
PATRONES PROTEÍNICOS A EDADES CERCANAS A LA PRIMERA MADURACIÓN GONÁDICA DE LOS OSTIONES *Crassostrea virginica* Y *C. rhizophorae* DEL SURESTE DE MÉXICO

ROCÍO VARGAS
SANDERS* FAUSTINO
RODRÍGUEZ ROMERO**
*Instituto de Investigaciones
Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de
México
México 04510, D.F. México.
**Instituto de Ciencias del Mar y
Limnología
Universidad Nacional Autónoma de
México
Apartado Postal 70-305, México
04510, D.F. México.

RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados de los estudios electroforéticos comparativos de proteínas de tres fraccionamientos celulares en dos especies de ostiones *Crassostrea virginica* Gmelin y *Crassostrea rhizophorae* Hertlein en tres edades distintas. Los patrones proteínicos correspondientes a las fracciones celulares S15, S30 y S100, de organismos de cada tamaño analizado, son diferentes en cada especie. *C. virginica* está caracterizada por 14, 13 y 15 bandas respectivamente para las edades representadas por las longitudes de la concha de 4, 6 y 8 cm mientras que *C. rhizophorae* presenta 16 y 18 bandas para los tamaños de 4 y 6 cm. Los resultados muestran diferencias inter e intraespecíficas en las edades cercanas a la primera maduración gonádica.

ABSTRACT

The protein electrophoretic studies on *Crassostrea virginica* Gmelin and *C. rhizophorae* Hertlein at three ages are presented in this work. Protein patterns of the cell fraction S15, S30 and S100 of each one of the three size organisms analyzed, are different in the two species. *C. virginica* presented 14, 13 and 15 bands for 4, 6, and 8 cm. *C. rhizophorae* is characterized for 16 and 18 bands for 4 and 6 cm organisms. These results suggest interspecific and intraspecific differences at ages near of the first gonad maturation.

INTRODUCCIÓN

Hasta el momento se reconocen alrededor de 100 especies de ostiones de la familia Ostreidae de las cuales 21 han sido objeto de estudios cromosómicos (Wu, 1985), en particular las correspondientes a los géneros *Ostrea* y *Crassostrea*. En México, han sido reportadas entre 11 y 16 especies (Rodríguez-Romero *et al.*, 1987); la falta de precisión en su número se debe a la carencia de indicadores taxonómicos firmes que garanticen su correcta identificación. En años recientes, Rodríguez-Romero (1986) menciona que dentro de las especies autóctonas de las costas mexicanas que representan el mayor potencial pesquero y económico para el país, 3 pertenecen al género *Crassostrea*: *C. virginica*, *C. rhizophorae* y *C. corteziensis*; y solo una al género *Ostrea*: *Ostrea iridescens*. No obstante que se reconoce que la especie que aporta alrededor del 90% a esta pesquería en las costas mexicanas, es *C. virginica*, común desde Canadá hasta el estado de Campeche, México, es un hecho que la presencia de las especies *C. rhizophorae* y *C. corteziensis* pueden significar un valioso potencial aún no evaluado si se explotan con procedimientos basados en el conocimiento de su biología fundamental. En el caso de *C. rhizophorae* que se distribuye desde las costas de Campeche hacia el sur hasta las costas de Brasil, no es un recurso explotado comercialmente en México, no obstante que en otros países como en Cuba, Venezuela y Brasil es la especie de

Mayor importancia ostrícola.

En las costas mexicanas se tiene la ventaja de la confluencia biogeográfica de *C. virginica* y *C. rhizophorae* en la Laguna de Términos, Campeche, México, en donde se pueden localizar las poblaciones de *C. virginica* en regiones de influencia continental y menor salinidad, mientras que las poblaciones de *C. rhizophorae*, se ubican en cuerpos de agua de mayor salinidad con marcada influencia marina.

No obstante que los estudios taxonómicos basados en la morfología externa y algunos rasgos anatómicos de estas dos especies de ostiones han permitido su identificación como entidades distintas, los estudios citotaxonómicos han probado en forma fehaciente la similitud entre ellas, a nivel de sus cariotipos (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 19793. Por otra parte, el análisis de zimogramas para el establecimiento de la distancia genética y de la similitud genética de estas especies, como una medida de su relación de parentesco, ha sugerido que estas especies están estrechamente emparentadas (Burocker *et al.*, 1979; Burocker, 1983; Rosa y Rodríguez-Romero, 1988).

En cuanto a los estudios de biología molecular en estos moluscos bivalvos, se puede decir, que en el área de su distribución geográfica, apenas se han iniciado, y se espera que en un futuro cercano, contribuyan al conocimiento profundo de eventos claves en la vida de esos organismos, tales como la transformación larvaria, la fijación, la primera maduración sexual y el envejecimiento. En cuanto a la contribución de esta disciplina a la identificación de las dos especies de ostiones mencionadas, resulta interesante dilucidar si, a pesar de la divergencia existente en la morfología externa, el paralelismo de su expresión genética puede robustecer los criterios de identidad genética y, al mismo tiempo, aportar criterios relativos a su divergencia adaptativa como especies y como poblaciones.

OBJETIVO

En vista de que la información existente sobre estudios de biología molecular en ostiones es muy escasa (Rodríguez-Romero, 1987), y de que este tipo de investigaciones no ha sido abordado aún en las poblaciones de *C. virginica* y *C. rhizophorae* de las costas mexicanas, el objetivo central de este trabajo, es determinar las similitudes y diferencias al nivel de los patrones electroforéticos de proteínas, en fracciones celulares obtenidas por ultracentrifugación de tejidas de las dos especies de diferentes edades, pero cercanas a la primera maduración sexual.

MATERIAL Y MÉTODOS

OSTIONES

Ejemplares de *C. virginica* y *C. rhizophorae* entre 3 y 8 cm de tamaño, fueron recolectadas en la Laguna de Términos. *C. virginica* procede del banco ostrícola "El Palón", en el área de la Boca Atasta, *C. rhizophorae* fue obtenida en el Estero del Pargo, en donde las condiciones del medio son de marcada influencia marina (Fig. 1). Las muestras fueron congeladas a -20 °C y transportadas en hielo seco al laboratorio para su procesamiento.

HOMOGENADOS

Se utilizaron 15 organismos, de cada especie para cada uno de los tres tamaños utilizados, (4, 6 y 8 cm de longitud de las conchas), para la extracción de los homogenados. Cada organismo fue separado y colocado en una solución amortiguadora, constituida por: Tris HC1 50 mM (pH 7.6), KCl 35 mM, acetato de Magnesio 3 mM, sacarosa 20 mM y homogeneizado en un Potter-Enveljem hasta su completa maceración.

FRACCIONES

Se hicieron tres fraccionamientos celulares. El homogenado primero, se centrifugó a 15,000 x g/15 min. a 4 °C. Se eliminó el precipitado y el sobrenadante se centrifugó a 100,000 x g/15 min. a 4 °C. cada uno de los sobrenadantes resultantes se les denominó S15, S30 y S100, respectivamente. Se guardaron a -20 °C, por un lapso

de 24-48 hrs.

ELECTROFORESIS

La electroforesis se llevó a cabo en geles de poliacrilamida al 10%, en presencia de SDS (dodecil sulfato de sodio), siguiendo la técnica de Laemmli (1970).

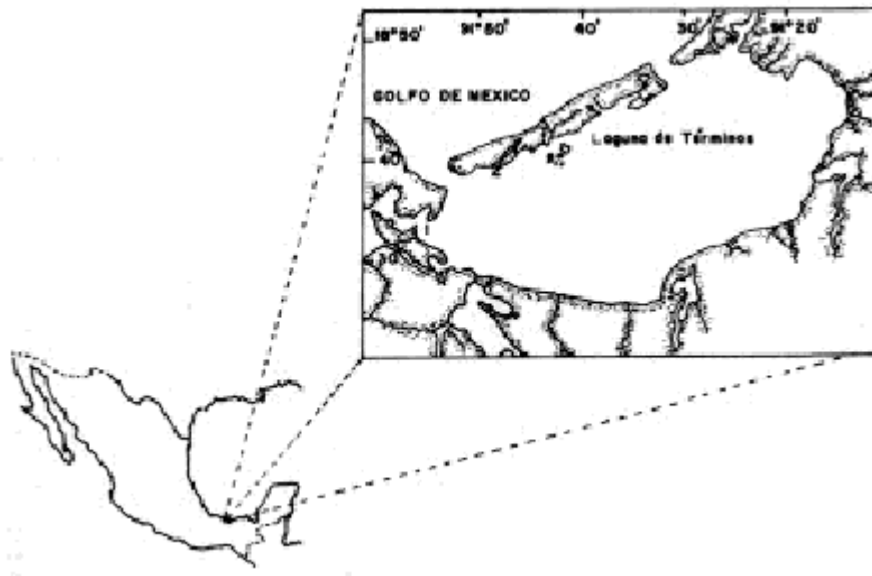


Figura 1. Área de colecta de *Crassostrea virginica* y *Crassostrea rhizophorae* en la Laguna de Términos, Campeche, México.

1= *C. virginica* (Boca de Atasta).

2= *C. rhizophorae* (Estero del Pargo).

CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS

La cuantificación de proteínas fue realizada mediante el método de Lowry *et al.* (1951), que es el adecuado para estos casos.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los electrogramas de las diferentes fracciones celulares, por edades y especies, fueron analizadas para determinar la similitud y diferencia existente en los patrones obtenidos, a los cuales se les determinó el peso molecular de cada una de las bandas existentes, con ayuda de marcadores específicos. Con estos resultados se elaboró la tabla 1.

RESULTADOS

Los patrones electroforéticos de *C. virginica* y *C. rhizophorae*, fueron comparados en función del fraccionamiento celular en organismos de diferentes tamaños, considerándolos para los fines de este estudio, como de diferentes edades. En la lámina 1, se puede observar que los patrones proteicos de las fracciones celulares S15, S30 y S100 son idénticos en cada especie, lo que indica que no hay variación por dicho fraccionamiento a nivel interespecífico. Sin embargo, los patrones varían en la misma especie a diferentes etapas de crecimiento, es decir,

a diferente tamaño de la concha. En *Crassostrea virginica* se observan, en ostiones de 4 cm de longitud, 14 bandas; en 6 cm, 13 bandas y en 8 cm, 15 bandas; mientras que en *C. rhizophorae* se encuentran 16 bandas para ejemplares de 4 cm de longitud y 18 bandas para los de 6 y 8 cm (Fig. 2).

Los pesos moleculares de las proteínas de ambas especies (Tabla 1), son variables y van de los 47,000 hasta los 300,000 daltons, notándose, sin embargo, que las proteínas de pesos moleculares de 47,000, 94,000 y 280,000 daltons permanecen constantes.

DISCUSIÓN

Cuando los patrones proteicos de *C. virginica* y *C. rhizophorae* fueron comparados en función del fraccionamiento celular, se encontraron resultados que sugieren que las proteínas solubles se mantienen distribuidas de manera uniforme (Lám. 1). Sin embargo, cuando son comparados los patrones obtenidos a diferentes etapas del crecimiento, se encuentran diferencias en algunos de ellos (Fig. 2), a nivel intra e interespecífico, que pueden estar relacionadas con fenómenos adaptativos en la fisiología de las dos especies en estudio, en virtud de que *C. virginica* es una especie característica del ambiente estuarino, de marcada influencia por las aguas continentales y sus bancos se encuentran prosperando a salinidades de entré 5 y 20‰, mientras que *C. rhizophorae* se encuentra preferentemente entre las salinidades de 25 a 35‰, en zonas donde predomina el ambiente marino. Al respecto, Rodríguez-Romero *et al.* (1987) han señalado diferencias en los patrones electroforéticos de proteínas totales en músculo abductor en dos poblaciones de *C. corteziensis*, de las costas de Nayarit, en el Pacífico Mexicano, una de ellas procedente de una zona estuarina de baja salinidad y la otra, de una región hipersalina, en donde los ostiones manifestaban maduraciones precoces, atribuibles a las condiciones del medio. Esta respuesta fisiológica peculiar, puede estar relacionada con la expresión génica involucrada en el evento de la primera maduración sexual de 106 organismos, en cuyo caso, las diferencias en los patrones a diferentes edades, pueden ser utilizadas como indicadores de la primera maduración gonádica y constituir el registro electroforético característico de la primera madurez sexual de estos organismos.

TABLA 1

VALORES DE LOS PESOS MOLECULARES OBTENIDOS PARA CADA UNA DE LAS BANDAS QUE CONSTITUYEN LOS PATRONES ELECTROFORÉTICOS DE *C. virginica* y *C. rhizophorae*

<i>Crassostrea virginica</i>				<i>Crassostrea rhizophorae</i>		
Banda	4 cm	6 cm	8 cm	Banda	4 cm	6 cm
1)	280,000	295,000	300,000	1)	295,000	295,000
2)	265,000	280,000	290,000	2)	285,000	280,000
3)	250,000	250,000	280,000	3)	270,000	265,000
4)	210,000	180,000	200,000	4)	245,000	255,000
5)	180,000	155,000	195,000	5)	228,000	238,000
6)	160,000	148,000	190,000	6)	205,000	200,000
7)	138,000	188,000	185,000	7)	185,000	180,000
8)	105,000	105,000	170,000	8)	170,000	168,000
9)	94,000	94,000	155,000	9)	162,000	162,000
10)	85,000	93,000	138,000	10)	145,000	155,000
11)	74,000	78,000	115,000	11)	130,000	145,000
12)	62,500	66,000	97,000	12)	109,000	138,000
13)	47,000	57,000	82,000	13)	94,000	102,000
14)		47,000	74,000	14)	80,000	94,000
15)			47,000	15)	58,000	76,000
				16)	48,000	62,500
				17)		55,000

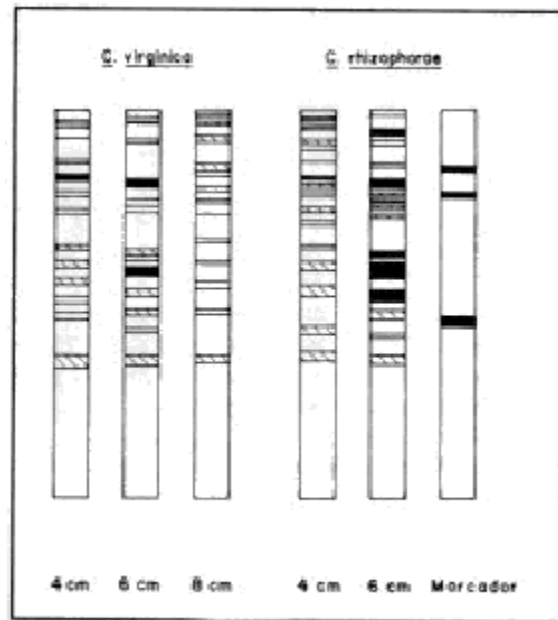


Figura 2. Interpretación de los patrones de bandas proteínicas de *C. virginica* y *C. rhizophorae*, comparados por edades. Se señalan similitudes y diferencias en cada banda.

<i>C. virginica</i>	<i>C. rhizophorae</i>
4 cm: S15= S30 = S100	4 cm: S15= S30 = S100
6 cm S15 = S30 = S100	6 cm S15 = S30 = S100
8 cm S15 = S30 = S100	8 cm S15 = S30 = S100
4 cm 6 cm 8 cm S15 ¹ S15 = S15 S30 ¹ S30 = S30 S100 ¹ S100 = S100	4 cm 6 cm S15 ¹ S15 S30 ¹ S30 S100 ¹ S100S

Por el momento, aún no se ha determinado que tipo de proteínas están involucradas en las diferencias encontradas durante etapas cercanas a la primera maduración gonádica de las especies aquí estudiadas; no obstante, los resultados obtenidos, permiten identificar patrones característicos de estas especies a las edades que fueron muestreadas.

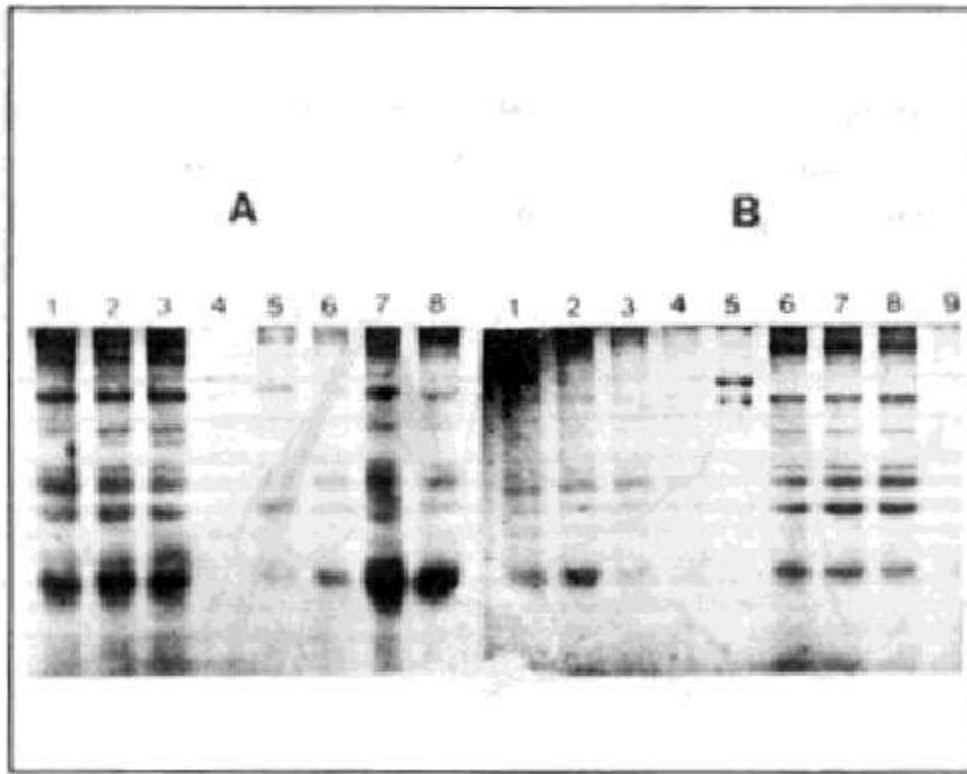


Lámina 1. Patrones electroforéticos en geles de acrilamida al 10% en SDS de *C. virginica* y *C. rhizophorae*. A. Tamaño de la concha, 4 cm. Carriles: 1, S15; 2, S30; 3, S100 de *C. rhizophorae*; 4, marcador de peso molecular; 5, S15; 6, S30; 7, S100 de *C. virginica*; 8, *C. virginica* de 8 cm. B. Tamaño de la concha 6 y 8 cm. Carriles: 1, S15; 2, S30; 4, S100 8 cm de *C. virginica*; 5, marcador de peso molecular; 6, S15; 7, S30; 8, S100 de *C. rhizophorae* de 6 cm; 9, 8 cm. Las concentraciones de proteína utilizadas fueron: 35-70 microgramos, cuantificadas por el método de Lowry *et al.* (1951).

LITERATURA CITADA

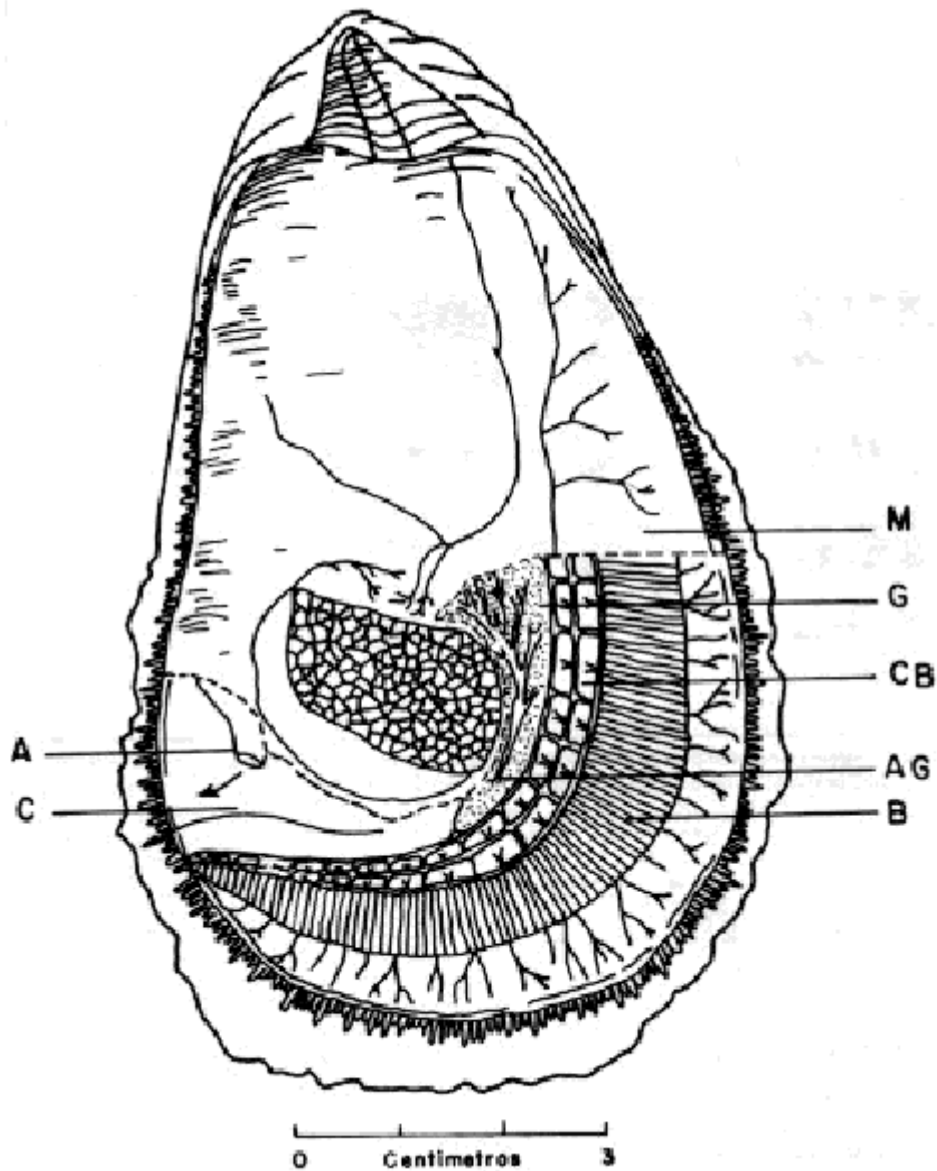
- BUROCKER, N. E., 1983. Population genetics of the american oyster *Crassostrea virginica* along the Atlantic coast and Gulf of Mexico. *Mar. Biol.*, 75: 99-112.
- BUROCKER, N.E., W.K HERSHBURG and K.K CHEW, 1979. Population genetics of the Family Ostreidae. II. Interspecific studies of the genera *Crassostrea* and *Saccostrea*. *Mar. Biol.*, 54: 171-184.
- LAEMMLI, U.K, 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- LOWRY, O. H., N.J. ROSENBROUGH, A.L. FARR and R.J. RANDALL, 1951. Proteins measurement with the Folin phenol reagent. *Jour. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., 1987. Genetics prospects for genetic improvement of the oyster resources on the mexican coasts. In: Tiews, K. (Ed.). Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture. Heenemann Verlagsgesellschaft mbH. Berlin, 1987: 437-446.
- RODRIGUEZ-ROMERO, F., M.U. ALCOGER and A.L. FIGUERAS, 1978. Cytogenetic study of an oyster population of the species *Crassostrea virginica* Gmelin, from coasts of Tabasco, Mexico. *Venus. Jpn. Jour. Malacol.*, 37(2): 83-86.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., M.U. ALCOCER, A.L. FIGUERAS and E.D. CHON, 1979. The Karyotype of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). *Venus. Jpn. Jour. Malacol.*, 38 (2): 135-140.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., C. GARCIA and A.L. FIGUERAS, 1987. Electrophoretic patterns variation in two oyster populations of *Crassostrea corteziensis* from the mexican coast *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nal. Autón. México*, 15 (1): 177-184.

ROSA, V.J. y F. RODRIGUEZ-ROMERO, 1988. Aplicabilidad de las mediciones de variabilidad genética a la pesquería del ostión americano *Crassostrea virginica* Gmelin, del Golfo de México. *Cienc. Mar.*, 14 (2): 43-56.

WU, RONG, 1985. The genetics and breeding of oysters. *Jour. Fish. China*, 9 (2): 207-216.



MORFOLOGIA DE *Crassostrea virginica*

A ANO
AG ABERTURA GENITAL
B BRANQUIAS
C CLOACA

CB CONDUCTOS BRANQUIALES
G GONADAS
M MANTO