



**Universidad Nacional Autónoma
de México**

Colegio de Ciencias y Humanidades
Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

VARIABILIDAD GENÉTICA POBLACIONAL EN OSTIONES DE LA
ESPECIE Crassostrea virginica DEL GOLFO DE MEXICO

T E S I S

Para optar por el grado de
DOCTOR EN CIENCIAS DEL MAR
(OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA Y PESQUERA)

JORGE DE LA ROSA VELEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

I N D I C E.

| | |
|--|-----|
| RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT | iii |
| INTRODUCCION | 1 |
| ANTECEDENTES | 4 |
| ASPECTOS BIOLOGICOS | 10 |
| Filogenia y evolución. | 10 |
| Posición taxonómica. | 11 |
| Citogenética y citotaxonomía. | 12 |
| Razas fisiológicas. | 13 |
| Distribución geográfica y características biológicas. | 14 |
| AREA DE ESTUDIO | 17 |
| MATERIAL Y METODOS | 26 |
| Material biológico. | 26 |
| Métodos electroforéticos. | 27 |
| Ensayos enzimáticos. | 32 |
| Métodos estadísticos. | 39 |
| RESULTADOS | 41 |
| Nomenclatura. | 41 |
| Interpretación de los zimoqramas. | 42 |

| | |
|--|-----|
| Variación genética. | 43 |
| Variación clinal y mapeo génico. | 50 |
| Similitud genética interpoblacional. | 68 |
| DISCUSION | 70 |
| Variación genética. | 70 |
| Deficiencia heterocigótica. | 84 |
| Sobredominancia en el <u>locus Pt-1.</u> | 90 |
| Similitud genética. | 92 |
| Aplicabilidad de los estudios de la variabilidad genética a la pesquería del ostión. | 96 |
| CONCLUSIONES | 103 |
| LITERATURA CITADA | 105 |

RESUMEN

Por medio del análisis electroforético de 10 sistemas enzimáticos y proteína total del músculo aductor del ostión Crassostrea virginica, se estudió la variabilidad genética de esta especie en 8 poblaciones tropicales del Golfo de México. El polimorfismo proteínico promedio encontrado fue: $P_{95} = 43.2 \% \pm 2.6 \%$; $P_{99} = 51.5 \% \pm 2.8 \%$. La heterocigosis media fue: $H_e = 17.4 \% \pm 4.0 \%$. Cuatro (TER, MEC, TAM y PVI) de las ocho poblaciones presentaron deficiencia de heterocigotos con respecto a la proporción teórica esperada, según el equilibrio de Hardy-Weinberg; dos (CMP y SON) estuvieron en equilibrio y una (LAM) presentó exceso de heterocigotos, según el mismo criterio. Estos resultados parecen estar relacionados con la presión selectiva ejercida por las características ambientales propias del medio tropical, los fenómenos climáticos, hidrológicos y geológicos locales que han experimentado las poblaciones recientemente y la presión de captura que mantiene cada población.

Se detectaron clinas génicas y genotípicas que aportan evidencia de la acción selectiva del medio con respecto a la variación macrogeográfica. La variación genética en uno de los loci estudiados (Pt-1) parece mantenerse por sobredominancia; este es el primer reporte de ese comportamiento genético en la especie estudiada.

El análisis de las similitudes genéticas interpoblacionales permitió detectar cuatro transiciones en la estructura genética de la población a lo largo de la población estudiada, generadas por la reducción de flujo génico en función de la circulación oceánica estacional del Golfo de México o por las características ambientales de los sistemas lagunarea. Los valores de similitud genética de la población de la laguna Madre, comparada con las demás estudiadas, sugiere que está evolucionando independientemente.

Se propone la utilización de la información genética básica obtenida en este estudio para la implementación de programas bien fundados de regeneración y cultivo de bancos ostrícolas con el fin de optimizar esa pesquería en nuestras costas.

ABSTRACT.

A genetic variability study on eight populations of the oyster species Crassostrea virginica from the Gulf of Mexico was performed by means of electrophoretic analysis of ten enzymatic systems and total protein from the adductor muscle. The mean protein polymorphism was: $P_{95} = 43.2\% \pm 2.6\%$; $P_{99} = 51.5\% \pm 2.8\%$. The mean heterozygosity was: $H_e = 17.4\% \pm 4.0\%$. Four (TER, MEC, TAM and PVI) of the eight populations analysed showed heterozygote deficiency in relation to the expected theoretical values after Hardy-Weinberg equilibrium; two (CMP and SON) were in equilibrium and one (LAM) showed heterozygote excess after the same criteria. These results seem to be related to characteristic selective forces acting in tropical environment, to very local climatic, hydrologic and geologic events suffered recently by the populations and to catch pressure levels in each population.

Genic and genotypic clines were detected giving further evidence about the environmental selective action related to macrogeographical variation. Genetic variation on one locus (Pt-1) seems to be maintained by overdominance; this genetic behaviour was not reported before for this species.

Analysis of interpopulation genetic similarities suggests four transitions in population genetic structure across the studied distribution, attributed to genic flow reductions related to seasonal oceanic circulation patterns of the Gulf of Mexico and local environmental character-

ristics. The Laguna Madre population, when compared with the others studied here, gives genetic similarity values low enough to be considered as evolving independently.

Basic genetic information obtained here can be applied in regeneration and culture programs to improve fisheries in our coasts.

INTRODUCCION.

Los estudios de variabilidad genética en poblaciones naturales han aportado información valiosa acerca de los procesos evolutivos que intervienen en la adaptación de las especies a los ambientes que habitan (Valentine, 1980).

El Teorema Fundamental de la Selección Natural establece que la tasa de aumento de la eficacia biológica de una población en cualquier momento es igual a su varianza genética en eficacia biológica en ese momento (Fisher, 1930; citado en Ayala y Kiger, 1984); es decir, la cantidad de variación genética con respecto a la eficacia se correlaciona directamente con la tasa evolutiva determinada por la selección natural. Los cambios en frecuencias alélicas debidos a la selección natural continúan mientras haya variación hereditaria en una población y la tasa de cambio será directamente proporcional a la cantidad de variación.

El reservorio genético de una población está definido por el tipo de alelos que contiene y la frecuencia con que estén presentes (Dobzhansky et al. 1977). En las poblaciones de organismos diploides, la combinación entre alelos que segregan en un locus dado dan lugar a la formación de los genotipos que representan el material hereditario del organismo. El genotipo determina, mediante interacciones génicas complejas, la extensión de fenotipos que se pueden desarrollar, según el ambiente experimentado.

Las poblaciones de especies que presentan distribuciones geográficas amplias pueden experimentar diferencias ambientales que han de reflejarse en su estructura genética. La caracterización de estos cambios son de interés general en el campo de la biología evolutiva; el mantenimiento de la variación genética clinal por selección natural es un argumento sólido de la naturaleza selectiva de los electromorfos, caracterizados por medio de la metodología de la genética bioquímica, en especies ampliamente distribuidas (Singh y Green, 1986).

Las técnicas electroforéticas han probado ser adecuadas en este tipo de estudios porque los fenotipos obtenidos en los zimogramas se pueden igualar con los genotipos, permitiendo enumerar las frecuencias génicas y detectar proteínas variables y no variables, posibilitando la cuantificación de la variación promedio en una muestra de loci seleccionados sin un conocimiento previo de su variabilidad.

En el presente estudio, se analiza por medio de los métodos de la genética bioquímica, la variación genética de 8 poblaciones representativas del ostión Crassostrea virginica de la costa sur y suroeste del Golfo de México. El nivel de variabilidad genética de la especie en latitudes tropicales y subtropicales no había sido evaluado. Su caracterización es una aportación al conocimiento de la dinámica de la estructura genética de las poblaciones de la especie en estas latitudes.

Basado en el conocimiento de las capacidades adaptativas de la especie a su ambiente, expresada en términos de variabilidad genética, es fac-

tible determinar las condiciones más adecuadas para su uso y manejo. La especie C. virginica se explota intensamente en las costas del Golfo de México. A lo largo de la historia de esta pesquería se han reportado varias crisis, muchas de ellas de origen obscuro (De Buen, 1957). Se considera que son pocos los bancos que no están sobreexplotados y los programas oficiales de cultivo no han fructificado por razones de diversa índole (Ortiz, 1985). Estos problemas provocan que los rendimientos se tornen fluctuantes y poco predecibles.

La aplicabilidad de las nuevas metodologías en investigación genética, como la genética bioquímica, a pesar de haber demostrado su valía en la resolución de problemas de interés inmediato en el desarrollo de pesquerías y cultivos acuícolas, no ha sido aún explotada en nuestro país para la caracterización de las poblaciones de los recursos de importancia económica (Hedgecock et al., 1976).

La producción ostrícola incide en las tres expectativas de la pesca en México: la demanda alimenticia de la población, la creación de empleos y la aportación de divisas (Rafful, 1982). Es, por lo tanto, prioritario el desarrollo de investigaciones básicas que evalúen el estado del recurso y sirvan como fundamento para el desarrollo de programas de explotación y de cultivo.

ANTECEDENTES

Las técnicas electroforéticas, como método de medición de la variación genética, se aplicaron por primera vez hace 20 años (Harris, 1966; Hubby y Lewontin, 1966; Johnson et al., 1966; Lewontin y Hubby, 1966). Esta línea metodológica ha sido aplicada ampliamente a todos los niveles de la escala biológica y ha establecido claramente que la variación genética es considerable en las poblaciones naturales (Lewontin, 1974). Sin embargo, no todos los tipos de organismos son variables en igual magnitud (Selander, 1980); la proporción de loci polimórficos y la heterocigosis génica promedio por población es del 10 al 20 % y del 5.84 %, respectivamente en los vertebrados, mientras que es del 25 al 50 % y del 15 % en invertebrados (Selander y Kaufman, 1973). La diferencia representa una estrategia adaptativa; los organismos más grandes y móviles experimentan sus ambientes como de textura más fina que las formas pequeñas, menos móviles. Por consiguiente, para las formas grandes el ambiente es menos incierto y se requiere una variabilidad genética más baja para la adaptación.

Los valores más altos de heterocigosis han sido encontrados en ambientes que permiten una persistencia extraordinaria de sus poblaciones y que sufren reducciones infrecuentes. Ayala et al. (1973) y Somero y Soulé (1974) atribuyen sus resultados a la acumulación de polimorfismos proteínicos a través del tiempo en el mar profundo. Ayala et al. (1975 a y b) proponen que la estabilidad de recursos tróficos en el trópico induce a las especies a especializarse en alimento o en hábitat

produciendo una gran variedad de genotipos altamente adaptados a las condiciones especiales de ese habitat.

El análisis genético por medio de las técnicas electroforéticas se ha aplicado a varios ostreídos. Wilkins y Mathers (1973) analizaron poblaciones geográficamente separadas del ostión europeo Ostrea edulis en dos sistemas enzimáticos (esterasas y fosfoglucoasa isomerasa) y encontraron que las poblaciones diferían genéticamente en los loci investigados. Torigoe e Inaba (1975) estudiaron electroforéticamente cuatro especies de ostiones (Crassostrea gigas, Saccostrea echinata, Ostrea circumpecta y Ostrea denselamellosa) y obtuvieron "huellas digitales" electroforéticas que utilizaron en estudios sistemáticos. Buroker et al (1975) y Torigoe (1978), analizando al ostión Crassostrea gigas, encontraron que el 53 % de los loci estudiados eran polimórficos y que los individuos eran heterocigotos en el 21 % de sus loci. En otros estudios, Buroker et al (1979.a y b) midieron la variabilidad genética de cuatro especies del género Crassostrea y dos de Saccostrea obteniendo los siguientes valores de polimorfismo y heterocigosis: C. belcheri, 20 % y 6.2 %; C. iredalei, 39.3 % y 10 %; C. rivularis, 37.5 % y 9.8 %; C. rhizophorae, 30 % y 10 %; S. comercialis, 46.4 % y 19.5 %; S. glomerata, 51.9 % y 18.2 %.

La variabilidad genética de una población de C. virginica de la costa de Georgia, E.U.A. ha sido estudiada por Schaal y Anderson (1974). El análisis de 31 loci en 100 ostiones permitió detectar un polimorfismo del 42 % y una heterocigosis promedio del 12 %.

Un estudio más extenso, que abarcó las poblaciones de la costa Atlántica y las zonas noreste, norte y noroeste del Golfo de México, dio como resultado valores de polimorfismo y loci heterocigóticos por individuo entre 46.9 y 65.6 % y 18.6 y 23.6 % para las poblaciones de la costa Atlántica y entre 54.8 y 68.8 % y 20.0 y 25.4 % para las de las zonas mencionadas del Golfo de México, respectivamente. El cálculo de la distancia genética interpoblacional indicó una transición en la estructura genética de la población de Brownsville, en la laguna Madre, con respecto a las demás. Por otra parte, se presentó evidencia de la formación de clinas génicas y genotípicas relacionadas con la ubicación geográfica y las condiciones ambientales (Buroker, 1983).

Rose (1984) analizó, desde el mismo punto de vista, las poblaciones de C. virginica de los ríos James y Potomac. El autor demostró que existe diferenciación genética al menos en 2 de los 4 loci analizados entre las poblaciones de los dos ríos. Considerando la gran capacidad de dispersión de la especie y la distancia relativamente corta entre los ríos, concluye que la acción de la selección diferencial entre los ambientes es la causa de la divergencia genética detectada.

Levinton (1980) propone que la diferenciación genética a lo largo de gradientes estuarinos (o latitudinales) puede ser explicada en función de barreras o de gradientes selectivos. Las barreras de tipo geográfico involucran umbrales que restringen el flujo de las aguas y ambientes desfavorables que impiden la dispersión. Los gradientes selectivos pueden ser de salinidad, temperatura, contaminantes o su interacción. Este autor explica que en poblaciones relativamente aisladas las fuerzas

que generan procesos estocásticos pueden producir divergencia geográfica en las frecuencias alélicas. El aislamiento completo y la subsecuente mezcla entre poblaciones genéticamente distintas representa en el presente el grado de diferenciación que se produjo en el pasado por medio de los procesos estocásticos o la selección natural. Por último, postula que la selección dinámica puede mantener clinas de dos formas distintas: operando sobre loci determinados que pueden estar ligados a otros que proporcionan la aptitud biológica al organismo en el ambiente que habita o produciendo ecotipos aislados adaptados a una economía natural particular.

La evidencia experimental apoya rotundamente la importancia de la selección natural en el mantenimiento de la variación genética en pelecípodos (Koehn y Mitton, 1972; Koehn et al., 1976; Lassen y Turano, 1978; Theisen, 1978; Gartner-Kepkay et al., 1980; Koehn y Shumway, 1982; Green et al., 1983; Singh y Green, 1986; entre otros). Los procesos dispersivos en que interviene el azar (deriva génica y error de muestreo) tienen lugar únicamente en poblaciones que han sufrido reducciones extremas de tamaño (Ayala, 1974). La detección de clinas génicas en algunos loci, mientras que otros son homogéneos en sus frecuencias alélicas, demuestra la ausencia de ese tipo de procesos en poblaciones con amplias distribuciones geográficas (Christiensen y Frydenber, 1974).

Los estudios electroforéticos han probado ser de gran utilidad para la sistemática (Hei, 1972; Ayala et al., 1974; Avise, 1975; Buth, 1980; Buth, 1984); permiten examinar las similitudes genéticas en y entre

taxa y provee información filogenética alrededor del nivel de especie. Se ha adoptado como un criterio más para la determinación de especies crípticas (Thorpe et al., 1978) y para la caracterización de grupos taxonómicamente difíciles (Dando et al., 1979). En estudios acerca de especies en poblaciones simpátricas ha definido morfos con diferencias independientes del habitat pero que constituyen especies aisladas genéticamente (Brock, 1978; Buroker et al., 1979 b). El criterio electroforético también ha apoyado evidencias fisiológicas, como la diferencia en el período de desove, para la diferenciación entre especies morfológicamente indistintas (Ahmad y Beardmore, 1976).

El método ha sido aplicado a la familia Ostreidae por Buroker et al. (1979 a y b), Buroker (1982) y Buroker et al. (1983). El establecimiento de las relaciones filogenéticas en esta familia ha sido punto de controversia entre neontólogos y paleontólogos (Ahmed, 1975). Hasta el momento, los hallazgos en divergencia genética han permitido reclasificar algunas especies del género Tiostrea, proponer el establecimiento de superespecies en Crassostrea y apoyar la existencia del género Saccostrea.

La propiedad del método de discernir entre poblaciones aisladas reproductivamente ha sido aprovechada para delimitar reservas de captura en las pesquerías de la langosta (Tracey et al., 1975 b), la jaiba (Cole y Morgan, 1978) y el camarón (Lester, 1979). A su vez, las pesquerías de escama se han beneficiado del conocimiento proporcionado por los estudios con enfoque evolutivo basados en la medición de la variabilidad

genética (Aspinwall, 1974; Mitton y Koehn, 1975; Hatfield, 1982).

La literatura sobre genética aplicada a la acuicultura se ha orientado principalmente a la asociación entre genotipos detectados por técnicas electroforéticas y caracteres cuantitativos de interés potencial para el acuicultor (Newkirk et al., 1977; Zouros et al., 1980; Foltz et al., 1983). el planteamiento de estrategias de mejora genética (Lonwell y Stiles, 1973), la identificación de marcadores genéticos factibles de ser utilizados en la planeación de programas de selección e hibridación (Moav et al., 1976; Newkirk et al., 1977; Newkirk, 1980; Wilkins, 1981; Newkirk, 1983), la experimentación para la producción de variabilidad genética en organismos de crianza (Lonwell, 1976) y la selección de reservas paternas por medio de criterios genético-bioquímicos para producir proge- nie con heterosis positiva (Hedgecock et al., 1976).

ASPECTOS BIOLÓGICOS.

Filogenia y evolución.

Según el registro fósil, 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 (Lamellodonta simplex), reconocida por los paleontólogos, data del Cámbrico medio (Walliser, 1976). El florecimiento de los bivalvos se ubica en la era Mesozoica, coincidentemente con la declinación de los braquiópodos, 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 atribuye precisamente a Placunopsis.

Enantiostreon, 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 doce nuevas familias de bivalvos. En este período se registra el florecimiento de los ostiones (Superfamilia Ostreacea). 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 del Jurásico es muy semejante a la de los ostiones modernos (Simpson, 1967).

Se cree que Crassostrea virginica tuvo su origen posteriormente al aislamiento geográfico de una población ancestral común en las costas del Pacífico y del Atlántico, por efecto de la emersión del puente interamericano causada por los fenómenos tectónicos del Mioceno y el Plioceno (Stenzel, 1971). Este aislamiento dio lugar a C. corteziensis en el litoral del Pacífico.

Posición taxonómica.

El Phylum Mollusca está ampliamente representado en el Reino Animal con aproximadamente cien mil especies vivientes adaptadas a diversos ambientes (Meglitsch, 1972). Entre los moluscos, aquellos completamente acuáticos, con simetría bilateral, comprimidos lateralmente y recubiertos por el manto, se ubican en la Clase Bivalvia (también conocida como Pelecypoda o Lamellibranchiata).

Las ostras, por las características morfológicas de su concha, manto, sifón y branquias, se clasifican en el Orden Pseudolamellibranchiata al cual pertenecen las Familias Pectinidae, Aviculidae y Ostreidae (Ramírez y Sevilla, 1965).

La familia Ostreidae del presente se compone de tres géneros: Ostrea, Crassostrea y Pycnodonte, aunque estudios recientes de hibridación y citogenética sugieren que por efecto de la evolución del género Crassostrea, algunas de las especies que se clasificaban en ese grupo deben ubicarse en un género distinto, como Saccostrea (Ahmed, 1975).

Clasificación de Crassostrea virginica:

| | |
|--------------|--------------------------------------|
| PHYLLUM | Mollusca Cuvier, 1797 |
| CLASE | Bivalvia Linnaeus, 1758 |
| SUBCLASE | Pteriomorphia Newell, 1965 |
| ORDEN | Pseudolamellibranchiata Newell, 1965 |
| SUBORDEN | Osteina Newell, 1965 |
| SUPERFAMILIA | Ostracea Rafinesque, 1815 |
| FAMILIA | Ostreidae Rafinesque, 1815 |
| GENERO | <u>Crassostrea</u> Sacco, 1897 |

Crassostrea virginica Gmelin, 1791

(Abbot, 1974).

Citogenética y citotaxonomía.

Rodríguez-Romero et al. (1978) obtuvieron el cariotipo de Crassostrea virginica a partir de especímenes de una población de las costas de Tamasco, México. El número diploide encontrado fue 20 (2n). Al compararlo con el reportado por Longwell et al. (1967) de una población de latitudes altas (New Haven, Conn.) se apreció homología en el número diploide y la morfología cromosómica, lo que demuestra estabilidad cariotípica a pesar de las diferencias geográficas de las localidades.

Los ostiones, como otros bivalvos, son citológicamente conservativos y no parecen haber intervenido cambios cromosómicos conspicuos en su evolución (Ahmed, 1975). Jackson (1971) propone que la presencia de cariotipos conservativos en los bivalvos se debe a la carencia de heterocromatina en sus complementos cromosómicos.

Los cromosomas constituyen el ordenamiento dinámico y estable del material genético en grupos de asociación y tienen características de número, tamaño y forma propias de cada especie. Este concepto constituye la base axiomática de la citotaxonomía (Dulout, 1979).

Razas fisiológicas.

La evidencia de la existencia de razas fisiológicas en C. virginica está bien documentada. En virtud de su extensa distribución geográfica, esta especie ha desarrollado razas fisiológicas que responden de diferente manera ante las variaciones de temperatura en funciones tales como la reproducción (Loosanoff y Nomejko, 1951) o la alimentación (Menzel, 1955).

Loosanoff y Tommers (1948) atribuyeron las diferencias en la capacidad de alimentación de los ostiones que habitan ambientes con variaciones en la turbidez a la presencia de razas fisiológicas. Hillman (1964) encontró diferencias en los patrones cromatográficos de aminoácidos y péptidos libres entre dos poblaciones de la costa Atlántica. Li et al. (1967) detectaron diferencias serológicas en dos poblaciones de la costa este del Canadá.

Las diferencias que desarrollan estas razas fisiológicas deben residir en el nivel génico, ya que tanto el citológico como el morfológico son conservativos (Ahmed, 1975).

Distribución geográfica y características biológicas.

La especie Crassostrea virginica se distribuye a lo largo de la costa este de Norteamérica, desde Nueva Escocia, Canadá, a través del Golfo de México hasta las Antillas (Galtsoff, 1964; Stenzel, 1971), lo que representa una considerable distribución latitudinal de aproximadamente 9 000 km (Buroker, 1983). Tan amplia distribución se atribuye principalmente al período larval planctónico relativamente largo (de 14 a 21 días) que permite recorrer a las larvas hasta 1 300 km en una corriente oceánica. Esta adaptación abre la posibilidad de establecer el flujo génico entre poblaciones geográficas en una sola generación, permitiendo niveles altos de variabilidad genética (Grassle, 1972) (Fig. 1).

Esta especie es habitante de cuerpos de agua protegidos, con preferencia hacia las aguas turbias y salobres de canales y esteros. Es garrifalina y ovípara con fecundación externa.

Una vez fecundados los huevos, el cigoto se desarrolla en 48 horas al estadio larval veliger que nada libremente y se alimenta fundamentalmente de fitoplancton. En las siguientes dos semanas se haya a merced de las corrientes hasta que encuentra un lugar adecuado para su implantación, que es en esta especie generalmente otra concha, se desarrolla a pediveliger, juvenil, adulto y se cierra el ciclo (Galtsoff, 1964).

La fecundidad en estos organismos es de las más altas entre los ostreídeos ovíparos; las hembras liberan entre 15 y 115 millones de huevos por

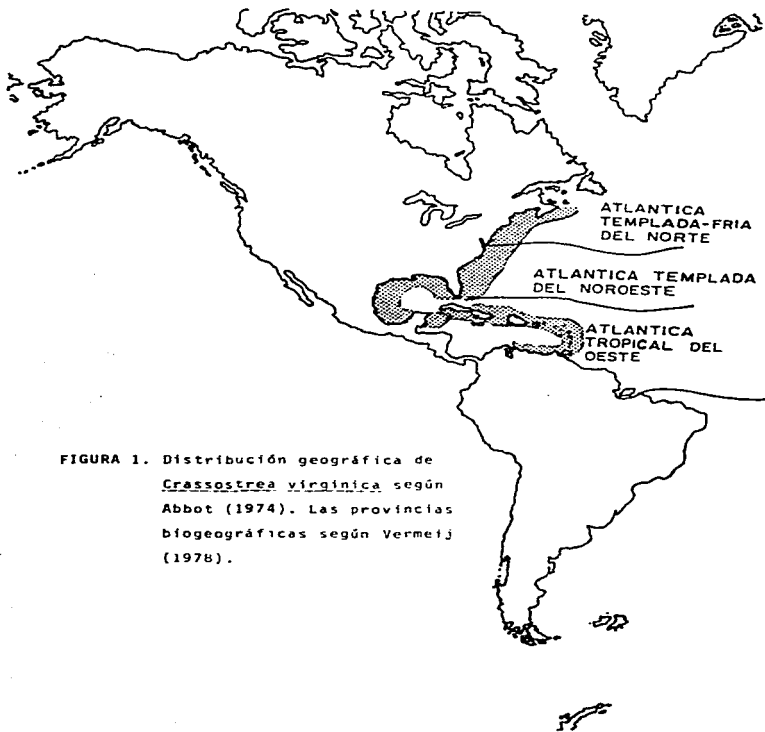


FIGURA 1. Distribución geográfica de *Crassostrea virginica* según Abbot (1974). Las provincias biogeográficas según Vermeij (1978).

desove (Buroker, 1985). El tamaño promedio de los huevos es de 45 micras 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 el 50 y el 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 aguas tropicales, al sur del Golfo de México, se detectaron 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° y con salinidades entre 5 y 30 ‰. La temperatura adecuada para el desove varía entre 15 y 32° (Loosanoff y Davis, 1952).

AREA DE ESTUDIO.

Las localidades muestreadas se ubican en la zona costera de las regiones Occidental y Meridional del Golfo de México, pertenecientes a la provincia biogeográfica tropical del Atlántico Occidental (Vermeij, 1978) (Fig. 1).

El patrón de circulación estacional de las corrientes del Golfo de México se presenta en la figura 2. El flujo principal de las corrientes provenientes del mar Caribe se dirige hacia el norte y genera un vórtice en sentido anticiclónico en la zona noreste, variable en tamaño, forma, intensidad y posición. La circulación occidental del Golfo es afectada probablemente por parte del flujo que penetra por el canal de Yucatán y que se desprende y fluye a través del borde norte de la plataforma continental de la península de Yucatán o por vórtices derivados del gran vórtice del noreste que se desplazan al oeste (Capurro, 1972). Al sur de los 20°N, se forman contracorrientes en dirección sur, variables estacionalmente y que se intensifican durante el invierno debido a los vientos fuertes del norte (cf. Fig. 2 y Direc. Gral. de Ocean. y Señalam. Marit., 1974).

A continuación se describen brevemente algunos aspectos ambientales y fisiográficos de las localidades muestreadas, de interés para la discusión de los resultados.

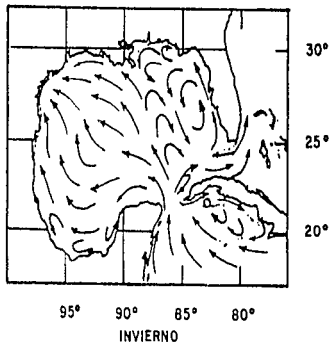
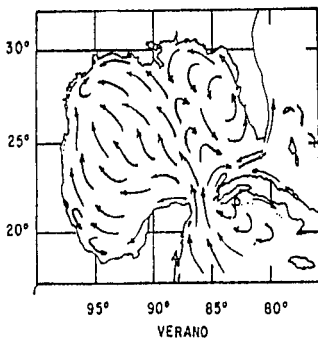
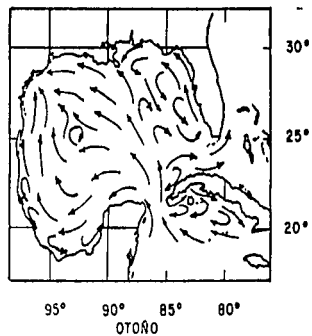
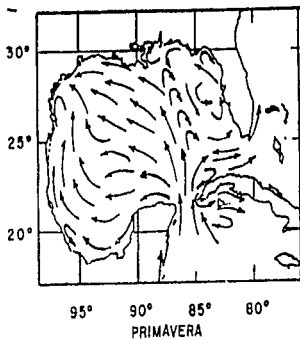


FIGURA 2. Circulación oceánica estacional del Golfo de México.

Según Direc. Gral. de Ocean. y Señalam. Marít., 1974.

1) Laguna de Términos (TER). Posición geográfica: 18°25'-19°00' N y 91°15'-92°00' W. Esta laguna tiene una longitud de 70 km y una anchura de 18 km (Vázquez-Botello, 1978). Se comunica con el mar mediante dos bocas permanentes. Presenta un flujo neto en dirección suroeste causado por los vientos dominantes del noreste, la corriente litoral y la descarga de los ríos. Conforme a este patrón de circulación se presenta un gradiente de salinidad, turbidez y de nivel de nutrientes (Lara-Do-mínguez et al, 1981).

La colecta en esta laguna se realizó en la región suroeste en el sitio denominado boca de Atasta que comunica a la laguna con el sistema Pom-Atasta. Las variaciones anuales de temperatura y salinidad en el sitio de colecta son de 22 a 34° y de 0 a 34 ‰, respectivamente (Rogers y García-Cubas, 1981).

2) Laguna de Mecoacán (MEC). Posición geográfica: 18°16'-18°26' N y 93°04'-93°14' W. Tiene un área aproximada de 5 168 ha. Esta laguna se comunica permanentemente con el mar a través de la barra de Dos Bocas. El acceso de la laguna al océano es por medio de canales de dimensiones regulares localizados al norte del sistema (Contreras, 1985). La variación anual de temperatura y salinidad es de 24 a 30° y de 1 a 24 ‰. La marea penetra en dirección sur-sureste (CECODES, 1981). La colecta se realizó en la región suroeste de la laguna que es la zona de menor influencia dulceacuícola. Contreras (1985) reporta que el 3 % del área lagunar lo ocupan bancos de C. virginica.

3) Sistema lagunar Carmen y Machona (CMP). Posición geográfica : 18°14'-18°24' N y 93°45'-93°55' W. Este sistema se haya comunicado por un canal llamado Pajonal. En conjunto presenta una superficie aproximada de 15 300 ha. Posee comunicación permanente con el mar por medio de un canal natural (Barra de Santana) en la región noroeste y por una boca artificial (Boca de Panteones) en la región noreste (Contreras, 1985). Esta boca fue abierta en 1976 con una anchura original de 100 m y se sigue ensanchando sin control. Actualmente presenta una apertura de aproximadamente 1 km.

La colecta se efectuó en un banco ubicado en el umbral de comunicación entre el canal de Pajonal y la laguna de Machona. La variación anual de temperatura y salinidad en esa zona es de 24 a 32° y de 1 a 37 ‰, respectivamente (CECODES, 1981).

4) Laguna de Sontecomapan (SON). Posición geográfica: 18°30'-18°34' N y 94°00'-94°04' W. Su extensión es de 12 km de largo por 1.5 km de ancho. Se comunica con el mar mediante un canal largo y angosto en la boca de Sontecomapan (Reséndez, 1982). En esta laguna no prosperan los bancos ostrícolas debido a las condiciones predominantemente dulceacuícolas a lo largo del año. La variación anual de salinidad es de 1 a 22 ‰ y de temperatura es de 20 a 29° (Laboratorio de Oceanografía-UAMI, 1986).

La colecta se realizó en una zona rocosa del canal de comunicación con el mar, cercana a la boca de Sontecomapan. Se obtuvieron pocos especímenes y de talla muy reducida (2.0-6.0 cm).

5) Laguna de la Mancha (LMA). Posición geográfica: 19°34'-19°32' N y 96°27' W. Es una laguna de dimensiones muy pequeñas, con 3 km de longitud por 0.5 km de anchura. Tiene comunicación estacional con el mar mediante una barra localizada al noreste de la laguna, que se abre en la época de lluvias (de junio a octubre) (Contreras, 1985).

Villalobos et al (1982) reportan una variación de temperatura y salinidad de 20 a 30° y de 12 a 27 ‰, respectivamente.

La colecta se realizó en la región sur de la laguna, tomando los organismos que se encontraban adheridos a pilotes de concreto que se colocaron en otra época para intentar el cultivo del ostión en sartas.

6) Laguna de Tamiahua (TAM). Posición geográfica: 21°06'-22°08' N y 97°23'-97°46' W. Esta laguna ocupa un área de 88 000 ha. Actualmente cuenta con dos bocas de comunicación con el mar: una al norte del sistema, llamada boca de Tampachiche, artificial, de 200 m de anchura y otra, al sur, la natural boca o barra de Corazones. Ambas son permanentes (Contreras, 1985).

La variación de temperatura y salinidad es de 21 a 31° y de 16 a 37 ‰, respectivamente (Gutiérrez y Contreras, 1981).

La colecta se efectuó en un canal al sureste de la isla del Idolo, que se ubica al sur de la laguna, cercana a la boca de Corazones.

7) Laguna de Pueblo Viejo (PVI). Posición geográfica: 22°05'-22°13' N y 97°50'-97°57' W. Tiene una superficie de 9.700 ha. Limita al norte con el río Pánuco con el que se comunica por medio de un canal estrecho situado en su parte noreste (Contreras, 1985).

El banco muestreado se ubica al sur del umbral de comunicación del canal que conduce al Pánuco. En esa zona el intervalo anual de temperatura es de 27 a 30° y de salinidad es de 12 a 27 ‰. (Contreras, 1985).

8) Laguna Madre (LAM). Posición geográfica: 23°48'-25°27' N y 90°23'-97°52' W. Su superficie aproximada es de 200 000 ha. Es extremadamente somera, con una profundidad promedio de 0.70 m.

La desembocadura del río San Fernando divide en dos al cuerpo acuático: la cuenca Septentrional, más profunda (con canales hasta de 3 m) y permanentemente hiperhalina, y la cuenca Meridional, más somera (con profundidades máximas de 1.3 m) y con fluctuaciones de salinidad (de 35 a 175 ‰) (Hildebrand, 1969).

Aunque se reportan hasta 13 bocas de comunicación con el mar, todas son efímeras debido al azolvamiento estacional producido por la actividad ciclónica (Contreras, 1985).

La circulación del sistema la establecen la dirección e intensidad del viento. Las mareas son diurnas y de amplitud limitada.

La colecta se realizó al sur de la desembocadura del río San Fernando, enfrente de la boca de la Carbonera.

No existen registros de las condiciones hidrológicas de la zona, pero por las características descritas se infiere que la salinidad promedio no está por debajo de las 36 ‰, y la temperatura debe ser alta a lo largo del año, con excepción, quizá, de la época de nortes y actividad ciclónica.

En la tabla 1 se presenta un resumen de las posiciones geográficas y los parámetros hidrológicos de las localidades de muestreo.

La figura 3 es un mapa de ubicación de las lagunas costeras donde se efectuaron las colectas.

TABLA 1

Ubicación geográfica y promedios anuales (\pm D.S.) de los parámetros ambientales en las estaciones de colecta. -: no hay datos.

| ESTACION | Latitud ° N | Longitud ° W | Salinidad ‰ | Temperatura °C | Clorof. <u>a</u> mg/m ³ |
|----------|-------------|--------------|-------------|----------------|------------------------------------|
| TER | 18.66 | 91.58 | 19.2 (19.0) | 28.9 (2.7) | - |
| MEC | 18.31 | 93.15 | 12.6 (11.4) | 27.2 (3.0) | 14.3 (7.3) |
| CMP | 18.35 | 93.83 | 19.8 (17.1) | 28.2 (4.3) | 28.7 (28.7) |
| SON | 18.53 | 94.03 | 11.1 (11.1) | 25.4 (5.4) | 19.9 (14.6) |
| LAM | 19.56 | 96.45 | 19.9 (7.31) | 25.0 (5.0) | - |
| TAM | 21.06 | 97.58 | 26.5 (10.5) | 26.0 (5.0) | 10.3 (10.3) |
| PVI | 22.15 | 97.90 | 19.6 (7.7) | 28.5 (1.9) | 50.9 (13.8) |
| LAM | 23.80 | 97.63 | 75.0 (38.8) | - | - |

Fuentes: Hildebrand, 1969; CECODES, 1981; Gutiérrez y Contreras, 1981; Rogers y García-Cubas, 1981;

Villalobos et al, 1982; Contreras, 1985; Lab. de Oceanografía-UAMI, 1986.

TABLA 1

Ubicación geográfica y promedios anuales (\pm D.S.) de los parámetros ambientales en las estaciones de colecta. -: no hay datos.

| ESTACION | Latitud ° N | Longitud ° W | Salinidad ‰ | Temperatura °C | Clorof. <u>a</u> mg/m ³ |
|----------|-------------|--------------|-------------|----------------|------------------------------------|
| TER | 18.66 | 91.58 | 19.2 (19.0) | 28.9 (2.7) | - |
| MEC | 18.31 | 93.15 | 12.6 (11.4) | 27.2 (3.0) | 14.3 (7.3) |
| CMP | 18.35 | 93.83 | 19.8 (17.1) | 28.2 (4.3) | 28.7 (28.7) |
| SON | 18.53 | 94.03 | 11.1 (11.1) | 25.4 (5.4) | 19.9 (14.6) |
| LAM | 19.56 | 96.45 | 19.9 (7.31) | 25.0 (5.0) | - |
| TAM | 21.06 | 97.58 | 26.5 (10.5) | 26.0 (5.0) | 10.3 (10.3) |
| PVI | 22.15 | 97.90 | 19.6 (7.7) | 28.5 (1.9) | 50.9 (13.8) |
| LAM | 23.80 | 97.63 | 75.0 (38.8) | - | - |

Fuentes: Hildebrand, 1969; CECODES, 1981; Gutiérrez y Contreras, 1981; Rogers y García-Cubas, 1981; Villalobos et al, 1982; Contreras, 1985; Lab. de Oceanografía-UAMI, 1986.

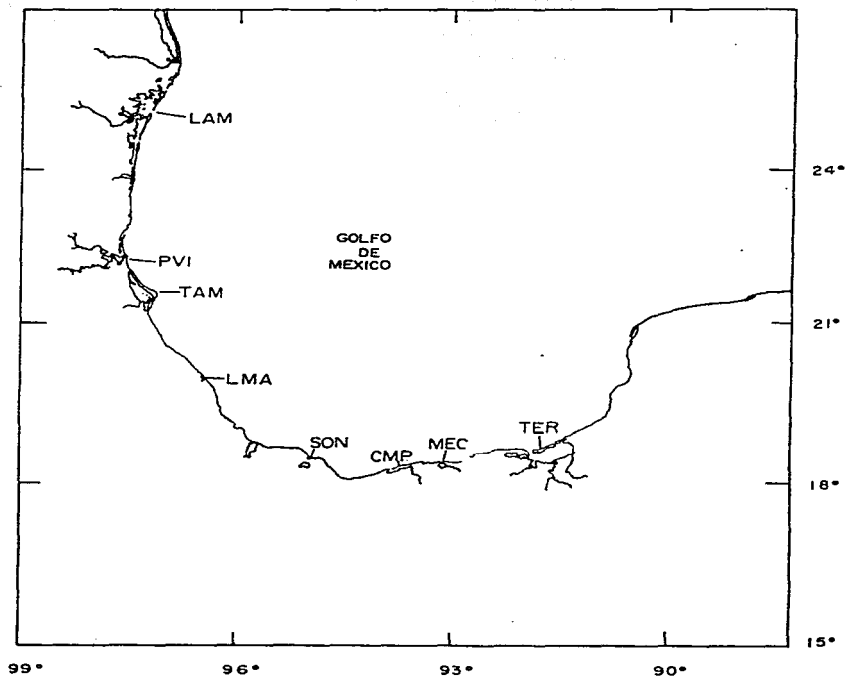


FIGURA 3. Ubicación geográfica de las localidades de colecta.

MATERIAL Y METODOS.

Material biológico.

Los bancos elegidos para las colectas fueron aquellos que se explotan con fines comerciales, a excepción del de Sontecomapan donde la baja abundancia no permite la utilización del recurso con ese fin.

La colecta se hizo manualmente entre junio de 1985 y marzo de 1986. Se muestrearon organismos cuya talla mínima fuera de 6.0 cm, con el fin de normalizar la clase procesada a adultos exclusivamente (cf. Koehn et al, 1976). La única excepción a esta restricción fue la población muestreada en Sontecomapan cuyas tallas orgánicas promedio fueron de 4.0 ± 1.8 cm. Las tallas promedio en las demás poblaciones fueron: TER, 7.3 ± 0.9 cm; MEC, 6.8 ± 0.5 cm; CMP, 7.1 ± 1.1 ; LMA, 8.0 ± 0.7 cm; TAM, 7.9 ± 0.6 cm; PVI, 8.0 ± 0.6 cm y LAM, 7.8 ± 1.0 cm.

Los especímenes se transportaron vivos hasta el laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, en la Ciudad de México. Allí, los músculos aductores fueron disecados y congelados inmediatamente en mezcla de acetona y hielo seco para ser almacenados en ultracongelador a -70° hasta su procesamiento electroforético. Dicho almacenamiento nunca excedió de un mes.

Métodos electroforéticos.

El tejido seleccionado para el estudio fue la porción semitransparente del músculo aductor, debido a la relativa facilidad de homogeneización, aunada al número considerable de sistemas enzimáticos que se resuelven bien en zimogramas de gel de almidón (Buroker et al., 1975).

La preparación del tejido para ser sometido a electroforesis en gel consistió en la homogeneización en 1 a 2 volúmenes de solución amortiguadora de Tris-HCl 0.1 M, pH 7.0, en baño de hielo. La elección de la solución amortiguadora se hizo en función del resultado de los experimentos realizados en el laboratorio con diversas soluciones recomendadas en la literatura. La fase acuosa se recuperó con una pipeta Pasteur y se colocó en un tubo de ensayo que se selló con Parafilm. Se almacenó a 4° mientras se efectuaba la serie de ensayos para los distintos sistemas enzimáticos en estudio (ca. 2 días). Para la preparación de los geles se utilizó almidón hidrolizado para electroforesis (Sigma Chemical Co.) preparado al 12 % en el amortiguador correspondiente.

Se aplicaron 3 sistemas amortiguadores para el análisis de los diferentes sistemas enzimáticos (Schaal y Anderson, 1974). El agua para la preparación se desionizó con un aparato desmineralizador (SYBRON/Barnstead), utilizando cartuchos de purificación Ultrapure (D0809).

A) Sistema T C:

Electrodo: Tris 0.2 M - ácido cítrico 0.1 M, pH 5.8.

Gel: diluir 36.4 ml de la solución del electrodo en 1000 ml de agua.

B) Sistema discontinuo de Poulik (1957):

Electrodo: ácido bórico 0.3 M - hidróxido de sodio 0.05 M, pH 8.65.

Gel: Tris 0.076 M - ácido cítrico 0.005 M, pH 8.1.

C) Sistema D H:

Electrodo: Tris 0.087 M - ácido bórico 0.087 M - Na₂EDTA 0.001 M, pH 9.0.

Gel: el mismo del electrodo.

Los sistemas enzimáticos que fueron resueltos por cada sistema amortiguador se detallan en la tabla 2.

La preparación del gel consistió en suspender 30 g de almidón hidrolizado en 250 ml del amortiguador adecuado. Se calentó la suspensión a fuego directo con agitación continua e intensa hasta que la viscosidad descendió abruptamente (ca. 80°). Se eliminó el aire al vacío hasta que las burbujas grandes desaparecieron (ca. 1 minuto). Se vertió inmediatamente en una placa de vidrio de 20 x 20 cm, con marcos de acrílico de 0.6 cm de espesor. Se dejó enfriar a temperatura ambiente; se retiraron los marcos de acrílico y se envolvió en papel autoadherente (Egapack). El gel puede dejarse reposar toda la noche para su uso adía siguiente.

TABLA 2

Sistemas amortiguadores utilizados para la resolución de los sistemas enzimáticos analizados y número de loci expresados por sistema enzimático.

| Sistema enzimático | Abreviatura | Sistema amortiguador* | No. de loci expresados |
|----------------------------------|-------------|-----------------------|------------------------|
| Aspartato amino transferasa | AAT | C | 2 |
| Catalasa | CAT | B | 1 |
| Esterasa | EST | B | 4 |
| Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa | G6PD | B | 1 |
| Glutamato deshidrogenasa | GDH | C | 1 |
| Isocitrato deshidrogenasa | IDH | A | 2 |
| Malato deshidrogenasa | MDH | C | 2 |
| Enzima málica | ME | A | 2 |
| Proteína total | Pt | B | 3 |
| Superóxido dismutasa | SOD | C | 2 |

* A: sistema TC; B: sistema discontinuo de Poulik; C: sistema DH. La descripción de estos sistemas se da en el texto.

te (Ayala et al., 1972).

Las electroforesis se efectuaron en charolas para electroforesis en placa horizontal de acrílico, construidas ad hoc en el Centro de Instrumentos de la UNAM (Fig. 4). Se utilizó una fuente de poder de alto voltaje marca VIMAR modelo AV-2EV para aplicar, en todos los casos, corriente constante de 30 mA. Cuando los sistemas enzimáticos por estudiar en el mismo sistema amortiguador excedieron la capacidad de ensayos de un solo gel, se conectaron dos charolas en serie a la misma fuente de poder. Los voltajes generados y los tiempos de electroforesis para cada sistema amortiguador según la corriente aplicada se detallan en la tabla 3.

El cargado de los geles con las muestras consistió en empapar mechas pequeñas (0.6 x 0.4 cm) de papel filtro Whatman # 3 con cada una de las muestras, e insertarlas en la cara expuesta hacia el ánodo, de un corte practicado transversalmente a 5 cm del extremo catódico del gel. Posteriormente, se unieron fuertemente las dos secciones, sujetando las mechas que contenían las muestras; se colocó la placa en la charola, previamente llena con la solución amortiguadora correspondiente y se puso el gel en contacto con el amortiguador mediante mechas de papel filtro Whatman # 1. La charola se introdujo en un refrigerador a 4° y se aplicaron 30 mA por espacio de 15 minutos para que las proteínas se incorporaran al gel. Se quitó la corriente y se extrajeron las mechas con que se habían aplicado las muestras. Las secciones del gel se volvieron a unir fuertemente y se envolvieron en papel autoadherente

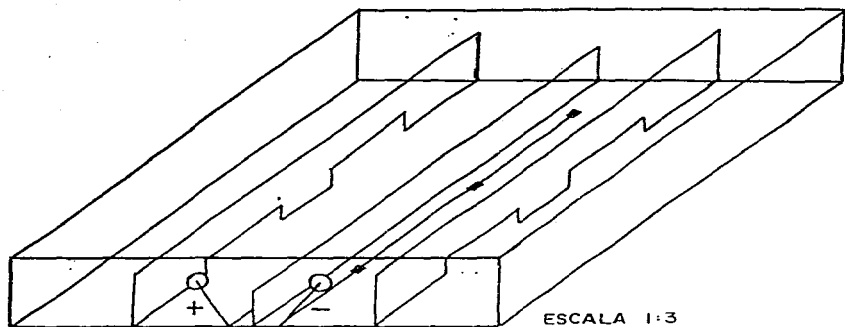


FIGURA 4. Charola para electroforesis en gel en placa horizontal construida en acrílico de 1/4 y con electrodos de platino. Esta charola fue construida en el Centro de Instrumentos de la UNAM según diseño del autor.

TABLA 3

Intensidad de corriente aplicada, voltaje producido y tiempo aproximado de la corrida por sistema amortiguador utilizado.

| Sistema amortiguador | Corriente aplicada (mA) | Voltaje producido (V) | | Tiempo de electroforesis (horas) |
|----------------------|-------------------------|-----------------------|-------|----------------------------------|
| | | inicial | final | |
| A | 30 | 120 | 150 | 5 |
| B | 30 | 120 | 300 | 6 |
| C | 30 | 450 | 450 | 7 |

dejando libres los extremos anódico y catódico para volver a ser conectado con la solución amortiguadora del electrodo. Se volvió a aplicar la corriente y la electroforesis se continuó hasta que el colorante trazador (azul de bromofenol al 0.002 %), aplicado en una mecha de muestra, alcanzó el papel de contacto anódico. Cada gel permitió hasta 25 muestras por ensayo. Al terminar la electroforesis se retiró la placa de la charola y se obtuvieron tres rebanadas de 0.2 cm de espesor por medio de una cuerda de guitarra tensada con un marco de segueta, utilizando guías de 2 mm. La primera rebanada se eliminó debido a los defectos de superficie que afectan la resolución (Ayala et al., 1973). Las dos restantes se utilizaron para efectuar las tinciones histoquímicas.

El desarrollo de los zimogramas mediante la aplicación de técnicas de tinción utilizadas en estudios histológicos a ensayos electroforéticos se debe a Hunter y Markert (1957). El método consiste en incubar el gel donde se efectuó la electroforesis, con una mezcla de reacción que incluye el substrato específico de la enzima que se quiere revelar, las coenzimas o cofactores requeridos en la reacción y un amortiguador al pH óptimo de reacción de la enzima. Las zonas de actividad enzimática aparecen como bandas en el gel que se tiñen mediante un colorante adecuado.

Ensayos enzimáticos.

Los sistemas enzimáticos ensayados se eligieron al azar con respecto a su función metabólica. Las únicas restricciones fueron las limitaciones

para la obtención de reactivos específicos y la claridad en la resolución de los zimogramas. Las fórmulas de tinción se describen a continuación:

1) Aspartato amino transferasa (AAT: E.C. 2.6.1.1.)

a) Solución sustrato, pH 7.4:

0.146 g de ácido α -cetoglutarico

0.532 g de ácido L-aspartico

2.000 g de polivinil pirrolidona

0.200 g de Na_2EDTA

5.680 g de Na_2HPO_4

200 ml de agua

b) Teñir con:

50 ml de la solución sustrato

250 mg de azul rápido BB

50 ml de agua

c) Incubar a 37° hasta que las manchas azules sobre fondo rosa aparezcan

d) Lavar y fijar.

(Schaal y Anderson, 1974)

2) Catalasa (CAT: E.C. 1.11.1.6.)

a) Cubrir el gel con H_2O_2 al 0.5 %, por un minuto

b) Enjuagar con agua

c) Teñir con 100 ml de solución de KI al 0.5 % acidificada con 0.5 ml de ácido acético.

- d) Incubar a temperatura ambiente hasta que las manchas blancas sobre fondo azul aparezcan.
- e) Registrar el resultado inmediatamente, ya que la reacción de formación del complejo continúa hasta cubrir las manchas.

(Schaal y Anderson, 1974)

3) Esterasas (EST: E.C. 3.1.1.1)

- a) Empapar el gel en solución de ácido bórico 0.5 M, por una hora
- b) Solución sustrato:
 - 1 g de α naftil acetato
 - 1 g de β naftil acetato
 - 50 ml de acetona
 - 50 ml de agua
- c) Teñir con:
 - 3 ml de la solución sustrato
 - 10 ml de Tris-HCl 0.5 M, pH 7.1
 - 100 mg de azul rápido RR
 - 87 ml de agua
- d) Incubar a temperatura ambiente y en la obscuridad hasta que las bandas color café sobre fondo ligeramente morado aparezcan.
- e) Lavar y fijar.

(Shaw y Prasad, 1970)

4) Glutamato dshidrogenasa (GDH: E.C. 1.4.1.3.)

- a) Solución sustrato, pH 7.0:
 - 4.25 g de glutamato de sodio

100 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.5 M, pH 7.0

b) Teñir con:

5 ml de solución sustrato

50 mg de NAD⁺

30 mg de NBT

2 mg de PMS

25 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.5 M, pH 7.0

70 ml de agua

c) Incubar a 37° hasta que las bandas azules aparezcan

d) Lavar y fijar

(Modificada de Schaal y Anderson, 1974)

5) Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD: E.C. 1.1.1.49)

a) Teñir con:

200 mg de glucosa 6 fosfato

30 mg de NADP⁺

20 mg de NBT

2 mg de PMS

25 ml de Tris .HCl 0.5 M, pH 7.1

90 ml de agua

b) Incubar a 37° hasta que las bandas azules aparezcan

c) Lavar y fijar,

(Shaw y Prasad, 1970)

6) Isocitrato deshidrogenasa (IDH: E.C. 1.1.1.42.)

a) Teñir con:

135 mg de isocitrato de sodio

30 mg de NADP⁺

20 mg de NBT

2 mg de PMS

30 mg de MgCl₂

90 ml de Tris-HCl 0.1 M, pH 8.0

b) Incubar a 37° hasta que las bandas azules aparezcan

c) Lavar y fijar.

(Abreu, 1982)

7) Malato deshidrogenasa (MDH: E.C. 1.1.1.37.)

a) Solución sustrato, pH 7.0:

13.4 g de ácido L-málico

49 ml de Na₂CO₃ 2 M

51 ml de agua

Disolver el ácido L-málico en agua. Agregar lentamente la solución de Na₂CO₃ 2 M mientras se agita en un baño de hielo.

b) Teñir con:

10 ml de la solución sustrato

50 mg de NAD⁺

30 mg de NBT

2 mg de PMS

10 ml de Tris-HCl 0.1 M, pH 7.0

80 ml de agua

- c) Incubar a 37° hasta que las bandas azules aparezcan
- d) Lavar y fijar.

(Modificada de Schaal y Anderson, 1974)

8) Enzima málica (ME: 1.1.1.40.)

a) Solución substrato:

la misma utilizada para MDH

b) Teñir con:

5 ml de la solución substrato

20 mg de NADP⁺

20 mg de NBT

10 mg de PMS

1 ml de solución de MgCl₂ al 10 %

20 ml de Tris-HCl 0.1 M, pH 8.4

75 ml de agua

- c) Incubar a 37° hasta que las bandas azules aparezcan
- d) Lavar y fijar.

(Schaal y Anderson, 1974)

9) Superóxido dismutasa (SOD: E.C. 1.15.1.1.)

a) Teñir con:

25 mg de NAD⁺

20 mg de NBT

5 mg de PMS

50 ml de Tris-HCl 0.1 M, pH 8.4

50 ml de agua

- b) Incubar a 37°, expuesto a la luz, hasta que las bandas blancas sobre fondo ligeramente azul aparezcan
- c) Lavar y fijar.

(Modificada de Ayala et al. 1972)

Además de los nueve sistemas enzimáticos ensayados, se efectuó una tinción para proteína total:

10) Proteína total (Pt)

a) Solución colorante:

- 1.25 g de azul de Coomassie R-250
- 227 ml de metanol
- 46 ml de ácido acético
- 227 ml de agua

b) Solución desteñidora:

- 150 ml de metanol
- 50 ml de ácido acético
- 300 ml de agua

- c) Teñir incubando a temperatura ambiente por una hora. Desteñir el fondo con cambios sucesivos de la solución desteñidora, por 24 horas.

Las modificaciones efectuadas en las mezclas de tinción involucraron principalmente al colorante empleado o el pH de la mezcla.

La solución desteñidora para la tinción de proteína total se utilizó

como solución fijadora para las placas teñidas con las distintas fórmulas. Las placas se sumergieron en dicha solución por ocho horas y se envolvieron y sellaron con papel autoadherente para su preservación. De cada placa se obtuvo registro fotográfico utilizando película Kodak Panatomic B/N ASA 32, a trasluz.

Métodos estadísticos.

Para el análisis de la variación de las frecuencias alélicas y genotípicas se utilizaron varias pruebas estadísticas que pueden revisarse en Sokal y Rohlf, 1981.

La frecuencia de heterocigotos observados por locus y total se comparó con las frecuencias esperadas calculadas a partir de las frecuencias alélicas ($H_e = 1 - \sum p_i^2$, Ayala y Kiger, 1984), por medio de la prueba de bondad de ajuste de χ^2 cuadrada. Los grados de libertad fueron dados por $(G - 1) - (A - 1)$, o sea, $(G - A)$, donde G es el número de clases genotípicas y A el número de alelos (Crow y Kimura, 1970). Cuando el número de grados de libertad fue de 1 y alguna de las clases genotípicas era menor de 5, se aplicó la corrección de Yates (Parker, 1981).

Para demostrar la variación clinal se aplicaron análisis de regresión a las frecuencias genotípicas y alélicas contra la latitud. El nivel de significancia de esta prueba se obtuvo por medio del estadístico F.

El número acumulado de diferencias génicas interpoblacionales se calcu-

l6 por medio de la medici6n de distancia gen6tica de Nei (1972). Este m6todo relaciona de manera sencilla el coeficiente de endogamia de Wright y el coeficiente de parentesco de M6lecot para dar una estimaci6n de la identidad normalizada de los genes entre las dos poblaciones tratadas:

$$I_K = \frac{\sum a_i b_i}{\sqrt{\sum a_i^2 \sum b_i^2}}$$

donde I_K es la similitud gen6tica interpoblacional en el locus K y a_i y b_i son todos los alelos de las poblaciones A y B en el locus K.

La similitud gen6tica interpoblacional deber6 evaluarse a partir de varios loci, por lo que: sean I_{ab} , I_a e I_b las medias aritm6ticas para todos los loci de $\sum a_i b_i$, $\sum a_i^2$ y $\sum b_i^2$, respectivamente, entonces:

$$I = \frac{I_{ab}}{\sqrt{I_a I_b}}$$

if la distancia gen6tica, D, estar6 dada por:

$$D = - \ln I$$

RESULTADOS.

Nomenclatura.

El término alelozima (Zouros, 1975) se utilizará para designar las diferentes formas de una enzima codificadas por alelos diferentes del mismo locus génico, y distinguirlas del concepto más general de isozima, que son las formas moleculares distintas de una enzima surgidas por cualquier causa (Markert y Moller, 1959).

Los loci génicos estudiados serán nombrados según la abreviatura aplicada a los sistemas enzimáticos, pero con minúsculas. En el caso de sistemas que presentan más de un locus en el zimograma, estos serán numerados en orden ascendente desde los de mayor movilidad anódica hasta los más catódicos.

El alelo más común en cada locus será designado como 100; en el caso de varios alelos comunes a las poblaciones el alelo 100 será, generalmente, el de mayor frecuencia. Los demás alelos se nombrarán en relación a ese estándar añadiendo o substrayendo de 100 el número de milímetros en que los electromorfos difieren en migración (Ayala et al., 1973).

Aquellos alelos cuya frecuencia sea inferior a 0.10 serán considerados raros (Bulmer, 1971).

Interpretación de los zimogramas.

El término zimograma se refiere a los electromorfoqramas revelados para enzimas específicas por medio de tinciones histoquímicas (Hunter y Markert, 1957). Las bandas coloreadas o electromorfos (King y Ohta, 1975) son zonas de actividad enzimática o, en el caso de revelar con colorantes que tiñan a la proteína total, de concentración proteínica. En el caso de sistemas multilocus, se discriminó entre loci cuando la variación de fenotipos dados por las zonas de actividad o de concentración proteínica no se afectaban entre sí, es decir, cuando la variación fenotípica sistemática en una zona del zimograma era independiente de la otra zona. La variación entre alelozimas de un mismo locus se registró considerando homocigotos a los individuos cuyo fenotipo consistía de una sola banda con determinada movilidad, y heterocigotos a aquellos que, dependiendo de la estructura cuaternaria de la enzima, presentaban dos bandas para los monoméricos o tres bandas para los diméricos en el fenotipo representado.

Las frecuencias electromórficas se tradujeron en frecuencias alélicas y se habla de frecuencias genotípicas correspondientes a modelos electromórficos, aunque se entiende que los alelos designados, por las limitaciones discriminatorias de la técnica, pueden corresponder a grupos de isoalelos.

Variación genética.

La tabla 4 enlista las frecuencias alélicas de los 20 loci analizados en las 8 localidades de colecta. g es el número de genes muestreados por locus, correspondiente al doble del número de organismos. h_o es la proporción de individuos heterocigotos observados y h_e la de esperados, calculados asumiendo el equilibrio de Hardy-Weinberg. Al final de cada columna se da el valor de χ^2 y se indican las diferencias estadísticamente significativas.

La tabla 5 es un resumen de la variación genética. El polimorfismo por población se calculó según la razón de loci polimórficos identificados, aplicando los dos criterios comunmente usados (Dobzhanski et al. 1977) del alelo más común con frecuencia 1) ≤ 0.95 y 2) ≤ 0.99 , sobre el total de loci analizados en la población. El polimorfismo promedio (P) es la media ponderal (\pm el error estándar) de los polimorfismos calculados para cada población. Al aplicar el primer criterio de polimorfismo ($p \leq 0.95$), el cual es más restrictivo que el segundo, los loci Est-3, Est-4, G6pd, Gdh, Pt-3 y Sod-2 deben considerarse monomórficos en la extensión geográfica estudiada. Si el segundo criterio es aplicado ($p \leq 0.99$), G6pd, Gdh y Sod-2 pueden considerarse polimórficos. Según ambos criterios de polimorfismo la población de TAM presenta el valor mínimo (0.350 y 0.400), mientras que el máximo se encuentra en LMA (0.526 y 0.632). El polimorfismo promedio, considerando los dos criterios, fue de 0.432 ± 0.026 y 0.515 ± 0.028 .

La heterocigosis media se calculó a partir de los loci heterocigóticos por individuo promediados sobre los loci analizados en la población.

TABLA 4. Variación génica en 8 poblaciones de Crassostrea virginica representativas del Golfo de México. n es el número de genes muestreado. h_o es la frecuencia observada de heterocigotos. h_e es la frecuencia de heterocigotos esperada. χ^2 es el valor de la prueba de ji cuadrada (*, nivel de significancia del 0.05; **, nivel de significancia del 0.01; ***, nivel de significancia del 0.001).

| Locus | Alelo | Poblaciones. | | | | | | | |
|-----------------|-----------------|--------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | TER | MEC | CMP | SON | LMA | TAM | PVI | LAM |
| Aat-1 | n | 164 | 100 | 134 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 102 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 |
| | 100 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 0.94 | 0.96 | 0.96 | 1.00 | 1.00 |
| | 96 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.04 | 0.03 | 0.00 | 0.00 |
| | 94 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.06 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h_o | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.04 | 0.04 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h_e | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.11 | 0.08 | 0.08 | 0.00 | 0.00 |
| χ^2 (g.l.) | - | - | - | 0.60(1) | 0.56(1) | 3.06(3) | - | - | |
| Aat-2 | n | 164 | 90 | 134 | 50 | 100 | 70 | 60 | 100 |
| | 109 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.04 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.02 |
| | 105 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.03 | 0.00 | 0.07 |
| | 100 | 0.49 | 0.52 | 0.50 | 0.63 | 0.59 | 0.35 | 0.36 | 0.70 |
| | 96 | 0.00 | 0.00 | 0.05 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 95 | 0.51 | 0.48 | 0.45 | 0.28 | 0.40 | 0.62 | 0.64 | 0.21 |
| | 92 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.08 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h_o | 0.24 | 0.31 | 0.43 | 0.25 | 0.34 | 0.24 | 0.24 | 0.46 |
| | h_e | 0.50 | 0.50 | 0.55 | 0.52 | 0.49 | 0.49 | 0.46 | 0.46 |
| | χ^2 (g.l.) | 10.7(1) | 3.21(1) | 1.29(3) | 3.69(6) | 2.34(3) | 4.92(3) | 3.35(1) | 0.00(6) |
| | ** | | | | | | | | |
| Cat | n | 136 | 100 | 134 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 105 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.02 | 0.08 | 0.06 | 0.00 |
| | 103 | 0.05 | 0.10 | 0.00 | 0.00 | 0.24 | 0.25 | 0.32 | 0.19 |
| | 100 | 0.71 | 0.78 | 0.91 | 1.00 | 0.66 | 0.53 | 0.62 | 0.67 |
| | 97 | 0.24 | 0.12 | 0.09 | 0.00 | 0.09 | 0.14 | 0.00 | 0.14 |
| | h_o | 0.00 | 0.00 | 0.03 | 0.00 | 0.20 | 0.02 | 0.00 | 0.18 |
| | h_e | 0.44 | 0.37 | 0.16 | 0.00 | 0.50 | 0.63 | 0.51 | 0.50 |
| | χ^2 (g.l.) | 29.9(3) | 18.5(3) | 7.07(1) | - | 6.76(6) | 29.5(6) | 25.5(3) | 10.2(3) |
| | *** | *** | ** | | | *** | *** | * | |
| Est-1 | n | 212 | 100 | 134 | 50 | 90 | 100 | 100 | 100 |
| | 107 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.08 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 106 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 |
| | 104 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.22 |
| | 100 | 1.00 | 0.93 | 0.92 | 1.00 | 0.99 | 1.00 | 1.00 | 0.46 |
| | 97 | 0.00 | 0.07 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.32 |
| | h_o | 0.00 | 0.06 | 0.07 | 0.00 | 0.04 | 0.00 | 0.00 | 0.60 |
| | h_e | 0.00 | 0.13 | 0.15 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.64 |
| | χ^2 (g.l.) | - | 1.88(1) | 2.50(1) | - | 0.40(1) | - | - | 0.13(3) |

TABLA 4. (continuación).

| Locus | Alelo | Poblaciones. | | | | | | | |
|-----------------|-----------------|--------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | TER | MEC | CMP | SON | LMA | TAM | PVI | LAN |
| Est-2 | n | 104 | 100 | 84 | 50 | 90 | 100 | 100 | 100 |
| | 106 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.18 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 104 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.05 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 103 | 0.00 | 0.06 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 100 | 1.00 | 0.87 | 1.00 | 0.74 | 0.71 | 0.47 | 0.56 | 0.38 |
| | 98 | 0.00 | 0.07 | 0.00 | 0.26 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 96 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.06 | 0.53 | 0.44 | 0.62 |
| h_o | 0.00 | 0.14 | 0.00 | 0.28 | 0.34 | 0.58 | 0.48 | 0.52 | |
| h_e | 0.00 | 0.23 | 0.00 | 0.38 | 0.46 | 0.50 | 0.49 | 0.47 | |
| χ^2 (g.l.) | - | 1.76(3) | - | 0.65(1) | 1.06(6) | 0.64(1) | 0.01(1) | 0.26(1) | |
| Est-3 | n | 164 | 100 | 134 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 100 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | h_o | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h_e | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | χ^2 (g.l.) | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Est-4 | n | 164 | 100 | 134 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 100 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | h_o | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h_e | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | χ^2 (g.l.) | - | - | - | - | - | - | - | - |
| G6pd | n | 222 | 100 | 84 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 103 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 100 | 1.00 | 1.00 | 0.99 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | h_o | 0.00 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h_e | 0.00 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | χ^2 (g.l.) | - | - | 0.00 | - | - | - | - | - |
| Gdh | n | 188 | 100 | 134 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 104 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 100 | 0.99 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | h_o | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h_e | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | χ^2 (g.l.) | 0.00 | - | - | - | - | - | - | - |
| Idh-1 | n | 90 | 100 | 80 | - | 82 | 100 | 100 | 98 |
| | 109 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 105 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 102 | 0.02 | 0.00 | 0.00 | - | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 100 | 0.90 | 0.77 | 0.80 | - | 0.78 | 0.59 | 0.56 | 0.59 |
| | 98 | 0.07 | 0.19 | 0.00 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 96 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 95 | 0.00 | 0.00 | 0.20 | - | 0.20 | 0.41 | 0.44 | 0.41 |
| | h_o | 0.10 | 0.36 | 0.25 | - | 0.29 | 0.46 | 0.72 | 0.79 |
| | h_e | 0.18 | 0.37 | 0.32 | - | 0.35 | 0.48 | 0.49 | 0.48 |
| | χ^2 (g.l.) | 1.18(6) | 0.01(6) | 0.61(1) | - | 0.40(3) | 0.04(1) | 5.39(1) | 10.2(1) |

TABLA 4. (continuación).

| Locus | Alelo | Poblaciones. | | | | | | | |
|-----------------|-----------------|--------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | TER | MEC | CMF | SON | LMA | TAM | PVI | LAM |
| Idh-2 | n | 84 | 100 | 80 | - | 84 | 100 | 100 | 98 |
| | 109 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 105 | 0.00 | 0.00 | 0.24 | - | 0.26 | 0.00 | 0.00 | 0.30 |
| | 102 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | - | 0.05 | 0.05 | 0.35 | 0.02 |
| | 100 | 0.80 | 0.81 | 0.75 | - | 0.57 | 0.81 | 0.44 | 0.61 |
| | 98 | 0.20 | 0.00 | 0.00 | - | 0.00 | 0.00 | 0.12 | 0.07 |
| | 96 | 0.00 | 0.19 | 0.00 | - | 0.12 | 0.14 | 0.09 | 0.00 |
| | h _o | 0.18 | 0.18 | 0.35 | - | 0.31 | 0.22 | 0.64 | 2.65 |
| | h _e | 0.32 | 0.31 | 0.38 | - | 0.59 | 0.32 | 0.66 | 0.53 |
| | χ^2 (g.1.) | 2.17(1) | 2.72(1) | 0.14(3) | - | 5.61(6) | 1.56(3) | 0.03(6) | 1.43(6) |
| Mdh-1 | n | 214 | 100 | 134 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 109 | 0.004 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 105 | 0.050 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.15 | 0.00 | 0.00 | 0.16 |
| | 100 | 0.946 | 1.00 | 1.00 | 0.55 | 0.58 | 1.00 | 1.00 | 0.26 |
| | 98 | 0.000 | 0.00 | 0.00 | 0.30 | 0.41 | 0.00 | 0.00 | 0.58 |
| | 96 | 0.000 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h _o | 0.10 | 0.00 | 0.00 | 0.32 | 0.04 | 0.00 | 0.00 | 0.32 |
| | h _e | 0.10 | 0.00 | 0.00 | 0.59 | 0.50 | 0.00 | 0.00 | 0.57 |
| | χ^2 (g.1.) | 0.00(3) | - | - | 3.05(3) | 21.1(3) | - | - | 5.48(3) |
| | Mdh-2 | n | 240 | 100 | 134 | 40 | 100 | 100 | 100 |
| 104 | | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 102 | | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.02 | 0.00 |
| 100 | | 1.00 | 0.97 | 0.99 | 0.90 | 0.98 | 1.00 | 0.95 | 0.93 |
| 98 | | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.05 |
| 97 | | 0.00 | 0.02 | 0.01 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | 0.03 | 0.02 |
| 92 | | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| h _o | | 0.00 | 0.06 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.02 | 0.10 |
| h _e | | 0.00 | 0.06 | 0.02 | 0.18 | 0.04 | 0.00 | 0.10 | 0.13 |
| χ^2 (g.1.) | | - | 0.00(3) | 0.49(1) | 2.66(1) | 1.12(1) | - | 3.20(3) | 0.34(3) |
| Me-1 | n | - | 100 | - | - | - | 100 | 100 | 100 |
| | 100 | - | 0.96 | - | - | - | 1.00 | 1.00 | 0.92 |
| | 96 | - | 0.04 | - | - | - | 0.00 | 0.00 | 0.08 |
| | h _o | - | 0.12 | - | - | - | 0.00 | 0.00 | 0.16 |
| | h _e | - | 0.08 | - | - | - | 0.00 | 0.00 | 0.15 |
| | χ^2 (g.1.) | - | 0.56(1) | - | - | - | - | - | 0.03(1) |
| Me-2 | n | 240 | 100 | 130 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 102 | 0.00 | 0.16 | 0.00 | 0.36 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 100 | 0.96 | 0.84 | 1.00 | 0.64 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | 98 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 93 | 0.03 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h _o | 0.07 | 0.12 | 0.00 | 0.56 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | h _e | 0.08 | 0.27 | 0.00 | 0.46 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | χ^2 (g.1.) | 0.03(3) | 4.16(1) | - | 0.54(1) | - | - | - | - |

TABLA 4. (continuación).

| Locus | Alelo | Poblaciones. | | | | | | | | |
|-------|-----------------|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---|
| | | TER | MEC | CMP | SON | LMA | TAM | PVI | LAM | |
| Pt-1 | n | 122 | 48 | 70 | 50 | 94 | 100 | 100 | 100 | |
| | 105 | 0.37 | 0.54 | 0.46 | 0.62 | 0.59 | 0.63 | 0.61 | 0.65 | |
| | 100 | 0.63 | 0.46 | 0.54 | 0.38 | 0.41 | 0.37 | 0.39 | 0.35 | |
| | h _o | 0.58 | 0.79 | 0.64 | 0.52 | 0.36 | 0.70 | 0.68 | 0.70 | |
| | h _e | 0.47 | 0.50 | 0.50 | 0.35 | 0.48 | 0.47 | 0.48 | 0.46 | |
| | χ^2 (g.1.) | 1.85(1) | 4.08(1) | 1.72(1) | 2.00(1) | 1.38(1) | 5.62(1) | 4.16(1) | 6.26(1) | |
| Pt-2 | n | 206 | 48 | 88 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 | |
| | 100 | 0.80 | 1.00 | 0.78 | 0.92 | 0.92 | 0.75 | 0.56 | 1.00 | |
| | 94 | 0.20 | 0.00 | 0.22 | 0.08 | 0.02 | 0.19 | 0.00 | 0.00 | |
| | 90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.06 | 0.06 | 0.44 | 0.00 | |
| | h _o | 0.15 | 0.00 | 0.16 | 0.08 | 0.06 | 0.28 | 0.52 | 0.00 | |
| | h _e | 0.32 | 0.00 | 0.34 | 0.15 | 0.15 | 0.35 | 0.49 | 0.00 | |
| | | χ^2 (g.1.) | 8.68(1) | - | 4.18(1) | 0.39(1) | 2.70(3) | 0.70(3) | 1.72(1) | - |
| Pt-3 | n | 212 | 48 | 48 | 50 | 78 | 100 | 100 | 50 | |
| | 100 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | |
| | h _o | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | h _e | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | | χ^2 (g.1.) | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sod-1 | n | 76 | 50 | 134 | - | 50 | 100 | 100 | 100 | |
| | 109 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | 100 | 1.00 | 0.98 | 0.98 | - | 0.68 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | |
| | 98 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | - | 0.32 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | 95 | 0.00 | 0.00 | 0.02 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | h _o | 0.00 | 0.04 | 0.00 | - | 0.16 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | h _e | 0.00 | 0.04 | 0.04 | - | 0.44 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | χ^2 (g.1.) | - | 0.00(1) | 1.79(1) | - | 4.45(1) | - | - | - | |
| Sod-2 | n | 190 | 100 | 134 | - | 100 | 100 | 100 | 100 | |
| | 105 | 0.00 | 0.00 | 0.02 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | 100 | 1.00 | 1.00 | 0.98 | - | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | |
| | h _o | 0.00 | 0.00 | 0.03 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | h _e | 0.00 | 0.00 | 0.04 | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | | χ^2 (g.1.) | - | - | 0.01(1) | - | - | - | - | - |

TABLA 5

Resumen de la variación génica en 8 poblaciones de Crassostrea virginica representativas del Golfo de México.
 *, nivel de significancia del 0.05; **, nivel de significancia del 0.01; ***, nivel de significancia del 0.001.

| | | TER | MEC | CMP | SON | LMA | TAM | PVI | LAM |
|--|-----------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Número de loci estudiados | | 19 | 20 | 19 | 15 | 19 | 20 | 20 | 20 |
| Número promedio de genes muestreados por locus. | ±D.S. | ±53 | ±21 | ±30 | ±3 | ±13 | ±7 | ±24 | ±11 |
| Loci polimórficos por población. | p ₉₉ | 0.526 | 0.550 | 0.579 | 0.533 | 0.632 | 0.400 | 0.400 | 0.500 |
| | p ₉₅ | 0.373 | 0.400 | 0.373 | 0.533 | 0.526 | 0.350 | 0.400 | 0.500 |
| Heterocigocidad media (H) | Observados | 0.075 | 0.109 | 0.104 | 0.135 | 0.114 | 0.125 | 0.170 | 0.224 |
| | | ±E.S. | ±0.033 | ±0.043 | ±0.042 | ±0.051 | ±0.033 | ±0.049 | ±0.068 |
| | Esperados | 0.128 | 0.143 | 0.133 | 0.187 | 0.216 | 0.166 | 0.184 | 0.220 |
| | | ±E.S. | ±0.042 | ±0.041 | ±0.043 | ±0.058 | ±0.054 | ±0.052 | ±0.056 |
| | | *** | * | | | *** | *** | ** | * |

$$\bar{p}_{99} = 0.515 \pm 0.028$$

$$\bar{p}_{95} = 0.432 \pm 0.026$$

$$\bar{H}_o = 0.131 \pm 0.039$$

$$\bar{H}_e = 0.174 \pm 0.040$$

considerando inclusive los monomórficos. La magnitud considerable de los errores estándar se debe al componente de varianza interlocus (Ayala et al., 1973). Los valores mínimos se obtuvieron en la población de TER (0.075 ± 0.033 observados y 0.128 ± 0.042 esperados) y los máximos en la de LAM (0.224 ± 0.064 observados y 0.220 ± 0.057 esperados). En siete de las ocho poblaciones hubo deficiencia de heterocigotos y de éstas, cinco fueron estadísticamente significativas: TER ($\chi^2_{(18)} = 54.51$; $P < 0.001$), MEC ($\chi^2_{(19)} = 33.67$; $P < 0.05$), LMA ($\chi^2_{(18)} = 47.94$; $P < 0.001$), TAM ($\chi^2_{(19)} = 46.07$; $P < 0.001$) y PVI ($\chi^2_{(19)} = 43.36$; $P < 0.01$). La única población con exceso de heterocigotos fue LAM, el cual también fue significativo ($\chi^2_{(19)} = 34.38$; $P < 0.05$).

En el locus Cat se percibe el hecho de deficiencia heterocigótica significativa en casi todas las localidades analizadas. Se rechaza la hipótesis de equilibrio con un nivel alto de confiabilidad a excepción de las poblaciones de SON, que es monomórfica para este locus, y LMA, con 0.20 individuos heterocigóticos observados. La importante deficiencia en heterocigosis encontrada en este locus es un componente considerable de la deficiencia global de heterocigotos en la población. Únicamente la deficiencia encontrada en Mdh-1 en LMA es comparable en magnitud. Sólo dos loci, Idh-1 y Pt-1, presentan excesos en la proporción de heterocigotos en algunas poblaciones de manera significativa: Idh-1 en PVI y LAM y Pt-1 en MEC, TAM, PVI y LAM.

Variación clinal y mapeo génico.

Se practicaron análisis de regresión de la proporción de heterocigotos observados y esperados contra la posición geográfica, expresada en grados de latitud norte, para todas las poblaciones estudiadas. La variación clinal fue evidente para los datos de heterocigosis: observados ($r^2 = 0.758$; $P < 0.01$), mientras que para los esperados dicha variación no fue significativa ($r^2 = 0.414$; $P > 0.05$) (Fig. 6).

Al descomponer en dos sectores las poblaciones estudiadas se observó que las cuatro con distribución más al norte (LMA, TAM, PVI y LAM) son las que generan una clina más determinada ($r^2 = 0.940$; $P < 0.05$) (Fig. 5), mientras que en las cuatro restantes (TER, MEC, CMP y SON) se pierden la relación ($r^2 = 0.165$; $P > 0.05$).

En dos alelos comunes de dos loci génicos se comprobó variación clinal recíproca (Figs. 7 y 8). Est-2⁹⁶ ($r^2 = 0.905$; $P < 0.01$) aumenta su frecuencia desde 0.00 en las cuatro primeras poblaciones hasta su máxima frecuencia (0.62) en LAM. Est-2¹⁰⁰ ($r^2 = 0.644$; $P < 0.05$) disminuye desde su fijación en TER (1.00) hasta su mínimo en LAM (0.38). De manera análoga, Idh-1⁹⁵ ($r^2 = 0.606$; $P < 0.05$) está ausente en TER y MEC y aumenta gradualmente su frecuencia a 0.20 en CMP y LMA hasta las tres poblaciones del norte donde su frecuencia es alrededor de 0.4. Idh-1¹⁰⁰ ($r^2 = 0.706$; $P < 0.05$) disminuye de 0.90 en TER hasta las tres poblaciones del norte presentando valores alrededor de 0.5.

El conocimiento más detallado de la variación génica de las poblaciones

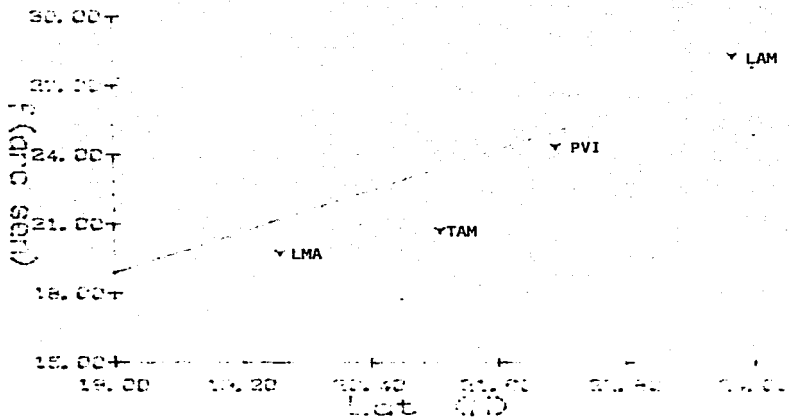


FIGURA 5. Regresión lineal de las heterocigosidades medias de las poblaciones ubicadas al norte de los 19° N en función de los grados de latitud norte. $r^2=0.940$; $P\leq 0.05$.

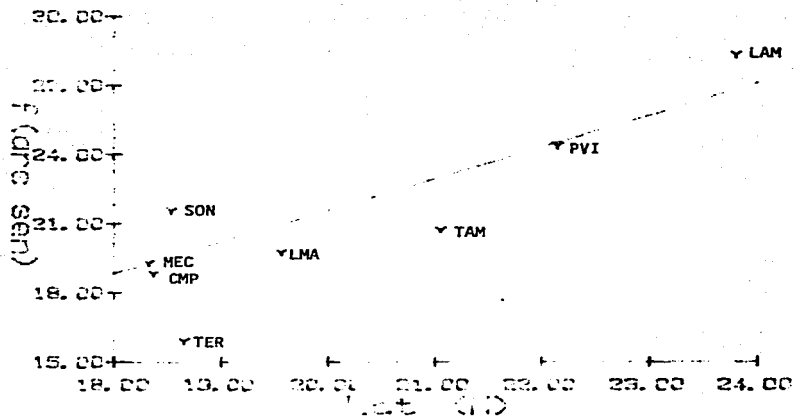


FIGURA 6. Regresión lineal de las heterocigosidades medias de las ocho poblaciones muestreadas de *C. virginica* en función de los grados de latitud norte. $r^2=0.758$; $P<0.01$.

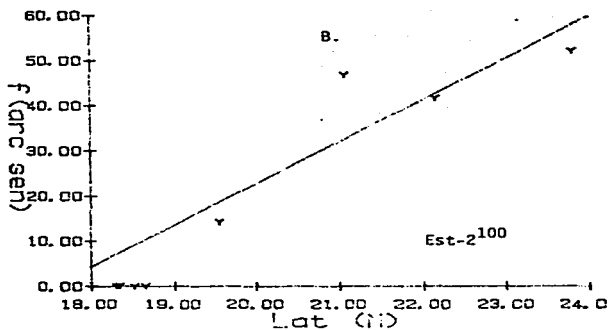
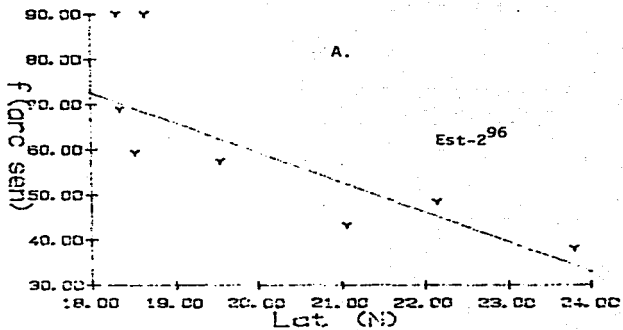


FIGURA 7. Regresión lineal de la frecuencia del alelo Est-2⁹⁶ en función de los grados de latitud norte. $r^2=0.905$; $P \leq 0.01$. B. Regresión lineal de la frecuencia del alelo Est-2¹⁰⁰ en función de los grados de latitud norte. $r^2=0.644$; $P \leq 0.05$.

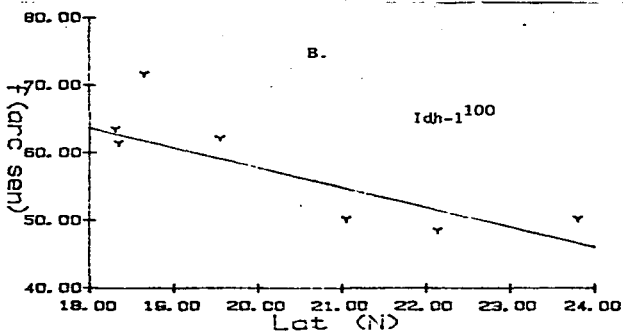
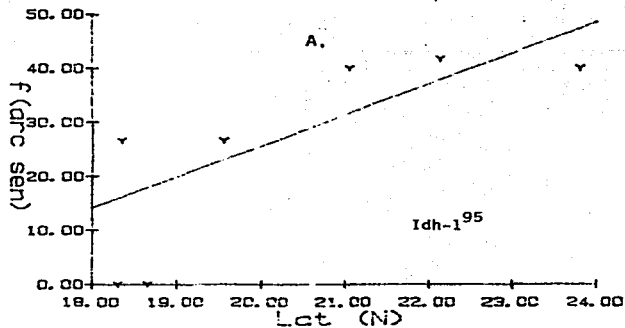


FIGURA 8. A. Regresión lineal de la frecuencia del alelo $Idh-1^{95}$ en función de los grados de latitud norte. $r^2=0.606$; $P<0.05$. B. Regresión lineal de la frecuencia del alelo $Idh-1^{100}$ en función de los grados de latitud norte. $r^2=0.706$; $P<0.05$.

en la extensión geográfica que ocupan se logra mediante el mapeo génico (Endler, 1977). En este sentido se elaboraron mapas génicos para aquellos loci que presentaron segregación multialélica importante.

El locus Aat-2 segrega para 6 alelos, 4 de los cuales (Aat-2¹⁰⁹, Aat-2¹⁰⁵, Aat-2⁹⁶ y Aat-2⁹²) son considerados raros. Los comunes (Aat-2¹⁰⁰ y Aat-2⁹⁵) alternan la proporción de sus frecuencias (Fig. 9). El alelo Aat-2¹⁰⁰ es más frecuente en MEC, CMP, SON, LMA y LAM. Es importante notar que después de caer la frecuencia de este alelo de 0.63 en SON a 0.59 en LMA hasta sus valores mínimos de 0.35 y 0.36 en TAM y PVI, en la localidad más al norte (LAM) adquiere su valor máximo (0.70). Nótese el equilibrio de heterocigosis de los dos alelos en esta última localidad (Tabla 4).

La figura 10 representa el mapeo génico del locus Cat. A excepción del alelo Cat¹⁰⁵, que puede ser considerado raro según el criterio establecido, los tres restantes (Cat¹⁰³, Cat¹⁰⁰ y Cat⁹⁷) segregan con frecuencias considerables. Sin embargo, Cat¹⁰⁰ es el de mayor frecuencia en toda la población. La máxima frecuencia se encuentra en SON, donde está completamente fijado (1.00) y disminuye hacia el norte alcanzando su mínimo en TAM (0.53) para volver a aumentar su frecuencia hasta LAM (0.67). Las poblaciones del sur (MEC y CMP) presentan frecuencias altas (0.78 y 0.91, respectivamente). La disminución de las frecuencias de Cat¹⁰⁰ en las poblaciones intermedias parecen ser a favor de la aparición de Cat¹⁰³. Es interesante observar que la segregación en los alelos de este locus es casi exclusivamente como homocigotos (Tabla 4).

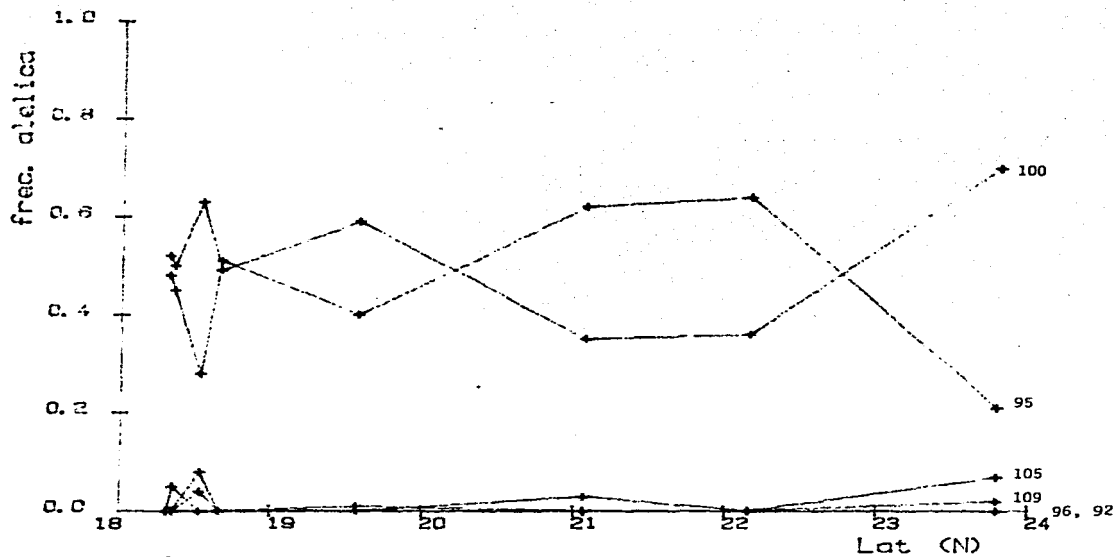


FIGURA 9. MAPA GENICO DE Aat-2

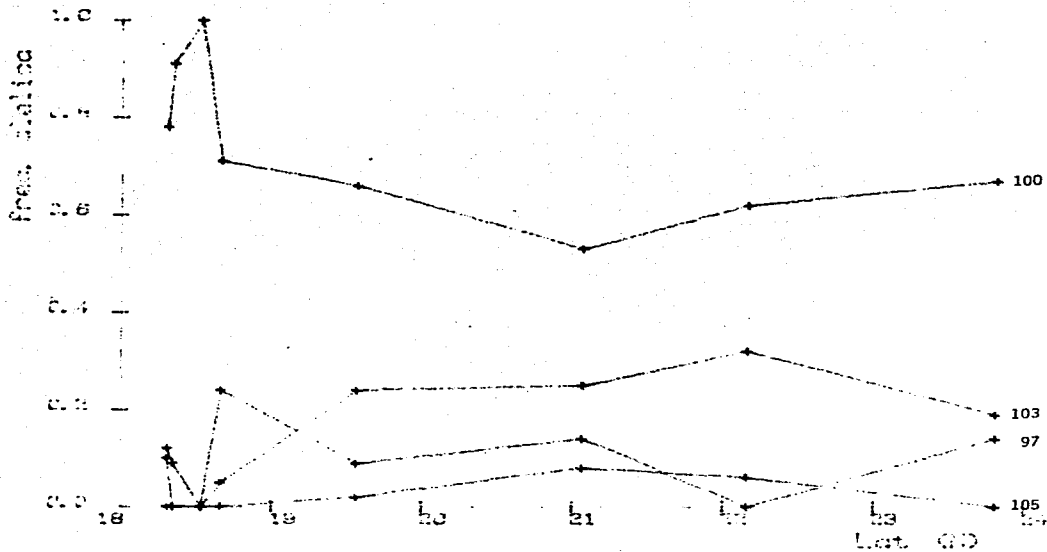


FIGURA 10. MAPA GENICO DE LA LACTACION.

El alelo Est-1¹⁰⁰ que aparece fijado en las poblaciones intermedias y casi fijado en las del sur, sufre una caída importante de frecuencia en la población del norte (LAM) y aparecen los alelos Est-1¹⁰⁴ y Est-1⁹⁷ con frecuencias de 0.22 y 0.32, respectivamente (Figura 11). La población se encuentra en equilibrio con respecto a este locus, considerando los valores de heterocigosidad calculados (Tabla 4). Otros dos alelos se segregan en este locus (Est-1¹⁰⁷ y Est-1¹⁰⁶), pero con frecuencias lo suficientemente bajas para ser considerados raros.

El locus Est-2 segrega en 6 alelos. Est-2¹⁰⁴ y Est-2¹⁰³ se presentan con frecuencias inferiores a 0.10. Est-2⁹⁸ aparece únicamente en LMA con frecuencia de 0.18. Est-2⁹⁸ no es raro en SON (0.26), pero está ausente en las demás localidades. Est-2¹⁰⁰ está fijado en TER y CMP y su valor mínimo está ubicado en LAM (0.38). Est-2⁹⁶ no se considera común ya que está ausente en TER, MEC, CMP y SON, pero desde su aparición en LMA (0.06), aumenta su frecuencia hasta 0.62 en LAM (Fig. 12). Cabe notar que en las tres poblaciones más al norte, donde Est-2⁹⁶ aparece con frecuencias altas, las proporciones de heterocigotos están en equilibrio o tendientes al exceso de observados.

De los 7 alelos que segregan en Idh-1, 5 son raros (Idh-1¹⁰⁹, Idh-1¹⁰⁵, Idh-1¹⁰², Idh-1⁹⁸ e Idh-1⁹⁶). Idh-1¹⁰⁰ es el de mayor frecuencia en toda la distribución, pero presenta disminución gradual de ésta desde TER (0.90) hasta PVI (0.56), con un ligero repunte en LAM (0.59). Idh-1⁹⁵ está ausente en TER y MEC (0.00) y, de CMP y SON, donde presenta frecuencias relativamente bajas (0.20), aumenta gradualmente hasta su máximo en

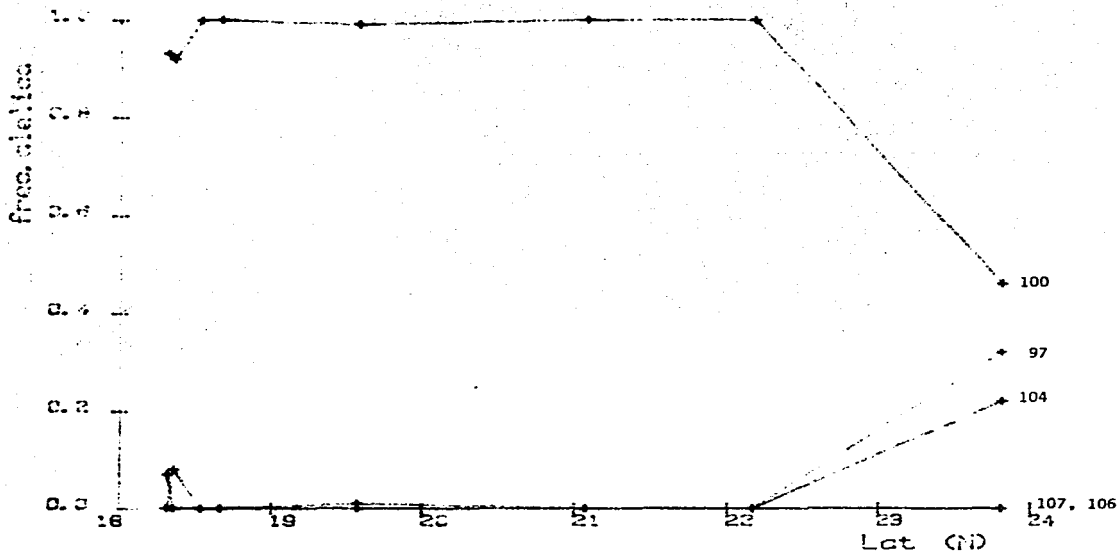


FIGURA 11. MAPA GENICO DE Est-1

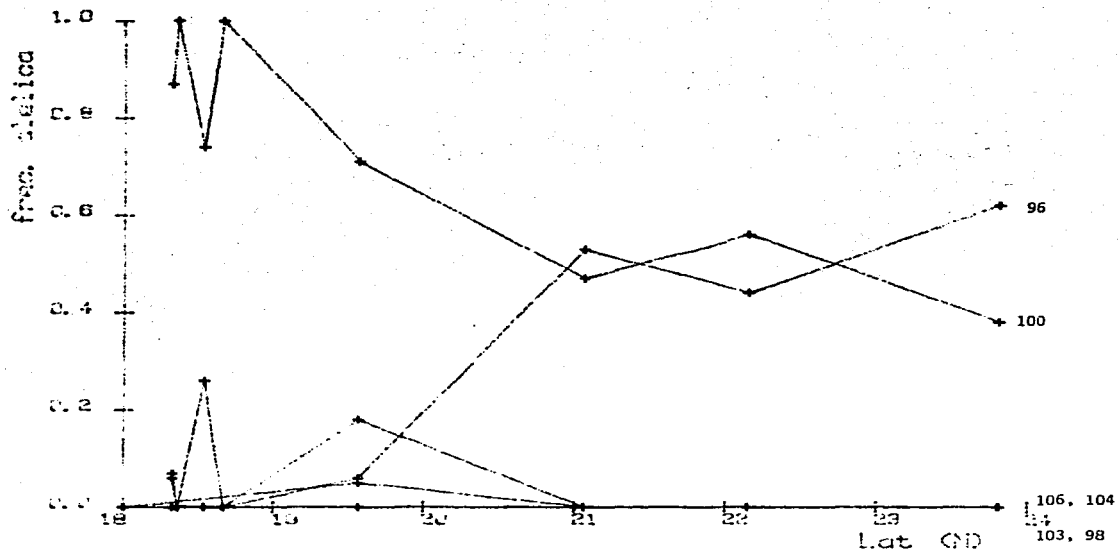


FIGURA 12. MAPA GENICO DE Est.-2

PVI (0.44), volviendo a disminuir ligeramente en LAM (Fig. 13). Un exceso significativo en la proporción de heterocigotos para estos alelos se observa en PVI y LAM.

La figura 14 representa la variación alélica del locus Idh-2. De los 6 alelos segregados, sólo uno se considera raro (Idh-2^{109}) y se presenta exclusivamente en forma de heterocigoto ($\text{Idh-2}^{109/100}$). Idh-2^{105} , Idh-2^{102} , Idh-2^{98} e Idh-2^{96} , aunque no comunes en toda la población, aparecen en frecuencias mayores a 0.10 en distintas localidades. Idh-2^{105} segrega con frecuencias de 0.24 y 0.26 en CMP y LMA, respectivamente; desaparece en TAM y PVI para volver a aparecer en LAM con frecuencia de 0.30. Idh-2^{102} aumenta gradualmente de las poblaciones del sur hasta PVI donde adquiere bruscamente su máxima frecuencia (0.35) para perderse casi totalmente en LAM (0.02). Idh-2^{98} está presente en TER (0.20) y se pierde en las poblaciones intermedias hasta aparecer de nuevo en PVI (0.12) y LAM (0.07). El patrón de frecuencia de Idh-2^{96} es el opuesto a los dos anteriores; se presenta con frecuencias moderadas en las poblaciones intermedias (0.09 a 0.19) y desaparece en las extremas (CMP, TER y LAM). Idh-2^{100} es común en todas las localidades y segrega con frecuencias altas (0.44 a 0.81), pero en virtud de las fluctuaciones de los otros alelos, su distribución es errática. Todos los genotipos heterocigotos están dados por estos alelos y se encuentran en equilibrio cuando se presentan en las distintas localidades.

El mapa generado por la segregación de los alelos en el locus Mdh-1 (Fig. 15), de los cuales sólo los de corrimiento electroforético extremo (Mdh-1^{109} y Mdh-1^{96}) son raros, presenta fluctuaciones de gran mag-

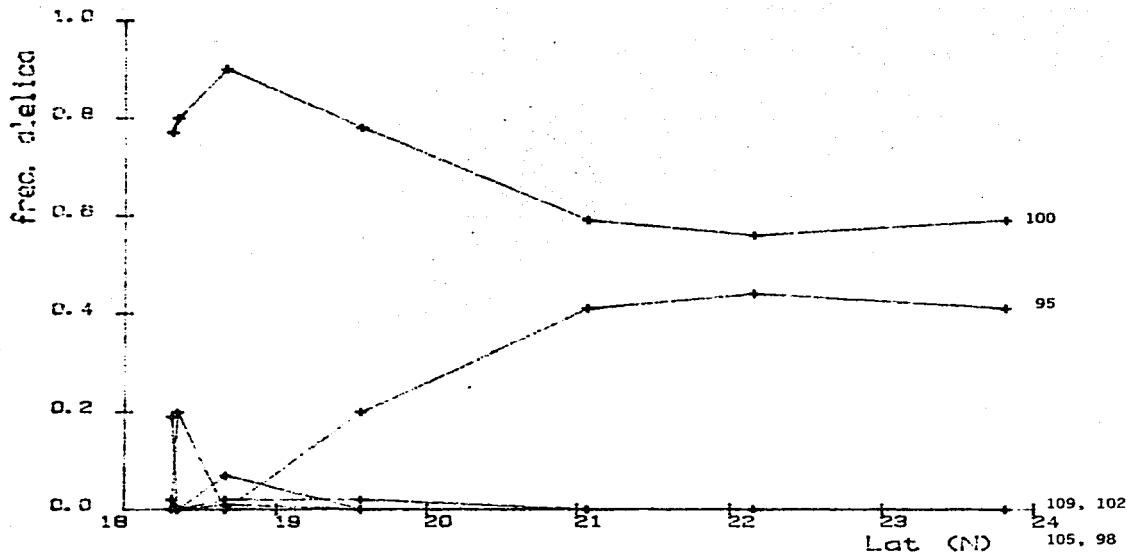


FIGURA 13. MAPA GENICO DE Idh-1

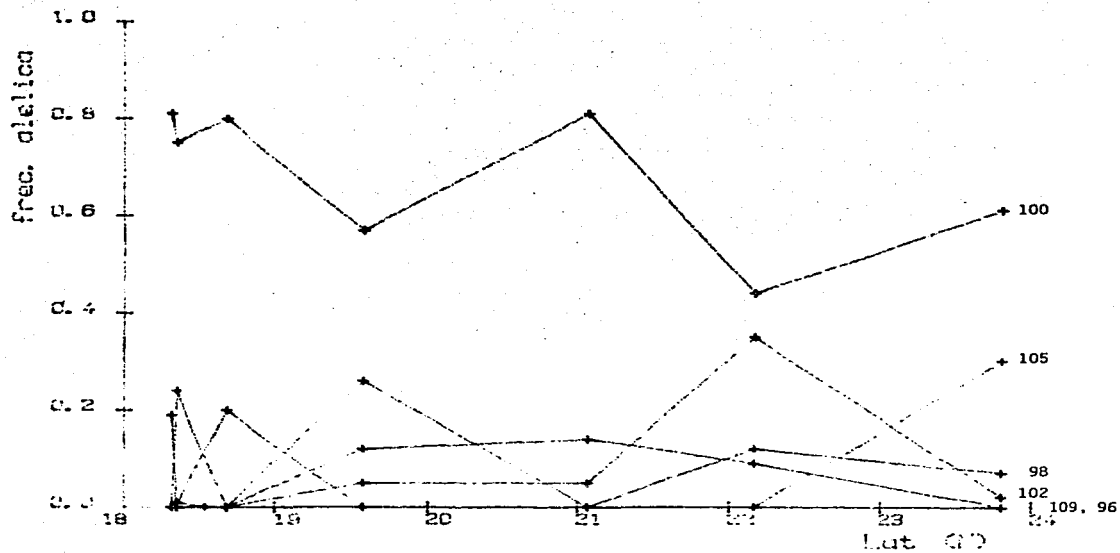


FIGURA 14. MAPA GENICO DE Idh-2

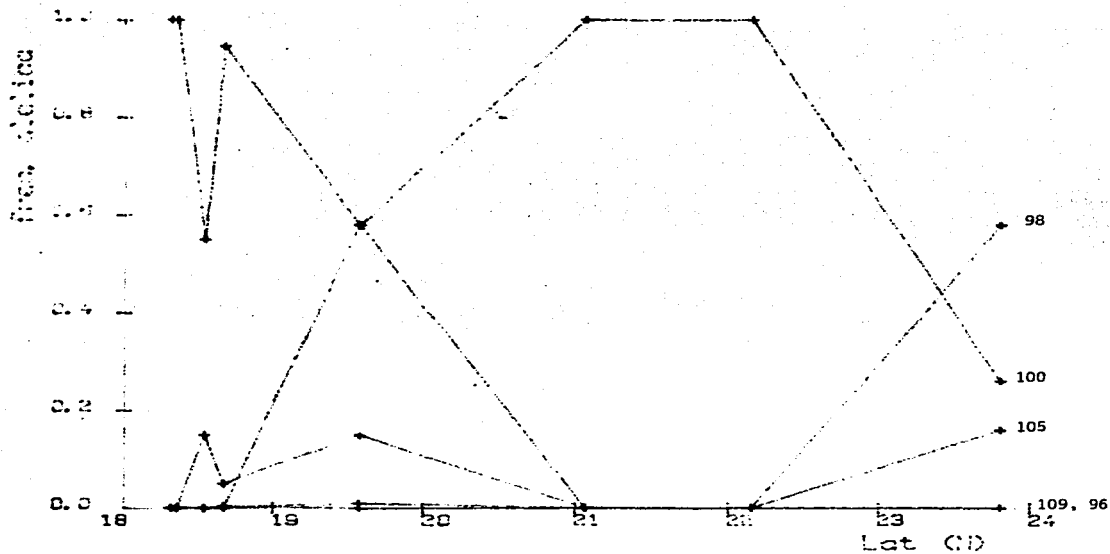


FIGURA 15. MAPA GENICO DE Mdh-1

nitudo para los alelos Mdh-1¹⁰⁰ y Mdh-1⁹⁸. Mdh-1¹⁰⁰ está fijado en MEC, CMP, TAM y PVI; en TER su frecuencia es muy alta (0.946), pero en LMA cae a expensas del aumento en la frecuencia de Mdh-1⁹⁸ hasta un valor de 0.58. En SON y LAM el descenso es aún más abrupto a expensas de Mdh-1¹⁰⁵ y Mdh-1⁹⁸; en la última población, inclusive, deja de ser el más frecuente pasando Mdh-1⁹⁸ a ocupar esa categoría. Los alelos raros aparecen exclusivamente en genotipos heterocigotos. El patrón es de deficiencia heterocigótica en todas las localidades y llega a ser altamente significativa en LMA.

Pt-1 es un sistema de dos alelos (Pt-1¹⁰⁵ y Pt-1¹⁰⁰) mantenidos por heterosis, en frecuencias altas y equilibradas en toda la distribución, con exceso en la proporción de heterocigotos en casi todas las localidades (excepto en LMA) (Fig. 16). En las cuatro poblaciones más al sur de la distribución, los dos alelos se alternan la categoría del más frecuente, para definirse Pt-1¹⁰⁰ en las últimas cuatro (LMA, TAH, PVI y LAM), como el más frecuente.

En el locus Pt-2, un alelo, Pt 2¹⁰⁰, mantiene una frecuencia alta globalmente en toda la distribución, excepto en PVI donde Pt-2⁹⁰ aumenta su frecuencia hasta 0.44 después de mantenerse como un alelo raro en las demás localidades. El equilibrio de estos dos alelos está soportado por heterosis, ya que se presenta exceso de la proporción de heterocigotos. Un tercer alelo, Pt-2⁹⁴, mantiene frecuencias moderadas en las poblaciones más al sur e intermedias, para perderse completamente en PVI y LAM (Fig. 17).

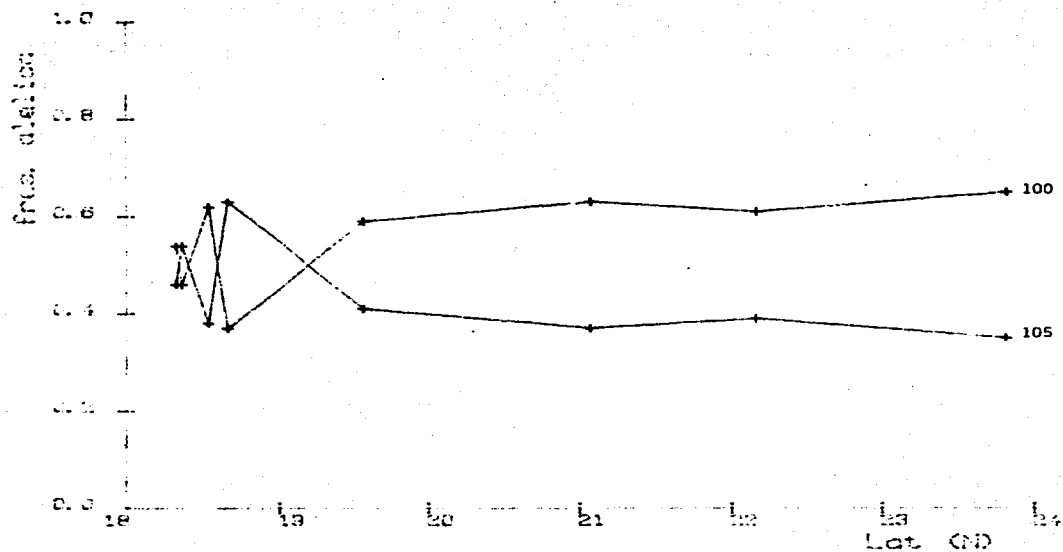


FIGURA 16. MAPA GENICO DE Pt-1

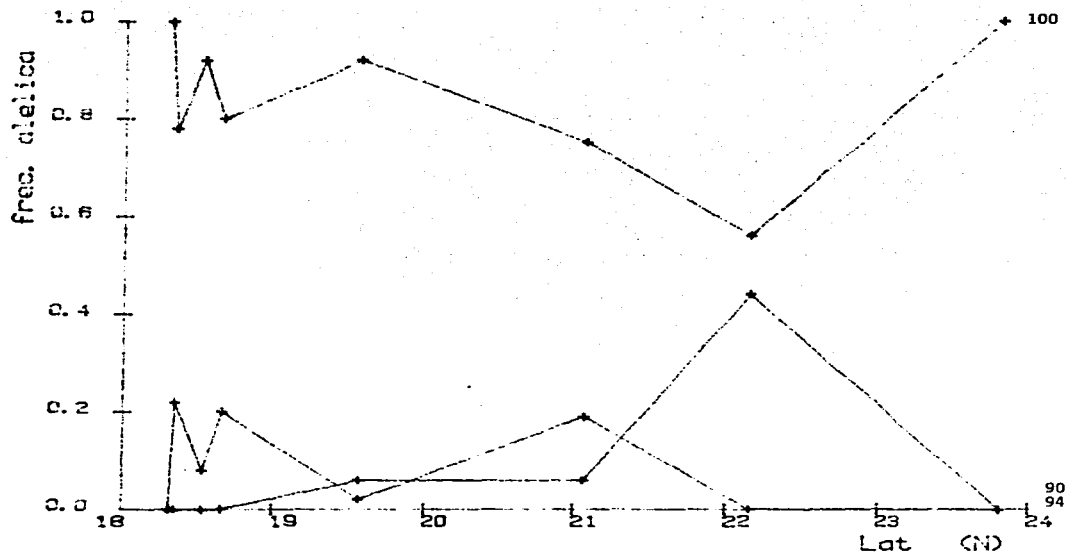


FIGURA 17. MAPA GENICO DE Pt-2

Similitud genética interpoblacional.

En la tabla 6 están dados los valores de similitud y distancia genéticas interpoblacionales. El valor máximo de similitud (mínimo de distancia) es de 0.994 (0.006) y corresponde a la comparación de estructuras entre SUN y LMA. El mínimo de similitud (Máximo de distancia) es de 0.903 (0.097), correspondiente al par TER y LAM. Se aprecia un descenso global en similitud (aumento en distancia) con respecto a la distancia geográfica.

La población de LAM presenta los valores mínimos de similitud genética con las demás poblaciones. Según los criterios fijados por el estudio de las relaciones filogenéticas en otras especies mediante este método, la población de LAM con respecto a las demás poblaciones analizadas, diverge genéticamente lo suficiente para ser considerada en un nivel evolutivo distinto al de población geográfica (Ayala, 1975). Un análisis detallado de la tabla bajo este criterio permite destacar el hecho de la gran similitud genética entre las tres poblaciones del sur de la distribución, las dos intermedias y PVI y LAM, separadamente.

TABLA 6

Estimaciones de la distancia y la similaridad genéticas interpoblacionales entre 8 poblaciones representativas de la especie C. virginica de la costa del Golfo de México. Similaridad genética sobre la diagonal y distancia genética debajo de la diagonal.

| | TER | MEC | CMP | SON | LMA | TAM | PVI | LAM |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| TER | - | 0.989 | 0.991 | 0.957 | 0.966 | 0.959 | 0.941 | 0.908 |
| MEC | 0.011 | - | 0.983 | 0.978 | 0.970 | 0.969 | 0.957 | 0.925 |
| CMP | 0.009 | 0.017 | - | 0.971 | 0.969 | 0.960 | 0.949 | 0.918 |
| SON | 0.044 | 0.022 | 0.029 | - | 0.994 | 0.934 | 0.940 | 0.935 |
| LMA | 0.035 | 0.030 | 0.031 | 0.006 | - | 0.954 | 0.946 | 0.952 |
| TAM | 0.042 | 0.031 | 0.041 | 0.068 | 0.047 | - | 0.984 | 0.942 |
| PVI | 0.061 | 0.044 | 0.052 | 0.062 | 0.056 | 0.016 | - | 0.927 |
| LAM | 0.097 | 0.078 | 0.086 | 0.067 | 0.049 | 0.060 | 0.076 | - |

DISCUSION.

Variación genética.

Desde la perspectiva seleccionista, a mayor variabilidad genética, mayor oportunidad de operación de la selección natural para la adaptación de la población al ambiente. La evolución ocurre mediante el cambio de frecuencias y tipos de alelos en el reservorio genético de la población. Por consiguiente, la capacidad de variación asegura la persistencia evolutiva de una especie en su distribución geográfica.

Recientemente se ha establecido que para que una población alcance niveles altos de variabilidad genética debe poseer una distribución geográfica amplia, su linaje debe ser antiguo y su ritmo evolutivo lento, para evitar la erosión provocada por la selección direccional (Soulé, 1980). En los moluscos, además, las especies de bivalvos ovíparos, con mayor fecundidad, huevos y larvas más pequeños y estadias más cortas en el plancton, se correlacionan positivamente con los niveles de variabilidad genética (Buroker, 1985).

Desde los puntos de vista anteriores, Crassostrea virginica reúne las características para ser una especie con niveles de variabilidad genética considerables (ver ASPECTOS BIOLÓGICOS).

Los resultados de este estudio revelan que el polimorfismo promedio en

en las poblaciones analizadas, utilizando el criterio más conservador ($p \leq 0.95$), es del 43.2 % \pm 2.6 %. Según el intervalo de valores de polimorfismo proteínico recopilado por Selander y Kaufman (1973) para los invertebrados (del 25 al 50 %), el obtenido aquí tiende al límite superior.

La heterocigosis esperada, calculada a partir de las frecuencias alélicas en la población por medio de la ecuación de Hardy-Weinberg, es considerada como la mejor medida de la diversidad génica, ya que estima la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes (Ayala y Kiger, 1984). El intervalo de heterocigosis esperada en las poblaciones estudiadas varía entre el 12.8 % \pm 4.2 % y el 22.0 % \pm 5.7 % (Tabla 5). El valor medio (17.4 % \pm 4.0 %) es superior al promedio calculado por Selander y Kaufman (1973) para los invertebrados en general (15 %). En particular, la comparación entre niveles de variabilidad genética de las poblaciones estudiadas aquí, poblaciones de otras latitudes de la misma especie y otras especies de ostreidos, presenta aspectos interesantes (Tabla 7). A nivel interespecífico, se observa que las especies tropicales tienden a presentar valores menores de variabilidad (C. belcheri, C. iredalei, C. rhizophorae, S. cucullata), que las de latitudes de zonas templadas (C. angulata, S. glomerata), mientras que un mismo patrón común se repite en poblaciones geográficas de la misma especie (C. gigas y C. virginica). Sin embargo, varios factores, como la edad de la estirpe, las características biológicas de la especie y las condiciones del habitat, pueden estar actuando en forma importante en este suceso.

TABLA 7

Variabilidad genética de algunas especies de la familia Ostreidae. K es el número de loci estudiados. p_{99} y p_{95} son los valores de polimorfismo proteínico, según los criterios de la frecuencia del alelo más común menor o igual a 0.99 y 0.95, respectivamente. H_o es la heterocigosidad observada. H_e es la heterocigosidad esperada. (Todos los valores en porcentaje). -: no hay datos.

| Especie | K | P_{99} | P_{95} | H_o | H_e | Localidad | Referencia |
|-----------------------------|----|----------|----------|-------|-------|--------------------|---------------------------|
| <u>Crassostrea angulata</u> | 25 | 60 | - | 23.4 | 23.8 | Sado, Port. | Buroker et al, 1979 a |
| <u>C. belcheri</u> | 25 | 20 | - | 6.2 | 6.8 | Malasia del Este | Buroker et al, 1979 b |
| <u>C. corteziensis</u> | 17 | 64.7 | 58.8 | 13.8 | 19.6 | El Pozo, Nay. | Hedgecock y Okasaki, 1984 |
| <u>C. gigas</u> | 27 | 59.3 | - | 19.5 | 21.4 | Kumamoto, Jap. | Buroker et al, 1979 a |
| " | 24 | 58.3 | - | 19.8 | 20.1 | Hiroshima, Jap. | " |
| " | 27 | 63.0 | - | 22.2 | 23.8 | Miyagi, Jap. | " |
| " | 15 | 73.0 | 53.0 | 21.0 | 24.5 | Puget Sound, Wash. | Buroker et al, 1975 |
| <u>C. iredalei</u> | 28 | 39.3 | - | 10.0 | 10.5 | Filipinas | Buroker et al, 1979 b |
| <u>C. rhizophorae</u> | 30 | 30.0 | - | 10.0 | 11.1 | Islas Vírgenes | " |
| " | 15 | 66.7 | 46.7 | 13.6 | 15.0 | Belice | Hedgecock y Okasaki, 1984 |
| " | 15 | 53.3 | 53.3 | 13.8 | 17.8 | Sto. Domingo, R.D. | " |
| " | 11 | 54.6 | 36.4 | 10.6 | 10.7 | Puerto Rico | " |
| " | 15 | 60.0 | 46.7 | 9.9 | 12.7 | Guadalupe | " |
| " | 18 | 61.1 | 55.6 | 17.0 | 19.4 | Trinidad | " |
| <u>C. rivularis</u> | 32 | 37.5 | - | 9.8 | 11.1 | Kumamoto, Jap. | Buroker et al, 1979 b |
| <u>C. virginica</u> | 34 | 47.1 | - | 16.6 | 17.5 | Florida Occ. | " |

TABLA 7. (continuación)

| Especie | K | P ₉₉ | P ₉₅ | H ₀ | H _e | Localidad | Referencia |
|---------------------|----|-----------------|-----------------|----------------|----------------|------------------------|---------------------------|
| <u>C. virginica</u> | 32 | 46.9 | - | 19.1 | 19.5 | Nueva Escocia | Buroker et al, 1979 b |
| " | 30 | 53.3 | - | 20.7 | 20.3 | Cape Code, Mass. | Buroker, 1983 |
| " | 32 | 50.0 | - | 21.2 | 20.6 | Long Island, Conn. | " |
| " | 31 | 51.6 | - | 23.6 | 21.9 | Delaware Bay Sup. | " |
| " | 32 | 53.1 | - | 18.6 | 18.3 | Delaware Bay Inf. | " |
| " | 32 | 46.9 | - | 22.3 | 21.4 | James River, Va. | " |
| " | 32 | 53.1 | - | 22.5 | 22.2 | Nag'shead, N.C. | " |
| " | 32 | 65.6 | - | 20.8 | 20.6 | Charleston, S.C. | " |
| " | 32 | 53.1 | - | 20.9 | 20.6 | Jacksonville, Fla. | " |
| " | 32 | 59.4 | - | 19.9 | 20.0 | Fort Pierce, Fla. | " |
| " | 31 | 51.6 | - | 20.6 | 19.8 | Miami, Fla. | " |
| " | 31 | 54.8 | - | 20.0 | 19.2 | Tampa Bay, Fla. | " |
| " | 32 | 65.6 | - | 20.9 | 19.8 | Cedar Key, Fla. | " |
| " | 32 | 59.4 | - | 21.7 | 21.2 | Apalachicola Bay, Fla. | " |
| " | 31 | 58.1 | - | 22.7 | 22.5 | Horn Island, Miss. | " |
| " | 32 | 68.8 | - | 25.4 | 25.3 | Bay Grable, La. | " |
| " | 32 | 62.5 | - | 23.6 | 24.1 | Galveston, Tex. | " |
| " | 32 | 59.4 | - | 24.7 | 25.4 | Port Lavaca, Tex. | " |
| " | 32 | 59.4 | - | 24.7 | 25.4 | Corpus Christi, Tex. | " |
| " | 32 | 59.4 | - | 21.3 | 21.2 | Brownsville, Tex. | " |
| " | 19 | 57.9 | 47.4 | 17.6 | 20.6 | Franklin, Fla. | Hedgecock y Okazaki, 1984 |
| " | 16 | 62.5 | 56.3 | 26.3 | 26.5 | El Zacatal, Camp. | " |

TABLA 7. (continuación)

| Especie | K | P ₉₉ | P ₉₅ | H ₀ | H _e | Localidad | Referencia |
|---|----|-----------------|-----------------|----------------|----------------|--------------------------|-----------------------|
| <u>C. virginica</u> | 19 | 52.6 | 37.3 | 7.5 | 12.8 | Términos, Camp. | Este estudio |
| " | 20 | 55.0 | 40.0 | 10.9 | 14.3 | Mecoacán, Tab. | " |
| " | 19 | 57.9 | 37.3 | 10.4 | 13.3 | Pajonal, Tab. | " |
| " | 15 | 53.3 | 53.3 | 13.5 | 18.7 | Sontecomapan, Ver. | " |
| " | 19 | 63.2 | 52.6 | 11.4 | 21.6 | La Mancha, Ver. | " |
| " | 20 | 40.0 | 35.0 | 12.5 | 16.6 | Tamiahua, Ver. | " |
| " | 20 | 40.0 | 40.0 | 17.0 | 18.4 | Pueblo Viejo, Ver. | " |
| " | 20 | 50.0 | 50.0 | 22.4 | 22.0 | Laguna Madre, Tamps. | " |
| <u>Saccostrea</u> <u>comercialis</u> | 28 | 46.4 | - | 19.5 | 19.6 | Tweed River, Austral. | Buroker et al, 1979 a |
| " | 28 | 46.4 | - | 17.2 | 18.4 | George's River, Austral. | " |
| " | 28 | 46.4 | - | 17.3 | 19.1 | Meribbula Lake, Austral. | " |
| <u>S. cucullata</u> | 27 | 48.1 | - | 18.5 | 18.0 | Malasia del Este | Buroker et al, 1979 b |
| <u>S. glomerata</u> | 27 | 51.9 | - | 18.2 | 19.3 | Mahurangi Est., N.Z. | Buroker et al, 1979 a |
| <u>S. malabonensis</u> | 30 | 53.3 | - | 19.2 | 21.3 | Filipinas | Buroker et al, 1979 b |
| <u>S. manilai</u> | 30 | 46.7 | - | 18.7 | 19.4 | Filipinas | " |

C. corteziensis y C. virginica parecen haber surgido a partir de un ancestro común cuando se efectuó la separación entre los océanos al emerger el puente interamericano en el Mioceno o el Plioceno (Stenzel, 1971); los niveles de variabilidad semejantes entre estas especies se pueden explicar por los tiempos semejantes de divergencia. C. angulata y C. gigas han sido consideradas como especies distintas por evidencia paleontológica (Stenzel, 1971); no obstante, el enfoque genético (Buroker et al., 1979 a) indica que su estructura genética es la de dos poblaciones aisladas geográficamente. Los valores de variabilidad genética tan semejantes entre las poblaciones de estas especies, supuestamente diferentes, se pueden atribuir a la estrategia adaptativa específica y la zona zoogeográfica compartida.

La comparación intraespecífica en poblaciones de latitudes semejantes presenta, en ocasiones, diferencias en los niveles de variabilidad. Como en el caso de C. rhizophorae, cuyas poblaciones continentales son más variables que las insulares. Buroker et al. (1979 b) argumentan que la aparición relativamente reciente de las Antillas con respecto al Continente Americano, y su poblamiento por esta especie a partir de una pequeña muestra de organismos procedentes del continente, son dos causas que inciden en ese resultado. A su vez, si es válida la suposición de que C. rhizophorae y C. virginica son especies distintas y que la primera diverge de la segunda en el tiempo geológico reciente, la reducción en variabilidad en la especie más joven puede explicarse en función de ese suceso.

Al comparar los niveles de variabilidad genética entre dos poblaciones de la especie C. virginica de dos zonas zoogeográficas distintas, se encontró que la de latitudes subtropicales era más variable que la que ocupa latitudes templadas (Buroker et al., 1979 b) (Tabla 7). En un estudio más detallado en el que se analizaron varias poblaciones de esta especie a lo largo de la costa Atlántica y la región Septentrional del Golfo de México, se detectaron niveles altos y muy homogéneos de variabilidad genética. La homogeneidad fue atribuida a la gran capacidad de dispersión de las larvas en función de las corrientes costeras. Sin embargo, se pudo apreciar una divergencia cualitativa entre los genes que segregan en ambas regiones, lo que es indicativo de una interrupción en el flujo génico entre ellas (Buroker, 1983). Según estos resultados, se puede suponer la existencia de una estrategia genética adaptativa que involucra el mantenimiento de los niveles de variabilidad independientemente de la selección de alelos en distintas condiciones ambientales.

Hedgcock y Okazaki (1984) midieron la variabilidad genética de una población tropical de la misma especie. Sus valores son comparativamente altos con los obtenidos en este estudio (cf. Tabla 7). La diferencia parece residir en el campo metodológico. Según Lewontin (1974), el programa metodológico para la medición de la variabilidad genética en poblaciones naturales debe incluir una muestra al azar de genes, con respecto a los efectos fisiológicos y a la cantidad de variación genética que exista en el locus. Mientras mayor sea el número de loci analizado, más representativo y estadísticamente confiable será el valor

obtenido. Se ha propuesto un número mínimo de 20 loci analizados para obtener resultados confiables, aunque probablemente se requiera una muestra mucho más amplia. No obstante, por las limitaciones técnicas, es común trabajar con muestras de alrededor de 30 loci. Mientras menor sea el número de loci analizados, mayor será la probabilidad de encontrar resultados con algún grado de desviación de los valores reales.

Los resultados obtenidos en el presente estudio son congruentes con el patrón general observado de disminución de la variabilidad genética latitudinalmente. Dos de las poblaciones de C. gigas del Japón (Kumamoto e Hiroshima) están ubicadas en el sur de la isla, en un ambiente subtropical. La población de Miyagi, al norte de la isla, experimenta un ambiente templado. Las poblaciones del sur son ligeramente menos variables que las del norte (Buroker et al., 1979 a). Recientemente, se han implantado artificialmente poblaciones de esa especie en la costa del Pacífico de Norteamérica; la corriente de California genera condiciones ambientales netamente templadas en esa zona. Los niveles de variabilidad genética reportados para las poblaciones ahí implantadas son muy semejantes a los que presenta la población de Miyagi del Japón. Aunque no existen reportes de la procedencia de la semilla implantada en la costa norteamericana, la similitud ambiental entre las localidades mencionadas puede estar reflejando en los niveles de variabilidad encontrados. Por otro lado, la gran similitud de variabilidad genética entre las poblaciones geográficas de S. commercialis de la costa oriental de Australia, donde se presenta un ambiente homogéneo, apoya la hipótesis.

Debido a la amplia distribución geográfica actual de C. virginica, la especie experimenta diversas condiciones ambientales desde las templadas hasta las tropicales. La percepción de las características climáticas en cada región, aunada a los patrones de circulación costera del Atlántico occidental, deben influir en la composición de la variabilidad de las poblaciones naturales analizadas en este estudio.

Se han planteado diversos modelos para la predicción de los niveles de variabilidad genética en los diferentes grupos biológicos. La teoría de la textura ambiental de Levins (1968) predice la disminución de los valores de variabilidad como una estrategia adaptativa en aquellos organismos que experimentan su ambiente como de textura fina, es decir, como una sucesión de condiciones diferentes cuyo promedio es semejante para toda la población. Este tipo de ambiente es menos incierto, como lo pueden ser los trópicos o el mar profundo.

Varios estudios (Ayala et al., 1973; Ayala y Valentine, 1974; Valentine y Ayala, 1974) han demostrado niveles altos de variabilidad en los ambientes del mar profundo. Este hecho ha sido explicado en función de la facilidad para la fijación de novedades génicas ante la estabilidad de esos ambientes en el tiempo (Ayala et al., 1973; Somero y Soulé, 1974); otros autores sugieren que la estabilidad espacial del mar profundo puede haber sido sobrestimada y que es factible encontrar diferentes niveles de variación ambiental dependientes de la dinámica de la circulación de las masas de agua abisal (Costa y Bisoí, 1978). Estos autores proponen también que la interacción biótica de las comunidades del fondo oceánico puede determinar los niveles de variación genética como

una respuesta estratégica para la adaptación específica a ese nivel de organización ecológica.

La estabilidad trófica de los ecosistemas tropicales sugiere el aumento de los niveles de variabilidad (Ayala et al., 1975 a y b). La competencia por recursos limitados (pero estables) conduce a los organismos a desarrollar estrategias adaptativas de textura gruesa, es decir, a especializarse en alimento o en habitat. No obstante, Redfield et al. (1980) detectaron heterocigosis extremadamente baja (entre 0.8 y 6.0 %) en 9 especies de crustáceos del Golfo de Carpentaria, Australia. Los autores presentan sus resultados como contraargumento a la hipótesis de la estabilidad trófica y proponen que en el mosaico ambiental del trópico, el modelaje de patrones de variación genética solo puede ser logrado mediante el conocimiento de los parámetros ecológicos de cada habitat particular.

La expresión génica de la composición genética específica parece estar normada por la interrelación de los parámetros bióticos y abióticos que exigen de los organismos de una población dada el nivel más adecuado de homeostasia con respecto al ambiente que habitan.

Las hipótesis ecológicas para explicar la variabilidad genética han sido probadas más fácilmente en los ambientes marinos en virtud de que, como apunta Valentine (1980), estos no implican variaciones tan drásticas como los terrestres. Los ambientes estuarino lagunares presentan características intermedias; están sometidos a la acción de la marea

y del escurrimiento continental. En ellos se generan gradientes de salinidad, temperatura, nutrientes y contaminantes que dan lugar a zonas estuarinas fluctuantes en el espacio y el tiempo (Colombo, 1977; Barnes, 1980). En el trópico, la temporada de lluvias es extensa, pero impredecible; esto modifica las condiciones lagunares zonal y estacionalmente, provocando inseguridad ambiental, sobre todo en los organismos sésiles.

La productividad primaria alta de las lagunas costeras tropicales (Contreras, 1984) y la inseguridad ambiental en estos cuerpos de agua (Barnes, 1980) debe motivar una estrategia genética adaptativa en su biota (Al menos en los organismos sésiles, incapaces de desplazarse en el sentido de las fluctuaciones zonales estacionales) de naturaleza mixta, con morfos especializados en el aprovechamiento de los recursos tróficicos, pero con morfos flexibles que le permitan manejar los cambios imprevisibles del habitat.

La divergencia genética entre poblaciones de especies conespecíficas de ambientes estuarino-lagunares y marinas apoya la proposición anterior (Levinton, 1980).

Según Colombo (1977), no existen dos lagunas costeras que presenten características ambientales idénticas; los fenómenos locales, tanto naturales como los de origen antropogénico, afectan las estrategias adaptativas de su biota. La reducción del tamaño de población da lugar al efecto del fundador que da como resultado el empobrecimiento genético de la población (Mayr, 1979).

Dicha reducción se puede deber a causas naturales de tipo geológico, hidrológico o meteorológico, o artificiales, como el manejo del habitat o, en el caso de recursos pesqueros, presiones de captura excesivas.

En 1979, la laguna de Términos sufrió una reducción en su producción ostrícola de alrededor de 2000 ton: fue un año de intensa precipitación pluvial y en el que incidieron cuatro huracanes en la zona (Anónimo, 1980). La disminución de la salinidad de sus aguas por un período prolongado diezmo considerablemente los bancos de ostión. La reducción del tamaño de población en esta localidad hace apenas 7 años. puede tener relación con los niveles de variabilidad detectados en este estudio (cf. Tabla 5).

La apertura de la boca de Panteones en el sistema Carmen-Machona afectó severamente los bancos ostrícolas que se encontraban en el lecho del canal de Pajonal. El efecto erosivo de la corriente litoral y el transporte de sedimentos hacia esa zona provocó el enterramiento de los principales bancos. Además, la modificación de las condiciones hidrológicas alteró la estructura del habitat obligando a la fundación de nuevos bancos a partir de pocos organismos en donde las condiciones fueran apropiadas. A 10 años del suceso, la variabilidad genética relativa en esta población es baja (cf. Tabla 5).

Otras dos de las poblaciones analizadas han sufrido reducciones severas. En 1966, PEMEX instaló un pozo petrolero en la zona central de la laguna de Tamiahua. Aunque nunca llegó a ser explotado, la perturbación

causada por la obra ingenieril provocó la muerte masiva de las comunidades ostrícolas (Sevilla, 1981). En un intento de regeneración, se efectuó la resiembra de los bancos mediante semilla procedente de la laguna de Pueblo Viejo (García, 1972).

La laguna de Pueblo Viejo se comunica con el río Pánuco por un canal estrecho que hasta antes de que se efectuaran obras de control hidráulico (dragado) en 1964, se azolvaba frecuentemente impidiendo la circulación de las aguas. En 1956, el azolvamiento del canal provocado por el arrastre de sedimentos en una intensa temporada de lluvias, produjo la acumulación de agua continental en la laguna por tiempo prolongado. La salinidad se redujo por debajo de la tolerancia del ostión. La reducción del tamaño de los bancos fue considerable (García, 1972). Los bancos fueron regenerados mediante la implantación de semilla procedente de Tamiahua.

No obstante el flujo génico natural (mediante el transporte de larvas en dirección norte a expensas de la corriente predominante en esa región del Golfo de México) y artificial (por la manipulación en los procesos de ostricultura para la regeneración de los bancos) entre estas dos localidades, sus niveles de variabilidad son distintos (cf. Tablas 4 y 5). La mayor heterocigosis encontrada en Pueblo Viejo ($18.4\% \pm 5.6\%$), con respecto a la de la población muestreada en Tamiahua ($16.6\% \pm 5.2\%$), puede explicarse desde dos perspectivas: el tiempo transcurrido desde el último embotellamiento es menor en TAM que en PVI; el restablecimiento de las condiciones ambientales por las obras hidráulicas en PVI y la ausencia por un tiempo mayor de reducciones drásticas en el

tamaño de su población, le han permitido acumular más variantes genéticas, o bien, las diferencias ambientales entre las dos lagunas (cf. Tabla 1) pueden estar seleccionando alelos y genotipos en frecuencias distintas. A principios de la década de los 70, con la apertura de la boca de Tampachiche, las condiciones hidrológicas de la laguna de Tamiahua se hicieron más marinas; los bancos ostrícolas ubicados en el norte de la laguna, cercanos a la boca mencionada, se redujeron por razones de competencia por espacio y alimento con Ostrea equestris, un ostreido netamente marino que empezó a poblar la zona. Además, con la elevación de la salinidad, los bancos se infestaron con un hongo marino parásito (Deremocystidium marinum). Se intentó hacer una resiembra con semilla de ostiones de Pueblo Viejo, pero en esta ocasión la operación fracasó. Las implantaciones no se desarrollaron, muy probablemente a consecuencia de los niveles de salinidad (F.J. Gutierrez, UAMI, comunicación personal).

La población de laguna Madre presentó el valor más alto de variabilidad. Las características de hipersalinidad y alta temperatura de las aguas de esta laguna, en función del aporte limitado y localizado de escurrimiento continental y la poca profundidad, representan severas presiones selectivas del ambiente. La estrategia genética adaptativa a estas condiciones parece involucrar la aparición de nuevos alelos mantenidos en la población por selección equilibradora, que se refleja en los niveles superiores de variabilidad genética.

Deficiencia heterocigótica.

Se han reportado numerosos casos de deficiencia de heterocigotos en los moluscos bivalvos, principalmente en especies de los géneros Brachidontes, Crassostrea, Macoma, Modiolus y Mytilus (Zouros y Foltz, 1984). El término "deficiencia heterocigótica" se refiere a un locus polimórfico en el cual el número de individuos heterocigotos es significativamente menor que el esperado, según el equilibrio teórico de Hardy-Weinberg,

En este estudio, cinco (TER, MEC, LMA, TAM y PVI) de las ocho poblaciones analizadas presentaron deficiencias significativas en el número de individuos heterocigotos. Dos de las tres restantes (CMP y SON); según el criterio estadístico, pueden considerarse en equilibrio, y una (LAM), resultó con exceso significativo de heterocigotos (cf. Tabla 5).

Hasta ahora, se ha considerado que las causas de deficiencia heterocigótica caen en cuatro categorías biológicas y una más de orden técnico: la selección natural puede estar actuando en contra de ese genotipo (Kohn y Mitton, 1972); las poblaciones pueden estar experimentando endogamia (Ayala et al, 1973); se puede presentar el efecto de Wahlund, es decir, que los organismos estudiados en una población provengan de subpoblaciones con regímenes reproductores separados y que posean frecuencias alélicas diferentes por lo menos en algunos loci (Tracey et al, 1975 a); pueden estar segregando alelos nulos en la población, es decir, alelozimas carentes de la actividad enzimática específica (Milkman y Beaty, 1972); o, por último, que se estén designando erróneamente los

genotipos heterocigóticos en los zimogramas por falta de resolución de la técnica.

Se ha considerado como evidencia de la acción de la selección natural en las poblaciones naturales el hallazgo de clinas macrogeográficas, microgeográficas o generacionales (Burocker, 1979). El desarrollo de clinas, consideradas como gradientes de caracteres medibles, implica diferencias espaciales o temporales en los ambientes selectivos de poblaciones continuas (Endler, 1977). Una población es continua si existe flujo génico, es decir, el movimiento de genes y complejos génicos hacia los reservorios genéticos alóctonos, con su concomitante establecimiento. La migración o dispersión no implica necesariamente flujo génico (Endler, 1977).

El modelo de circulación oceánica del Golfo de México permite establecer un modelo probable de la migración de las larvas hacia el norte en las poblaciones con latitudes mayores a los 20° N, estableciendo probablemente flujo génico que dependerá de las condiciones ambientales y la capacidad de adaptación de las larvas. El hallazgo de una clina bien determinada de heterocigosis contra latitud en esas poblaciones sugiere la acción de la selección sobre las frecuencias genotípicas con respecto a la variación geográfica.

Al aplicar el análisis de regresión a las heterocigosis de las ocho poblaciones estudiadas contra la posición geográfica, la determinación de la clina disminuye. El mismo tipo de análisis aplicado a las pobla-

ciones ubicadas al sur de los 20° N, da como resultado un coeficiente de determinación no significativo. Estos resultados implican la reducción del flujo génico entre las poblaciones de las dos regiones. La contracorriente generada al sur de los 20° N, con aumento de intensidad en las temporadas de otoño e invierno (Anónimo, 1980 y Fig. 2), que coincide con la temporada de desove masivo en esas latitudes (Rogers y García Cubas, 1981), parece actuar como barrera natural a la migración de larvas de las poblaciones del sur al norte de los 20° N. Por otro lado, la falta de determinación en las poblaciones del sur indica la presencia de procesos distintos a los selectivos que están afectando la proporción de heterocigotos observada.

Los alelos Est-2⁹⁶ e Idh-1⁹⁵ forman clinas génicas con respecto a la posición geográfica (Figs. 7 y 8). Estos alelos están ausentes o a muy baja frecuencia en las poblaciones del sur y aumentan gradualmente su frecuencia hacia el norte. Los alelos comunes Est-2¹⁰⁰ e Idh-1¹⁰⁰, aunque presentes en todas las poblaciones, tienden a la fijación en las poblaciones del sur. Estos patrones apoyan la hipótesis de la escisión del flujo génico en dos regiones, por lo menos estacionalmente, modificando la estructura génica.

Evidencia adicional de la acción de la selección natural se presenta mediante el análisis de los mapas génicos. En las poblaciones de TAM y PVI, los alelos Aat-2¹⁰⁰, Aat-2⁹⁵, Est-1¹⁰⁰, Mdh-1¹⁰⁰ y Pt-1¹⁰⁵ segregan con frecuencias muy semejantes (Figs. 9, 11, 15 y 16), lo que indica que ha existido flujo génico entre ellas; sin embargo, la acción selectiva ha modificado las frecuencias de los alelos Idh-2¹⁰⁰ y Pt-2¹⁰⁰

entre las poblaciones de estas lagunas (Figs. 14 y 17).

En la población de la laguna Madre, que tolera condiciones ambientales muy particulares, el exceso significativo de heterocigotos puede relacionarse con la respuesta adaptativa a la acción selectiva del medio. La estrategia en este caso no sólo involucra el aumento de la variabilidad genética poblacional con la aparición de ciertos alelos en frecuencias considerables, sino en forma de heterocigotos, que deben conferir algún tipo de ventaja adaptativa para el manejo de ese ambiente.

La endogamia es un proceso que conlleva necesariamente a la deficiencia de heterocigotos (Mayr, 1979). Zouros et al (1980) han presentado evidencia de la imposibilidad de que por endogamia se explique la deficiencia heterocigótica en una población de C. virginica de la costa noratlántica occidental. Los autores suponen que debido a la gran capacidad dispersiva de las larvas de la especie y la homogeneidad de las corrientes del Atlántico en esa región es poco factible el encerramiento poblacional y el desarrollo de endogamia. En el caso de este estudio, las poblaciones al sur de los 20° N parecen sufrir un encerramiento en función de los fenómenos eólicos estacionales que generan corrientes superficiales en esa región del Golfo de México. Los vientos dominantes del noreste durante prácticamente todo el año (Cardoso, 1979), aunados a la temporada de vientos fuertes del norte entre noviembre y febrero (Yañez-Arancibia y Day, 1982), dirigen las corrientes superficiales hacia la costa. La temporada de nortes, además, coincide con la época de desove masivo (Ro-

gers y García-Cubas, 1981); el flujo de las larvas debe verse, sino impedido, fuertemente reducido.

Las poblaciones de la laguna de Términos representan el ejemplo más crítico, ya que el flujo neto de la laguna es en dirección suroeste y la dirección de la contracorriente estacional del Golfo de México en esa zona es sureste, lo que impide, por medio de una auténtica barrera de agua, que las larvas de estas poblaciones emigren o las procedentes de otras poblaciones inmigren.

El efecto de Wahlund puede descartarse como causa de las deficiencias heterocigóticas calculadas, en virtud de que los muestreos por población se efectuaron en un área restringida de bancos regularmente extensos.

La presencia de alelos nulos que desvíe la cuenta de heterocigotos a partir de los zimogramas es un hecho factible. Sin embargo, el patrón global de heterocigotos por locus (cf. Tabla 4) indica que en 13 de 14 loci variables se presenta deficiencia. Tal patrón no se puede atribuir a la segregación de alelos nulos, pues nunca se han encontrado con esa frecuencia (Tracey et al, 1975 a).

La posibilidad de desviación por efecto de la técnica tampoco se puede descartar. En ocasiones, cuando se analizan cantidades grandes de loci con el mínimo de condiciones electroforéticas, la resolución de las bandas de actividad no es perfecta en todos los casos.

En este estudio, el locus Cat contribuyó de manera importante a la deficiencia global de heterocigosis. La tinción utilizada para evidenciar la actividad de catalasa es una contratinción efímera que presentó a los heterocigotos como una banda gruesa que abarcaba la zona de actividad de los alelos que formaban el genotipo homocigótico. Es factible subestimar la proporción de heterocigotos al contar a éstos como homocigotos por equivocación, aunque, suponiendo que todas las electroforesis se llevaron a cabo en las mismas condiciones, en dos localidades (LMA y LAM) la proporción de heterocigotos fue considerable. Esto hace suponer que en las otras poblaciones pudiera existir realmente selección en contra de ese genotipo.

A diferencia del resultado encontrado aquí para el locus Cat, Fujio *et al.* (1979) encontraron ventaja selectiva de los heterocigotos en ese locus en el ostión C. gigas. Aunque la comparación de estrategias adaptativas entre especies no es concluyente, es interesante notar la asociación que hacen los autores entre la sobredominancia en el locus Cat y la mortalidad diferencial temprana durante el período de cultivo en esos ostiones.

Singh y Green (1984) encontraron que el exceso de homocigosis en Crasostrea, Macoma y Mytilus está correlacionado estrechamente con la edad y la etapa de desarrollo. Además, demostraron que la tasa de crecimiento es menor en los organismos de aquellas poblaciones con deficiencia de heterocigotos. La frecuencia de heterocigotos aumentaba con las

clases de peso y edad, lo que refleja una tasa de desarrollo dependiente del genotipo.

Esta observación implica que la presión de captura excesiva sobre organismos en sus primeras maduraciones gonádicas mantiene niveles bajos de heterocigosis en la población, provocando tasas de crecimiento inferiores y tallas cada vez más pequeñas. La deficiencia heterocigótica y las tallas promedio reducidas encontradas en las poblaciones muestreadas están en relación con la dependencia señalada y pueden ser el reflejo de la población sobreexplotada.

Sobredominancia en el locus Pt-1.

El locus Pt-1 es una excepción en el patrón de variabilidad genética obtenido en este estudio. Es un locus polimórfico que consta de dos alelos (Pt-1¹⁰⁰ y Pt-1¹⁰⁵) con exceso de heterocigotos, estadísticamente significativo, en 4 poblaciones (MEC, TAH, PVI y LAM; cf. Tabla 4).

Burocker (1979) reporta un comportamiento semejante en este locus en las poblaciones de C. gigas de las costas del Japón. Este autor encuentra que es el único caso de sobredominancia entre 11 loci polimórficos analizados por él. Además, reporta que parece ser un comportamiento exclusivo de esa especie. A este respecto, los resultados obtenidos en este estudio son la primera evidencia de sobredominancia en el locus Pt-1 en C. virginica.

El mantenimiento del polimorfismo por sobredominancia en ese locus en la especie C. gigas se atribuye a divergencias ambientales, particularmente de temperatura, entre las poblaciones del norte y el sur de Japón. En las poblaciones analizadas aquí, la gran homogeneidad entre las temperaturas de las localidades muestreadas permite descartar una explicación en el mismo sentido de la de Buroker. Sin embargo, no se puede eliminar totalmente la probabilidad de que algún otro parámetro ambiental afecte la expresión de este locus.

Hay por lo menos dos razones que confieren ventaja selectiva a la combinación heterocigótica de alelos bioquímicamente codominantes: el nuevo alelo en combinación con el antiguo pueden producir una proteína cuantitativamente más cercana al óptimo funcional en el ambiente reinante, que el homocigoto progenitor. La ventaja concierne exclusivamente a la acción aditiva de los dos alelos. La segunda razón es que la interacción entre los alelos antiguo y nuevo proporcione la proteína cualitativamente distinta con propiedades ventajosas excepcionales (Fincham, 1972).

La evolución, considerada como el cambio en la frecuencia y tipo de alelos en las poblaciones, es un proceso dinámico en el espacio y el tiempo. Lo que se observa en el electrograma para este locus puede ser el proceso de sustitución de un alelo por otro que confiere una mayor capacidad de adaptación o eficacia biológica a la especie en el ambiente que ocupa.

El locus Pt-1 se detecta por medio de una tinción general de protefnas, por lo tanto, muy poco se puede concluir respecto a la función o a las propiedades bioquímicas de la protefna detectada. Este locus tiene una migración anodal considerable, por lo que se puede suponer que su peso molecular es pequeño o su carga negativa es múltiple. Se considera que puede tratarse de alguna protefna estructural del músculo aductor.

La sobredominancia en ese locus puede conferir alguna ventaja funcional de respuesta muscular o una necesidad satisfecha para las condiciones ambientales del medio tropical que ocupan esas poblaciones. Se sabe que los ostiones cierran herméticamente sus valvas y resisten condiciones prolongadas de anoxia como respuesta a la adversidad del medio o como mecanismo de defensa contra sus depredadores. Como ya se mencionó, en las lagunas costeras tropicales se presentan variaciones de salinidad diurnas y estacionales con intervalos que exceden la tolerancia del organismo; además, como explica Vermeij (1978), la presión por depredadores es mayor en las poblaciones tropicales que en las de otras latitudes. La ventaja del heterocigoto puede estar relacionada con estas características del ambiente y la función que realiza la protefna de que se trata. Sin embargo, se deben llevar a cabo investigaciones al respecto para confirmar la hipótesis.

Similitud genética.

La tabla 6 presenta los valores de similitud genética (I) y de distancia genética ($D = - \ln I$) interpoblacionales.

La similitud genética (I) valora la proporción de genes que tienen una estructura en las poblaciones comparadas. La distancia genética (D) valora el número de sustituciones alélicas por locus que han ocurrido en la evolución independiente de las dos poblaciones comparadas (Ayala y Kiger, 1984). Las sustituciones alélicas pueden ser entre alelos o grupos de alelos debido al encadenamiento. El método considera el hecho de que no todas las sustituciones alélicas observadas son completas: un alelo pudo haber sido reemplazado parcialmente por otro diferente, pero existiendo aún el alelo original en mayor o menor frecuencia.

El hallazgo de diferencias en la respuesta fisiológica a intervalos de temperatura (Loosanoff y Nomejko, 1951; Menzel, 1955), de liberación de aminoácidos y péptidos (Hillman, 1964) y diferencias serológicas (Li et al., 1967) entre poblaciones de C. virginica de la costa Atlántica, llevó a los autores a la proposición de, por lo menos, tres subespecies de este ostión en esa extensión geográfica. La aplicación del método de la genética bioquímica no apoyó la proposición al no encontrar diferencias en la estructura genética de las poblaciones tratadas, lo suficientemente importantes para ubicarlas en el nivel taxonómico sugerido (Anderson, 1976; citado por Buroker et al., 1979 b). No obstante, ese no fue el caso al analizar poblaciones de esta especie procedentes del Golfo de México y la costa Atlántica de Canadá y compararlas locus por locus. Buroker et al. (1979 b) encontraron que la similitud genética entre ellas era sólo del 82 %. Este nivel bajo de similitud intraespecífica fue atribuido a la presencia de barreras de agua y climáticas entre las dos regiones: la circulación de las corrientes del océano Atlántico y el mar Caribe no favorecen el transporte de las larvas alrededor

de la península de Florida, minimizando el nivel del flujo génico entre las poblaciones del Golfo de México y el océano Atlántico. Por otro lado, la diferencia de temperatura anual promedio entre las dos regiones deben haber conducido por distintas rutas adaptativas a estas poblaciones, permitiéndoles responder favorablemente a las condiciones de su ambiente nativo y desfavorablemente al ambiente extraño. Los autores concluyen que la reducción en similitud genética entre las poblaciones de las dos regiones sugiere que los ostiones de estas áreas han divergido más allá de lo considerado normal entre poblaciones geográficas y proponen que se les ubique en un nivel mayor de divergencia evolutiva, como subespecies.

Dentro del Golfo de México, Buroker (1983) detectó una transición en la estructura genética en la población de Brownsville de la laguna Madre. Los valores de similitud genética entre esta población y las demás caen entre 0.907 y 0.936. El autor sugiere que las condiciones ambientales de la laguna no permiten la mezcla genética con las otras poblaciones del Golfo, reduciendo el flujo génico y obligando a la población de la laguna Madre a evolucionar independientemente.

El análisis global de los valores de similitud genética obtenidos en el presente estudio sugiere cuatro zonas que comparten la estructura genética con valores por encima de 0.980 y zonas de transición con diferentes niveles de flujo génico que presentan valores entre 0.934 y 0.978.

La primera zona comprende las poblaciones ubicadas más al sur de la dis-

tribución (TER, MEC y CMP). Los valores de similitud genética entre ellas caen entre 0.983 y 0.991. La contracorriente en dirección sur formada estacionalmente en el Golfo de México al sur de los 20° N puede establecer el flujo génico entre las poblaciones de estas lagunas. En una sección anterior (ver pag. 88), se había propuesto el encerramiento de la población de TER; los valores altos de similitud genética encontrados entre esta población y las de MEC y CMP (0.989 y 0.991, respectivamente) aporta evidencia en contra de esa hipótesis.

La segunda zona propuesta se compone de las poblaciones de SON y LMA. La similitud genética entre ellas es la más alta obtenida en este estudio (0.994). El flujo génico entre estas dos poblaciones parece establecerse mediante la coincidencia de dos sucesos físicos: la comunicación con el mar en la laguna de la Mancha se presenta exclusivamente en el verano, durante la temporada de lluvias, debido a la apertura de la boca a causa del aumento del volumen de agua en la laguna. En esta misma época, la circulación costera del Golfo desarrolla la contracorriente en dirección sur a partir de latitudes superiores a las de la ubicación de esta laguna (cf. Fig. 2). El desove primaveral (marzo-mayo) se traslapa con el inicio de la temporada de lluvias, permitiendo la migración de larvas y el flujo génico en esa dirección. Los niveles de similitud genética entre las dos primeras zonas propuestas son relativamente altos (0.969-0.978) lo que indica que existe un nivel mediano de flujo génico, que, sin embarco, se ve restringido probablemente por la selección diferencial de los ambientes en las lagunas que las forman. Este punto requiere de mayor investigación.

La tercera zona está constituida por TAM y PVI con un valor de similitud genética de 0.984 entre ellas. Estas poblaciones presentan flujo génico en función de la corriente predominante del Golfo de México en dirección norte. Además, como se ha mencionado, han sido manipuladas intercambiando semilla para la regeneración de sus bancos. La escisión propuesta (ver pag. 86) en función de la dinámica de las corrientes a partir de los 20° N, se refleja en los valores de similitud genética entre las poblaciones de las dos primeras zonas propuestas y ésta (0.934-0.969).

En la última zona se ubica la población de laguna Madre (LAM). Los niveles de similitud genética de la población de esta laguna comparada con las demás analizadas sufren una caída brusca (0.908-0.952). Este resultado es acorde con el encontrado por Buroker (1983) para una población ubicada más al norte de la misma laguna al compararla con las poblaciones de la región norte del Golfo de México. La migración de larvas hacia la laguna es factible, según el patrón de circulación de esa zona del Golfo, pero debido a las características ambientales particulares de esa localidad, el flujo génico no se establece. Los datos aquí obtenidos apoyan la proposición de Buroker (1983) acerca de la evolución independiente de las poblaciones de esta laguna.

Aplicabilidad de los estudios de la variabilidad genética a la pesquería del ostión.

La pérdida de variabilidad genética representa una desventaja en la eficacia de las poblaciones para la adaptación a las condiciones cambiantes del

medio . El tratamiento genético y la aplicación de los principios de conservación tradicionales pueden contrarrestar las alteraciones sufridas en ese sentido (Longwell y Stiles, 1970).

Entre las causas de la baja variabilidad genética relativa encontrada en las poblaciones aquí estudiadas se consideró la presión excesiva de captura. La disminución del tamaño efectivo de población puede conducir a la aparición de procesos genéticos dispersivos que propicien la deriva génica.

Una evidencia tangible de sobreexplotación de los bancos ostrícolas en las poblaciones estudiadas es la reducción de las tallas del recurso y el exceso de homocigotos que, como indican Singh y Green (1984), se correlacionan genotípicamente. La tendencia al equilibrio en la proporción de heterocigotos encontrada en la población de CMP, la cual está en veda permanente desde hace 6 años, demuestra la selección en contra del genotipo homocigoto con respecto a la edad del organismo y es un ejemplo de la regeneración de la variabilidad en bancos naturales. Sin embargo, las comunidades de pescadores que dependen económicamente de la explotación del recurso, no pueden soportar programas de regeneración que impliquen vedas tan prolongadas (cf. Ortiz, 1985).

La solución a los problemas de utilización óptima, mejoramiento del recurso y predictibilidad de la pesquería, se debe buscar en la implementación de programas de regeneración y cultivo con base en el conocimiento de la dinámica evolutiva del recurso, la cual está íntimamente ligada

a la estrategia genética adaptativa de la especie.

La mejora genética implica el aumento en frecuencia de algún carácter particular existente en las poblaciones, de interés para el acuicultor o, en ocasiones, la inducción de variantes específicas no presentes en la generación progenitora por medio de la acción de mutágenos o hibridación. Un programa completo de mejora genética involucra tres fases: detección, propagación y evaluación (Wilkins, 1981).

La detección de características significativas para la producción presentes en las poblaciones naturales ha sido posible, en parte, gracias al análisis de los polimorfismos enzimáticos genéticamente controlados.

Foltz et al. (1983) encontraron que la heterocigosis en 7 loci enzimáticos explica el 4 % de la varianza en peso corporal en el ostión C. virginica y que no existe dependencia interloci en ese efecto. Este resultado aporta evidencia de sobredominancia pero no de epistasis, lo que lleva a concluir que existe un componente de dominancia en la variación de las tasas de crecimiento en las poblaciones naturales.

La heredabilidad de los caracteres deseables es de gran importancia en los programas de crianza. Se define como la proporción de varianza entre la composición individual y la variación genética de los individuos de la población estudiada (Falconer, 1981). Este parámetro permite predecir la respuesta al mejoramiento de un carácter en el programa de crianza. En la actualidad, la metodología molecular de la genética de poblaciones permite evaluar esta propiedad en organismos no domesticados, co-

mo el ostión, donde no es posible hacer pruebas mendelianas de apareamiento.

La heredabilidad de la tasa de crecimiento larval en C. virginica fue evaluada por Newkirk et al. (1977). Un hallazgo importante fue que la varianza genética no es aditiva en respuesta a la selección. Esto es de particular importancia para el desarrollo de líneas endogámicas en la producción de híbridos.

Haley y Newkirk (1977) y Newkirk et al. (1977) encontraron que existe correlación entre la tasa de crecimiento de larvas y adultos. La selección de larvas con tasa de crecimiento alto dará lugar a ostiones de crecimiento rápido, aunque, según Foltz et al. (1983), esta característica puede variar entre reservas.

La importancia del mantenimiento de niveles altos de variabilidad genética, en términos de heterocigosis, en las reservas destinadas al cultivo, se manifiesta en función del hallazgo de que los organismos heterocigotos en una gran proporción de sus loci, mantienen tasas metabólicas reducidas, lo que sugiere que pueden orientar mayor energía al crecimiento (Koehn y Shumway, 1982).

La propagación de las características seleccionadas es el siguiente paso en el establecimiento de los cultivos. Esta etapa se refiere a la manipulación genética para la alteración de la frecuencia de los caracteres detectados, en las generaciones siguientes. Dicha manipulación im-

plica la selección positiva de individuos con los fenotipos deseados.

Los genotipos detectados bioquímicamente pueden servir como marcadores de individuos, poblaciones o especies (Hedgecock, 1977). El hallazgo de diferencias genéticas entre poblaciones naturales es estimulante para establecer programas de hibridación. No hay posibilidad de predicción teórica de la composición de híbridos; la hibridación puede transmitir tanto los caracteres genéticos deseables como los indeseables, pero éstos podrán ser eliminados mediante selección artificial (Longwell, 1976).

La adaptación ecológica es un hecho común entre las poblaciones geográficas silvestres de todas las especies: la hibridación entre estas poblaciones puede interferir en esas adaptaciones, pero si la hibridación se lleva a cabo entre poblaciones depauperadas genéticamente, existe al menos la probabilidad de obtener una composición genética más apta, en función del aumento de variabilidad.

El enriquecimiento genético mediante cruza inter e intraespecíficas ha sido demostrado en especies de langosta y, en algunos casos, hubo un aumento del potencial genético de domesticación (Hedgecock et al, 1976; Nelson, 1977).

Con base en los datos de similitud genética calculados para las poblaciones comparadas en este estudio, es factible la planeación de hibridaciones interzonales, según las transiciones encontradas. Mediante el análisis de los mapas génicos, se pueden escoger aquellas poblaciones que difieran en frecuencias alélicas para determinados loci, y efectuar cru-

zas experimentales para evaluar la adaptabilidad de los híbridos a las condiciones de cultivo.

El otro método artificial para aumentar la variabilidad genética de una población es el uso de mutágenos. La aplicación dirigida del método está en proceso de experimentación, pero es prometedora en varios aspectos. La radiación moderada parece atenuar las barreras de incompatibilidad entre especies (Longwell y Stiles, 1970); los tratamientos con altas presiones aplicados a huevos fecundados, producen triploidía que confiere neutralidad genética y por consiguiente aumenta la tasa de supervivencia y el valor comercial (Chaiton y Allen, 1985).

El último paso de un programa de cultivo es la evaluación del éxito en la manipulación de la población y se efectúa por la comparación entre la media parental y la media de la progenie, en relación a los caracteres seleccionados con respecto a las condiciones ambientales donde se está practicando el cultivo.

La metodología de la genética bioquímica tiene un último uso potencial que puede ser aprovechado en los programas de regeneración y cultivo de los bancos ostrícolas. Es de esperarse la reducción de variabilidad genética cuando una pequeña muestra de una población natural se lleva a cultivo, en virtud de un efecto del fundador artificial. La tasa de disminución depende exclusivamente del tamaño de la población de crianza cuando los factores ambientales están controlados. La verificación de la cantidad de endogamia se puede efectuar por medio de estudios de alo-

troforéticos de la heterocigosis promedio (Utter et al, 1974; Hedgecock et al, 1976; Nelson, 1977). Los efectos deletéreos de la endogamia se pueden eliminar por medio de la introducción de alelos nuevos efectuando cruza con organismos selectos de otras poblaciones en donde se han detectado diferencias genéticas.

En conclusión, la conservación y mejora de los recursos genéticos en las poblaciones existentes es función de la genética aplicada a la acuicultura y es de primordial importancia la evaluación previa del recurso genético para que, con esa base, se pueda programar el manejo racional de la pesquería.

CONCLUSIONES.

- Los niveles de variabilidad genética encontrados en las poblaciones del ostión Crassostrea virginica analizadas en este estudio son bajos si se comparan con las poblaciones de latitudes superiores, estudiadas por otros autores. La causa de tal empobrecimiento genético aparente parece estar relacionada con las condiciones ambientales propias de las latitudes tropicales donde se efectuaron las colectas y puede representar una estrategia adaptativa de tipo mixto que involucra morfos especializados en el aprovechamiento de los recursos tróficos y morfos flexibles para el manejo imprevisible de las condiciones ambientales. La reducción del tamaño de población como efecto de perturbaciones locales naturales drásticas puede invocarse como otra causa de reducción de la variabilidad genética en algunas de las poblaciones estudiadas.
- El hallazgo de clinas genotípicas a lo largo de la distribución de las poblaciones estudiadas es una evidencia de la acción selectiva del ambiente con respecto a la variación geográfica.
- El exceso de heterocigotos en la población de la laguna Madre puede ser el reflejo de la ventaja adaptativa que le confieren respecto a ese ambiente particular.
- El patrón global de deficiencia de heterocigotos en las poblaciones estudiadas que son explotadas con fines comerciales es indicativo de la presión de captura excesiva.

- Los resultados del análisis de variación genética en el locus Pt-1 son la primera evidencia de sobredominancia en ese locus en la especie C. virginica.

- El análisis de la similitud genética interpoblacional sugiere cuatro transiciones de la estructura genética en las poblaciones estudiadas determinadas por los patrones estacionales de circulación costera en el Golfo de México. La distancia genética de la población de la Laguna Madre con respecto a las demás indica que está evolucionando independientemente.

- La información genética acerca de las poblaciones de la especie C. virginica del Golfo de México puede ser el punto de partida para la planeación de programas de captura y cultivo con el fin de optimizar la utilización de la pesquería del ostión.

LITERATURA CITADA.

ABBOT, R.T. 1974. American Seashells. The Marine Mollusca of the Atlantic and Pacific Coast of North America. Segunda edición. Van Norstrand Reinhold Co. Nueva York. 666 pp.

ABREU-GROBOIS, A. 1983. Population genetics of Artemia. Tesis Doctoral. University College of Swansea, Wales. 438 pp.

AHMAD, M. y J.A. BEARDMORE. 1976. Genetic evidence that the "Padstow Mussell" is Mytilus galloprovincialis. Mar. Biol. 35:139-147.

AHMED, M. 1975. Speciation in living oysters. Adv. Mar. Biol. 13: 357-397.

ANONIMO. 1980. Informe de los trabajos realizados para el control del pozo Ixtoc I, el combate del derrame de petróleo y determinación de sus efectos sobre el ambiente marino. Programa coordinado de estudios ecológicos de la Sonda de Campeche. 242 pp.

ASPIHWALL, N. 1974. Genetic analysis of North American populations of the pink salmon Oncorhynchus gorbuscha, possible evidence for the neutral mutation-random drift hypothesis. Evolution. 28:295-305

AVISE, J.C. 1975. Systematic value of electrophoretic data. Syst. Zool. 23:465-481.

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

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

AYALA, F.J.; D. HEDGECOCK y R.C. RICHMOND. 1974. Genetic differentiation during speciation process in Drosophila. Evolution. 28:576-592.

AYALA, F.J.; D.HEDGECOCK; G.S. ZUMWALT y J.W. VALENTINE. 1973. Genetic variation in Tridacna maxima, an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages. Evolution. 27:177 191.

AYALA, F.J. y J.A. KIGER Jr. 1984. Genética Moderna. Fondo Educativo Interamericano. México. 863 pp.

AYALA, F.J.; J.B. POWELL; M.L. TRACEY; C.A. MOURAO y S. PEREZ-SALAS. 1972. Enzyme variability in the Drosophila willistoni group. IV. Genic variation in natural populations of Drosophila willistoni. Genetics. 70:113-139.

AYALA, F.J. y J.W. VALENTINE. 1974. Genetic variability in the cosmopolitan deep-water ophiuran Ophiomusium lymani. Mar. Biol. 27:51-57

AYALA, F.J.; J.W. VALENTINE; T.E. DELACA y G.S. ZUMWALT. 1975 a. Genetic variability of the Antarctic brachiopod Liothyrella notocardensis and its bearing on mass extinction hypothesis. J. Paleontol. 49:1-9.

AYALA, F.J.; J.W. VALENTINE; D. HEDGECOCK y L.G. BARR. 1875 b. Deep sea asteroids: high genetic variability in a stable enviroment. Evolution. 29:203-212.

BARNES, R.S.K. 1980. Coastal Lagoons. Cambridge University Press. Cambridge. 106 pp.

BROCK, V. 1978. Morphological and bichemical criteria for the separation of Cardium glaucum (Brugiere) from Cardium edule (L.). Ophelia. 17: 207-214.

BULMER, M.G. 1971. Protein polymorphism. Nature. 234:410-411.

BUTH, D.G. 1980. Evolutionary genetics and systematic relationships in the catostomid genus Hypentelium. Copeia. 1980. 280-290.

BUROCKER, N.E. 1979. Overdominance of a muscle protein (Mp-1) locus in the Japanese oyster Crassostrea gigas (Ostreidae). J. Fish. Res. Board Can. 36:1313-1318.

BUROCKER, N.E. 1982. Allozyme variation in three nonsibling Ostrea species. J. Shellf. 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.

- BUROCKER, N.E. 1985. Evolutionary patterns in the family Ostreidae: larviparity vs. oviparity. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 90:233-247.
- BUROCKER, N.E.; P. CHANLEY; H.J. CRANFIELD y P. DINAMANI. 1983. Systematic status of two oyster populations of the genus Tiostrea from the New Zealand and Chile. Mar. Biol. 77:191-200.
- BUROCKER, N.E.; W.K. HERSHBERG y K.K. CHEW. 1975. Genetic variation in the Pacific oyster Crassostrea gigas. J. Fish. Res. Board Can. 32:2471-2477.
- BUROCKER, N.E.; W.K. HERSHBERG y K.K. CHEW. 1979 a. Population genetics of the family Ostreidae. I. Intraspecific studies of Crassostrea gigas and Saccostrea comercialis. Mar. Biol. 54:157-169.
- BUROCKER, N.E.; W.K. HERSHBERG y K.K. CHEW. 1979 b. Population genetics of the family Ostreidae. II. Interspecific studies of the genera Crassostrea and Saccostrea. Mar. Biol. 54:171-184.
- CAPURRO, L.A. 1972. La circulación oceánica en el Golfo de México. Mem. IV Congr. Nac. Ocean. (México):3-12.
- CARDOSO, M.D. 1979. El Clima de Chiapas y Tabasco. Instituto de Geografía. U.N.A.M. 99 pp.
- CECODES, 1981. Las Lagunas Costeras de Tabasco. Un Ecosistema en Peligro. Centro de Ecodesarrollo. México. 109 pp.

- CHAITON, J.A. y S.K. ALLEN Jr. 1985. Early detection of triploidy in the larvae of Pacific oysters Crassostrea gigas, by flow cytometry. Aquaculture. 48:35-43.
- CHRISTIANSEN, F.B. y O. FRYDENBERG. 1974. Geographical patterns of four polymorphisms in Zoarces viviparus (L.) as evidence of selection. Genetics. 77:765-770.
- COLE, M.A. y R.P. MORGAN. 1978. Genetic variation in two populations of blue crab, Callinectes sapidus. Estuaries. 1:202-205.
- COLOMBO, G. 1977. Lagoons. En: The Coastline. (R.S.K. Barnes, ed.). Wiley. Londres. pp 63-81.
- CONTRERAS, F. 1984. Estudios hidrobiológicos en lagunas costeras. Ciencia. 35:13-18.
- CONTRERAS, F. 1985. Las Lagunas Costeras Mexicanas. Centro de Ecodesarrollo-Secretaría de Pesca. México. 253 pp.
- COSTA, R. y P.M. BISOL. 1978. Genetic variability in deep sea organisms. Biol. Bull. 155:125-133.
- CROW, J.F. y H. KIMURA. 1970. An Introduction to Population Genetics Theory. Harper and Row. Nueva York.

DANDO, P.R.; A.J. SOUTHWARD y D.J. CRISP. 1979. Enzyme variation in Chtamalus stellatus and Chtamalus montagu (Crustacea: Cirripedia): evidence for the presence of C. montagu in the Adriatic. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 59:307-320.

DE BUEN, F. 1957. Crisis Ostrícolas en México y su Recuperación. Sec. Marina Div. Gal. Pesca e Ind. Conexas. México. 46 pp.

DIRECCION GENERAL DE OCEANOGRAFIA Y SEÑALAMIENTO MARITIMO. 1974. Atlas Oceanográfico del Golfo de México y Mar Caribe. Sección I. Mareas y Corrientes. Secretaría de Marina. México. 39 pp.

DOBZHANSKY, T; F.J. AYALA; G.L. STEBBINS y J.W. VALENTINE. 1977. Evolution. W.H. Freeman and Co. San Francisco. 572 pp.

DULOUT, F.N. 1979. Diferenciación longitudinal de los cromosomas. Su empleo en citotaxonomía. Acta Zool. Lilloana. 34:27-37.

ENDLER, J.A. 1977. Geographic variation, Speciation and Clines. Princeton University Press. Princeton, Nueva Jersey. 246 pp.

FALCONER, D.S. 1981. Introduction to Quantitative Genetics. Segunda edición. Longman. Londres. 340 pp.

FINCHAM, J.R.S. 1972. Heterozygous advantage as a likely general basis for enzyme polymorphisms. Heredity. 28:387-391.

- FOLTZ, D.W.; G.F. NEWKIRK y E.ZOUROS. 1983. Genetics of growth rate in the American oyster: absence of interactions among enzyme loci. Aquaculture. **33**:157-165.
- FUJIO, Y; Y. NAKAMURA y M. SUGITA. 1979. Selective advantage of heterozygotes at catalase locus in the Pacific oyster Crassostrea gigas. Japan J. Genetics. **54**:359-363.
- GALTSOFF, P.S. 1964. The American Oyster Crassostrea virginica (Gmelin). Fish. Bull. Fish. Wildl. Ser. U.S. **64**:1-480.
- GARCIA, S. 1972. Dinámica de los bancos ostrícolas en relación con factores del ambiente y el control ejercido mediante obras hidráulicas en la laguna de Pueblo Viejo, Ver., México. Mem. IV Congr. Nac. Ocean. (México):429-442.
- GARTNER-KEPKAY, K.E.; L.M. DICKIE; K.R. FREEMAN y E.ZOUROS. 1980. Genetic differences and environments of mussel populations in the Maritime Provinces. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **37**:775-782.
- GRASSLE, J.E. 1972. Species diversity, genetic variability and environmental uncertainty. En: Proc. 5th Mar. Biol. Symp. (B. Battaglia, ed.). Piccin Editore. Padua. pp 19-26.
- GREEN, R.H.; S. SINGH; B. HICKS y J. McCUAIG. 1983. An Arctic intertidal population of Macoma balthica (Mollusca:Pelecypoda): genotypic and phenotypic components of populations structure. Can. J. Fish. Aquat. -

Sci. 40:1360-1371.

GUTIERREZ, M. F. y F. CONTRERAS. 1981. Comportamiento estacional de la hidrología y nutrientes en la laguna de Tamiahua, Ver., México. VII Simp. Latinoamer. Oceanogr. Biol. Acapulco, Gro. México.

HALEY, L.E. y G.F. NEWKIRK. 1977. Selecting oysters for faster growth. En: Proceedings of the Eight Annual Meeting, World Mariculture Society. (J.W. Avault, ed.). pp. 557-565.

HARRIS, H. 1966. Enzyme polymorphism in man. Proc. Roy. Soc. Ser. B. 164:--298-310.

HATFIELD, J.S.; T.E. WISSING y S.I. GUTTMAN. 1982. Electrophoretic analysis of Gizzard Shad from the lower Mississippi River and Ohio. Trans. Am. Fish. Soc. 111:742-748.

HEDGECOCK, D. 1977. Biochemical genetics markers for broodstock identification in aquaculture. Proceedings of the Eighth Annual Meeting, World Mariculture Society. (J.W. Avault, ed.). A 21:1-13.

HEDGECOCK, D. y N.B. OKAZAKI. 1984. Genetic diversity within and between populations of American oysters (Crassostrea). Malacologia. 25:539-549.

HEDGECOCK, D.; R.A. SHLESER y K. NELSON. 1976. Applications of biochemical genetics to aquaculture. J. Fish. Res. Board Can. 33:1108-1119

HILDEBRAND, H.H. 1969. Laguna Madre, Tamaulipas: observations on its hydrography and fisheries. En: Lagunas Costeras, un Simposio. (A. Ayala Castañares y F.B. Phleger, eds.). UNAM-UNESCO. México. pp 679-686.

HILLMAN, R.E. 1964. Chromatographic evidence of intraspecific genetic differences in the Eastern oyster Crassostrea virginica. Syst. Zool. 13: 12-18.

HOLDER, H. 1976. The Jurassic. En: Encyclopedia of Evolution. (Bernhard Grzimek, ed.). Van Nostrand Reinhold Co. Nueva York. pp. 292-340.

HOLDER, H. y R. SCHMIDT-EFFING. 1976. The Triassic, the beginning of the Mesozoic Era. En: Encyclopedia of Evolution. (B. Grzimek, ed.). Van Nostrand Reinhold Co. Nueva York. pp. 254-280.

HUBBY, J.L. y R.C. LEWONTIN. 1966. A molecular approach of the study of genetic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles in different loci in Drosophila pseudoobscura. Genetics. 54:595-609.

HUNTER, R.L. y C.L. MARKERT. 1957. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. Science. 125: 1294-1295.

JOHNSON, F.M.; C.G. CAHAPI; R.H. RICHARDSON; M.R. WHEELER y W.S. STONE. 1966. An analysis of polymorphism among isozyme loci in dark and light Drosophila ananasse strains from America and Western Samoa. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 56:119-125.

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

KING, J.L. y T.H. OTHA. 1975. Polyallelic mutational equilibria. Genetics. 79:681-691.

KOEHN, R.K.; R. MILKMAN y J.B. MITTON. 1976. Population genetics of marine pelecypods. IV. Selection, migration and genetic differentiation in the blue mussel Mytilus edulis. Evolution. 30:2-32.

KOEHN, R.K. y J.B. MITTON. 1972. Population genetics of marine pelecypods. I. Ecological heterogeneity and evolutionary strategy at an enzyme locus. Am. Natur. 106:47-56.

KOEHN, R.K. y S.E. SHUMWAY. 1982. A genetic/physiological explanation for differential growth rate among individual of the American oyster, Crassostrea virginica (Gmelin). Mar. Biol. Lett. 3:35-42.

LABORATORIO DE OCEANOGRAFIA. UAMI. 1986. Productividad primaria en sistemas estuarino-lagunares. Informe final. Convenio UAM-CONACYT: PCA FB-NA 021662.

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

- LESTER, L.J. 1979. Population genetics of penaeid shrimp from the Gulf of Mexico. J. Hered. 70:175-180.
- LEVINS, R. 1968. Evolution in changing environments. Princeton University Press. Princeton, Nueva Jersey. 120 pp.
- LEVINTON, J.S. 1980. Genetic divergence in estuaries. En: Estuarine perspectives. (V.S. Kennedy, ed.) Academic Press. Nueva York. pp. 509-520.
- LEWONTIN, R.C. 1974. The Genetic Basis of Evolutionary Change. Columbia University Press. Nueva York. 346 pp.
- LEWONTIN, R.C. y J.L. HUBBY. 1966. A molecular approach of the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation degree of heterozygosity in natural populations of Drosophila pseudoobscura. Genetics. 54:577-594.
- LI, M.F.; C. FLEMING y J.E. STEWART. 1967. Serological differences between two populations of oysters (Crassostrea virginica) from the Atlantic coast of Canada. J. Fish. Res. Board Can. 24:443-446.
- LONGWELL, A.C. 1976. Review of genetics and related studies on commercial oysters and other related pelecypod molluscs. J. Fish. Res. Board Can. 33:1100-1107.
- LONGWELL, A.C. y S.S. STILES. 1970. El sistema genético y el potencial reproductor de la ostra americana. Endeavour. 29:94-99.

LONGWELL, A.C. y S.S. STILES. 1973. Oyster genetics and the probable future role of genetics in aquaculture. Malac. Rev. 6:151-177.

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

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

LOOSANOFF, V.L. y C.A. HOMEJKO. 1951. Existence of physiologically different races of oysters, Crassostrea virginica. Biol. Bull. (Woods Hole, Mass.). 101:151-156.

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

MARKERT, C.L. y F. MOLLER. 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenic and species specific patterns. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 45: 753-763.

MAYR, E. 1979. Animal species and evolution. Quinta reimpression. The Belknap Press of Harvard University Press. Cambridge, Mass. 797. pp.

MEGLITCH, P.A. 1972. Zoología de Invertebrados. Blume. Madrid. 906 pp.

MENZEL, R.W. 1955. Some phases of the Biology of Ostrea equestris Say and a comparison with Crassostrea virginica (Gmelin). Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas. 4:69-153.

MILKMAN, R.D. y L.D. BEATY. 1970. Large scale electrophoretic studies of allelic variation in Mytilus edulis. Biol. Bull. (Woods Hole, Mass.). 139: 430.

MITTON, J.B. y R.K. KOEHN. 1975. Genetic organization and adaptive response of allozymes to ecological variables in Fundulus heteroclitus. Genetics. 79:97-111.

MOAV, R.; T. BRODY; G. WOHLFARTH y G. HULATA. 1976. Applications of electrophoretic genetic markers to fish breeding. I. Advantages and methods. Aquaculture. 9:217-228.

NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. Am. Natur. 106:283-292.

NELSON, K. 1977. Genetic considerations in selecting crustacean species for aquaculture. En: Proceedings of the Eight Annual Meeting, World Mariculture Society. (J.W. Avault, ed.) A-27:1-19.

NEWKIRK, G.F. 1980. Review of the genetics and the potential for selective breeding of commercially important bivalves. Aquaculture. 19:209-228.

NEWKIRK, G.F. 1983. Applied breeding of commercially important molluscs: a summary of discussion. Aquaculture. 33:415-422.

NEWKIRK, G.F.; L.E. HALEY; D.L. WANGH y R. DOYLE. 1977. Genetics of larvae and spat growth rate in the oyster Crassostrea virginica. Mar. Biol. 41:49-52.

Ortiz de Montellano, A. 1985. Tecnologías Pesqueras en el Trópico Húmedo. Centro de Ecodesarrollo. México. 146 pp.

PARKER, R.E. 1981. Estadística para Biólogos. Segunda edición. Omega. Barcelona. 136 pp.

POULIK, M.D. 1957. Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. Nature. 180:1477-1479.

RAFFUL, F. 1982. La investigación pesquera en México. Ciencia y Desarrollo. 8 (43):102-106.

RAMIREZ, G.R. y M.L. SEVILLA. 1965. Las ostras en México. Datos biológicos y planeación de su cultivo. INIBP. SIC. Direc. Gral. de Pesca e Industrias Conexas. 7:1-100.

REDFIELD, J.A.; D. HEDGECOCK; K. NELSON y J.P. SALINI. 1980. Low heterozygosity in tropical marine crustaceans of Australia and the trophic stability hypothesis. Mar. Biol. Lett. 1:303-313.

RESENDEZ, A. 1982. Hidrología e Ictiofauna de la laguna de Zontecomapan, Veracruz, México. An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México. Ser. Zool. (1):385-417.

RODRIGUEZ-ROMERO, F.; M. URIBE-ALCOCER y A. LAGUARDA FIGUERAS. 1978. Cytogenetic study of an oyster population of the species Crassostrea virginica Gmelin, from the coasts of Tabasco, México. Venus. 37:83-86.

ROGERS, P. y A. GARCIA-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. 8:21-42.

ROSE, R.L. 1984. Genetic variation in the oyster Crassostrea virginica (Gmelin), in relation to environment variation. Estuaries. 7:128-132.

SCHAAL, B.A. y W.W. ANDERSON. 1974. AN outline of technics for starch gel electrophoresis of enzymes from the American oyster Crassostrea virginica (Gmelin). Tech. Rep. Ser. Ga. Mar. Sci. Cent. Savannah, Ga. 74: 1-17.

SELANDER, R.K. 1980. Variación génica en las poblaciones naturales. En: Evolución Molecular. (F.J. Ayala, ed.). Omega. Barcelona. pp 21-46.

SELANDER, R.K. y D.W. KAUFMAN. 1973. Genic variability and strategies of adaptation in animals. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 70:1875-1877.

SEVILLA, M.L. 1981. Impacto humano en el ecosistema del manglar. En: Memorias del Simposio "La Pesca en México". Direc. de Graduados e Investigación. CICIMAR/IPN. pp. 39-53.

SHAW, C.R. y R.PRASAD. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes.-A compilation of recipies. Biochem. Genet. 4:297-320.

SIMPSON, G.G. 1967. The Meaning of Evolution. Edición revisada. Yale University Press. New Haven y Londres. 368 pp.

SINGH, S.M. y R.H. GREEN. 1984. Excess of allozyme homozygosity in marine molluscs and its possible biological significance. Malacologia. 25: 569-581.

SINGH, S.M. y R.H. GREEN. 1986. Naturally occurring activity variation of an alkaline phosphatase isozyme associated with physiological fitness in an intertidal population of Macoma balthica. Can. J. Genet. Cytol. 28:282-285.

SOKAL, R.R. y F.J. ROHLF. 1981. Biometry. Segunda edición. W.H. Freeman and Co. San Francisco. 859 pp.

SOMERO, G.N. y M.SOULE. 1974. Genetic variation in marine fishes as a test of the niche-variation hypothesis. Nature. 249:670-672.

SOULE, M. 1980. Variación aloenzimática: sus determinantes en el espacio

en el espacio y en el tiempo. En: Evolución Molecular. (F.J. Ayala, ed.). Omega. Barcelona. pp 61-79.

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

THEISEN, B.F. 1978. Allozyme clines and evidence of strong selection in three loci in Mytilus edulis (L.) (Bivalvia) from Danish waters. Ophelia. 17:135-142.

THORPE, J.P.; J.A. BEARDMORE y J.S. RYLAND. 1978. Genetic evidence for cryptic speciation in the marine bryozoan Alcyodinium gelatinosum. Mar. Biol. 49:27-32.

TORIGOE, K. 1978. Electrophoretic variants of adductor muscle in Crasostrea gigas. Venus. 37:241-244.

TORIGOE, K. y A. INABA. 1975. Electrophoretic studie on some oysters. Venus. 33:177-184.

TRACEY, M.L.; N.F. BELLET y C.D. GRAVEN. 1975 a. Excess allozyme homozygosity and breeding population structure in the mussel Mytilus californianus. Mar. Biol. 32:303-311.

TRACEY, M.L.; K. NELSON; D.HEDGECOCK; R.A. SCHLESER y M.L. PRESSICK. 1975 b. Biochemical genetics of lobsters: genetic variation and the structure of American lobster (Homarus americanus) populations. J. Fish.

Res. Board Can. 32:2091-2101.

UTTER, F.M.; H.O. HODGINS y F.W. ALLENDORF. 1974. Biochemical genetics studies of fishes: potentialities and limitations. En: Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology. (D.C. Malins y J.R. Sargent, eds.). Vol. 1. Academic Press. Nueva York. pp. 213-238.

VALENTINE, J.W. 1980. Estrategias genéticas de la adaptación. En: Evolución Molecular. (F.J. Ayala, ed.) Omega. Barcelona. pp. 80-97.

VALENTINE, J.W. y F.J. AYALA. 1974. Genetic variation in Frieleia halli, a deep sea brachiopod. Deep Sea Res. 22:37-44.

VAZQUEZ-BOTELLO, A. 1978. Variaciones de los parámetros hidrológicos en las épocas de sequía y lluvias (mayo y noviembre, 1974) en la laguna de Términos, Camp., México. An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México. 5:159-178.

VERMEIJ, G.J. 1978. Biogeography and Adaptation. Patterns of Marine Life. Harvard University Press. Cambridge, Mass. 332 pp.

VILLALOBOS, F.A.; M.E. ZAMORA; R. DE LA PARRA; O. CACHO; B. GALVAN y M.A. IZAGUIRRE. 1982. Estudios hidrobiológicos en la laguna de la Mancha, Mpio. de Actopan, Ver. Parte I (hidrografía y productividad). Biotica. (En prensa).

WALLISER, O.H. 1976. Invertebrate evolution in the Paleozoic Era. En: Encyclopedia of Evolution. (B. Grzimek, ed.). Van Nostrand Reinhold Co. Nueva York. pp. 162-216.

WILKINS, NP. 1981. The rationale and relevance of genetics in aquaculture: an overview. Aquaculture. 22:209-228.

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

YAREZ-ARANCIBIA, A y J.W. DAY Jr. 1982. Ecological characterization of Terminos Lagoon-estuarine system in the southern Gulf of Mexico. En: Coastal Lagoons. (P. Laserre y H. Postma, eds.) Oceanologica Acta. Vol. Spec. 5 (4):431-440.

ZOUROS, E. 1975. Electrophoretic variation in allelozymes related to function or structure. Nature. 254:446-448.

ZOUROS, E. y D.W. FOLTZ. 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. Malacologia. 25:583-591.

ZOUROS, E.; S.M. SINGH y H.E. MILES. 1980. Growth rate in oysters: an overdominant phenotype and its possible explanations. Evolution. 34: 856-857.