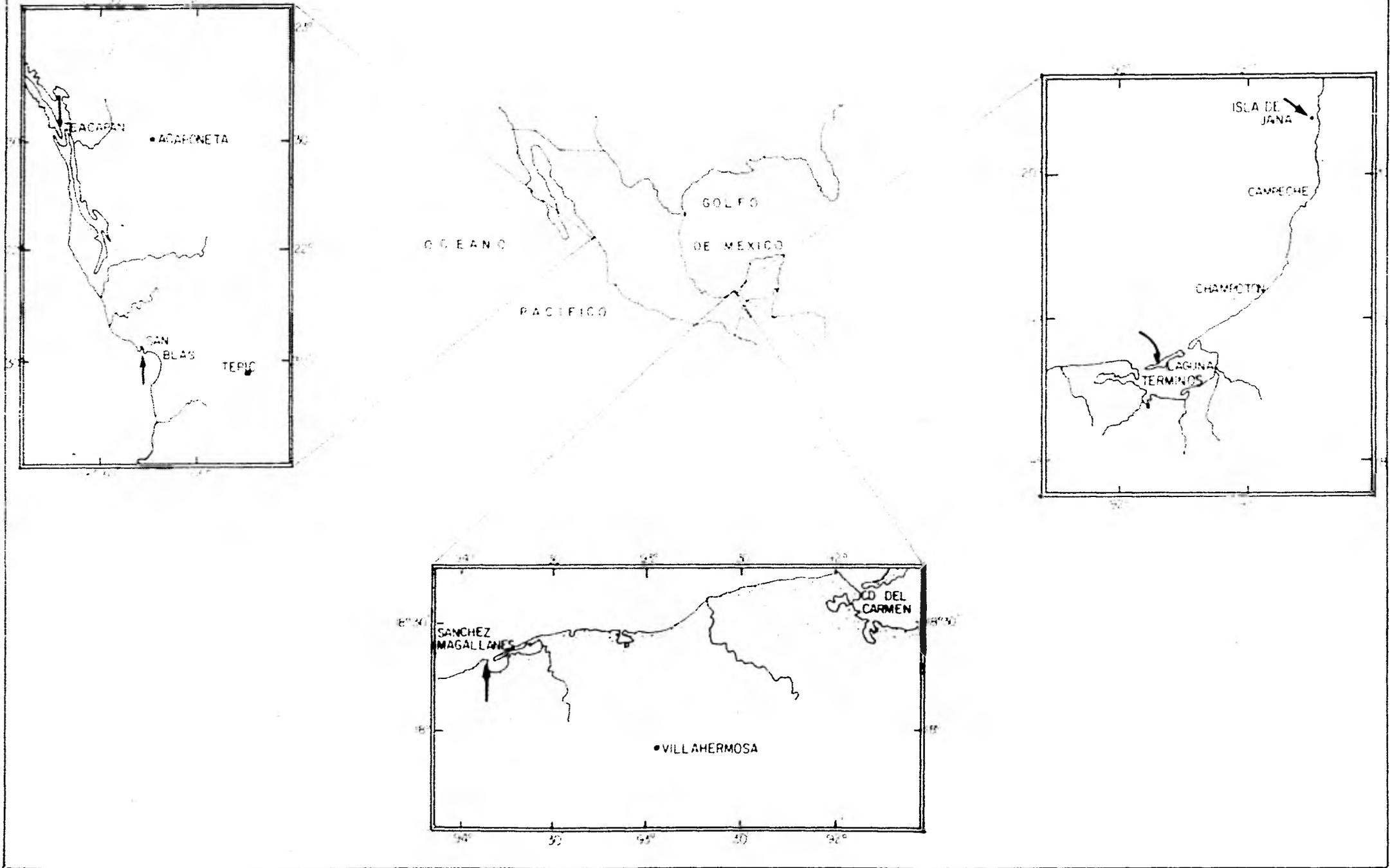
2.2 Disecciones

10 ejemplares de cada una de las especies estudiadas, a excepción de Ostrea equestris de la cual se analizaron únicamente 4 organismos, fueron lavados en abundante agua corriente, con la finalidad de eliminar, en lo posible, la mayor cantidad de lodo y otros elementos que se fijan a las conchas de estos bivalvos y evitar su posible contaminación.

Se realizaron disecciones, obteniendo fragmentos de aproximadamente un milímetro cúbico del tejido semitransparente que consti-

FIGURA 1

AREAS DE COLECTA



tuye al músculo abductor, estos fragmentos fueron colocados en una solución de Alcohol etílico y agua destilada (3:1). Dentro de esta solución y con el fin de separar las moléculas libres de aminoácidos en las regiones intersticiales del músculo se maceró el tejido y se dejó en reposo durante 24 horas (Shaw, et.al.,1971).

2.3 Técnicas cromatográficas

Las muestras obtenidas fueron sometidas a corrimiento mediante la utilización de un sistema de solventes: Butanol, Ac. Acético y agua, en una proporción de 60:15:25, durante 16 horas aproximadamente.

Se utilizó como sustrato papel Whatman #3 MN y las concentraciones de cada una de las muestras fue de 25 microlitros. Una vez efectuado el corrimiento de la muestra se secó el papel y se reveló en una mezcla de ninhidrina (2.5g.), isatina (0.05g.) y lutidina (10 ml.), disueltos en un litro de acetona. (Shaw et.al.,1971).

Los cromatogramas una vez revelados, se dejaron secar al aire y se procedió a su interpretación en papel albanene a trasluz, posteriormente, fueron fotografiados y se calcularon los factores de corrimiento (Rfs), de cada uno de los organismos procesados, calculándose los promedios en las diferentes poblaciones estudiadas.

Se compararon las muestras por especie y por género, relacionando las bandas por estratos. Finalmente, los cromatogramas fueron fijados con una solución de sulfato de níquel (6.5% p/v) y con los factores de corrimiento se elaboraron tablas, figuras y gráficas.

3.0 RESULTADOS

Se tipificaron los patrones de tres especies del género Crassostrea: virginica, rhizophorae y corteziensis; y una de los géneros Ostrea e Isognomon: equestris y alatus, respectivamente, mediante el análisis de los perfiles cromatográficos de los aminoácidos libres presentes en el músculo abductor.

Familia: Ostreidae, Rafinesque, 1815.

Género: Crassostrea, Sacco, 1897.

Crassostrea virginica, Gmelin, 1791.

En el patrón cromatográfico obtenido en esta especie se identificaron claramente 6 bandas estratos, en diversas tonalidades de color morado, que corresponden a un aminoácido o a un grupo de ellos con características afines. Las moléculas separadas por el método de cromatografía unidimensional (Fotografía 1 y Fig. 2) tuvieron factores de corrimiento constantes, cuyos valores se enlistan en la Tabla 1, los valores promedio de cada banda fueron graficados (Gráfica 1). Por otro lado los estratos no presentan ni formas ni tonalidades uniformes, lo cual representa concentraciones diferentes de aminoácidos.

Crassostrea rhizophorae, Guilding, 1828.

El análisis cromatográfico resultante del procesamiento de los ejemplares de esta especie, muestran la presencia de 6 bandas. (Fotografía 2 y Fig. 3). La Tabla No 2 presenta los factores de corrimiento de cada uno de los organismos y los promedios de éstos que tipifican a la especie. (Gráfica No 2).

Crassostrea corteziensis, Hertlein, 1951.

7 bandas diferentes de aminoácidos libres caracterizan a esta especie en la cromatografía unidimensional (Fotografía No 3 y Fig. No 4). En la Tabla No 3, se tabulan los resultados de los factores de corrimiento y en la Gráfica No 3 se observan los promedios de los Rfs. En esta especie se encontró que el sexto estrato (Rf -- promedio .38), presenta una coloración parda característica, que no posee ninguna de las demás especies estudiadas.

Género Ostrea, Linné, 1758.

Ostrea equestris, Say, 1834.

El número de bandas que caracterizan a esta especie fue de 6 (Fotografía No 4 y Fig. No 5), los factores de corrimiento se encuentran tabulados en la tabla No 4 y los promedios de éstos se observan en la Gráfica No 4.

Familia: Isognomonidae, Woodring, 1925.

Género Isognomon, Lightfoot, 1786.

Isognomon alatus, Gmelin, 1791.

Esta especie mostró un perfil cromatográfico muy diferente a los 4 anteriormente analizados, solamente se observaron 4 bandas (Fotografía No 5 y Fig. No 6). En la Tabla No.5 y Gráfica No 5, los factores de corrimiento y sus promedios son tabulados y graficados respectivamente.

Tabla No 1.

Crassostrea virginica. Colecta de Primavera, 1980.

Localidad: Laguna de la Machona, Sánchez-Magallanes.

Tabasco.Banco: Los Arrieros. OS-11-OS-17. Silvestre.

Identificación	L. total	Longitud de la huella						Rf= $\frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
OS 11	41.5cm.	5.5	7.7	10	10.5	14	16	.13	.19	.24	.25	.34	.39
OS 12	41.4	-	8.4	10.2	11.6	14	15.7	-	.20	.25	.28	.34	.38
OS 13	41.5	6.2	8.8	11.2	12.6	15.2	16.2	.15	.21	.27	.30	.37	.40
OS 14	41.5	5.7	8.5	11.0	12.7	14.5	16.5	.14	.20	.27	.30	.35	.40
OS 15	41.2	-	8.3	10.5	12.0	14.5	15.7	-	.20	.25	.30	.35	.38
OS 16	41.4	-	8.5	10.5	12.0	14.5	15.7	-	.20	.25	.29	.35	.38
OS 17	41.5	5.4	7.8	10.0	12.0	14.0	15.8	.13	.19	.24	.29	.34	.38
		P R O M E D I O						.14	.20	.25	.29	.35	.39

Factor de corrimiento (Rf) = $\frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$

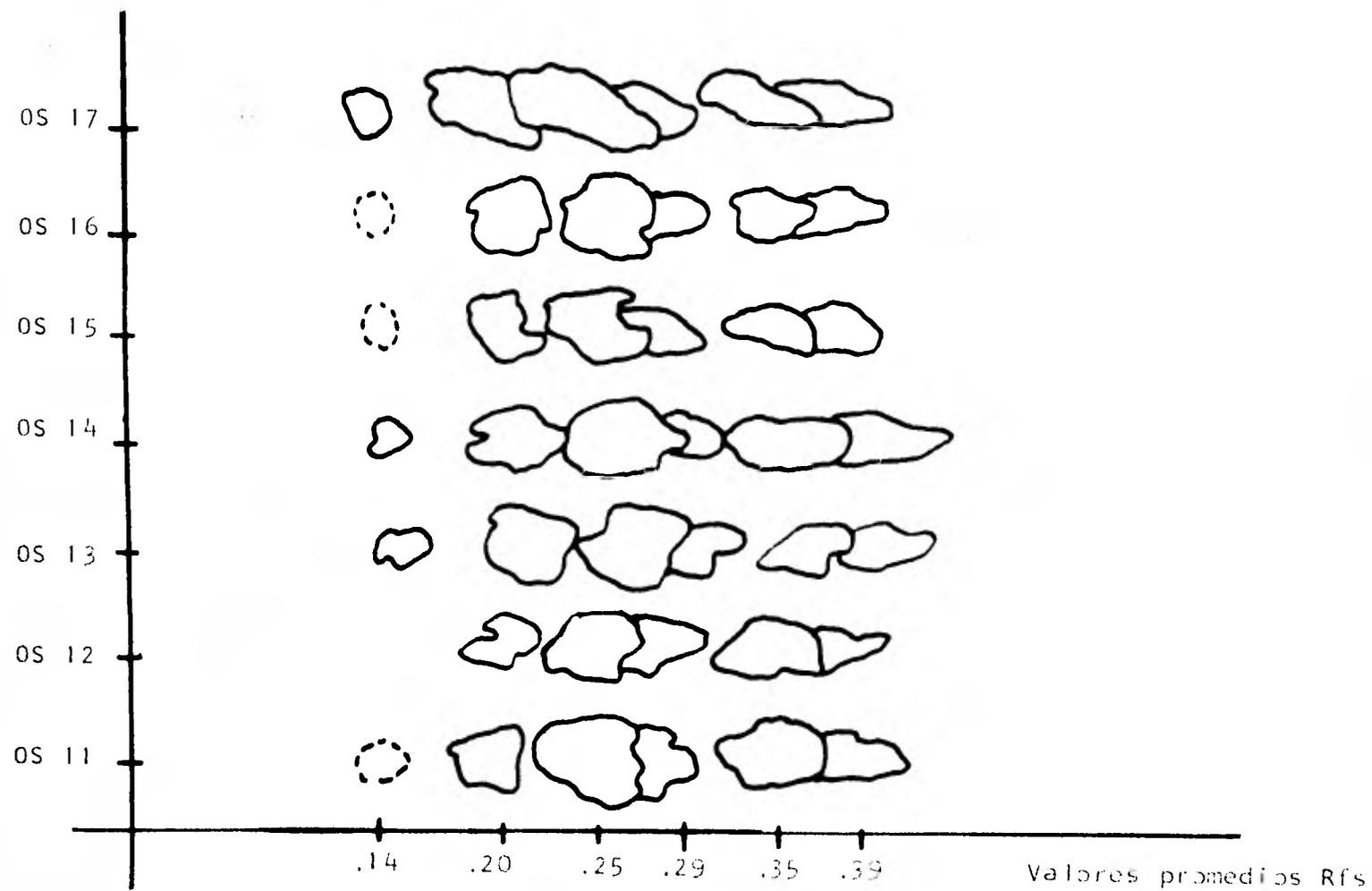
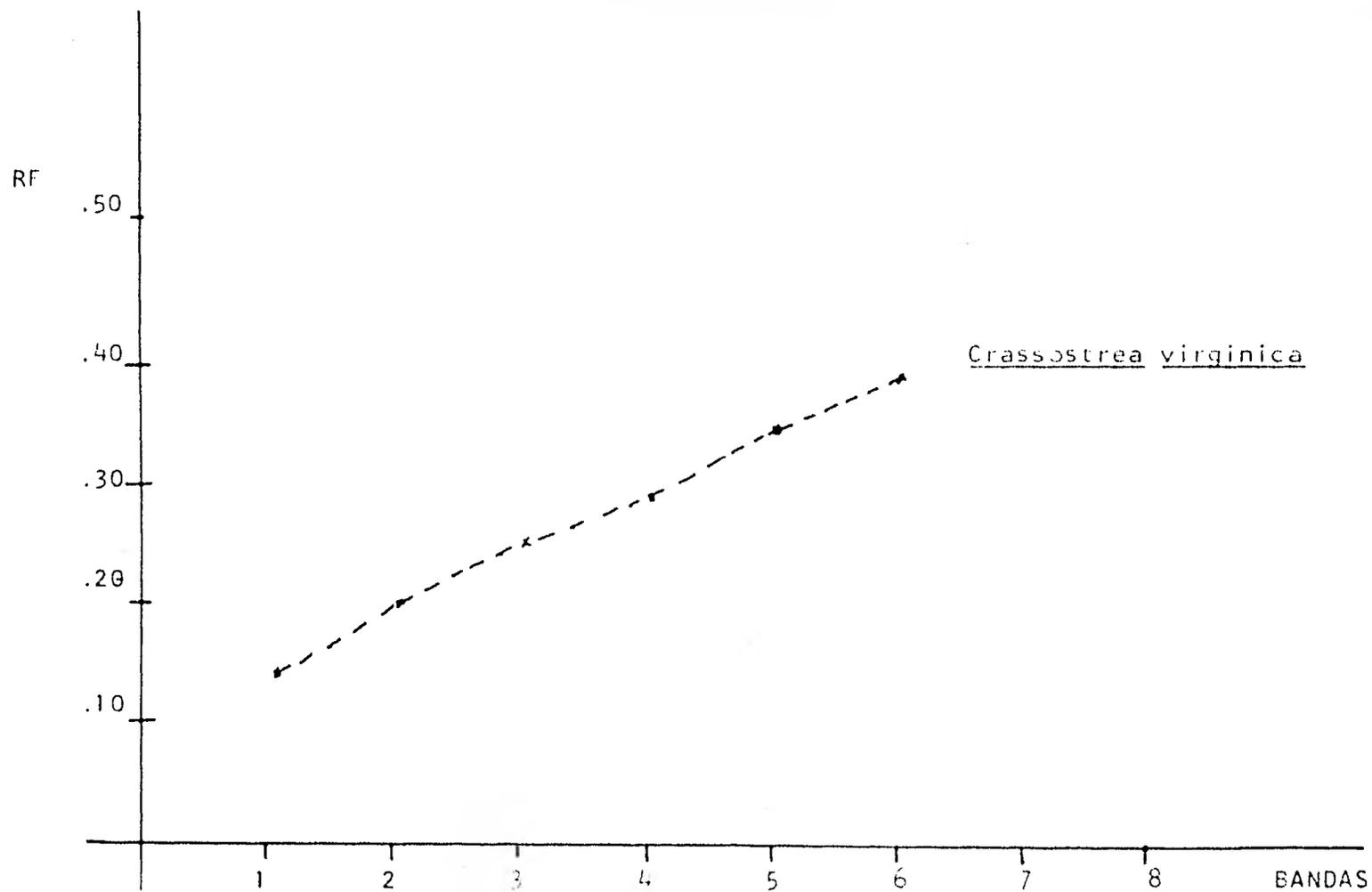
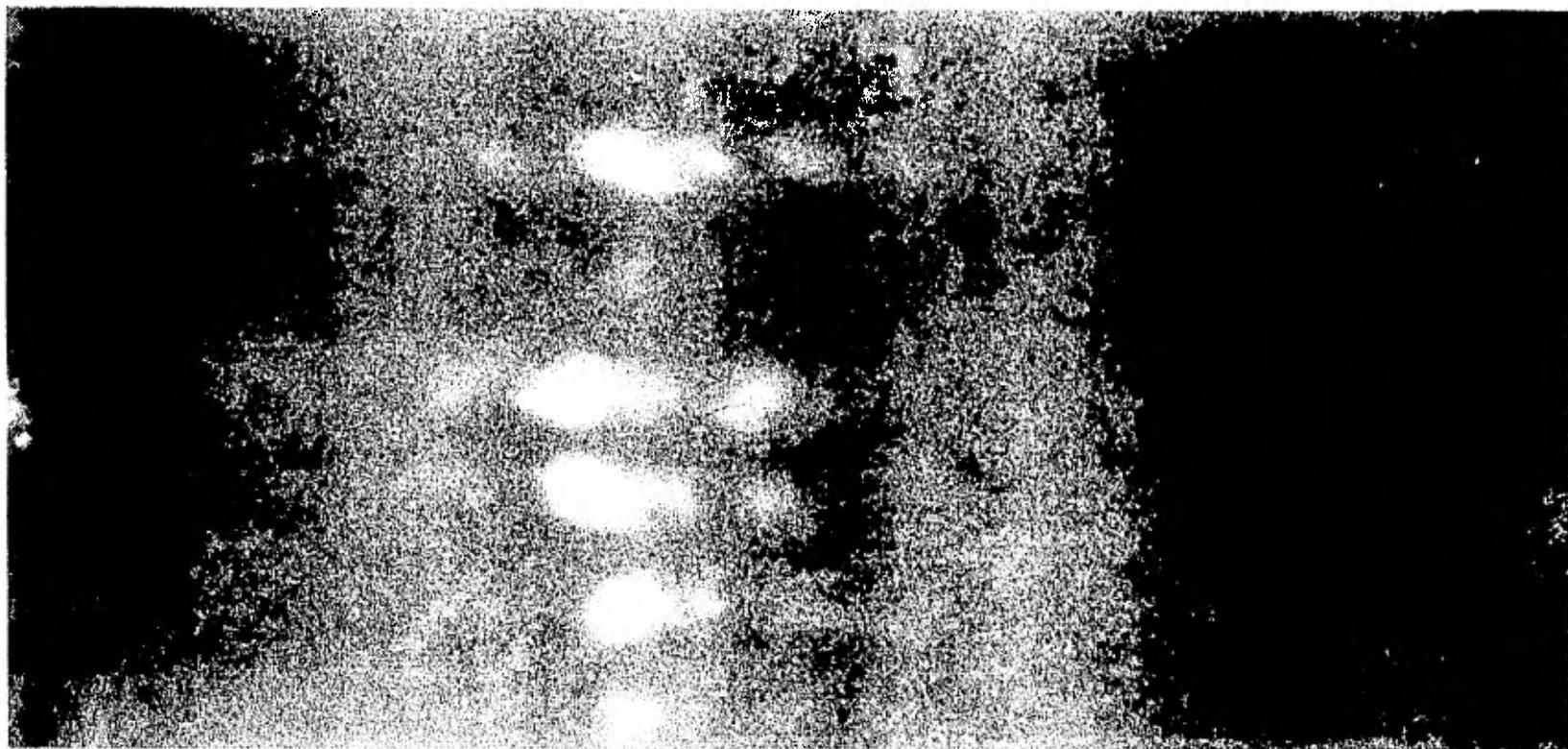


Fig. 2. Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en músculo abductor de Crassostrea virginica.



Gráfica 1. Gráfica que muestra los factores de corrimiento correspondientes a la especie Crassostrea virginica.



Fotografia 1, 1950

1950

1950, 1951, 1952

Tabla No 2

Crassostrea rhizophorae. Colecta de Primavera, 1980.

Localidad: Isla del Carmen, Campeche. Banco: Estero del Pargo. OS-36-OS-42.

Identificación	L. total	Longitud de las huellas						Rf = $\frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
OS 36	44.4 cm.	10.0	12.5	14.2	16.5	18.0	19.5	.23	.28	.32	.37	.41	.44
OS 37	44.5	10.0	12.6	14.5	16.5	18.1	19.4	.22	.28	.33	.37	.41	.44
OS 38	44.6	10.2	12.5	14.2	16.2	17.7	19.0	.23	.28	.32	.36	.40	.43
OS 39	44.7	10.0	12.4	14.0	16.0	17.6	18.7	.22	.28	.31	.36	.40	.42
OS 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OS 41	44.8	10.2	11.5	13.0	14.7	16.4	17.5	.23	.26	.29	.33	.37	.39
OS 42	44.9	9.5	11.8	13.4	15.2	16.5	17.5	.21	.26	.30	.34	.38	.39
P R O M E D I O								.22	.27	.31	.36	.40	.42

Factor de corrimiento (Rf) = $\frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$

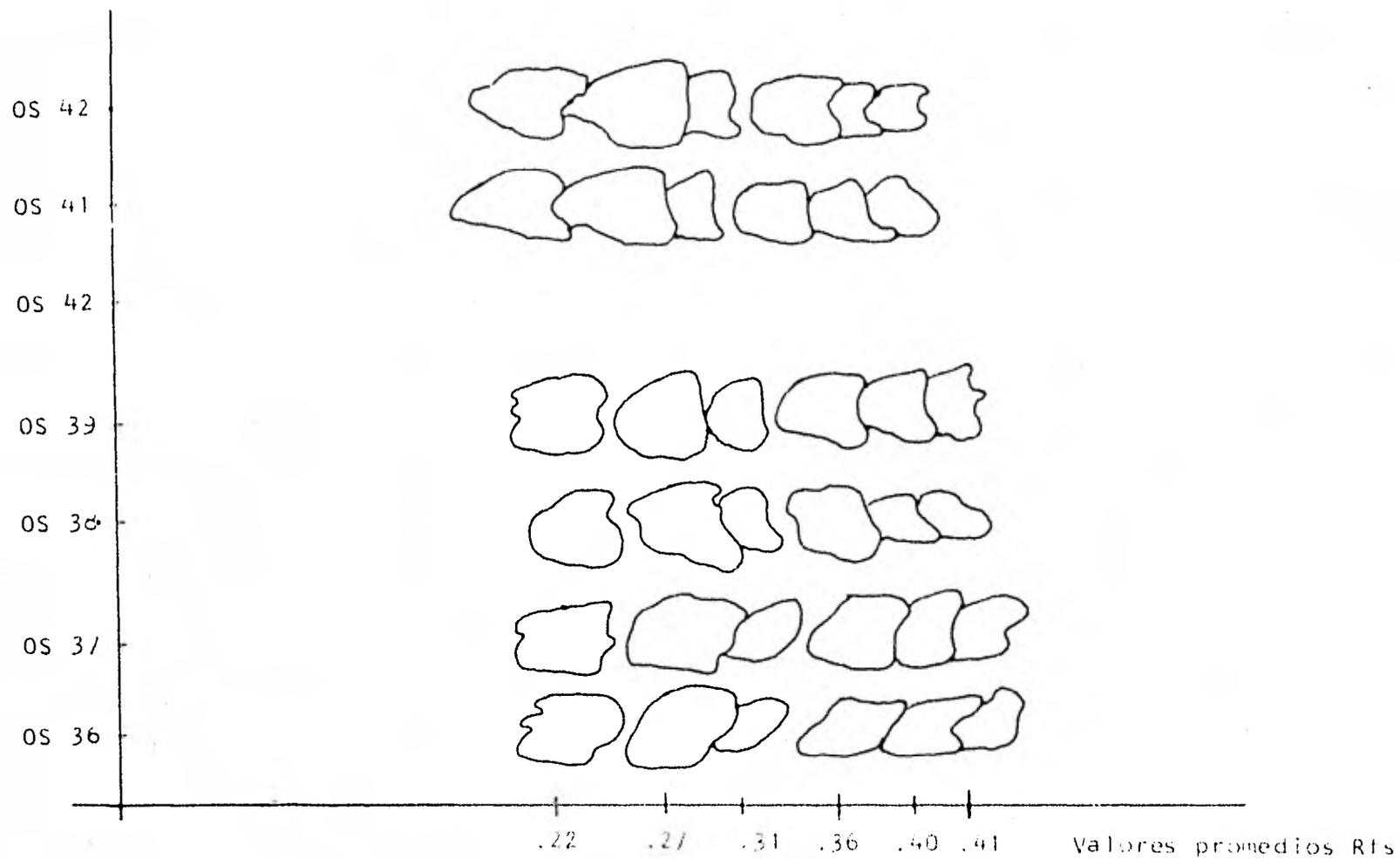
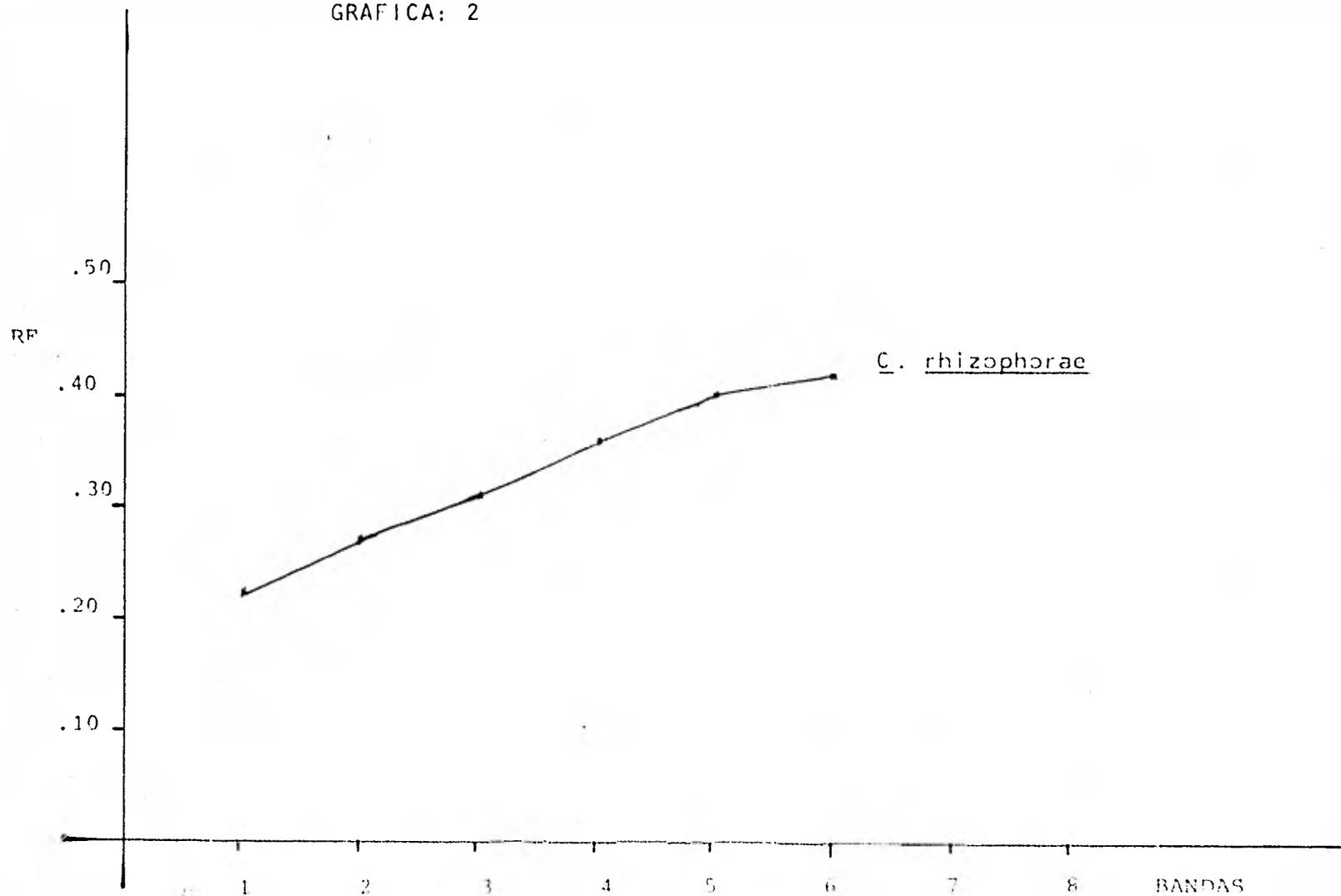
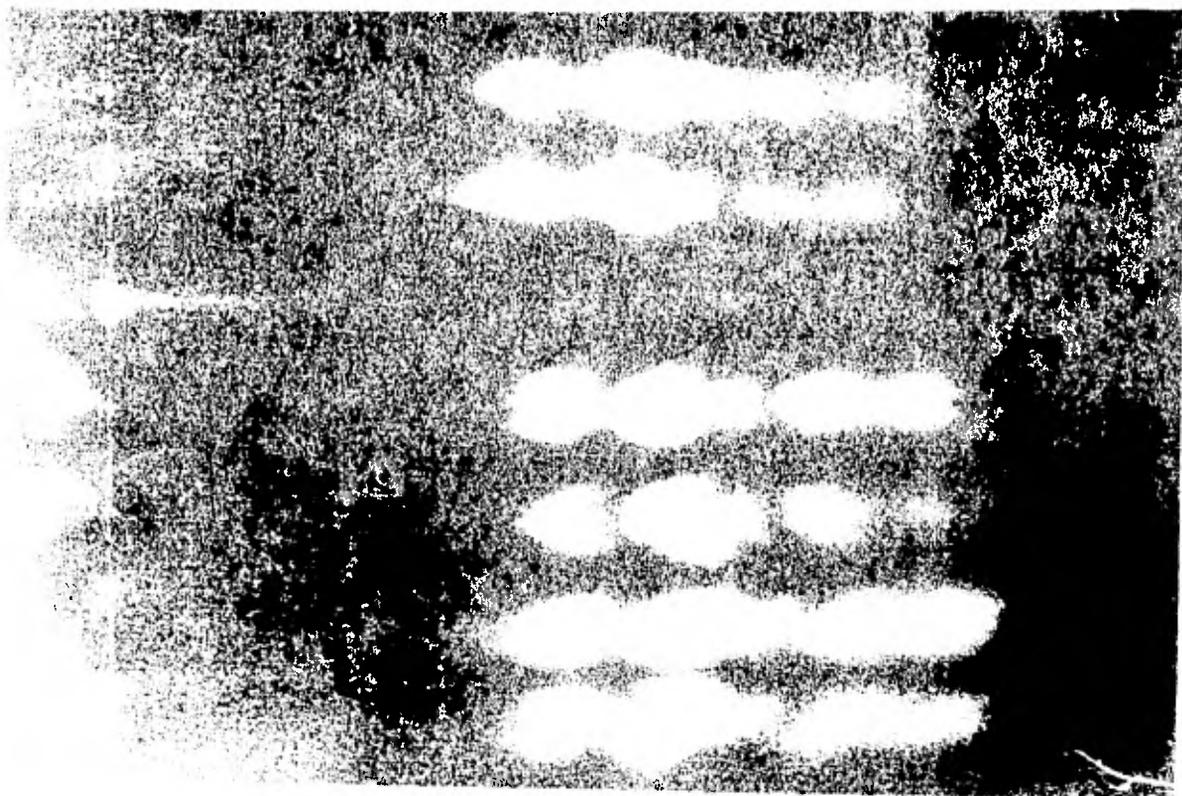


Fig. 3 Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en músculo abductor de *Crassostrea rhizophorae*.

GRAFICA: 2



Gráfica que muestra los factores de corrimiento correspondientes a la especie Crassostrea rhizophorae



Fotografía No 2. Patrón cromatográfico de aminoácidos libres correspondientes a la especie Crassostrea rhizophorae.

Tabla No 3

Crassostrea corteziensis. Colecta de Primavera, 1980.

C-15 a C-20 fijación libre. San Blas Nayarit.

C-21 Silvestre. Estero de Camichín, Teacapan, Sinaloa

Identificación	L. total	Longitud de las huellas							Rf = $\frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$						
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
C-15	44.3 cm.	4.3	7.0	9.5	11.0	13.1	14.7	16.0	.01	.16	.21	.25	.30	.33	.36
C-16	44.3	5.2	8.5	11.5	13.2	15.7	17.0	18.3	.12	.19	.26	.30	.35	.38	.41
C-17	44.3	-	8.4	11.1	12.4	15.1	16.8	18.0	-	.19	.25	.28	.34	.38	.40
C-18	44.3	5.6	8.5	11.4	13.3	15.4	17.1	18.5	.14	.19	.26	.30	.35	.39	.42
C-19	44.3	6.0	9.0	11.5	13.0	15.5	17.0	18.1	.14	.20	.26	.29	.35	.38	.40
C-20	44.3	6.2	9.3	12.0	13.5	16.2	17.7	19.2	.14	.21	.27	.30	.37	.40	.43
C-21	44.3	5.8	8.2	12.0	13.7	16.3	18.2	19.5	.13	.19	.27	.31	.37	.41	.44
		P R O M E D I O							.11	.19	.25	.29	.35	.38	.40

$$\text{Factor de corrimiento (Rf)} = \frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$$

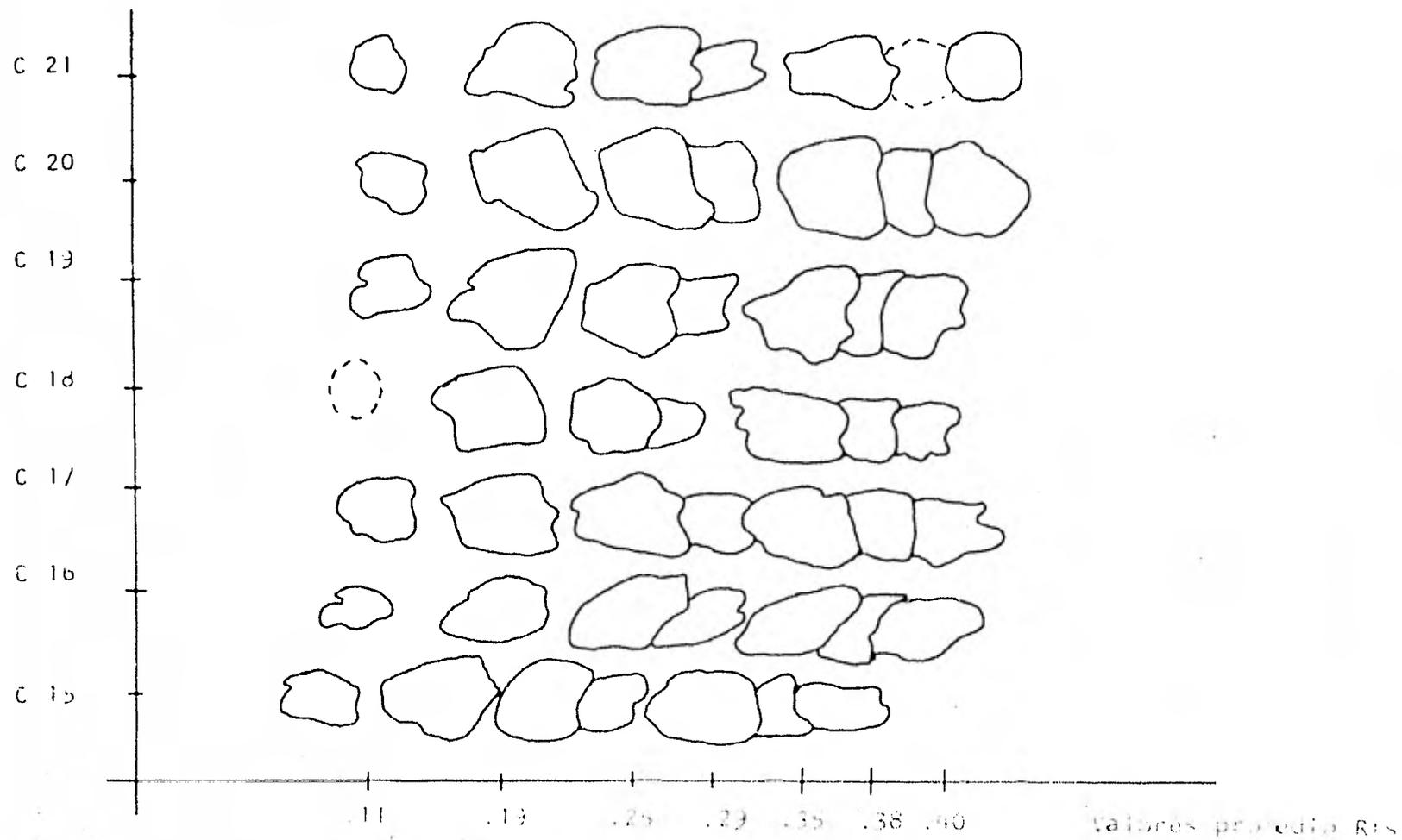
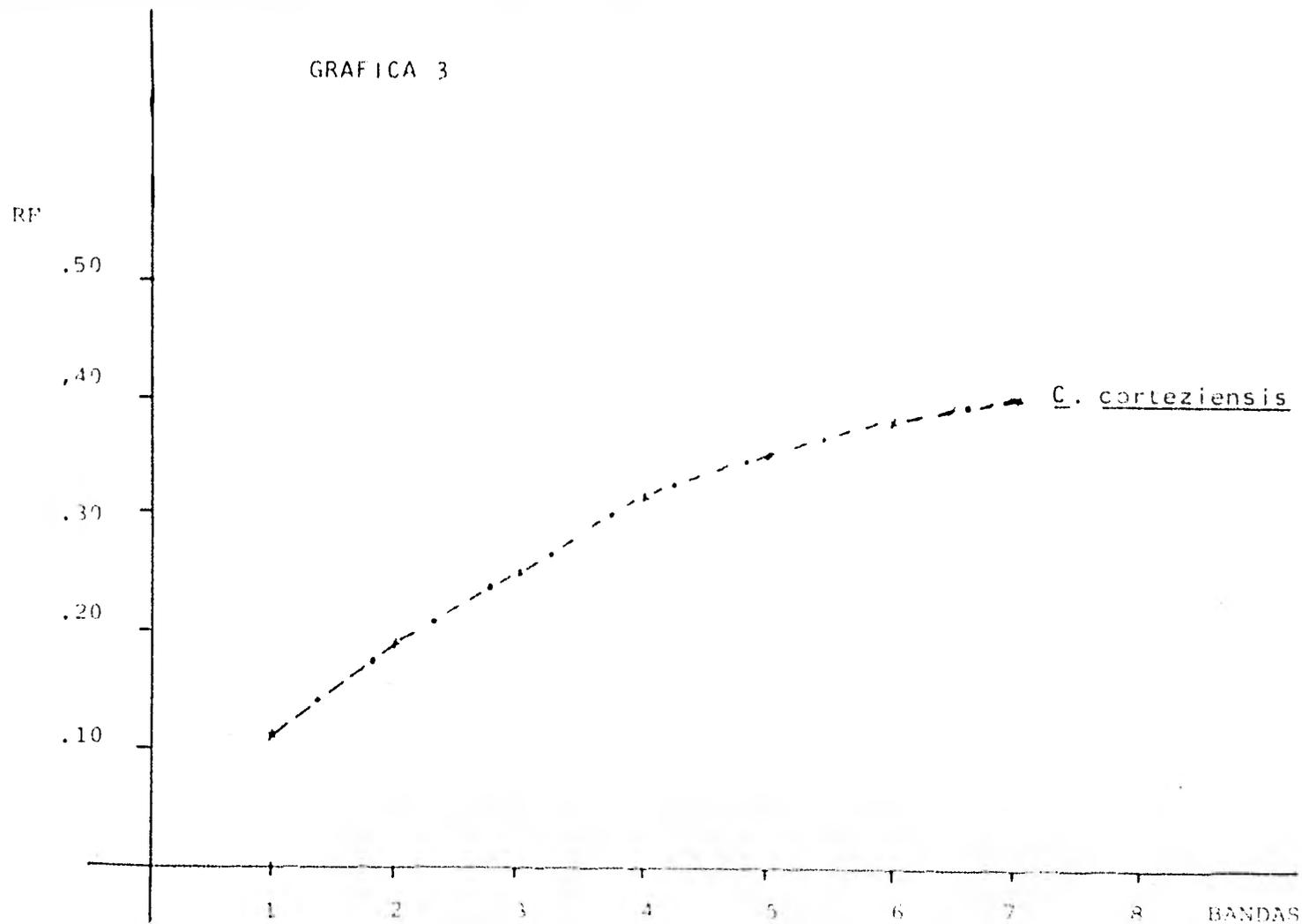
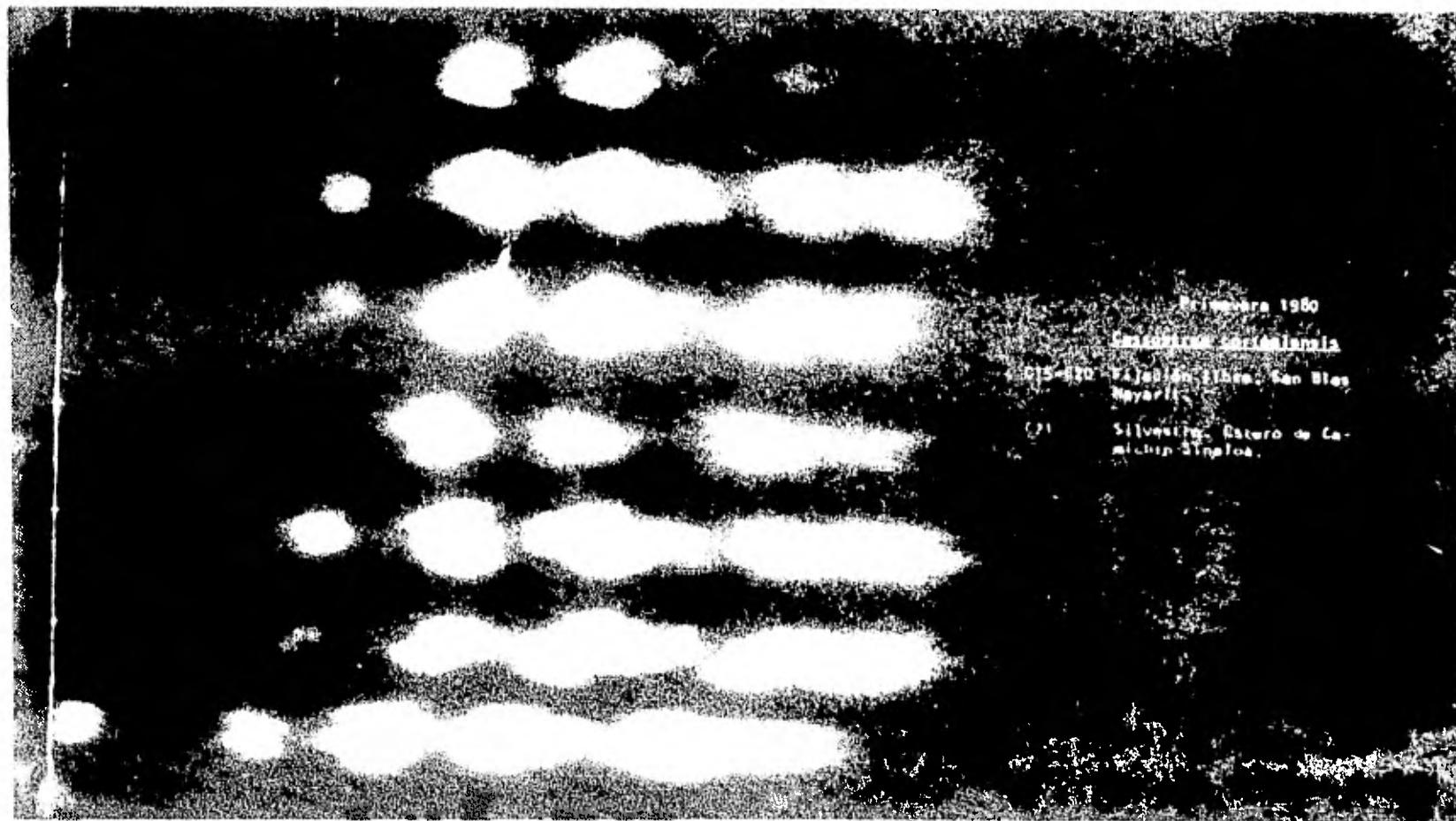


Fig. 4 Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en músculo aductor de Crassostrea corteziensis.

GRAFICA 3



Gráfica que muestra los factores de corrimiento correspondientes
a la especie Crassostrea corteziensis



Primavera 1980

Amphiphanes caroliniana

015-870 - Vajedon, Sierra San Blas
Nayarit

(2) Silvestre, Estero de Ca-
michup, Sinaloa.

Integrated by the U.S. Fish and Wildlife Service, U.S. Department of the Interior, and the U.S. Environmental Protection Agency.

© 1980 by the U.S. Fish and Wildlife Service.

Tabla No 4

Ostrea equestris. Colecta de Primavera, 1980.

Localidad: Laguna de la Machona, Sánchez-Magallanes,

Tabasco. Banco: Los Jiménez. Silvestre.

Eq-32-Eq-35.

Identificación	L. total	Longitud de la huella						Rf = $\frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Eq-32	54 cm.	6.7	9.8	12.0	13.5	15.5	17.9	.12	.18	.22	.25	.29	.33
Eq-33	54	-	11.0	13.5	15.6	17.0	19.4	-	.20	.25	.29	.31	.36
Eq-34	54	-	10.2	12.6	-	16.5	18.7	-	.19	.23	-	.31	.35
Eq-35	54	7.3	10.6	13.0	14.5	16.5	19.0	.14	.19	.24	.27	.30	.35
		P R O M E D I O						.13	.19	.24	.27	.30	.35

$$\text{Factor de Corrimiento (Rf)} = \frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$$

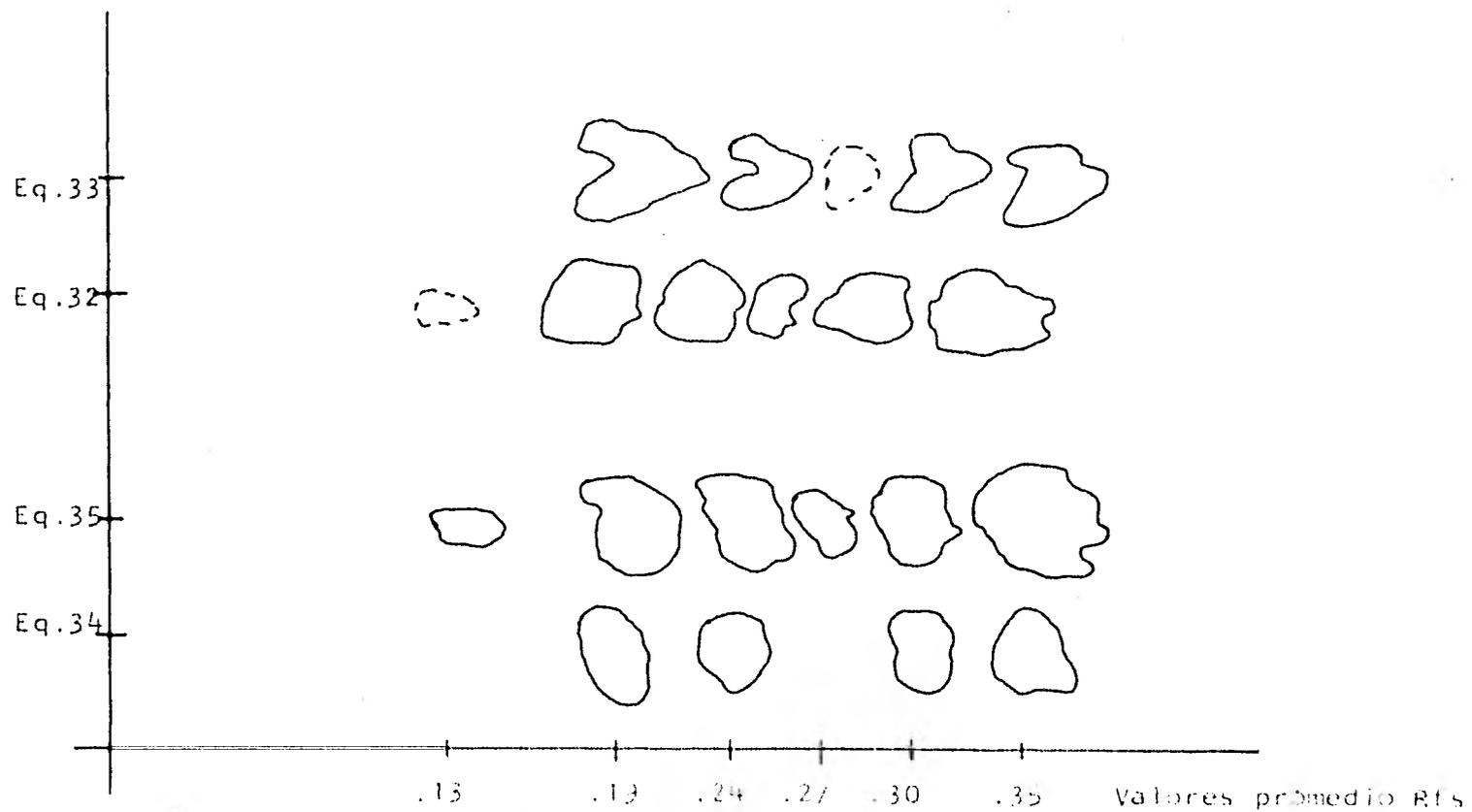
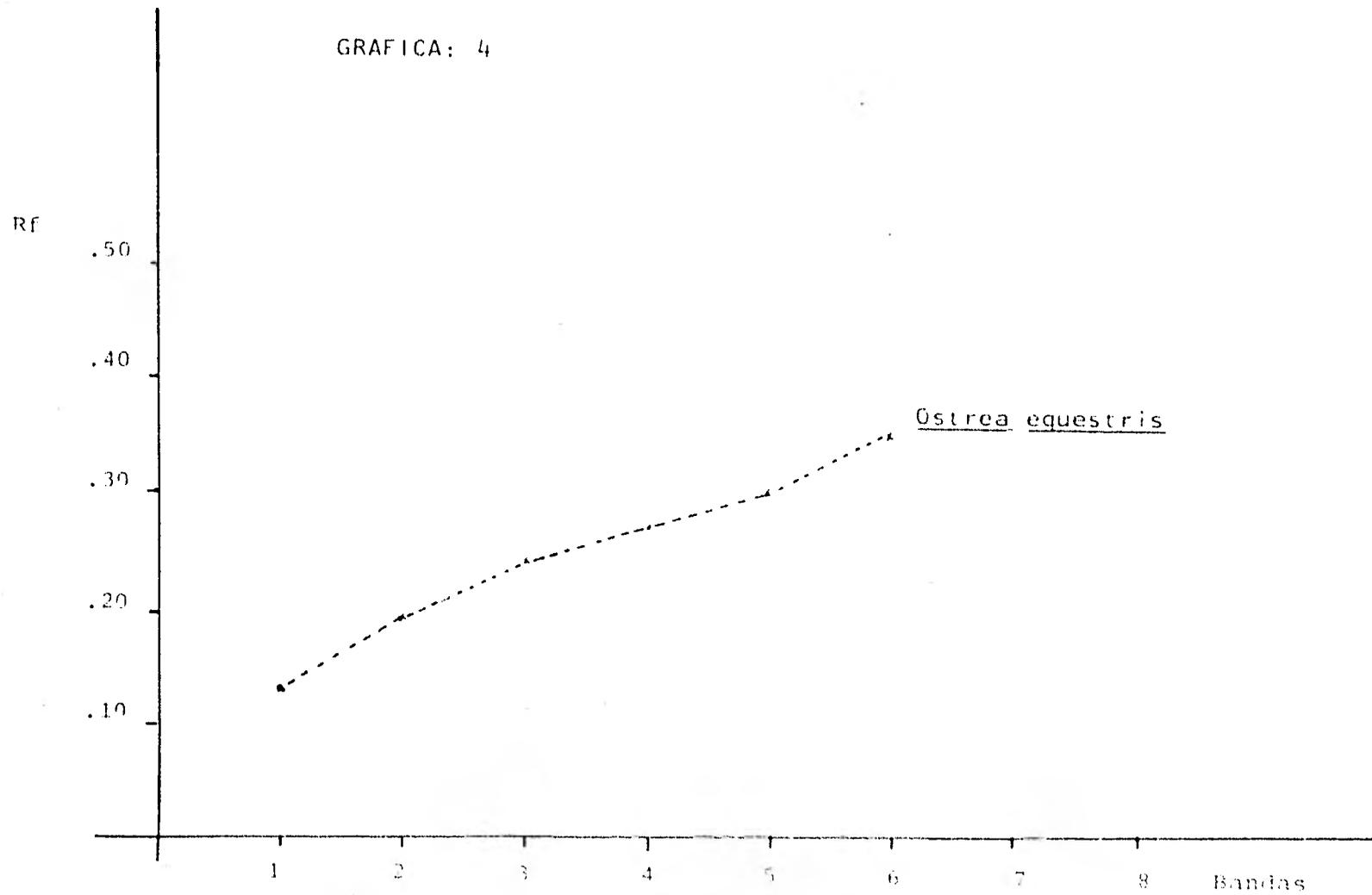
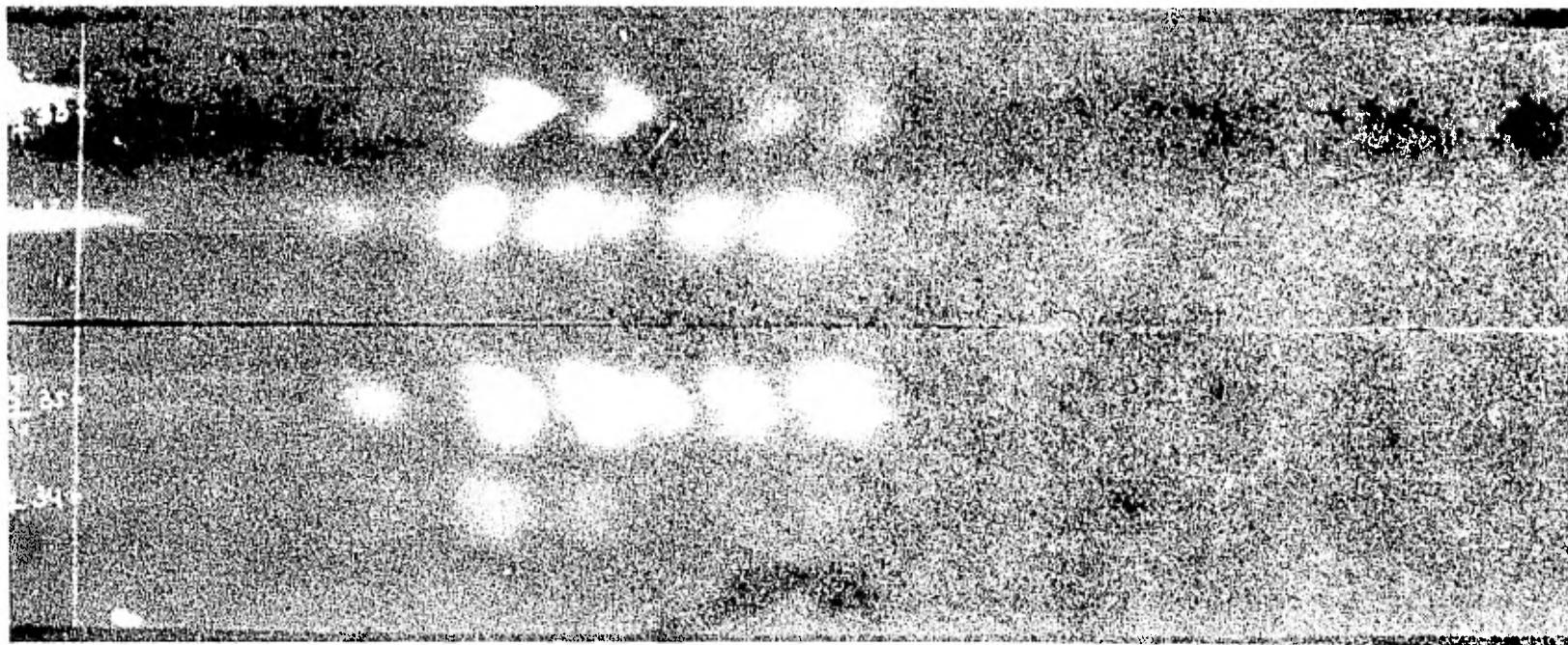


Fig. 5 Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en músculo abductor de Ostrea equestris.

GRAFICA: 4



Gráfica que muestra los factores de crecimiento correspondientes a la especie Ostrea equestris.



Fotografia No. 4. Padrão de iluminação do ar. (A) - Linhas correspondentes a
10 espores per spore, etc.

Tabla No 5

Isognomon alatus. Colecta de Primavera, 1980.

Localidad: Isla de Jaina, Campeche. Silvestre.

IS-11-IS-16.

Identificación	L. total	Longitud de las huellas				Rf = $\frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$			
		1	2	3	4	1	2	3	4
IS 11	47 cm	9.1	11.0	12.2	14.6	.19	.23	.26	.31
IS 12	47	7.4	9.1	10.3	13.0	.16	.19	.22	.28
IS 13	47	8.1	10.0	11.1	13.7	.17	.21	.24	.29
IS 14	47	9.7	12.3	13.9	15.6	.20	.26	.30	.33
IS 15	47	10.2	12.4	13.8	16.5	.22	.26	.29	.35
IS 16	47	11.0	12.3	13.3	16.4	.23	.26	.28	.35
		P R O M E D I O				.20	.24	.27	.32

$$\text{Factor de corrimiento (Rf)} = \frac{\text{Longitud de la huella}}{\text{Longitud total}}$$

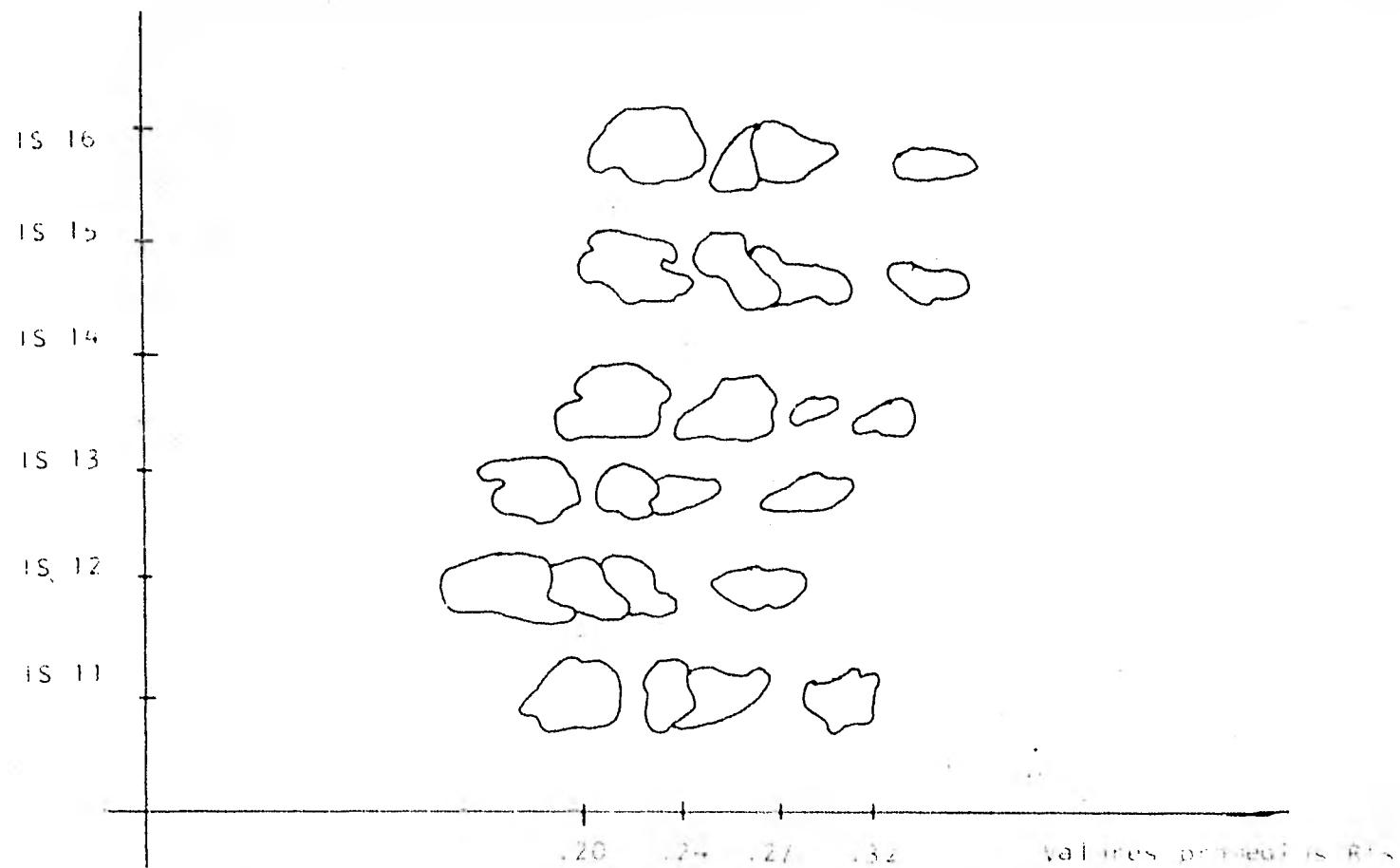
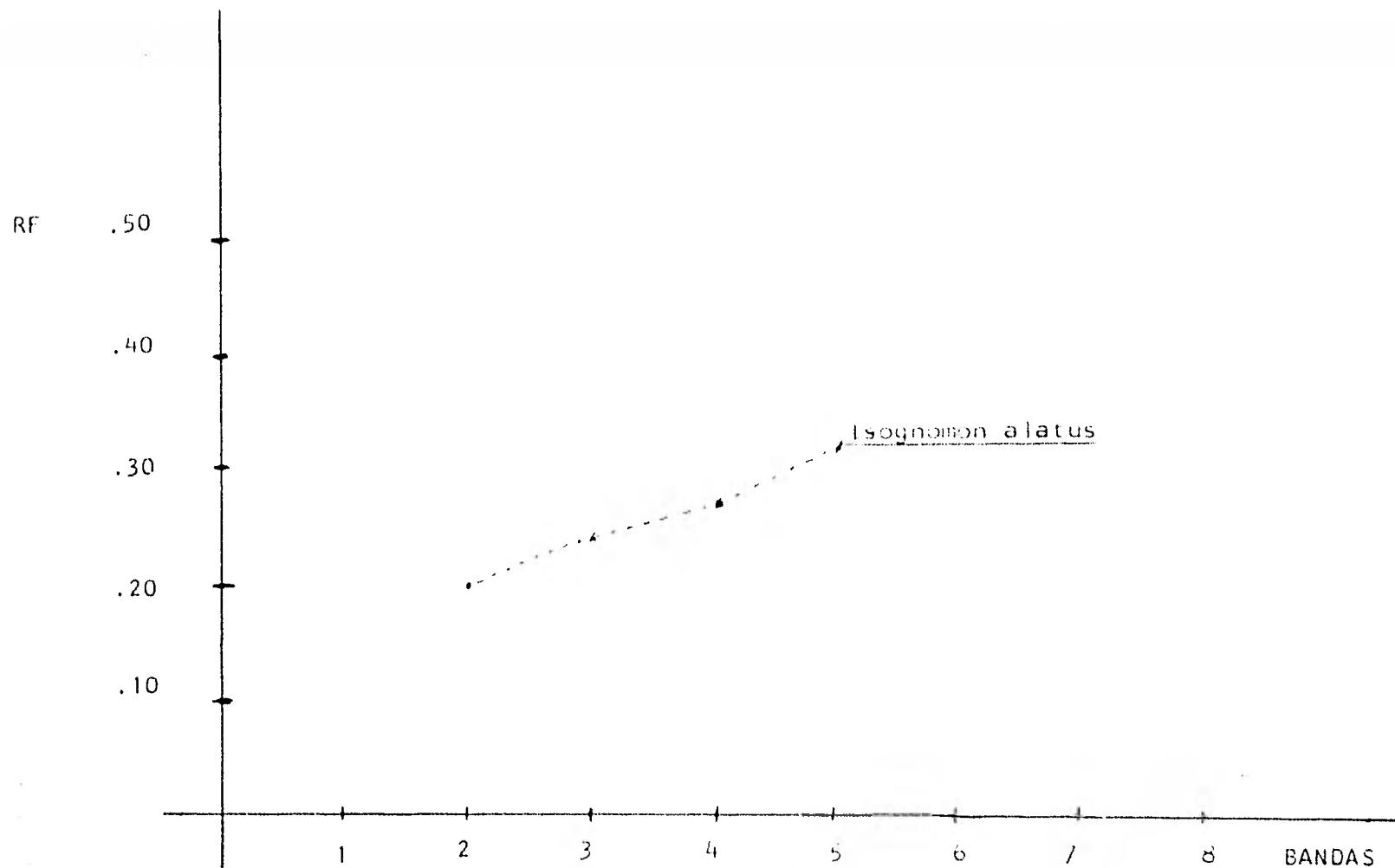


Fig. 6 Interpretación de la separación cromatográfica de aminoácidos en Músculo aductor de Isognomus aiatus.



Gráfica 5. Gráfica que muestra los factores de corrimiento correspondientes a la especie Isognomon alatus.



100-100-100-100

100-100-100-100

4.0 DISCUSION

La complejidad de algunas moléculas orgánicas, como las proteínas en los seres vivos, se reduce a una simplicidad relativa, que se resume en las combinaciones posibles de los 20 aminoácidos esenciales, los que al ser ordenados en diferentes secuencias, capacitan a la molécula para ser utilizada por los organismos con fines estructurales o de funciones enzimáticas. Este tipo de biomoléculas posee gran relevancia por su relación directa con la expresión de los genes de los cuales se derivan.

Los estudios enfocados a esclarecer el papel del material genético y las relaciones que se establecen entre los ácidos nucleícos y las proteínas en la actualidad, han demostrado la estabilidad evolutiva de la molécula de DNA debido, principalmente, a la presencia de ésta en la totalidad de los seres vivos sin cambios que modifiquen su estructura fundamental.

Lo anterior indica que en la evolución biológica este DNA ha sido importante, debido a que a través de ella es posible tanto la herencia como la variación de aquellas características de parentesco y diferenciales entre los seres vivos.

Con esta base, en años recientes, se han utilizado técnicas bioquímicas sencillas que permiten dilucidar algunas relaciones filogenéticas y de parentesco entre los diferentes grupos de organismos. En el caso de la Familia Ostreidae, este tipo de estudios se consideran escasos aún cuando han sido utilizadas la cromatografía (Hillman, 1964), la electroforesis (Fugino y Nagayama, 1977; Wil--

kins y Mathers, 1973 y Torigoe, 1978) y la serología (Cheng, 1964 y Numanchi, 1962), las cuales poseen amplias perspectivas dentro de la taxonomía y sistemática de los ostiones, en virtud de que - mediante éstas, se pueden inferir cualidades genéticas tales como el valor adaptativo de algunos genes especialmente los heterocigóticos, a fin de tipificar fenotipos que posean una heredabilidad lo suficientemente alta como para proporcionar individuos con ventaja genética como consecuencia de la acción del vigor híbrido -- (Rodríguez-Romero, 1981).

Estudios de esta índole son importantes, ya que presentan los resultados de las frecuencias génicas en forma clara y por la relativa sencillez de las técnicas y la simplificación de la cual - han sido objeto, permiten el estudio de la expresión de los genes a nivel de poblaciones en forma amplia.

Por otra parte, la expresión de un producto génico, es un fenómeno determinado parcialmente mediante un control interno, y en parte, por el medio ambiente circundante; ahora bien, en el caso específico de las ostras, debido al carácter sésil y filtrador y a la incapacidad de poderse trasladar a medios ambientes óptimos, las modificaciones fisiológicas deben darse como consecuencia - de alteraciones en la actividad o bloqueo de genes (Britten y Davidson, 1969).

Tal es el caso de los eventos que se concluyen en los estudios de Coe (1963), en los cuales se demostró que la determinación del sexo se encuentra influida por las condiciones fisicoquímicas del ambiente, de tal manera que los cambios profundos en éste modulan

su expresión; al possibilitarse la identificación de los rearrreglos a nivel subcromosómico mediante los métodos cromatográficos y electroforéticos se enriquece el conocimiento de la biología evolutiva de los organismos, cuyo conocimiento facilita la clarificación de problemas diversos relacionados con la taxonomía, la identificación de poblaciones específicas, el delineamiento evolutivo de los cariotipos de especies diferentes, la alteración del genoma a nivel cromosómico en relación con las modificaciones ambientales y daño genético manifestado por la presencia de mutaciones o aberraciones cromosómicas especialmente en correlación con aquellas que reflejan cambios en la expresión genética. (Rodríguez-Romero, 1981).

Por otra parte, los ostiones no están uniformemente repartidos sobre el área de distribución de los organismos de una misma especie, debido a que las poblaciones tienden a agruparse en bancos ostrícolas, de tal manera que las fuerzas evolutivas primarias empezarán a modificarlo desde el momento mismo en que se originan. (Savage, 1973).

Muy probablemente éste sea el origen de las razas fisiológicas o geográficas, debido a que las razas y los demes dentro de la especie conservan características genéticas básicas que permiten el cruzamiento cuando los individuos de esos grupos se reúnen, en tanto que las especies son un conjunto de poblaciones variables constituidas de un modo dinámico como una comunidad aislada, en cuanto a su reproducción, del resto del mundo biótico. (Mettler y Gregg, 1972).

Stauber, (1947), demostró la presencia de razas fisiológicas como consecuencia del amplio rango de distribución en la especie

Crassostrea virginica la cual se distribuye desde Canadá hasta Texas; como consecuencia de que las condiciones ecológicas no son estrictamente las mismas, consecuentemente deben darse cambios en el comportamiento fisiológico, como por ejemplo: modulación de las ciclos de maduración gonádica, patrones de crecimiento de la concha etc.

De acuerdo con Stauber (op. cit.), estos datos tienen una perspectiva perfectamente clara, en lo que respecta a su aplicabilidad en el cruzamiento de individuos de diferentes localidades con el propósito de producir vigor híbrido; en dichos proyectos deberá tomarse en cuenta primordialmente la afinidad fisiológica como un indicador de afinidad genética.

En la medida en que se determinen las similitudes y diferencias entre especies estrechamente relacionadas por medio de técnicas cromatográficas, electroforéticas y serológicas, se tendrá un panorama más exacto de las relaciones de parentesco de estos organismos, lo cual permitirá implementar estrategias de hibridación y selección intraespecífica que aporten resultados de interés en la práctica de mejoramiento genético.

Desde el punto de vista de la taxonomía tradicional se han reconocido entre 9 y 10 especies diferentes de ostiones de los géneros Crassostrea y Ostrea en el continente americano según Olsson, (1961) y Keen, (1971), sin embargo, en posición diferente a éstos, se encuentran los trabajos de Thomson (1954); Stenzel (1971); Ramirez y Sevilla (1965) y Stuardo y Martínez (1975), en los cuales se

ha señalado a la diversidad morfológica de las conchas como la causa principal que ha impedido la legítima identificación de las especies; estos mismos autores han considerado la posibilidad de la existencia de razas ecológicas en las que la expresión fenotípica se manifiesta en forma diversa como consecuencia de las características del medio en el cual se desarrollan. En apoyo a lo anterior, Mattox (1949), señala el problema de la sinonimia en las especies de ostiones, con la consecuente incertidumbre taxonómica.

4.1 Crassostrea virginica:

Aunque el ostión americano Crassostrea virginica ha sido ampliamente estudiado en diferentes aspectos de su biología y especialmente en cuanto a su anatomía, fisiología y ecología (Loosanoff y Davis, 1963; Galtsoof, 1964; Ranson, 1945; Forbes, 1967 y Menzel, 1973) al igual que las características de las conchas larvarias especialmente la umbada, por una parte, y por la otra, los estudios de Nelsson (1938), puntualizan el valor taxonómico de una estructura anatómica llamada cámara promial, característica del género Crassostrea (Tabla No 6), cuya utilidad en la resolución de problemas taxonómicos es limitada.

Estos estudios han sido subestimados por los malacólogos y, en algunos casos, hasta ignorados, debido a que el criterio taxonómico utilizado por estos especialistas se basa en las características de la concha únicamente, esto da como resultado, en la mayoría de los casos, una ubicación confusa de las poblaciones estudiadas.

TABLA No 6

** Diferencias morfológicas entre los géneros Ostrea y Crassostrea

<u>Ostrea</u>	<u>Crassostrea</u>
Tamaño promedio: pequeño generalmente	Tamaño promedio: grande generalmente
Sin cámara promial	Con cámara promial
Musculo localizado centralmente y mancha muscular pigmentada	Musculo localizado posteriormente, mancha muscular pigmentada
Valva izquierda alargada	Valva izquierda en forma de copa
Forma subcircular: Constante	Forma elongada mas variable
Habitantes marinos, de alta salinidad y aguas claras	Habitantes de estuarios, aguas salobres y de gran turbidez.

** Tomado de Menzel (1956).

En relación con la posición taxonómica de estas ostras, (Gunter, 1951; Galtsoof, 1964), han aportado información como resultado de estudios morfológicos de la concha y de algunos aspectos de la anatomía interna. Sin embargo, han surgido dudas en la identificación de poblaciones provenientes de las localidades reportadas por Stauber (1947).

En busca de criterios modernos, Longwell et. al., (1967) y Menzel (1968a y 1968b), han realizado estudios de la citotaxonomía en especies diferentes de ostiones a nivel celular para utilizar las características cromosómicas como una herramienta taxonómica para la identificación de poblaciones del género Crassostrea. Uno de los problemas en el estudio de la biología de las poblaciones de este género, es la correcta identificación de varios estadios de su ciclo biológico, sin embargo, se han utilizado características de la concha y de su anatomía interna para su identificación pero de ninguna manera se ha resuelto, en su totalidad, el problema.

La posibilidad de una heterogeneidad fisiológica en poblaciones de esta especie (Stauber, 1947; y Lossanoff y Nomejko, 1951), puede ser considerada como una consecuencia de una heterogeneidad genética, a pesar de la gran similitud de los estudios cromosómicos en Crassostrea virginica reportados por Longwell et. al. (1967), en poblaciones provenientes de Connecticut y por Rodríguez-Romero et. al (1978) de las costas de Tabasco, México.

Hillman, (1964), demostró la existencia de diferencias a nivel molecular entre dos poblaciones de la especie Crassostrea virginica, de diferentes localidades, lo cual puede ser debido a que

ambos grupos de organismos se encuentran sujetos a cambios ambientales diversos, y de esta manera se refleja como patrones diferentes de expresión génica.

Los estudios cromatográficos aquí reportados muestran que el número de bandas que caracterizan a esta especie es en número de 6, como se muestra en la Tabla No 1 y Gráfica No 1. Los valores promedio de los factores de corrimiento, sitúan perfectamente a las bandas 1-6, éstas difieren en su coloración, debido a las diferentes concentraciones de cada aminoácido o grupo de ellos.

Debido a que los resultados son constantes y la técnica empleada denota un alto grado de reproductibilidad, además de su relativa sencillez y bajo costo, (Hillman, 1964) es razonable pensar en que estos patrones cromatográficos pueden ser utilizados como indicadores en la identificación de especies diferentes.

4.2 Crassostrea rhizophorae

A partir de la descripción original de Guilding (1828), las poblaciones de Crassostrea rhizophorae, han sido reportadas en costas del Caribe, especialmente en Cuba, Brasil y Venezuela.

En algunos casos, estos reportes han sido referidos a especies bajo diferentes nombres científicos, lo que ha provocado confusión en la taxonomía y sistemática del grupo (Mattox, 1949 y Bonilla-Ruiz, 1969).

Por otra parte, estos ostiones son considerados como un recurso de importancia económica, al grado de que en Venezuela se está estudiando la posibilidad de cultivarlo masivamente. (Mandelli y Acuna,

1975 y Velez, 1968). En una situación similar se encuentra Cuba (Nikolick y Meléndez, 1968).

Este interés en la acuicultura promueve otro tipo de estudios, particularmente, aquellos enfocados a aspectos ecológicos y cambios gonádicos estacionales, que conducen a un mejor entendimiento de los requerimientos necesarios para su posterior cultivo experimental (Mattox, 1949; Angel, 1972; Velez, 1972; Velez y Bonilla, 1972) sin embargo, son muy escasos otro tipo de estudios en Crassostrea rhizophorae.

Al igual que Crassostrea virginica, Crassostrea rhizophorae, es otra especie del género que ha sido confundida, en cuanto a la correcta identificación de sus poblaciones en las diferentes localidades en que ha sido reportada.

Una vez más, el estudio de las características morfológicas no ha permitido discriminar claramente a esta especie; no obstante las aportaciones que ha brindado la anatomía interna en apoyo a la correcta ubicación de estos organismos dado que por estos métodos solo se logra la identificación hasta el nivel de género como es el caso de Ostrea y Crassostrea. (Tabla No 6).

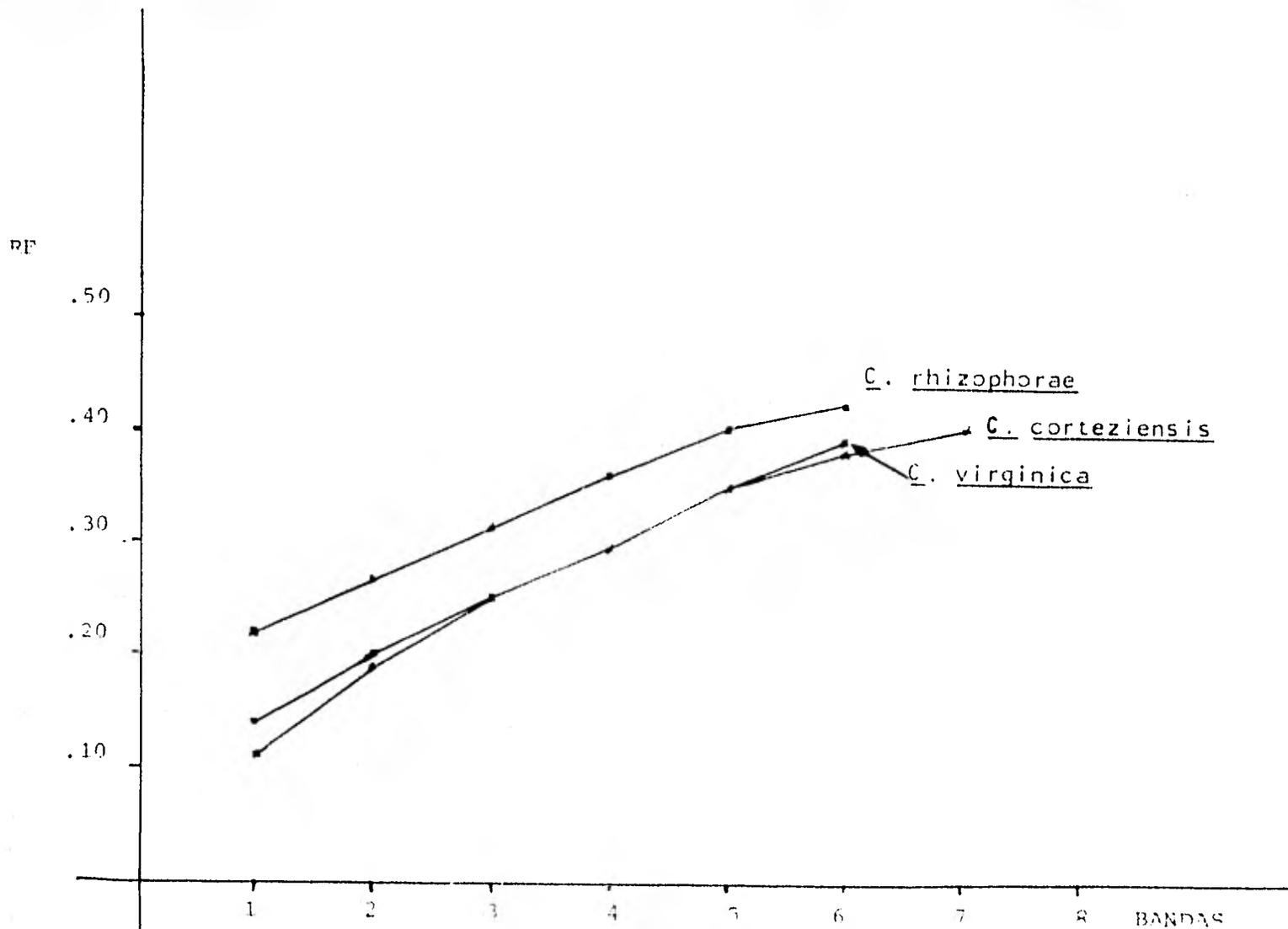
A nivel citológico pueden emplearse las características cromosómicas para reconocer a especies de un mismo género aún en casos de parentesco estrecho (Ahmed y Sparks, 1967a y 1967b; Longwell et al., 1967; Menzel, 1968a y 1968b) y algunos otros que han contribuido con investigaciones donde se comparan las características cromosómicas de diferentes taxa.

En cuanto a estudios referentes a la bioquímica comparada en

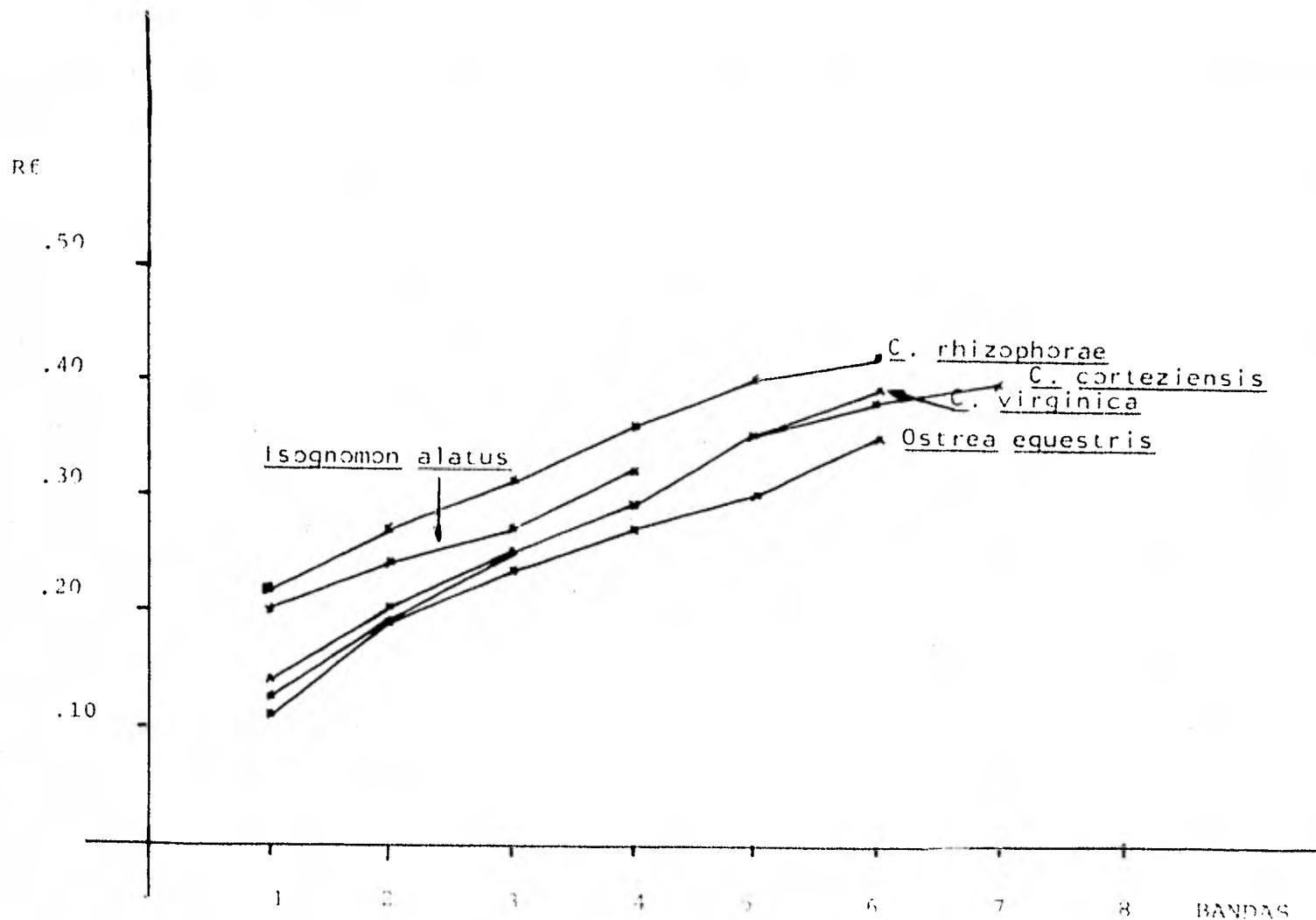
esta especie, Wilkins y Mathers (1973) y Nascimento y Rodrigues (1976) entre otros contribuyen, notablemente al mejor conocimiento de la taxonomía y biología de la familia Ostreidae a nivel inter-específico.

Al igual que en Crassostrea virginica, las poblaciones de ostiones de Crassostrea rhizophorae, del estero del Pargo, Isla del Carmen, Campeche, presentaron seis bandas diferentes; los valores promedio de los factores de corrimiento determinados caracterizan al patrón cromatográfico para esta especie (Tabla No 2 y Gráfica No 2). Al comparar las gráficas que representan los perfiles cromatográficos de Crassostrea virginica y Crassostrea rhizophorae, se observó una gran similitud en cuanto al número de bandas; sin embargo, es evidente que no existe una correspondencia entre éstas, ya que la banda número uno de Crassostrea rhizophorae corresponde aproximadamente a la banda número 2 de Crassostrea virginica y así sucesivamente para el resto de las bandas (Gráficas Nos. 6 y 7).

De lo anterior, es posible inferir que Crassostrea rhizophorae carece, cuando menos, de un aminoácido o de un grupo de ellos, que Crassostrea virginica sí posee, esto significa un indicador para diferenciar a los cromatogramas de una y de otra especie, dado que es una evidencia con la cual es posible discriminar las poblaciones de una especie y diferenciarla de otra analizando únicamente sus patrones cromatográficos.



Gráfica No 6. Comparación gráfica de los factores de arrimamiento de las tres especies del género Crasseostrea.



Gráfica No 7 Gráfica correspondiente a la comparación de los factores de crecimiento en las especies estudiadas.

4.3 Crassostrea corteziensis

En las poblaciones de Crassostrea corteziensis, ha sido reportada una extensa variación de las conchas de poblaciones de ostiones de esta especie; como consecuencia de factores ambientales específicos. Esto ha ocasionado confusión cuando se consideran a poblaciones ecomórficas como especies diferentes (Hertlein, 1951). En busca a una posible solución a este problema, deberán ser utilizados nuevos criterios biológicos para tratar de resolver algunos problemas taxonómicos.

Esta especie fue identificada como Ostrea chilensis por varios autores, sin embargo, Hertlein (1951) ha encontrado diferencias morfológicas suficientes en ostiones de Sonora como para proponerla como una nueva especie: Ostrea corteziensis.

Stuardo y Martínez (1975) y Castillo (1977), han acumulado información suficiente como para reconsiderar a esta especie como perteneciente al género Crassostrea basado en características anatómicas, dado que existe una gran similitud con otras especies del género Crassostrea.

Desde el punto de vista citotaxonómico, se han determinado un número diploide igual a 20 en estos organismos, similar al de otros organismos de este mismo género que ya han sido estudiados, como por ejemplo: Crassostrea angulata, Crassostrea commercialis, Crassostrea gigas, Crassostrea iradeli, Crassostrea rhizophorae y Crassostrea virginica (Menzel, 1968a; Longwell et.al. 1967 y 1970).

También, se han realizado estudios citogenéticos que comparan los cariotipos de Crassostrea corteziensis y Crassostrea virginica

en donde se ha observado una gran similitud.

En lo referente a los estudios de bioquímica comparada en organismos de esta especie, son nulos; en los estudios cromatográficos aquí reportados, se encontró que el número de bandas fue de 7, en donde los valores promedio para los factores de corrimiento - comparados con los de Crassostrea virginica denotan una gran similitud, sin embargo Crassostrea corteziensis presenta una banda de más, siendo una clara diferencia entre estas dos especies.

En estos cromatogramas aparece una banda, la número 6, que sobresale de las demás por su tonalidad parda y aunque, en muchos de los casos, esta banda se sobrepone a la inmediata superior, esta es claramente diferenciable, precisamente por su coloración característica. Comparando a las 3 especies estudiadas del género Crassostrea (Gráfica No 6), se observan diferencias en cuanto a los valores promedio de los factores de corrimiento, a pesar de su cercana filogenética, por lo cual es posible proponer que cada una de ellas posea un patrón cromatográfico particular.

4.4 Ostrea equestris

Ha quedado establecido mediante la aplicación de criterios anatomofisiológicos que el género Crassostrea está claramente separado del género Ostrea (Menzel, 1956 y Rodríguez-Romero, 1981; Tabla No 6).

Los valores promedio encontrados para los factores de corrimiento en poblaciones de Ostrea equestris muestran uniformidad en los resultados. En lo que se refiere al análisis comparativo de los cromatogramas, no hay diferencias con Crassostrea virginica y ---

Crassostrea rhizophorae, aunque si se pueden encontrar con Crassostrea corteziensis. El comportamiento de los estratos es muy similar con los primeros cuatro de Crassostrea virginica con excepción de las últimas dos bandas, las únicas que hasta el momento permiten el reconocimiento a nivel genérico en estos organismos (Gráficas 6 y 7).

Este comportamiento tan similar de las bandas llama la atención, debido a que las especies pertenecen a géneros diferentes, por lo que se esperarían resultados que indicaran una mayor diferencia en estas especies, manifestada en sus respectivos cromatogramas, ya que éstas pertenecen a géneros diferentes, la razón de lo anterior podría deberse a que ambas especies comparten un mismo habitat, y ocasione una convergencia en la expresión de los aminoácidos libres en ambas especies.

4.5 Isognomon alatus

En la actualidad, la familia Isognomonidae se encuentra representada, en las costas mexicanas, por las especies: Isognomon alatus, Isognomon bicolor e Isognomon radiatus. Los organismos que forman las poblaciones de Isognomon alatus son, por lo general, estuarinos y se encuentran comunmente en las costas del Atlántico (Rice y Kornicker, 1962 citado en Work, 1969; Toledano et. al. 1978 y Pully, 1953).

Entre los trabajos realizados sobre el género Isognomon se encuentra el de Yonge (1968), en el que se describe la forma y el habitat de Isognomon isognomon y se compara con especies del género

Malleus. Pocos trabajos se han publicado acerca de la citotaxonomía del género Isoqnomon, entre los pocos que se conocen se encuentran los de Wada (1978); Díaz y López (1980) y Durán-González (1981), en los cuales se reportan números cromosómicos diploides de 28 y 26 en Isoqnomon alatus.

En cuanto al número de bandas encontradas en los cromatogramas, en esta especie fue de 4, con una notable diferencia en cuanto a los factores de corrimiento en relación con los géneros Ostrea y Crassostrea.

Los resultados de este estudio concuerdan con los de otras disciplinas (Menzel, 1956) en cuanto a las diferencias filogenéticas -- que existen entre las especies analizadas, dado que en la actualidad a Ostrea y Crassostrea se les considera pertenecientes a la familia Ostreidae, mientras que Isoqnomon alatus se incluye en la familia -- Isoqnomonidae, sin duda alejada de la familia Ostreidae (Rodríguez-Romero, 1981).

Así como el criterio anatómico y citogenético reflejan una separación definida entre estas dos familias, de igual manera a nivel molecular se observan diferencias de los perfiles cromatográficos, éstas se encuentran no solo en el número de las bandas sino también en la disposición de éstas, que conforman los cromatogramas típicos de cada una de las especies de estas dos familias.

Como consecuencia de lo anterior, se concluye que la metodología cromatográfica y su aplicación directa en el reconocimiento de organismos acuáticos de ambientes marinos y estuarinos, como los moluscos, mediante el análisis de los patrones de corrimiento de amino-

ácidos libres, representa una línea de investigación inexplorada y con amplias posibilidades de proporcionar resultados satisfactorios en la identificación de poblaciones con un amplio rango de distribución que repercuten en la ubicación taxonómica precisa de los organismos estudiados.

5.0 RECOMENDACIONES

Estos resultados son congruentes con los de Hillman (1964), quien encontró diferencias de expresión génica como consecuencia de modificaciones ambientales, por lo cual una estrategia a seguir sería el registro estacional en un mismo banco ostrícola para demostrar la existencia de patrones estandar con lo cuál se podrán detectar a lo largo del año, algunas diferencias como consecuencia de los cambios estacionales en el medio acuático.

Con el empleo de técnicas cromatográficas y electroforéticas más refinadas como: la cromatografía bidimensional, la cromatografía en capa fina, la electroforesis en papel y en gel, etc., se estará en posición adecuada para encontrar patrones más exactos de la distribución de éste tipo de biomoléculas, ya que se podrá definir con el empleo de las técnicas anteriormente citadas, la cantidad y el tipo de aminoácido con el cual se está trabajando.

Por otro lado, es claro que la cromatografía unidimensional presenta limitaciones inherentes, que con el refinamiento de las técnicas podrán ser superadas, además se dispone de la versatilidad que ofrece el realizar estudios en sus diversas modalidades -- cromatográficas de distintos tejidos como el del musculo abductor y el tejido gonádico, por ejemplo en la investigación cuantitativa y cualitativa de hormonas esteroides involucradas en la evolución sexual de los ostiones.

6.0 LITERATURA CITADA

- ABBOTT, R T., 1974. American seashells. The marine Mollusca of the Atlantic and the Pacific coast of North America. Van Nostrand Reinhold Co., New York, 2 Ed. 666 p.
- AHMED, M. y A.K. SPARKS, 1967a. Chromosomes of oysters, clams and mussels. Proc. Nat. Shellfish Ass. 58: 10.
- AHMED, M. y A.K. SPARKS, 1967b. A preliminary study of two species of oysters (Ostrea lurida and Crassostrea gigas) J. Fish. Res. Board Can., 24: 2155-2159.
- ANGEL, C., 1972. Maduración gonádica y fijación de Crassostrea rhizophorae en una laguna hipersalina del Nor-Oriente de Venezuela. Memoria de la Soc. de Cienc. Nat. La Salle. 93: -- 216- 240.
- BONILLA-RUIZ, J., 1969. Notas sobre aspectos biológicos de las ostras. Laguna. (23 y 24): 48-68.
- BRITTEN, R.J. and E.H. Davidson., 1969. Gene regulation for higher cells: A Theory. Science. 165: 349-357.
- CARDENAS, F.M., 1969. Pesquerías de las lagunas litorales de México. In: Ayala-Castañares A. y F.B. Phleger (Eds) Lagunas costeras un Simposio. Mem. Sim. Inter. Lagunas costeras. UNAM-UNESCO. México, Nov. 28-30. 1967: 645-652.
- CARTA INTERSECRETARIAL. 1958. Comisión intersecretarial Coordinadora del Levantamiento de la Carta Geográfica de la República Mexicana. México.
- CASTILLO, Z.G.R., 1977. Contribución al estudio taxonómico de algunas especies mexicanas de la Familia Ostreidae. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. 33p.
- CHENG, T.C., 1964. Comparative electrophoretic studies on the sera of marine and freshwater mollusks. Taxonomic biochemistry and serology. Ed. Leone. Ronald Press N.Y.: 659-666.
- COE, W.R., 1963. Sexual phases in the american oyster (Ostrea virginica) Biol. Bull. 63: 419-441.
- COX, C.B., I. HEALEY and P.D. MOORE., 1978. Biogeography. Ed Clack well. 2nd Ed. New York: 1-5.
- DIAZ Y LOPEZ, M.E.G., 1980. Estudios cromosómicos en una población de moluscos bivalvos de la especie Isognomon alatus. Gmelin. Tesis profesional. Fac. de Ciencias. UNAM. 45 p.

- DURAN-GONZALEZ, A., 1981. Identificación de una población de Isognomon sp. (Mollusca-Bivalvia) de la Isla de Jaina, Campeche, México. Mediante el criterio citotaxonomico. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. 52 p.
- FORBES, M.L. 1967. Generic differences in prodissoconchs of Gulf of Mexico oysters. Bull. of Mar. Sci. 17 (2): 338-347.
- FUGINO, K. and N. NAGAYAMA. 1977. Biochemical polymorphism in the Pacific Oyster. Variants in myogen and Esterases. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 48 (8): 983-988.
- GALTISOFF, P.S., 1964. The american oyster Crassostrea virginica Gmelin. fish. Bull. of the fish wildlife service. 64: 480 p.
- GARCIA-CUBAS, A., 1980. Moluscos de un sistema lagunar tropical al sur del Golfo de México. Publicaciones especiales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología. Univ. Nat. Aut. de México (en prensa).
- GUILDING, L.B.A. 1828. Observations on the Zoology of Caribbean islands. Zool. Journ. London. 3 (12): 542.
- GUNTER, G., 1951. The West Indian tree oyster on the Louisiana coast, and notes on the growth of three Gulf coast oyster. Science. 113: 516-517.
- HERTLEIN, L.G., 1951. Descriptions of two new species of marine pelecypods from west Mexico. Bull. Cal. Acad. Sci. 50 (2): 68-75
- HILLMAN, R.E., 1964. Chromatographic evidence of intraespecific genetic differences in the eastern oyster Crassostrea virginica. Syst. Zool. 13: 12-18.
- JOHSON, A.G., F.M. UTTER and K. NIGGOL, 1972. Electrophoretic variants of aspartate aminotransferase and adductor muscle proteins in the native oyster (Ostrea lurida) Anim. Blood Grps. Biochem. Genet. 3: 109-113.
- KEEN, A.M., 1971. Sea shells of tropical west American. Stanford Univ. Press. 1064 Proc.
- LONGWELL, A.A., S.S. STILES and D.G. SMITH, 1967. Chromosome complement of the american Oyster Crassostrea virginica, as seen in meiotic and cleaving eggs. Can. J. Genet. Cytol. 9 :845- 846.
- LONGWELL, A.C , y S.S. STILES. 1970. El sistema genético y el potencial reproductor de la ostra americana. Endeavor. 19 (107) : 94- 99

- LOOSANOFF, V. L. and C.A. NOMEJKO. 1951. Existence of physiologically different races of oysters, Crassostrea virginica. Biol. Bull. (Woods-Hole) 2: 151-156.
- LOOSANOFF, V. L. and H.C. DAVIS. 1963. Rearing of Bivalve mollusks. Recent advances in Marine Biology. Academic Press, N.Y. 1: 1-136.
- MANDELLI, F.E. AND C.A. ACUNA. 1975. The culture of the mussel Perna perna and the mangrove oyster Crassostrea rhizophorae, in Venezuela. Marine fisheries Rev., 37 (1): 15-18.
- MATTOX, N.T., 1949. Studies on the biology of the edible oyster, Ostrea rhizophorae Guilding, in Puerto Rico. Ecol. Monogr. 19: 339-356.
- MENZEL, R.W. 1956. Some additional differences between Crassostrea virginica and Ostrea equestris in the Gulf of Mexico area. Proc. Nat. Shellfish Assoc. 46: 76-81.
- MENZEL, R.W. 1968a. Cytotaxonomy of species of clams (Mercenaria) and oysters (Crassostrea) Proc. of Symp. Mollusca Mar. -- Biol. Assoc. India. Part 1: 75-84.
- MENZEL, R.W. 1968b. Chromosome number in nine families of Pelecypod mollusks. Nautilus. 82: 45-58.
- MENZEL, R.W. 1973. Some species affinities in the oyster Genus: Crassostrea. Bull. of the Amer. Malacol. Union. Inc.: 38p.
- METTLER, L. E. y T.G. GREGG. 1972. Genética de poblaciones y evolución. U.T.E.H.A. México. 246 p.
- MORE, P., M.T. MORE, J. POSEBAL, et al. 1966. Application de la méthode de "Disc-electrophoresis" a l'étude de protéines solubles des muscle adducteurs de Ostrea edulis L., Crassostrea angulata Lmk., Tapes deussatus L., Mytilus edulis L. et Mya arenaria L. Bull. Soc. Pharm. Quest. 8: 135-142.
- MORE, P., M.T. MORE, J. POSEBAL, et al. 1971a. Electrophorese en gel de Polyacrydamide des protéines solubles de la partie transparente du muscle adducteur de cinq especes d'Ostreidae. C. R. Hebd. Scences Acad. Sci. D. Sci. Nat. (Paris). 272. (2): 222-225.
- MORE, P., M.T. MORE, J. POSEBAL, et al. 1971b. Electrophorese en gel de Polyacrydamide des protéines solubles de la partie nacrée du muscle adducteur de cinq especes d'Ostreidae. C. R. Hebd. Scences Acad. Sci. D. Sci. Nat. (Paris). 272(10) 904-906.

- NASCIMENTO, A.I. and A.E.L. ROORIGUES, 1976. Aspects of mitochondrial activity in the estuarine bivalves Crassostrea rhizophorae and Lucina pectinales: A comparative aproch. Rev. Bras. de Pesquisas Med. e Biol. 9 (5-6):225-264.
- NELSSON, T.C., 1938. The feeding mechanism of the oyster on the pallium and the branchial chambers of Ostrea virginica, - Ostrea edulis and Ostrea angulata, with comparisons with other species of the genus. Jour. Morpho. 63 (1): 1-161.
- NIKOLIC, M. y S.A.MELENDEZ. 1968. El ostión de mangle Crassostrea rhizophorae, Guilding, 1828. Cent. de Inves. Pesqu. Cuba. Nota de Invest. (7).
- NUMANCHI, K.,1962. Serological studies of species and race in - oysters. Amer. Nat. 96(889): 211-217.
- OLSSON, A.A., 1961. Mollusks of the tropical eastern Pacific, - particularly from the southern half of the Panamic-Pacific faunal province (Panamá to Peru). Panamic-Pacific pelecypoda. Paleontological research Institution. Ithaca. N.Y.547p.
- PULLEY, T.E , 1953. A zoogeographic study based on the bivalves of the Gulf of Mexico. Unpub. Ph. Dissertation, Harvard, Univ. Cambridge. 215 p.
- RAMIREZ, G.R. y M.L. SEVILLA. 1965. Las ostras de México. Datos biológicos y planeación de sus cultivo. INIBP. Secretaría de Industria y Comercio Derch. Gral. de Pesca e Indust. Conexas. No 7. 100p.
- RANSON, G., 1945. Prodissoconques et classification des Ostreidaes vivants. Bull. Mus. Rev. d'Hist. Nat. de Belgique. 24:1-12.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F. 1981. Estudios cromosómicos y de expresión génica en algunos bivalvos de importancia económica de las costas mexicanas. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Univ. Nal. Auton. de México. 122 p.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., M URIBE and A. LAGUARDA. 1978. Cytogenetic study of an oyster population of the species Crassostrea -- virginica. Gmelin, from coasts of Tabasco, México. Jap. Jour. Malacol. (Venus). 37 (2); 83-86.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., A. LAGUARDA and M. URIBE. 1979a. Comparative analysis of the Kariotypes of two oysters species of the genus Crassostrea from Mexico: C. virginica and C. cortezien-sis. An. Cent. Cienc. del Mar. y Limnol. Univ. Nal. Auton. de México. 6: (1): 19-24.

- RODRIGUEZ-ROMERO, F., M. URIBE and A. LAGUARDA, 1979b. The Kariotype of Crassostrea corteziensis, Hertlein 1951. (Mollusca-Ostreidae) An. Cent. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. - Auton. de México. 6: (1): 19-24.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., and col. 1979c. The Kariotype of Crassostrea rhizophorae, Guilding, 1828: Jap. Jour. Malac. (Venus) 38 (2): 135-140.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., and col., 1979d. Distribution of "G" bands in the Kariotype of Crassostrea virginica. Jap. Jour. Malac. (Venus) 38 (3): 180-184.
- SAVAGE, J. M. 1973. Evolución. C.E.C.S.A. México. 175p.
- SHAW, K. N. F., et al. 1971. Biochemical screening and monitoring of patients with Phenylketonuria and variants forms of Hyperphenylalaninemia. Phenylketonuria and some other inborne errors of aminoacids metabolism. Biochemistry-Genetics-Diagnosis-Therapy. Ed Horst-Bickel; Fred P. Hudson. Louis I. Wolf. -- Thieme Ed. Stuttgart. Germany
- SOTA, S. R. de la, 1967. La taxonomía y la revolución de las Ciencias Biológicas. Monogr. 3 de Asuntos científicos. O.E.A. -- 80 p.
- STENZEL, H. B. 1971. Traiteise on invertebrate Paleontology. Part. 3, Mollusca-Bivalvia. Oysters. In. R. C. Mook (ED). 272 p.
- STAUBER, L. A. 1947. On possible physiological species in the oyster Ostrea virginica. Anat. Rec. 99 (4): 614.
- STUARDO, J. y A. MARTINEZ, 1975. Relación entre algunos factores ecológicos y de la Biología de poblaciones de Crassostrea corteziensis. Hertlein. 1951, de San Blas, Nayarit, México. An. Cent. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Auton. México
- THOMSON, J. M., 1954. The genera of oysters and the Australian species. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 5 (1): 132-168.
- TOLEDANO, G. A., et. al. 1978. Estudios prospectivos de los moluscos de importancia económica en la Laguna de La Mancha Ver. México. Biología de Campo. Fac. de Cienc. Univ. Nal. - Autón. México (no publicado).
- TORIGOE, K., 1978. Electrophoretic variants of adductor muscle proteins in Crassostrea gigas. Jap. Jour. Malac. (Venus), 37 (4): 177-183.
- TORIGOE, K and A. INABA., 1975. Electrophoretic studies on some oysters. Jap. Jour. Malac. (Venus) 33 (4): 177-183.

- VELEZ, A., 1968. Ensayos del cultivo del ostión Crassostrea rhizophorae, Guilding 1828, en el oriente de Venezuela. Laguna Nos. 19 y 20. 11-20 p.
- VELEZ, A., 1972. Fijación de la larva del ostión de los bancos naturales de la Bahía de Mochima y Laguna Grande. Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente. 11 (2): 97-106.
- VELEZ, A. y J. BONILLA., 1972. Variación estacional del engorde del ostión Crassostrea rhizophorae de Bahía de Mochima y Laguna Grande. Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente 11 (1): 39-43.
- YONGE, C. M., 1968. Form and habitat in species of Malleus (including the hammer oysters) with comparative observations of Isognomon isognomon. Biol. Bull. 132 (2): 378-405.
- WADA, K. T., 1978. Chromosome karyotypes of three Bivalves: The oysters: Isognomon alatus and Pinctada imbricata, and the Bay scallop, Argopecten irradians irradians. Biol. Bull. 155: 235-245.
- WILKINS, N. P. and N. F. MATHERS. 1973. Enzyme polymorphism in the European oyster. Ostrea edulis L. Animal. Blood. Grps. Biochem. Genet. (4): 41-47.
- WORK, R. C., 1969. Systematic, Ecology and Distribution of the mollusks of los Roque, Venezuela, Bull. of Mar. Scienc. 19. (3): 614-711.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi gratitud al Dr. Faustino Rodríguez Romero, investigador del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología por haberme brindado la oportunidad de realizar esta tesis bajo su dirección además de su gran paciencia y sobre todo por su amistad.

Agradezco al Dr. Antonio Velázquez y muy especialmente a la Srta. Elba Marquez Solís, ambos del Instituto de Investigaciones Biomédicas, por su apoyo en todos los aspectos técnicos.

A los sinodales: M. en C. Irene Pisanty Baruch; M. en C. Pilar Torres García; Biol. Alicia Durán González y al M. en C. Francisco Flores Pedroche. A todos ellos agradezco igualmente su asesoramiento en la revisión del manuscrito.

Al Arq. Armando Campos Póltio por la elaboración de las figuras.

A todos mis amigos y compañeros.