

LOS CROMOSOMAS DEL HÍBRIDO EXPERIMENTAL DE *Crassostrea virginica* GMELIN 1791 Y *Crassostrea rhizophorae* GUILDING 1828 (PSEUDOLAMELLIBRANCHIATA: OSTREIDAE)

CHROMOSOMES OF THE EXPERIMENTAL HYBRID OF *Crassostrea virginica* GMELIN 1791 AND *Crassostrea rhizophorae* GUILDING 1828 (PSEUDOLAMELLIBRANCHIATA: OSTREIDAE)

Faustino Rodríguez-Romero
Margarita Gasca-Montes de Oca

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México
Apartado postal 70-305
México 04510, DF, México

Recibido en marzo de 1997; aceptado en noviembre de 1997

RESUMEN

Se realizó el estudio citogenético del híbrido experimental de *Crassostrea virginica* y *Crassostrea rhizophorae*. Los complementos cromosómicos en todos los tipos de híbridos ensayados se integraron de una manera normal para formar cigotos diploides. El número diploide encontrado fue de 20 y los cromosomas se presentaron como birrameados, en pares homomórficos isopignóticos. Los cromosomas del híbrido son similares a los de las especies progenitoras, en particular a los de *C. virginica*.

Palabras clave: *Crassostrea*, cromosomas, híbrido, cariotipo, ostiones.

ABSTRACT

The cytogenetic study of the interspecific larval hybrid of *Crassostrea virginica* and *Crassostrea rhizophorae* has been conducted. The chromosome complements in all the types of hybrids assayed were integrated in a normal way to form the zygote and the chromosome number was consistently 20. Only bimered, homomorphic isopignotic chromosomes were present. Chromosomes of the hybrid karyotype are similar to those of the progenitor species, especially to those of *C. virginica*.

Key words: *Crassostrea*, chromosomes, hybrid, karyotype, oysters.

INTRODUCCIÓN

De las especies de ostiones presentes en las costas mexicanas, únicamente se consideran tres con potencial para ser cultivadas en un futuro cercano: *Crassostrea virginica* y *Crassostrea rhizophorae*, en el Golfo de México, y *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951), en la costa del Pacífico oriental tropical. De ellas, *C. virginica* es la especie de mayor importancia comercial a lo largo de la costa Atlántica de

INTRODUCTION

Of the oyster species that occur along Mexican coasts, only three have the potential to be cultured in the near future: *Crassostrea virginica* and *Crassostrea rhizophorae*, in the Gulf of Mexico, and *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951), on the coast of the Eastern Tropical Pacific. Of these, *C. virginica* is of the greatest commercial importance along the Atlantic coast of North America; in Mexico,

América del Norte; en México, esta especie se encuentra formando bancos ostrícolas extensos en el interior de lagunas costeras y estuarios, cuyas aguas no superan salinidades mayores que 25‰. *Crassostrea rhizophorae* se localiza adherida a las raíces de manglares en donde el ambiente acuático está influenciado fuertemente por las aguas marinas. Esta especie supuestamente reemplaza a *C. virginica* hacia el sur a partir de la península de Yucatán y se extiende hasta América del Sur.

La investigación realizada sobre la citotaxonomía y citogenética de estas especies (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a, b) ha indicado que existen suficientes similitudes cariotípicas para considerarlas dentro de un mismo taxón a nivel de especie (Rodríguez-Romero *et al.*, 1979b). Con este criterio, es de esperarse una hibridación exitosa entre ellas. Esto ha sido demostrado en parte por Menzel (1968); sin embargo, hasta el momento no ha sido determinada la caracterización citogenética del híbrido.

En esta comunicación, se presentan los resultados del estudio cromosómico de las larvas del híbrido y se comparan sus parámetros con los de *C. virginica* y *C. rhizophorae* previamente publicados (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a), con el fin de aportar información que ayude a conocer mejor sus similitudes a nivel cromosómico y, con ello, al conocimiento de la especiación y la evolución cromosómica en estos ostiones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de ostras necesarias para este estudio fueron obtenidas de dos localidades de la costa de Campeche, México: *C. virginica* de la Boca de Atasta, en la porción oriental de la Laguna de Términos (18°34'N; 91°54'O), y *C. rhizophorae* de la Isla del Carmen (18°39'N; 91°45'O).

Las larvas híbridas fueron obtenidas por medio de la fertilización cruzada recíproca de óvulos de progenitores adultos de *C. virginica* y *C. rhizophorae*, según el procedimiento de Loosanoff y Davis (1963), utilizando agua de mar filtrada y esterilizada con luz ultravioleta a una salinidad de 20–25‰. Los gametos fueron

this species forms extensive oyster beds within coastal lagoons and estuaries, in waters with salinities that do not exceed 25‰. *Crassostrea rhizophorae* adheres to mangrove roots where the aquatic environment is strongly influenced by marine waters. This species seems to replace *C. virginica* to the south, from the Yucatan peninsula to South America.

Research carried out on the cytotaxonomy and cytogenetics of these species (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a, b) indicates that they present sufficient karyotypic similarities so as to be considered within the same taxon at species level (Rodríguez-Romero *et al.*, 1979b). Based on this criterion, a successful hybridization between them can therefore be expected. This has been demonstrated, in part, by Menzel (1968); however, the cytogenetic characterization of the hybrid has yet to be determined.

The results of the chromosomal analysis of the hybrid larvae are presented and their parameters are compared with those previously published for *C. virginica* and *C. rhizophorae* (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a), in order to provide information that will enhance the understanding of their chromosomal similarities and, in turn, the knowledge of the speciation and chromosomal evolution of these oysters.

MATERIALS AND METHODS

The oyster samples were obtained from two areas of the coast of Campeche, Mexico: *C. virginica* from Boca de Atasta, in the eastern portion of Términos Lagoon (18°34'N; 91°54'W), and *C. rhizophorae* from Carmen Island (18°39'N; 91°45'W).

The hybrid larvae were obtained by the reciprocal cross-fertilization of ovules from adult progenitors of *C. virginica* and *C. rhizophorae*, according to the procedure of Loosanoff and Davis (1963), using filtered and ultraviolet sterilized sea water with a salinity of 20–25‰. The gonads of the sexually mature organisms were dissected in order to obtain the gametes. The ovules were treated with a 3% solution of NH₄OH 1N for 5 min to eliminate undesirable tissue remains that might have adhered to the ovules. Fertilization was carried

obtenidos por disección de las gónadas de organismos sexualmente maduros. Los óvulos fueron tratados con una solución al 3% de NH_4OH 1N por 5 min para eliminar restos de tejido indeseable que pudieran estar adheridos a los óvulos. La fertilización se logró utilizando suspensiones de 350 a 400 óvulos por mililitro. Una vez iniciada la fertilización, se les dejó reposar en la obscuridad a una temperatura de 25°C por un periodo de 12 a 24 h, con el fin de obtener embriones y larvas con coeficientes mitóticos adecuados para el análisis cromosómico. Los embriones y larvas fueron procesados según lo indicado por Rodríguez-Romero *et al.* (1991) para la obtención de cromosomas para el análisis del cariotipo, mediante el análisis de 100 campos mitóticos pertenecientes a embriones diferentes. Para este análisis, se siguieron los mismos procedimientos utilizados por Rodríguez-Romero *et al.* (1978, 1979a) para la determinación de los parámetros que definen los cariotipos de las especies *C. virginica* y *C. rhizophorae*, con el fin de realizar una comparación adecuada. Las laminillas fueron teñidas con una solución de colorante Giemsa al 4% en amortiguador de fosfatos a pH 6.8 durante 25–30 min. Los campos cromosómicos seleccionados fueron fotografiados (100×) mediante el uso de un fotomicroscopio Olympus B202, equipado con objetivos planacromáticos. Se utilizó película fotográfica Kodak Technical Pan y las ampliaciones fueron realizadas en papel Kodak de alto contraste. Los cromosomas de 10 campos mitóticos provenientes de óvulos de *C. virginica* fertilizados con espermatozoides de *C. rhizophorae* y de 9 campos mitóticos de embriones desarrollados a partir de la fertilización de óvulos de *C. rhizophorae* con espermatozoides de *C. virginica*, fueron seleccionados para la caracterización del cariotipo del híbrido experimental. Los cromosomas revelados en las ampliaciones fotográficas fueron analizados estadísticamente utilizando la metodología propuesta por Al-Aish (1969), que es la misma aplicada en los estudios sobre el cariotipo normal de estas dos especies (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a). Se recortaron y ordenaron las fotografías de cada uno de los cromosomas en orden de tamaño decreciente y por pares homólogos. Se midieron los brazos largos y

out by suspending 350–400 ovules per milliliter. Once fertilization began, they were left alone in the dark at a temperature of 25°C for 12–24 h in order to obtain embryos and larvae with appropriate mitotic coefficients for the chromosomal analysis. The embryos and larvae were processed according to Rodríguez-Romero *et al.* (1991) to obtain the chromosomes for the analysis of the karyotype, by examining 100 mitotic fields from different embryos. The same procedures used by Rodríguez-Romero *et al.* (1978, 1979a) were followed for this analysis to determine the parameters that define the karyotypes of the species *C. virginica* and *C. rhizophorae*, so that an appropriate comparison could be made. The slides were stained with 4% Giemsa dye in a phosphate buffer with a pH of 6.8 for 25–30 min. The chromosome fields selected were photographed (100×) with an Olympus B202 photomicroscope, equipped with planachromatic objectives. Kodak Technical Pan film was used and the enlargements were made with high-contrast Kodak paper. The chromosomes from 10 mitotic fields of ovules of *C. virginica* fertilized with spermatozoids of *C. rhizophorae* and from 9 mitotic fields of embryos obtained from the fertilization of ovules of *C. rhizophorae* with spermatozoids of *C. virginica*, were selected for the characterization of the karyotype of the experimental hybrid. The chromosomes shown in the photographic enlargements were statistically analyzed using the method of Al-Aish (1969), which was also used in the studies on the normal karyotype of these two species (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a). The photographs of each of the chromosomes were cut and arranged in order of decreasing size and homologous pairs. The long and short arms of the chromosomes were measured and the average value of each was calculated. The total length of each chromosome was calculated, adding the value of the long arm to the value of the short arm. The parameters corresponding to the relative length, centromeric index and arm ratio were also determined. The classification of the chromosomes based on the relative length and centromeric index calculated for the karyotype of the hybrid was compared with

cortos de los cromosomas y se sacó el valor promedio de cada uno de ellos. Se calculó la longitud total de cada cromosoma sumando el valor del brazo largo al del brazo corto y se determinaron los parámetros correspondientes a la longitud relativa, índice centromérico y relación de brazos. La clasificación de los cromosomas, basada en la longitud relativa y el índice centromérico calculada en el cariotipo del híbrido, fue comparada con los valores de estos mismos parámetros de los cariotipos de *C. virginica* y *C. rhizophorae* publicados por Rodríguez-Romero *et al.* (1978, 1979a).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó que los complementos cromosómicos en los híbridos se integraron para formar cigotos diploides normales. Los valores relativos para la identificación de los cromosomas que constituyen el cariotipo mitótico del híbrido se presentan en la tabla 1. El número diploide presentó un valor consistente de 20. Sólo se presentaron cromosomas birrameados, isopignóticos en pares homomórficos (fig. 1). La clasificación de los cromosomas del cariotipo del híbrido es similar al cariotipo de *C. virginica*. Al comparar las relaciones de brazos (RB) y los índices centroméricos (IC) de los progenitores (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a) con los del híbrido, se observó que mientras el par 6 es originalmente metacéntrico en *C. virginica* (RB = 1.04; IC = 48.94) y submetacéntrico en *C. rhizophorae* (RB = 1.91; IC = 34.33), en el híbrido aparece como metacéntrico, parecido al de *C. virginica* (RB = 1.41; IC = 41.37) (tabla 2; figs. 2, 3).

A partir del interesante trabajo de Ahmed (1975) sobre la especiación en ostiones, en el cual se indica que poblaciones sureñas de *C. virginica* del Golfo de México presentan una transición gradual entre *C. virginica* y *C. rhizophorae* cuanto más se acercan al límite biogeográfico de *C. virginica* hacia el sur del continente americano, los expertos en malacología se interesaron por este fenómeno y se han publicado una diversidad de estudios que reiteran que *C. rhizophorae* es una especie que se encuentra muy estrechamente relacionada con *C. virginica*. Destacan los trabajos de Newball y

the values of these same parameters for the karyotypes of *C. virginica* and *C. rhizophorae* published by Rodríguez-Romero *et al.* (1978, 1979a).

RESULTS AND DISCUSSION

The chromosome complements of the hybrids joined to form normal diploid zygotes. The relative values for the identification of the chromosomes that make up the mitotic karyotype of the hybrid are shown in table 1. The diploid number was consistently 20. Only bimered, isopignotic chromosomes occurred in homomorphic pairs (fig. 1). The classification of the chromosomes of the hybrid karyotype is similar to the karyotype of *C. virginica*. The comparison of the arm ratios (RB) and centromeric indices (IC) of the progenitors (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a) with those of the hybrid indicated that while pair 6 is originally metacentric in *C. virginica* (RB = 1.04; IC = 48.94) and submetacentric in *C. rhizophorae* (RB = 1.91; IC = 34.33), it is metacentric in the hybrid, similar to that of *C. virginica* (RB = 1.41; IC = 41.37) (table 2; figs. 2, 3).

After Ahmed's (1975) work on the speciation of oysters, which indicates that southern populations of *C. virginica* of the Gulf of Mexico present a gradual transition between *C. virginica* and *C. rhizophorae* as they near the biogeographic limit of *C. virginica* to the south of the American Continent, malacologists became intrigued by this phenomenon and several studies have been published that reiterate the fact that *C. rhizophorae* is very closely related to *C. virginica*. Some of the more important works include those of Newball and Carriker (1983), who report on the systematics of these species after an ultrastructural study of their valves; Harry (1985), who conducted a taxonomic synopsis on living oyster species; and Littlewood and Donovan (1988), who reached the same conclusions with Plio-Pleistocene fossils of *Crassostrea*.

The chromosomal studies used in the cytotaxonomy of species common to Mexican coasts, such as *C. virginica* (Atlantic coast of North America), *C. rhizophorae* (Atlantic coast

Tabla 1. Valores relativos del cariotipo del híbrido de *Crassostrea virginica* y *C. rhizophorae*. PCr = par cromosómico, P = brazo corto, Q = brazo largo, LR = longitud relativa, LT = longitud total, IC = índice centromérico, RB = relación de brazos, CI = clasificación (ver tabla 2).

Table 1. Relative values of the karyotype of the hybrid of *Crassostrea virginica* and *C. rhizophorae*. PCr = chromosome pair, P = short arm, Q = long arm, LR = relative length, LT = total length, IC = centromeric index, RB = arm ratio, CI = classification (see table 2).

PCr	P	LR (P)	Q	LR (Q)	LT	LR	IC	RB	CI
1	5.77	61.58	7.35	78.45	13.12	140.03	43.97	1.27	m
2	3.91	41.73	7.25	77.38	11.16	119.11	35.03	1.85	sm
3	4.41	47.07	5.93	63.29	10.34	110.36	42.64	1.34	m
4	3.68	39.28	6.45	68.84	10.13	108.12	36.42	1.75	sm
5	4.12	43.97	5.37	57.31	9.49	101.39	43.12	1.30	m
6	3.79	40.45	5.37	57.31	9.16	97.76	41.37	1.41	m
7	2.91	31.06	5.83	62.22	8.74	93.28	32.29	2.00	sm
8	3.21	34.26	5.18	55.28	8.39	89.55	38.25	1.61	m
9	2.22	23.59	4.79	51.12	7.01	74.82	31.86	2.15	sm
10	2.58	27.54	3.56	37.99	6.14	65.53	42.01	1.37	m
					93.68	999.95			

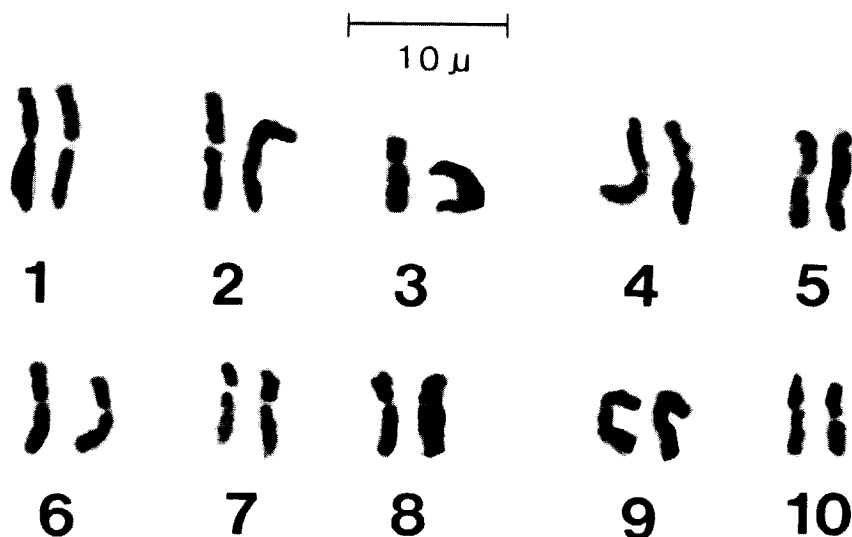


Figura 1. Cromosomas representativos del cariotipo del híbrido de *Crassostrea virginica* y *C. rhizophorae*.

Figure 1. Representative chromosomes of the hybrid karyotype of *Crassostrea virginica* and *C. rhizophorae*.

Tabla 2. Valores relativos de los parámetros de la relación de brazos (RB) y el índice centromérico (IC) que definen la clasificación de los cromosomas en los cariotipos de *Crassostrea virginica* (C.v.), *C. rhizophorae* (C.r.) (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978, 1979a) y el híbrido (este estudio).

Table 2. Relative values of the parameters of the arm ratio (RB) and centromeric index (IC) that define the classification of the chromosomes of the karyotypes of *Crassostrea virginica* (C.v.), *C. rhizophorae* (C.r.) (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978; 1979a) and the hybrid (this study).

Par cromosómico	RB			IC		
	C.v.	C.r.	Híbrido	C.v.	C.r.	Híbrido
1	1.11	1.17	1.27	47.24	45.96	43.97
2	1.84	1.86	1.85	35.14	34.91	35.03
3	1.14	1.10	1.34	46.66	45.60	42.64
4	1.82	1.86	1.75	35.38	34.87	36.42
5	1.13	1.21	1.30	46.77	45.05	43.12
6	1.04	1.91	1.41	48.94	34.33	41.37
7	1.83	2.10	2.00	35.16	32.17	32.29
8	1.19	1.31	1.61	45.58	43.10	38.25
9	1.93	2.10	2.15	34.03	32.17	31.86
10	1.08	1.23	1.37	47.84	44.78	42.01

Clasificación de los cromosomas por la posición del centrómero:

RB	IC	Posición del centrómero	Clasificación
1.0-1.7	47.5-37.5	Región media	m
1.7-3.0	37.5-25.0	Región submedia	sm

Carriker (1983), quienes hacen inferencias sobre la sistemática de estas especies a partir de estudios ultraestructurales de sus valvas; Harry (1985), quien realiza una sinopsis taxonómica sobre especies de ostiones vivientes; y Littlewood y Donovan (1988), quienes llegan a las mismas conclusiones a partir del estudio de fósiles recientes de *Crassostrea*.

La aplicación de los estudios cromosómicos en la citotaxonomía de especies comunes de las costas mexicanas, tales como *C. virginica* (costa Atlántica de Norte América), *C. rhizophorae* (costa Atlántica de Centro y Sud América) y *C. corteziensis* (costa del Pacífico oriental de México), ha indicado que, por sus cualidades cariotípicas más comunes, como son el número cromosómico o diploide, la presencia de cromosomas en pares homólogos, la morfología de los cromosomas basada únicamente en metacéntricos y submetacéntricos y la ausencia de cromosomas sexuales en sus respectivos cariotipos,

of Central and South America) and *C. corteziensis* (eastern Mexican Pacific), have indicated that, due to the karyotypic characteristics they have in common, e.g., the chromosome or diploid number, the occurrence of chromosomes in homologous pairs, the morphology of the chromosomes based only on the metacentric and submetacentric regions and the lack of sexual chromosomes in their respective karyotypes, these species are similar. However, there are subtle differences: *C. rhizophorae* presents chromosomes with the centromere in the submetacentric region at pair 6, whereas this pair is located in the metacentric region in *C. virginica*; *C. corteziensis* is different because in its karyotype, pair 9 is metacentric, which in *C. virginica* is submetacentric. On the other hand, both *C. virginica* and *C. rhizophorae* have a diploid number of 20, which is a principal characteristic of organisms of the family Ostreidae, in which the

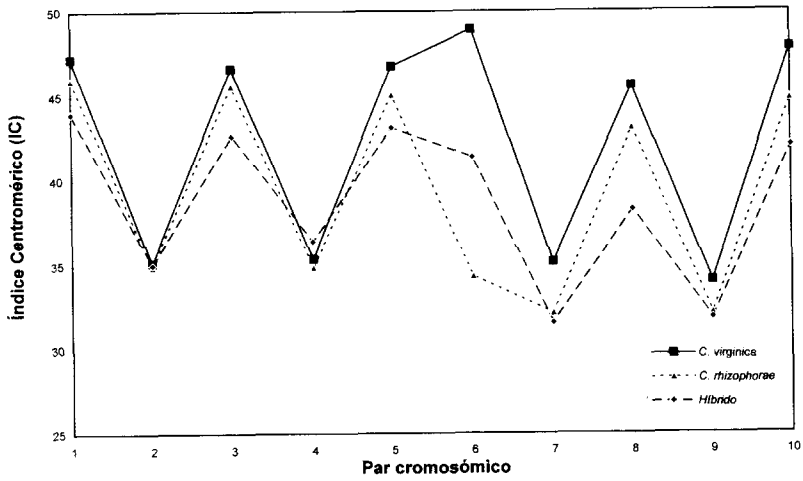


Figura 2. Gráfica comparativa de los valores del índice centromérico (IC) de *Crassostrea virginica*, *C. rhizophorae* y el híbrido.

Figure 2. Comparative graph of the centromeric index values (IC) of *Crassostrea virginica*, *C. rhizophorae* and the hybrid.

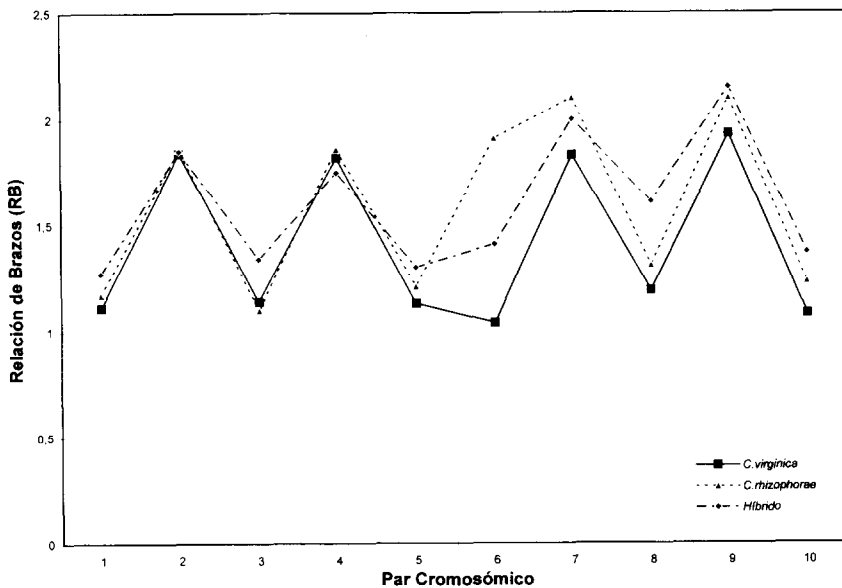


Figura 3. Gráfica comparativa de los valores de la relación de brazos (RB) de *Crassostrea virginica*, *C. rhizophorae* y el híbrido.

Figure 3. Comparative graph of the arm ratio values (RB) of *Crassostrea virginica*, *C. rhizophorae* and the hybrid.

estas especies son similares. Sin embargo, existen diferencias sutiles: *C. rhizophorae* presenta cromosomas con el centrómero en la región submetacéntrica en el par 6, mientras que este par está ubicado en la región metacéntrica en *C. virginica*; *C. corteziensis* se distingue porque en su cariotipo el par 9 es metacéntrico, el cual en *C. virginica* es submetacéntrico. Por otro lado, tanto *C. virginica* como *C. rhizophorae* presentan un número diploide de 20, que es una característica principal de los organismos de la familia Ostreidae, en la cual han sido estudiados los cromosomas de especies en los siguientes géneros: *Crassostrea* (20 especies), *Ostrea* (9), *Saccostrea* (4) y *Pygnodonta* (1) (Vitturi *et al.*, 1985; Wu, 1985). Sólo se tiene conocimiento de una publicación en la cual se encuentran números haploides de 12 para *Ostrea arakensis* y *O. laperousi* (Kobayashi, 1954).

Por la semejanza en la morfología cromosómica de estas tres especies y la ausencia de cromosomas sexuales, se confirma la gran afinidad parental entre ellas, a pesar de que la más alejada filogenéticamente, *C. corteziensis* de la costa del Pacífico que se separó del ancestro común desde el Mioceno, aún se encuentra tan estrechamente emparentada con las otras dos especies que todavía es posible el flujo genético entre ellas, al menos en forma experimental (Rodríguez-Romero y Gasca-Montes de Oca, en prensa).

Los resultados del análisis de los cromosomas del híbrido experimental entre *C. virginica* y *C. rhizophorae* y el desarrollo exitoso de los huevos fecundados *in vitro*, logrado hasta etapas larvarias, aportan una evidencia más en favor de la tendencia actual de considerarlas estrechamente emparentadas y corroboran las inferencias sobre sus posibles relaciones de parentesco, sugeridas a partir de la caracterización por separado de los cariotipos de estas especies.

Es de esperarse que los resultados de estudios sobre la caracterización de los patrones de bandas G, C y NOR en los cromosomas de las especies aquí estudiadas y del híbrido después de la primera generación, así como los relativos al comportamiento meiótico de los adultos, brinden información útil para la mejor

chromosomes of species of the following genera have been studied: *Crassostrea* (20 species), *Ostrea* (9), *Saccostrea* (4) and *Pygnodonta* (1) (Vitturi *et al.*, 1985; Wu, 1985). There is only one publication that reports haploid numbers of 12 for *Ostrea arakensis* and *O. laperousi* (Kobayashi, 1954).

Due to the similarity in the chromosomal morphology of the three species and the absence of sexual chromosomes, the great parental affinity between them is confirmed, even though the most phylogenetically distanced species, *C. corteziensis* of the Pacific coast that was separated from the common ancestor during the Miocene, is still closely related to the other two species and the genetic flow between them is still possible, at least experimentally (Rodríguez-Romero and Gasca-Montes de Oca, in press).

The results of the chromosomal analysis of the experimental hybrid between *C. virginica* and *C. rhizophorae* and the successful development of *in vitro* fertilized eggs, up to larval stages, provide evidence that supports the present-day trend of considering them closely related and corroborate the inferences on their possible ancestral relationships, obtained from the separate characterization of the karyotypes of these species.

The results of studies on the characterization of the G-, C- and NOR-banding patterns in the chromosomes of the species studied here and of the hybrid after the first generation, as well as those related to the meiotic behavior of the adults, should provide useful information that will improve the interpretation of the karyotypic evolution of *Crassostrea*, in particular with regard to the position of the centromere in pair 6 of the karyotypes of the species that were used in this study.

In summary, it can be stated that the karyotype of the interspecific hybrid larvae studied is very similar to that of the progenitors, especially to that of *C. virginica*. The diploid number of 20 is maintained, the chromosomes are bivalents, isopignotic meta- and submetacentric, with no alterations to the morphology and fundamental number.

interpretación de la evolución cariotípica en *Crassostrea*, en particular en lo relacionado con la posición del centrómero en el par 6 de los cariotipos de las especies que fueron utilizadas en esta investigación.

En suma, puede afirmarse que el cariotipo de las larvas híbridas interespecíficas aquí estudiadas es muy similar al de los progenitores, en particular al de *C. virginica*. Se conserva el número diploide igual a 20, los cromosomas son birrameados, meta y submetacéntricos isopnóuticos, sin alteraciones a la morfología y al número fundamental.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a Gonzalo García-González su ayuda en el trabajo de campo.

REFERENCIAS

- Ahmed, M. (1975). Speciation in living oysters. *Adv. Mar. Biol.*, 13: 375-397.
- Al-Aish, M. (1969). Human chromosome morphology. I. Studies on normal chromosome characterization, classification and karyotyping. *Can. J. Genet. Cytol.*, 11: 370-381.
- Harry, H. (1985). Synopsis of the supraspecific classification of living oysters (Bivalvia: Grypheididae and Ostreidae). *Veliger*, 28: 121-158.
- Kobayashi, H. (1954). Über die chromosomenzahl der zwei arten von Japanischen austern. *Cytologia*, 19: 371-376.
- Littlewood, D.T.J. and Donovan, S.K. (1988). Variation of recent and fossil *Crassostrea* in Jamaica. *Paleontology*, 31: 1013-1028.
- Loosanoff, F.L. and Davis, H.C. (1963). Rearing of bivalve mollusks. In: F.S. Russell (ed.), *Advances in Marine Biology*. Academic Press, 136 pp.
- Menzel, R.W. (1968). Hybridization in species of *Crassostrea*. *Proc. of the National Shellfisheries Assoc.*, 58 (abstract).

ACKNOWLEDGEMENTS

Our thanks to Gonzalo García-González for his help with the field work

English translation by Jennifer Davis.

- Newhall, S. and Carriker, M.R. (1983). Systematic relationship of the oysters *Crassostrea rhizophorae* and *C. virginica*: A comparative ultrastructural study of the valves. *Am. Malacol. Bull.*, 1: 35-42.
- Rodríguez-Romero, F. and Gasca-Montes de Oca, M. Chromosome complements of the experimental interspecific hybrid of the oysters *Crassostrea virginica* (Gmelin) vs *Crassostrea corteziensis* (Hertlein). *Mar. Res.*, in press.
- Rodríguez-Romero, F., Uribe, M. and Laguarda, A. (1978). Cytogenetic study of an oyster population of the species *Crassostrea virginica* Gmelin, from the coasts of Tabasco, Mexico. *Venus Jap. J. Malacol.*, 37: 83-86.
- Rodríguez-Romero, F., Uribe, M., Laguarda, A. and Diupotex, M. (1979a). The karyotype of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). *Venus Jap. J. Malacol.*, 38: 135-140.
- Rodríguez-Romero, F., Laguarda, A. and Uribe, M. (1979b). Comparative analysis of the karyotype of two oyster species of the genus *Crassostrea* from Mexico: *C. virginica* and *C. corteziensis*. *An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México*, 6: 19-24.
- Rodríguez-Romero, F., Gasca-Montes de Oca, M. y de la Rosa-Vélez, J. (1991). Un método citogenético para la obtención de cromosomas para estudios de bandeó y de morfología fina de los cariotipos de moluscos bivalvos de la familia Ostreidae. *Ciencias Marinas*, 17(4): 1-10.
- Vitturi, R., Carbone, P. and Catalano, E. (1985). The chromosomes of *Pygnodonta cochlear* (Poli) (Mollusca, Pelecypoda). *Biol. Zbl.*, 104: 177-182.
- Wu, R. (1985). The genetics and breeding of oysters. *J. Fish. China*, 9: 207-215.