

ileu
Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

89

“Patron de bandas “G” en el cariotipo del ostión
Crassostrea virginica (Gmelin, 1792) procedente del
sistema lagunar el Carmen y Machona, Tabasco,
México”.

T E S I S

Que para obtener el Título de

B I O L O G O

P r e s e n t a

MARIA LUISA ROJAS LARA

6422

México, D. F.

1979

54p.

106



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.

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION	
a) Función de los cromosomas en la evolución.....	3
b) Citotaxonomía.....	7
Organización molecular de los cromosomas.	
a) DNA.....	9
b) Proteínas cromosómicas.....	10
c) Estructura y función del centrómero.....	13
d) Algunas técnicas importantes en la investi- gación de la estructura cromosómica.....	15
CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS OSTRAS.....	22
TAXONOMIA Y SISTEMATICA.....	26
OBJETIVO.....	28
MATERIAL Y METODOS.....	29
RESULTADOS.....	31
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	40
LITERATURA CITADA.....	46

SUMMARY

G bands in the kariotype of Crassostrea virginica were studied; routine techniques were used to obtain giemsa banding pattern in mitotic chromosomes of gonadal tissue cells.

The results of this study can be useful in future researches related with the cytogenetics and cytotaxonomy of these oysters in consequence of the agreement with the diploid number and gross morphology in the cytogenetics of the Crassostrea genus.

RESUMEN

Se estudiaron los patrones de bandas "G", en el cariotipo de Crassostrea virginica. Fueron utilizadas técnicas de rutina, para obtener cromosomas mitóticos en células de tejido gonádico, los cuales se tificaron con colorante giemsa.

Se propone un patrón inicial de bandas "G" en esta especie.

Los resultados de este estudio pueden ser de utilidad en futuras investigaciones relacionadas con la citogenética y citotaxonomía de estos ostiones en vista de que los reportes de este tipo en el género Crassostrea concuerdan en cuanto al número diploide y a la morfo-

logía general de los cromosomas.

INTRODUCCION

a).- Función de los cromosomas en la evolución.

La evolución de las entidades biológicas tales como individuo, población y especie, es el resultado de la interacción entre los factores del medio y los sistemas genéticos.

En las células de cada organismo, se encuentra una dotación característica de cromosomas, cuyo número y formas son con algunas excepciones, semejantes en todos los tejidos de un individuo; sin considerar a los protocariontes cuyo genóforo no se ajusta a los conceptos de la morfología cromosómica clásica de los eucariontes.

Cada complejo cromosómico, propio de una especie particular, puede considerarse como un sistema genético con ciertas características fijas; tales como tasa de mutación, índice de recombinación y posibilidad de ruptura espontánea. Estas propiedades que dependen de la composición y organización molecular, determinan la dirección de los cambios adaptativos que a nivel del cariotipo se pueden reflejar mediante modificaciones cromosómicas estructurales, las cuales desempeñan un importante papel en la evolución de las especies, conjuntamente con la selección natural la cual favore-

ce a los sistemas genéticos para permitir la máxima supervivencia diferencial inmediata y la flexibilidad evolutiva.

La evidencia de los cambios experimentados por los cromosomas en la evolución de los organismos es fragmentaria e incompleta, pero es suficiente para mostrar que la evolución es el proceso dinámico que rige el progreso adaptativo de los seres vivos. Algunas alteraciones cromosómicas provocan la aparición de nuevos genotipos, los cuales tienden a conservarse, como en el caso de la mosca Drosophila en donde se ha demostrado que diversas especies derivan de un tipo ancestral mediante un cierto número de ordenaciones cromosómicas (Dobzhansky, 1930). En la mayor parte de estos grupos se puede demostrar que hay un paralelismo muy cercano entre los tipos de reajuste cromosómico encontrados como polimorfismos intrapoblacionales y como diferencias citotaxonómicas intraespecíficas.

En el caso de especies parecidas, puede observarse el apareamiento de fragmentos homólogos en las glándulas salivales de los híbridos y de esta forma poner de manifiesto los fragmentos homólogos de los genomas, para progresivamente establecer un cuadro de la evolución de la especie.

Por otra parte, muchas de las anomalías cromosómicas son responsables de modificaciones sistemáticas en la frecuencia de apareamientos y entrecruzamientos que afectan a los cromosomas en juego; esto puede tener importancia en el aislamiento de nuevas especies.

Lo anterior sugiere que el proceso de especiación generalmente incluye algunos cambios cromosómicos, aunque éste no sucede invariablemente.

Las diferencias citotaxonómicas representan los residuos de polimorfismos cromosómicos que existieron en el pasado, debidos a reajustes tales como inversiones, translocaciones, deleciones y duplicaciones ó combinaciones de éstos.

En el reino vegetal el poliploide ha jugado un papel importante en la evolución de muchos grupos. Los estudios citotaxonómicos permiten el entendimiento del origen de las especies que se han desarrollado por la halopoliploidía, es decir a través del aumento de juegos de cromosomas derivados de dos ó más especies originales.

En los animales, por otra parte, la poliploidía parece no haber intervenido de manera importante en la evolución de especies bisexuales, jugando un papel muy

pequeño en grupos inferiores en donde el hermafroditismo es la regla. Solamente se encuentran biotipos poliploides en especies que se reproducen por partenogénesis.

Evidencias directas de deleciones en la evolución son más difíciles de obtener, pero se entiende que debe de existir un equilibrio aproximado entre duplicaciones evolutivas y deleciones.

En la actualidad se sabe que los cromosomas tienen integridad durante toda la vida de la célula y que presentan la propiedad de duplicarse ellos mismos con exactitud extraordinaria independientemente de su número en una célula, pues los estudios realizados demuestran que los animales eucariontes pueden tener desde dos, hasta centenares de cromosomas. Aún cuando hay poca evidencia acerca de los cambios evolutivos en el número de cromosomas en animales a través de la duplicación ó deleción de cromosomas completos, se sabe que han ocurrido fusiones céntricas y disociaciones mediante varias clases de translocaciones que subsecuentemente se incluyen en casi todos los grupos taxonómicos. Las fusiones céntricas, por lo tanto involucran la pérdida de algún material cromosómico adyacente a los centrómeros mientras que la disociación conduce a la reduplicación de regiones cortas. Existen

fusiones céntricas y disociaciones en un estado polimórfico en poblaciones naturales, de manera que se tiene un polimorfismo en el número cromosómico como en el caso de el molusco Thais lapillus, el escarabajo Chilocorus stigma y la musarafia Sorex araneus, los dos últimos extendidos geográficamente.

La evolución de los cromosomas autosómicos debe estar acompañada por la evolución de los cromosomas sexuales, aún cuando la naturaleza esencial del mecanismo siga siendo la misma.

b).- Citotaxonomía.

Las especies que han permanecido constantes durante largos períodos de tiempos geológicos tienen proporciones de mutación de bajo valor y pocas rupturas cromosómicas; sin embargo es claro que la mutación genética da variación genética ó citológica, no toda la cual es eliminada por selección.

La utilización de las características morfológicas de los cromosomas en la resolución de problemas taxonómicos ha cobrado importancia en la actualidad, en virtud de que la base citogenética de estos estudios se encuentra en relación estrecha con la base hereditaria de los organismos.

Uno de los parámetros citotaxonómicos básicos, es el número cromosómico que es constante en cada especie. Este número es diploide cuando está integrado por cromosomas homólogos de origen paterno y materno; mientras que se dice que es haploide, cuando su número es igual a la mitad del diploide y se identifica en las células sexuales de la primera división meiótica.

Tanto el número diploide como el haploide, son importantes para la determinación del número cromosómico de una entidad taxonómica a nivel de especie, en virtud de que se correlacionan durante el análisis de células somáticas y sexuales, respectivamente.

Además del número cromosómico, en el cariotipo se distinguen otras características que progresivamente van aumentando en función del avance de las técnicas citogenéticas. Dentro de los más importantes se encuentran: la clase de actividad céntrica, la relación de brazos, el número, tamaño, posición de las constricciones secundarias y de los satélites cromosómicos; el tamaño absoluto de los cromosomas, diferencias de tamaño dentro del complemento; posición, número, tamaño y distribución de los segmentos heterocromáticos teñidos diferencialmente; secuencias del marcado radioactivo, número de bandas de DNA por cromosoma y cantidad total de DNA.

Organización molecular de los cromosomas.

a).- DNA.

Los cromosomas protocarióticos de virus, bacterias y algas azul-verde consisten en una molécula pura de DNA generalmente en forma circular, con una aparente ausencia de proteínas cromosómicas.

Aún cuando es indiscutible la participación del DNA en la organización de la cromatina, en la actualidad se sigue investigando cómo es que éste interviene en la estructura de los cromosomas según Bahr (1977).

Con los resultados obtenidos en estudios citogenéticos de Dípteros se creyó que cromosomas como los humanos estaban constituidos por numerosas fibras a este respecto, Taylor et al (1957), sugiere que cada cromátida eucariótica se compone de una molécula larga y doble de DNA, mientras que Latt (1974), considera que la cromátida se compone de una molécula doble, larga e ininterrumpida. El cálculo de la longitud de las moléculas de DNA en los cromosomas, realizado por Wray (1972), quien señala que el peso molecular del DNA aislado de los cromosomas es aproximadamente de 400-500 dalton $\times 10^6$, ha sido complementado por los estudios referentes a la determinación de la longitud mo-

lecular total para una cromátida igual a 4.7 cm realizado por Mendelsohn et al (1973), así como por el cálculo de la masa de una micra de la sal de sodio del DNA reportado por Langridge et al (1960).

Se ha calculado un valor de 2.2 mt (2,200, 000 um) para la pieza más larga de DNA observada en los núcleos diploides de los mamíferos.

En virtud de que las piezas del genoma transcrito están separadas por un número variable de bases de DNA no transcrito, se calcula que los genes estructurales ocupan 2-50% del DNA disponible quedando una gran porción del DNA nuclear con funciones de apoyo al genoma.

b).- Proteínas cromosómicas.

Las proteínas cromosómicas actúan en la estructura del material genético y en la regulación de la actividad genética.

El control de la actividad génica reside en la selectividad con que se realiza la transcripción en el tiempo y en el espacio; el desarrollo embrionario por ejemplo, un solo huevo fecundado que contiene todos los genes del organismo, prolifera hasta dar lugar a una gran variedad de células diferenciadas que se especia-

lizan en funciones características a lo largo del desarrollo, activándose e inactivándose cientos miles de genes; además, de cada tipo final de células se transcriben ó se expresan solo ciertas combinaciones de genes, de acuerdo con la función específica de la célula.

Los mecanismos reguladores específicos activan ó inactivan para la transcripción, ciertas regiones apropiadas del genoma, conforme van cambiando las necesidades de la célula.

Hasta ahora no han podido definirse proteínas reguladoras específicas en células eucarióticas, pero los experimentos indican que las proteínas cromosómicas constituyen los elementos de regulación. Tales proteínas se consideran en dos grupos las histonas y las proteínas no histónicas.

Las histonas se consideran proteínas con carga positiva, rica en aminoácidos básicos arginina y lisina, carentes del aminoácido triptofano; la mayoría presentes en células de eucariotes. La cantidad por célula permanece constante conforme varía el metabolismo celular ya que muestran uniformidad y falta de especificidad, lo que obstaculiza su capacidad para reconocer e influir sobre genes particulares.

Se encuentran también presentes cantidades similares de histona en las regiones activas e inactivas del genoma; es decir, en la cromatina extendida que está sintetizando RNA y la cromatina condensada que no lo está sintetizando.

Las histonas se hallan implicadas en la determinación de las propiedades estructurales de la cromatina, en particular la adición de histonas aumenta la estabilidad de la doble hélice del DNA; ya que un estrechamiento de la hélice podría afectar a la disponibilidad ó exposición de las secuencias de nucleótidos que se transcriben en el RNA.

Algunas proteínas no histónicas pasan a asociarse al DNA inmediatamente después de su síntesis, otras tardan en aparecer como componentes de la cromatina. Así es como las histonas y el DNA parecen ser componentes permanentes del genoma y se encuentran en estado de flujo dinámico.

Las proteínas no histónicas manifiestan gran heterogeneidad desde el punto de vista estructural y funcional. También desempeñan un papel importante en la regulación de la cromatina. La expresión génica varía a lo largo del ciclo celular. Las diferencias más acusadas en la transcripción se observan en la fase S y la mi-

tosis. Durante cada fase del ciclo celular, en lo que respecta a su composición y metabolismo, se han observado diferencias de similar magnitud a los ocurridos en la transcripción.

No hay duda que el componente más estable y generalmente el principal es el complejo ADN-histona, debido a que la proteína histona está generalmente en una razón aproximada de 1:1 con el DNA y debido a que los dos componentes presentan clara correspondencia con la replicación, parece probable que el complejo DNA-histona sea parte importante de una unidad estructural, que se ha conservado al través de la evolución y en una diversidad de especies, con una minoría de cambios en la secuencia de aminoácidos. Lo anterior es apoyado en la actualidad por los estudios de Hayashi, (1978) en nucleosomas de eucariontes.

En Bahr, (1977), se señala que los pequeños cambios en la secuencia de aminoácidos en cualquiera de las histonas se debe a la función estructural que desempeña; es decir a la uniformidad bioquímica de toda la cromatina eucariótica, al través de la evolución.

c).- Estructura y función del centrómero.

Cada cromosoma tiene un segmento especializado, el

centrómero, que llega a asociarse con las fibras del huso durante la división celular.

Se ha determinado por reacciones de tinción, que en algunos cromosomas aparecen estrechamientos semejantes a cinetócoros con rasgos característicos, que se denominan constricciones secundarias. No se sabe con seguridad si todas estas regiones tienen la misma función, pero muchas de ellas representan regiones donde se sintetiza ó acumula el material nucleolar, siendo conocidas como regiones organizadoras de los nucleolos.

En varias especies uno ó más cromosomas tienen un segmento terminal, el satélite, que está separado del resto del cromosoma por un tallo.

El patrón de regiones intensamente teñidas pequeños ó grandes cenómeros y protuberancias a lo largo de los cromosomas y la presencia de segmentos intensamente teñidos en sitios constantes de los cromosomas en paquiteno, son rasgos morfológicos útiles para caracterizar a cada brazo del cromosoma, así como a los diferentes cromosomas de una especie.

No se sabe con exactitud cuántas moléculas de DNA se encuentran en un solo cromosoma eucariótico, ni como,

a nivel molecular, se relacionan estos con los centrómeros, debido a la configuración irregular de los cromosomas, tal como se hallan en la mayoría de las células, pero comparten varias características comunes estructurales y funcionales.

d).- Algunas técnicas importantes en la investigación de la estructura cromosómica.

Durante muchos años se han logrado avances en el campo de cultivo de células. De estos métodos se derivan técnicas que permiten el análisis conveniente de los cariotipos.

Los métodos citogenéticos han llevado al uso del microscopio fluorescente, por medio del cual se demuestra que los cromosomas no son organelos homogéneos, sino que poseen cualidades de coloración muy precisas, lo cual permite la identificación de numerosas estructuras ó bandas que son características de cada par de cromosomas según Casperson (1968) y Balick y Pataki (1978).

Otras técnicas basadas en el tratamiento termal, y el colorante giemsa, utilizando simplemente el microscopio de luz han proporcionado evidencias sobre la relación entre la estructura heterocromática y DNA satélite

te de acuerdo a Yasmineh y Yunis, (1969), Arrighi et al (1970) y Yunis (1971).

El método de bandas-R de Dutrillaux y Lejeune (1971), fué rápidamente seguido por varias técnicas de bandas-G Summer et al (1971), Drets y Shaw (1971).

También en 1971 un segundo tipo de bandas-G fué reportado por Dutrillaux et al (1971), Seabright (1971), Pinas y de Grouchy (1971), utilizando una enzima.

La técnica del BUDR (5-bromodeoxyuridina), comparable a la técnica de timidina, fué reportada por Palmer (1970) y Zakharov et al (1971).

Las técnicas que fueron ensayadas, mediante el uso de sustancias fluorocromáticas, tales como naranja de acridina Dutrillaux (1973), Latt (1973), pasaron a ser más populares, dado que permitieron obtener una variedad considerable de bandas.

La mayoría de estos métodos consisten en el tratamiento ó tinción de cromosomas estacionarios.

Entre los métodos para cromosomas bandeados, se encuentran las tinciones con quinacrina, que identifica bandas-Q, estas tinciones han llevado a muchos avances en

citogenética, ya que cada par de cromosomas es claramente descrito con esta tinción. Esta técnica presenta inconvenientes pues requiere el uso de luz ultravioleta para observación microscópica; además, sus cualidades fluorescentes son muy bajas por lo que resulta difícil tomar fotografías; aun cuando la quinacrina es la única sustancia que posee alta especificidad para ciertos segmentos de cromosomas; por lo tanto este método ha sido reemplazado por los métodos de tinción giemsa para los estudios sistemáticos.

Diversas técnicas de tinción han sido reportadas por Arrighi y Hsu (1971), Yunis et al (1971), Dutrillaux y Couturier (1972) y Summer (1972) en donde las preparaciones pueden ser tratadas con solución salina, solución alcalina, hidróxido de bario, regularmente con calor.

Después de teñidos con giemsa, los cromosomas adquieren una coloración limitada; las cromátidas, que son en algunas ocasiones homogéneas, generalmente llevan indicios de bandas-G, por lo tanto esta técnica puede ser usada satisfactoriamente para análisis de ciertas alteraciones precisas de cromosomas.

Los métodos para observar las bandas-R y T son muy numerosos. Las bandas-R tienen características de teñi-

miento opuestas a las bandas-G y Q. Una de sus características es que son en la mayoría de los casos positivas en las terminales de las cromátidas. Esto permite análisis precisos de la morfología de los cromosomas, y la observación conveniente de alteraciones estructurales menores, las cuales afectan frecuentemente a los telómeros.

Las bandas-T representan una fracción de las bandas-R, la fracción que está precisamente colocada en la porción terminal de la cromátida.

Es posible por medios de tratamientos graduales, obtener diversas etapas entre bandas-R y bandas-T. Estos dos patrones pueden ser obtenidos, ya sea por la tinción de giemsa ó después de usar la naranja de acridina; por razones prácticas es preferible usar el método de tinción para bandas-R y para tener un mejor contraste usar el método para bandas-T. Las posibilidades para obtener bandas-G son numerosas ya que cualquier tefimiento del tipo giemsa las hace más visibles. Dos tipos de técnicas son adecuadas; uno consiste en el tratamiento termal de una solución salina concentrada y el otro consiste en la digestión por medio de enzimas proteolíticas, como sugiere Dutrillaux (1977).

En general, se puede afirmar que la presencia de bandas cromosómicas es una consecuencia de la condensación y distribución diferencial de la cromatina, causada por alteraciones en la relación DNA-proteínas cromosómicas.

El ostión americano Crassostrea virginica ha sido ampliamente estudiado en diversos aspectos de su biología tales como: anatomía, fisiología y ecología como se puede ver en Galtsoff (1964), Loosanoff y Davis (1963), con respecto a la posición taxonómica de estos ostiones Galtsoff (1964) y Menzel (1956) entre otros, han aportado valiosa información como resultado de estudios de la morfología de las conchas y algunos aspectos de la anatomía interna. No obstante algunas dudas acerca de la identificación de poblaciones en diferentes localidades han sido reportadas por Mattox (1949) y Stauber (1947).

A fin de precisar mejor la sistemática de C. virginica Longwell y Stiles (1967) y Menzel (1968), han realizado estudios con un enfoque citotaxonómico, que les ha permitido a nivel celular, contar con características de validez taxonómica en la identificación de especies del género Crassostrea.

Longwell y Stiles (1968) y Rodríguez-Romero et al (1978) han reportado el cariotipo de Crassostrea virginica en estudios llevados a cabo mediante técnicas citogenéticas diferentes, en poblaciones muy distantes de la costa del Atlántico.

De estos estudios se ha concluido que los caracteres

fundamentales del cariotipo normal son constantes en las poblaciones analizadas.

Los trabajos de Stauber (1947), sugieren la posibilidad de la existencia de razas fisiológicas dentro de la especie de Crassostrea virginica, como consecuencia de las necesidades adaptativas de las poblaciones que habitan en las diferentes localidades donde se encuentra esta especie.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS OSTRAS

Las ostras como Crassostrea virginica (fig.1) pertenecen a la clase pelecípoda del phylum Mollusca con las siguientes características: el cuerpo tiene simetría bilateral, por lo general comprimidos lateralmente, metidos en un manto con dos lóbulos iguales; cada lóbulo del manto secreta una valva, las dos están unidas por un ligamento. El alimento es colectado por los palpos labiales y las branquias.

La familia ostreidae tiene las características siguientes: valvas desiguales con débil charnela sin dientes la valva izquierda se encuentra adherida al sustrato; la derecha no tan cóncava, más aplanada, funciona como un opérculo. Tiene un solo músculo abductor. Carecen de pie ó este es rudimentario. Los filamentos branquiales externos están fusionados al manto y sus márgenes son orladas. Por lo general viven en colonias
Ramírez, 1965.

En Crassostrea virginica el hermafroditismo es raro y los sexos se encuentran separados, en las formas sexualmente maduras Galtsoff (1964), los sexos presentan algunas veces inestabilidad, ya que en unos años cierto porcentaje de ostras cambian sus sexos. El cambio se presenta después del desove, durante las fases del desarrollo de las gónadas. Así en la primera estación del desove, la ostra presenta un sexo y a la segunda

el otro, después siguen alternando los sexos; ésto es la inversión de sexos.

El potencial biótico es alto, se pudo calcular que se liberan entre 50 y 100 millones de óvulos en la reproducción. Son ostras ovíparas que sus gametos los liberan en el agua, es ahí donde se realiza la fecundación. Durante el desarrollo el huevo fertilizado se transforma en larva trocófora y después en larva veliger.

Las ostras por lo general y en especial Crassostrea virginica habitan en los esteros, lagunas costeras, desembocadura de ríos, etc., en general dentro de las latitudes 64°N y 45°S de diversas formaciones litorales someras en donde se mezclan las características de las aguas de los ríos con las oceánicas, que presentan las condiciones ambientales apropiadas y cuyos factores físicoquímicos, tales como alcalinidad, salinidad, temperatura, movimientos del agua, características del fondo y factores biológicos como densidad y competencia, depredación, alimento y enfermedades determinan la prosperidad y abundancia de los bancos ostrícolas.

Galtsoff (1964), dice que la temperatura controla el volumen de agua filtrado, alimentación, respiración, fase de maduración de gónadas, desove y factor limi-

tante del desarrollo de los huevos y del crecimiento de las larvas. Señala que cuando las ostras están en aguas de baja salinidad, presentan una contracción del músculo abductor y disminución de las corrientes de agua a través de las branquias, que puede llegar al cese de éstas corrientes. Butler (1954) (citado por Gutiérrez 1973), demostró que el aumento ó disminución de la salinidad inhibe la capacidad reproductora de ostriones, por la falta de crecimiento y maduración de las gónadas.

El oxígeno disuelto es importante en la ecología de las ostras, el pH tiene un efecto en el consumo de oxígeno y cierta influencia en el proceso alimenticio de las ostras.

Estudios histológicos referentes a la maduración gonádica, en poblaciones mexicanas de Crassostrea virginica Rogers y García-Cubas (1978) muestran que no existe un ciclo gonádico bien definido, pues en todo el año se observa maduración sexual en diferentes organismos de esta especie.

Estas condiciones del medio ecológico, han determinado la presencia de razas fisiológicas en diferentes medios geográficos para C. virginica (Loosanoff y Nemejko, 1956) que se han manifestado como diferencias

en la reacción de óvulación en relación con la temperatura.

TAXONOMIA Y SISTEMATICA

La familia ostreidae comprende tres géneros vivientes: Crassostrea, Ostrea y Pycnodonta. Su identificación a nivel específico es difícil de determinar mediante sus caracteres externos debido a que las especies muestran variaciones en la morfología de su concha originadas por el medio ambiente. Esto ha ocasionado confusión en su identificación en virtud de que han sido descritos organismos pertenecientes a una especie conocida, como nuevas entidades taxonómicas, haciendo cada vez más conflictiva la sistemática de los géneros Ostrea y Crassostrea principalmente.

De lo anterior, surge la necesidad de agruparlos mediante los sistemas taxonómicos actuales, para ubicarlos dentro de una clasificación natural, ya que en estos grupos no es suficiente, la sistemática que se limita a claves, material consultado y descripciones, sino que es necesario utilizar los beneficios del avance técnico y científico en otras disciplinas como la citogenética y la bioquímica, que hacen de la taxonomía una disciplina experimental.

Posición sistemática:

PHYLUM.....Mollusca.

CLASE.....Bivalvia o pelecípoda.

SUBCLASE.....Lamellibranchia.

ORDEN.....Anisomyaria.

FAMILIA.....Ostreidae.

GENERO.....Crassostrea.

ESPECIE.....virginica.

OBJETIVO

Estudios preliminares acerca de algunos caracteres citogenéticos en especies del género Crassostrea, han demostrado una gran estabilidad en el número diploide ($2n=20$).

En el caso de Crassostrea virginica, Longwell y Stiles (1967) han realizado un profundo análisis del cariotipo de esta especie, mediante la clasificación de cada uno de sus cromosomas que lo integran.

Estudios actuales de Rodríguez Romero (1978) demuestran que la semejanza cariotípica interespecífica en el género en cuestión, es muy grande y persiste más allá de la similitud de los números diploides.

Dado que en la actualidad se han desarrollado técnicas para el análisis cariotípico a nivel de segmentos intracromosómicos mediante técnicas de bandeo, es objeto de esta tesis el estudiar el patrón de bandas-G en esta especie, a fin de que pueda ser comparada con otros trabajos de este tipo para aclarar similitudes y diferencias cromosómicas en el género Crassostrea, lo anterior permitirá comprobar si estos cambios adaptativos se reflejan ó nó a nivel intracromosómico.

MATERIAL Y METODOS

El material biológico utilizado en el presente estudio fué colectado en la laguna Machona, Tabasco, México. Consiste en especímenes pertenecientes a Crassostrea virginica, (Gmelin, 1792) cuya identificación taxonómica fué realizada en el laboratorio de Malacología del Centro de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM. Se hizo el estudio anatómico de los organismos para identificar las estructuras internas y externas necesarias para la realización de este trabajo (fig.1).

Los ostiones fueron procesados para obtener campos cromosómicos, mediante la técnica de goteo y secado al aire. Los organismos fueron inyectados con una solución acuosa de colchicina a una concentración de 0.0% durante una hora. Posteriormente, se fragmentó el tejido gonadal y se maceró en una solución hipotónica de citrato de sodio al 2.2%; se procedió a centrifugar durante cinco minutos a 500 rpm, se decantó el sobrenadante, añadiendo una solución de citrato de sodio al 1% y se dejó reposar el material celular durante 10 minutos para centrifugar nuevamente durante cinco minutos a 800 rpm. Las células fueron fijadas con Carnoy (3-1 alcohol-acético) tres veces, centrifugando después de cada cambio a 500 rpm. Se dejaron reposar los botones en el refrigerador, durante doce horas.

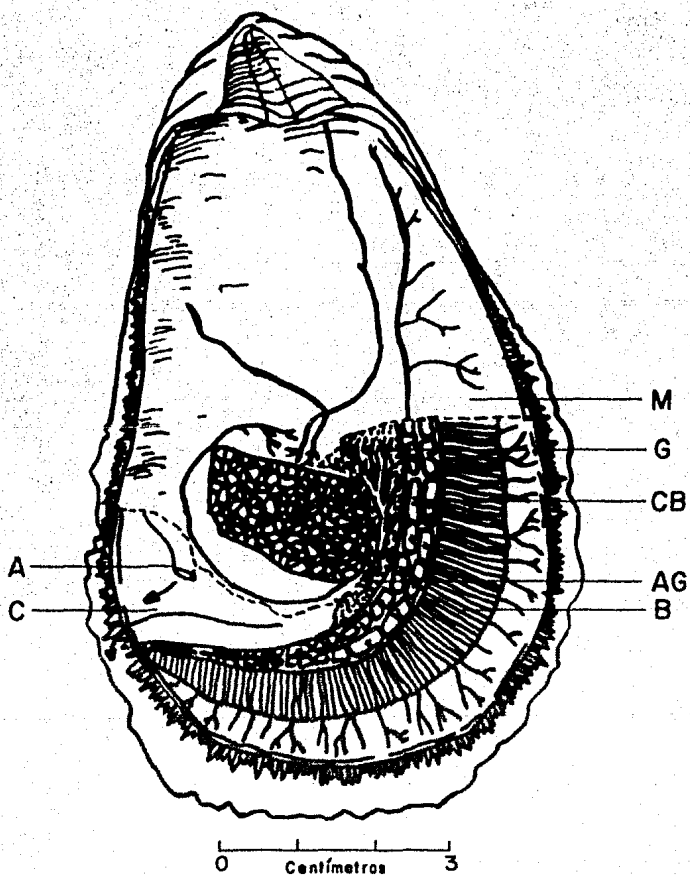


FIGURA N° 1 : MORFOLOGIA DE CRASSOSTREA VIRGINICA

- | | | | |
|----|------------------|----|-----------------------|
| A | ANO | CB | CONDUCTOS BRANQUIALES |
| AG | ABERTURA GENITAL | G | GONADAS |
| B | BRANQUIAS | M | MANTO |
| C | CLOACA | | |

Se elaboraron las preparaciones, dejando caer varias gotas de la suspensión de células desde una altura aproximada de un metro, sobre los porta-objetos que fueron flameados inmediatamente después. Posteriormente las preparaciones se dejaron secar al aire durante 24 horas.

Las bandas cromosómicas fueron obtenidas mediante el método recomendado por Baker et al (1975) (1 ml de gimsa + 4ml de hidróxido de amonio al 0.15 N, disueltos en 40 ml de agua destilada) y la descripción de las bandas-G en el ideograma según el método de Wurster (1972) (bandas oscuras, grises y claras), los campos mitóticos seleccionados fueron fotografiados con un fotomicroscopio Carl Zeiss, utilizando un ocular de 10X y un objetivo Neofluar 100/1.25. Se utilizó película Kodak High Contrast. Para procesar la película se utilizó revelador Kodak D11 y fijador Kodak fixer. Los positivos se imprimieron en papel kodabromide F3, F4 F5, revelador Dektol, Kodak, y fijador Kodak.

Se seleccionaron las trece mejores ampliaciones de campos cromosómicos, correspondientes a diferentes organismos, cuyas medidas cromosómicas fueron analizadas estadísticamente y clasificadas según lo propuesto por Levan et al (1964) y Al-aish (1969).

RESULTADOS

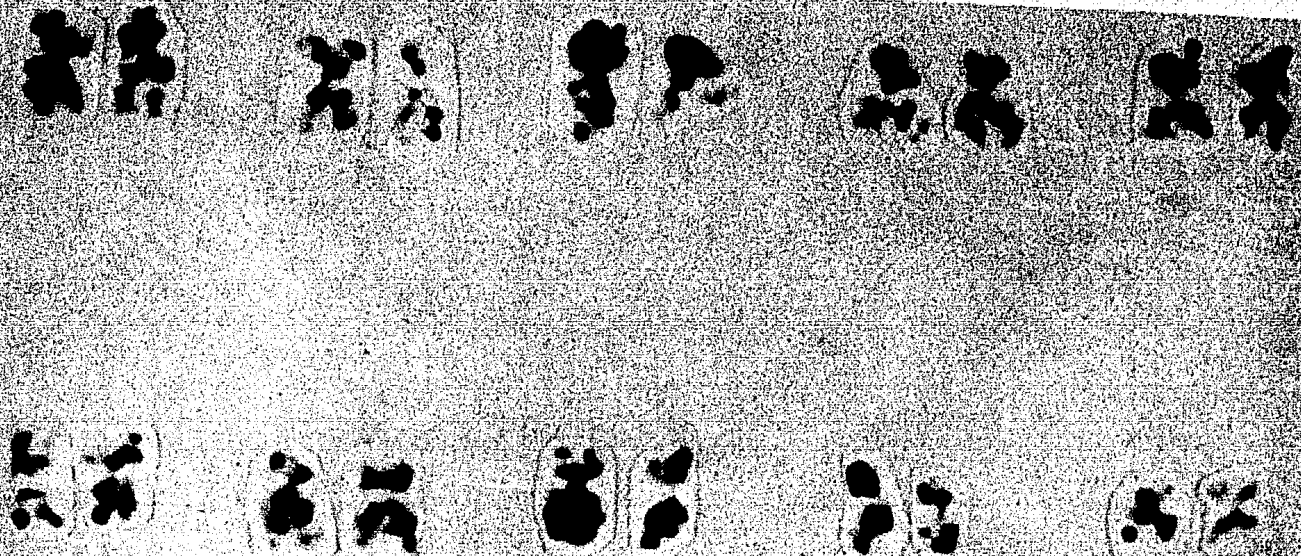
Del análisis de las bandas cromosómicas se pudo observar que existen patrones consistentes y similares en los dos cromosomas homólogos, esto facilita su identificación.

Los patrones de bandas representativos de cada par cromosómico en el cariotipo, son diferentes en cada caso y representan peculiaridades propias (fig.2).

La tabla número 1, resume el número de bandas encontradas en el cariotipo.

La figura 3, representa el ideograma así como los patrones de bandas cuya descripción se hace a continuación.

Par cromosómico 1: Está representado por el par de cromosomas de mayor tamaño en el cariotipo de C. virginica estos cromosomas son metacéntricos. Presentan 11 bandas; 4 oscuras, 2 grises y 5 espacios intracromosómicos, no teñidos, considerados como bandas claras. La primera banda es gris y se encuentra en la porción telomérica de los brazos superiores; ocupa aproximadamente el 9% de la longitud total del promedio del primer par; en seguida se encuentra una banda clara de un grosor aproximado al 4% de la longitud total; sigue una ban-



PATRON DE BANDAS G EN EL
CARIOTIPO DE Crassostrea virginica

FIGURA N° 2

BANDAS G EN CRASSOSTREA VIRGINICA

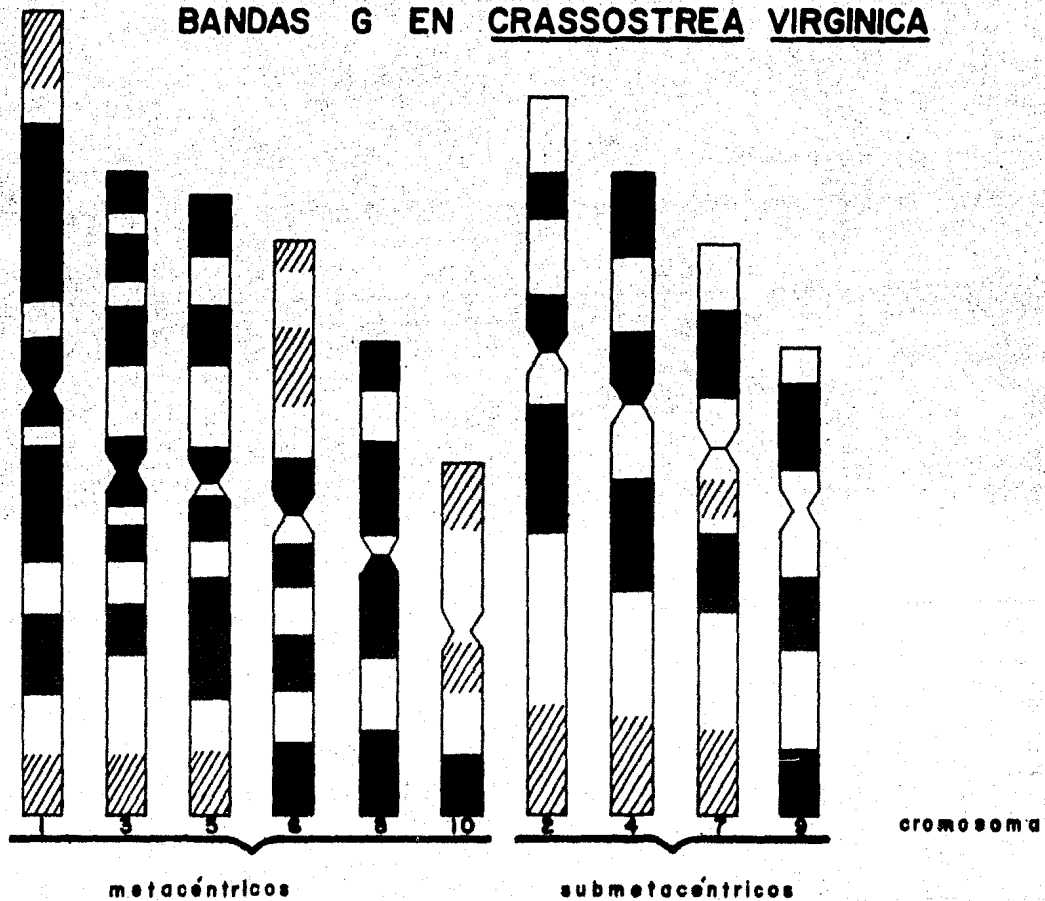


FIGURA N° 3

da oscura con un grosor aproximado del 20%; una banda clara de grosor similar a la segunda. La región centromérica se distingue con una banda oscura cercana al valor de 10%, junto a ella se localiza una banda clara similar a las anteriores; sigue otra banda oscura de más ó menos un 14% de la longitud; una banda clara gruesa de aproximadamente el 10%; una banda oscura con un valor de más ó menos 12%; una banda clara próxima al 10% y finalmente una banda gris de valor cercano al 8%; en el telómero opuesto.

Par cromosómico 2: Presenta 8 bandas; tres oscuras, una gris y cuatro claras. El brazo corto, presenta una banda clara distal que incluye la región del telómero (12% aproximado de la longitud total del cromosoma). En seguida, se localiza una banda oscura angosta (5%), y una banda clara de grosor intermedio (más ó menos 12%) una banda oscura se identifica a continuación hasta las proximidades del centrómero seguida por una clara que abarca las cercanías del centrómero en el brazo largo 10%, más abajo, se identifica una banda oscura gruesa (aprox. 20%) a la que le sigue una clara muy visible, ancha que ocupa aproximadamente la cuarta parte de la longitud total promedio de este par de cromosomas.

Finalmente, una banda gris, está localizada hasta la

porción distal del brazo largo de este cromosoma.

Par cromosómico 3: En este par se localizan 13 bandas: 6 oscuras una gris y 6 claras. En la parte superior se localiza una banda terminal oscura; le sigue una clara angosta, otra oscura de dimensiones similares a la primera y una clara similar a la segunda. Antes de la región centromérica, son visibles dos bandas de dimensiones intermedias una oscura y una clara (más ó menos el 10% de la longitud total del cromosoma para este último); dicha región centromérica se encuentra dentro de los límites de una banda oscura que se prolonga hasta el extremo proximal del otro brazo. Una banda clara angosta, una oscura y otra clara ocupan la primera mitad del brazo inferior. Finalmente, se observa una banda clara que ocupa aproximadamente el 15% de la longitud total del cromosoma seguida por una banda gris que llega hasta el telómero de este par de cromosomas.

Par cromosómico 4: Este par de cromosomas que son submetacéntricos presentan 7 bandas: 3 oscuras, una gris y 3 claras. El brazo corto presenta 3 bandas, de un tercio aproximadamente de su longitud cada una; 2 de los extremos oscuras y una clara central. En el brazo largo, se distinguen 4 bandas: una banda clara en las proximidades del centrómero de tamaño intermedio (aproximi-

mádamamente el 12% de la longitud total del cromosoma), seguida por una banda oscura ancha, que junto con la banda clara que le sigue ocupan la mayor parte de la longitud del brazo largo de este par de cromosomas. Finalmente, se encuentra una banda gris que llega hasta el telómero.

Par cromosómico 5: Es un par formado por elementos metacéntricos con 11 bandas: 5 oscuras, una gris y 5 claras. En el brazo superior, según el ideograma, se encuentra en el extremo una banda oscura, después una clara y una oscura. Estas 3 bandas de dimensiones parecidas abarcan la mitad de este brazo; le sigue una banda clara más ó menos ancha (15% aproximadamente de la longitud total del cromosoma) y una banda oscura angosta que llega hasta el centrómero. Al iniciarse el brazo inferior y unida al centrómero, se localiza una banda muy angosta clara que en algunos cariotipos no es visible con precisión; a esta banda le siguen una oscura y una clara de dimensiones parecidas que abarcan el primer tercio de la longitud de este brazo. Una banda oscura ocupa el tercio y le siguen 2 bandas. una clara y una gris, que ocupan el último tercio.

Par cromosómico 6: Integrado por cromosomas metacéntricos se distinguen en él 11 bandas: 4 oscuras, 2

grises y 5 claras. El brazo superior consta de una banda gris en el extremo, angosta, seguida por una clara y una gris una clara y una oscura; estas bandas no difieren mucho en dimensiones. En el brazo inferior del centrómero al extremo, se distinguen una banda clara angosta, una oscura, una clara, una oscura una clara y finalmente una oscura; todas ellas de dimensiones más ó menos parecidas.

Par cromosómico 7: Formado por cromosomas submetacéntricos, presenta 8 bandas: 2 oscuras, 2 grises y 4 claras. En el brazo corto, se localiza, en el extremo, una banda clara que ocupa el primer tercio de este brazo; le sigue una oscura de dimensiones parecidas y una clara similar, que abarca la región centromérica y llega hasta el extremo proximal del brazo largo, luego se encuentra una banda gris angosta y le sigue una clara muy angosta, un tanto difícil de observar pero presente en la mayoría de las mitosis analizadas; a ésta le sigue una banda oscura de dimensiones intermedias (12-15% de la longitud total del cromosoma) que se limita con una banda clara ancha de posición intermedia al brazo largo; al final, se localiza una banda gris con un grosor cercano al 15% del total de la longitud promedio de este par.

Par cromosómico 8: En este par se identificaron exclusivamente bandas, oscuras y claras. En el brazo superior, en el extremo, se identificó una banda oscura seguida por una clara de dimensiones cercanas (12% aproximadamente para cada una); más abajo, se encuentra una banda gruesa con un valor cercano al 20% de la longitud total del cromosoma; muy cerca del centrómero, se identificó una banda angosta clara. El brazo inferior se inicia, en su posición proximal al centrómero, con una banda oscura de dimensiones intermedias que ocupa el primer tercio superior de este brazo; le sigue una banda clara y finalmente una oscura de dimensiones parecidas.

Par cromosómico 9: Está formado por cromosomas pequeños submetacéntricos con 6 bandas: 3 oscuras, distribuidas en la porción media del brazo corto, media del brazo largo y terminal del brazo largo; estas bandas son similares en cuanto a sus dimensiones. Las bandas claras se encuentran en la porción del brazo corto terminal, región centromérica y subterminal del brazo largo; las dos últimas son de dimensiones intermedias y la primera es angosta.

Par cromosómico 10: Esta formado por el par de cromosomas más pequeños, se distinguen 5 bandas: una oscura 2 grises y 2 claras. El brazo superior presenta en su

primer tercio una banda de color gris seguida de una banda clara que se prolonga hasta un poco más allá del centrómero, ya dentro de los límites del brazo inferior; le sigue otra banda gris, una clara y una oscura en la porción terminal, las cuales ocupan cada uno de los tercios del brazo inferior de la longitud promedio de este par.

Tabla N^o 1.

Número y tipos de bandas-G en el cariotipo de:

Crassostrea virginica.

Par cromosómico.	bandas claras.	bandas oscuras.	bandas grises.	total
1	5	4	2	11
2	4	3	1	8
3	6	6	1	13
4	3	3	1	7
5	5	5	1	11
6	5	4	2	11
7	4	2	2	8
8	3	4	-	7
9	3	3	-	6
10	2	1	2	5
total	40	39	12	87

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los ostiones del género Crassostrea, comunes en las costas mexicanas, son casi en su totalidad organismos estuarinos de interés biológico y comercial, por lo que son susceptibles de ser cultivados para estimular su productividad.

En las costas mexicanas, las especies más comunes son Crassostrea virginica y C. corteziensis, que se encuentran en la costa del golfo de México y costa norte del pacífico mexicano, respectivamente. Aunque también se ha reportado a C. rhizophorae en la costa de Campeche como muestran Ramírez y Sevilla (1965).

De las especies anteriores, es sin duda Crassostrea virginica la especie de mayor importancia comercial.

En el caso de C. rhizophorae aún cuando de momento no es de interés comercial, debe ser considerada como un recurso en potencia como señalan Stuardo y Martínez (1975).

Uno de los problemas principales que se han presentado en los estudios de poblaciones de C. virginica ha sido su correcta identificación tanto en adultos como en formas larvarias aún cuando han sido reportados in-

dicadores morfológicos de las conchas y de la anatomía interna.

Sin embargo, es evidente que en algunos casos el problema no ha sido resuelto plenamente.

En otros, ha surgido la duda sobre la posible heterogeneidad genética de las poblaciones de esta especie, que se ha manifestado a través de heterogeneidad fisiológica en algunas poblaciones así lo señalan Stauber (1947), Loosanoff y Nomejko (1951).

En los estudios cromosómicos realizados en esta especie por Longwell y Stiles (1967) y Rodríguez-Romero et al (1978), se reporta una gran similitud en los caracteres cariológicos, aún cuando las poblaciones estudiadas por cada uno de estos grupos de investigadores se encuentran muy distantes, la primera en Connecticut, Estados Unidos de Norte-América, y la segunda en Tabasco, México.

Lo anterior puede sugerir que ambas poblaciones, no han sido sometidas a presiones adaptativas tales que los reordenamientos de los genes se refleje a nivel del cariotipo. Sin embargo, a nivel de segmentos cromosómicos pueden presentarse fenómenos de adaptación cariotípica que solamente sean detectados mediante las técnicas de

bandeo cromosómico, las cuales permitirán comparar las diferencias y similitudes en cada uno de los cromosomas que integran a los cariotipos que se comparen.

Al estudiar el cariotipo de esta especie mediante las técnicas de bandeo cromosómico, ha sido posible inferir que la estructura cromosómica de estos moluscos debe ser, en términos generales, semejante a la de los cromosomas de mamíferos, ya que los elementos estructurales que permiten la presencia de bandas-G, se comportan en forma similar ante las modificaciones ocasionadas por el procesamiento técnico cuyo resultado son cromosomas intactos, los cuales pueden ser contados y descritos fácilmente.

Los métodos, para obtener material adecuado con el propósito de contar y describir cromosomas, han sido un factor importante en la acumulación de datos citológicos para numerosas especies.

En el caso de Crassostrea virginica, es claro que la estructura cromosómica es parecida a otros organismos mas estudiados desde el punto de vista citogenético, lo que permite contar como indicadores cromosómicos finos que ayuden al manejo citotaxonómico a nivel de especie.

Las oportunidades para examinar células germinales, para cromosomas en paquíteno, diacinesis ó metafase I son, por lo general limitadas. El examen citológico ha cubierto tan solo unas cuantas especies con cromosomas distinguibles. En el caso de Crassostrea virginica, esto puede ser aprovechado para estudios citogenéticos y citotaxonómicos en animales vivos o en células en cultivo, ya que las figuras meióticas aquí observadas son excelentes para estudios de este tipo.

Las figuras meióticas obtenidas mediante la técnica aquí empleada, son abundantes y claras y muestran complejos de fácil identificación para su estudio. Estas mismas figuras resultan bandeadas al mismo tiempo que en la laminilla aparecen campos cromosómicos mitóticos con bandas-G.

Este tipo de examen citológico, tanto como en meiosis será sin duda de gran valor en aquellos estudios citotaxonómicos en ostiones ya que la consistencia de este patrón puede ser tomado como base para detectar cambios estructurales de magnitud menor a aquellos que se reflejan en la modificación del número y morfología cromosómica; tanto en condiciones normales como experimentales.

Es posible que la estabilidad evolutiva del cariotipo

co de estos moluscos, se deba a que los reordenamientos estructurales sean diminutos: y que, su ausencia aparente en poblaciones naturales resulte de reordenamientos en una escala subvisible, en donde la selección natural ha conservado ó incrementado la adaptabilidad de esta especie a su medio, a fin de aumentar los ajustes homeostáticos, de tal manera que los procesos biológicos se puedan desenvolver a pesar de las variaciones ambientales.

El patrón de bandas-G aquí presentado fué consistente en todas las células analizadas, y aunque en algunos casos, no todos los cromosomas aparecieron con bandas claras, en otros casos, en que se presentaron, fueron consistentes en cuanto a su número cromosómico y características descritas.

Otro resultado interesante obtenido en el análisis cromosómico mediante el bandeo "G", es la confirmación clara de la presencia de constricciones secundarias en el primer par y el hallazgo de este tipo de constricciones en los pares 5 y 6, con lo cual se tipifica mejor el cariotipo de esta especie.

Es evidente que, este patrón permite el reconocimiento fácil de los cromosomas homólogos ayudando a simplificar el método laborioso de la medición y análisis es-

tadístico. Al reconocer los pares homólogos con precisión, se podrá saber el sitio en que se localiza una posible mutación cromosómica que pueda ser correlacionada con sus efectos manifiestos en el fenotipo, haciendo posible el mapeo cromosómico.

Recomendaciones.

Es necesario por lo tanto, que se incremente este tipo de estudios en otras poblaciones de la especie Crassostrea virginica y de otras afines. Lo anterior permitirá reconocer peculiaridades en la morfología cromosómica que faciliten la discriminación de grupos poblacionales en organismos de diferentes edades y que aclaren la ubicación de razas, subespecies y especies en las poblaciones del género Crassostrea.

LITERATURA CITADA

AL-AISH, M., 1969. Human Chromosome morphology. 1 studies on Normal Chromosome Characterization, clasification and Karyotyping. Can. Journs. Gen. and Cytol. 11:370-381.

ARRIGHI, F.E., T.C. HSU, P. SAUNDERS and G.F. SAUNDERS., 1970. Localization of repetitive DNA in the chromosomes of Microtus agrestis by means of in site hibridization. Chromosoma. 32:224-226.

ARRIGHI, F.E. and T.C. HSU., 1971. Localization of heterochromatin in human Chromosomes. Cytogenetics. 81-86.

BAHR, G.F., 1977. Chromosomes on chromatin structure. In: Yunis, J.J. (ed) Molecular Structure of Human Chromosomes. Academic Press. 143-203.

BAKER, R.W., S.L. WENGER and J.H. TURNER., 1975. A rapid, colcemid free, banding-pattern technique for sequential analysis of rat bone marrow karyotypes. Mammalia Chromosomes Newsletter, 3 (16):133-135.

BAJICK, R. and J. PATAKI., 1978. Indirect Chromosomal

Fluorescence with antibody to 7-12-Dimethyl-
benz(a)anthracene. Biochem Biophys Res Com-
mun 82(1):81-84.

BUTLER., 1954. Summary our knowledge of oyster in Gulf
of México. Fish. Bull. of the F.W.S. 89(55):
479.

CASPERSON, T., S. FABER, G.E. FOLEY, J. KUDYNOWSKY, E.
J. MODEST, E. SIMONSSON, V. WAGH and L.
ZECH., 1968. Chemical differentiation along
metaphase chromosomes. Exp. Cell. Res. 49:
219-222.

CASPERSON, T., L. ZECH, and C. JOHANNSON., 1970. Dif-
ferential Binding of alkylating fluorochromes
in human chromosomes. Experimental Cell Re-
search. 60:315-319.

DOBZHANSKY, T., 1975. Genética del proceso evolutivo.
Ed. Extemporáneos, S.A., México. 463 p.

DRETS, M.E. and M.W. SHAW., 1971. Specific banding
patterns of human chromosomes. Proc. Natl.
Acad. Sci. USA. 68:2073-2077.

DUTRILLAUX, B. and J. LEJUNE., 1971. Sur une nouvelle
47

technique d'analyse du caryotype humain. C.
R. HEBD. SEANCES ACAD. SCI. 272:2638-2640.

DUTRILLAUX, B. and J. COUTURIER., 1972. Techniques
d'analyses chromosomiques. Biologic clinique.
Expansion scientifique française, Paris.
5-12.

DUTRILLAUX, B., 1973. Nouveau systeme marquage chromo-
somique. Les Bandes "T" Chromosoma. 41:395-
402.

_____, 1977. New Chromosome Techniques. In:
YUNIS, J.J. (ed) Molecular Structure of Hu-
man Chromosomes. Academic Press. 233-269.

FINAZ, C. and J. DE GROUCHY., 1971. Le caryotype hu-
main apres traitement par l'-chymotrypsin.
Ann Genet. 14:309-311.

GALTSOFF, P.S., 1964. The American Oyster Crassostrea
virginica (Gmelin). Fish Bull. of the Fish
Wild Life Service. 64-480.

GARCIA CUBAS, A., En prensa. Catálogo de moluscos de
la Laguna de Términos, Campeche. Publicación
Centro de Ciencias del Mar y Limnología.

- GUNTER, G., 1951. The west Indian tree oyster on the Louisiana Coast, and notes on the growth of three Gulf Coast oyster. Science. 113:516-517.
- GUTIERREZ, V.E., 1973. Establecimiento de elementos Bio-ecológicos Básicos para el cultivo del Ostión Crassostrea virginica (Gmelin), en el Sistema Lagunar Carmen Machona-Redonda. Tab. Tesis profesional, Facultad de Ciencias U.N.A.M. 69 p.
- HAYASHI, K., HOFSTAETTER and N. YAKUWA., 1978. Asymetry of chromatin. Subtonite probed with histone H1 in on H1-DNA complex. Biochemistry. 17(10):1880-1883.
- LANGRIDGE, R., H.R. WILSON, C.W. HOOPER, M.H.F. WILKINS and L.D. HAMILTON., 1960. The molecular configuration of deoxiribonucleic acid. I. X-ray diffraction study of a crystalline form of the lithium salt. J. Mol. Biol. 2:19-37.
- LATT, S.A., 1973. Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 70:3295-3399.

_____, 1974. Localization of sister chromatid exchanges in human chromosomes. Science. (185):74-76.

LEVAN, A., K. FREDGA and D. SANBERG., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas. 52:201-220.

LONGWELL, A.C. and S.S. STILES., 1967. Chromosome complement of the American Oyster Crassostrea virginica, as seen in meiotic and cleaving eggs. Can. J. Genet. Cytol. 845-856.

_____, 1968. Removal of yolk from oyster eggs by soxlet extraction for clear chromosomes preparation. Stain Technology. 48(2).

LOOSANOFF, V.L. and C.A. NOMEJKO., 1951. Existence of physiologically-different races of oysters, Crassostrea virginica. Biol. Bull. (Woods Hole). 2:151-156.

LOOSANOFF, V.L. and H.C. DAVIS., 1963. Rearing of bivalve larvae. Recent advances in marine biology. Academic Press, Inc. London. 1:136.

MATTOX, N.T., 1949. Studies on the biology of the edi-

the oyster, Ostrea rhizophorae Guilding in Puerto Rico. Ecol. Monogr. 19:339-356.

MENDELSON, M.L., B.H. MAYALL, E. BOGART, D.H. MOORE II and B.H. PERRY., 1973. DNA content and DNA-based centromeric index of the 24 human chromosomes, Science. 179:1126-1129.

MENZEL, R.W., 1956. Some additional differences between Crassostrea virginica and Ostrea equestris in the Gulf of México Area. Proc. Natl. Shellfish. Assoc. (46):76-81.

_____, 1968. Cytotaxonomy of cleams (Mercenaria) and oyster (Crassostrea). Proc. Symp. Moll. (1):75-87.

PALMER, C.G., 1970. 5-Bromodeoxyuridine induced constrictions in human chromosomes. Can. J. Genet. Cytol. 12:816-830.

PATTERSON, C.M., 1973. Cytogenetics of gasteropod mollusks; Malacological review. 6:141-150.

RAMIREZ, G.R. y M.L. SEVILLA., 1965. Las Ostras de México. Datos biológicos y planeación de su

cultivo. INIBD, SIC, CNCP, D.G.P.S.C. 7:7-100.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., 1974. Estudios Citogenéticos en Neotomodon N. alstoni perotensis. (Merriam, 1898). Tesis profesional, Facultad de Ciencias. UNAM. 39 p.

RODRIGUEZ-ROMERO, F., M. URIBE-ALCOCER and A. LAGUARDA-FIGUERAS., 1978. Cytogenetic Study of an oyster Population of the species Crassostrea virginica Gmelin, from the Crasts of Tabasco, México. Jap. Jour. Malac. (VENUS). 37(2): 83-86.

ROGER, P. y A. GARCIA CUBAS., 1978. Observaciones sobre la Biología y Pesquería de Crassostrea virginica Gmelin y Rangia cuneata (Gray, 1831) del sistema fluvió-Lagunar Atasta Pom. Campeche, México. VI Congreso Nacional de Oceanografía. Ensenada, B.C. MEXICO.

SEABRIGHT., 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet. 11:971-972.

STAUBER, L.A., 1947. On possible physiological species in the oyster Ostrea virginica. Amat. Rec. 99(4):59.

- SUMNER, A.T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Exp. Cell. Res. 75:304-306.
- SUMNER, A.T., H.J. EVANS and R.A. BUCKLAND., 1971. New technique of distinguishing between human chromosomes. Nature (London), New Biol. 232: 31-32.
- SWINEHART, S.G., JANET and L.J. KLEINSMITH., 1976. Las proteínas cromosómicas y la regulación de los genes. Scientific American. 32-44.
- TAYLOR, J.H., P.S. WOODS and W.L. HUGHES., 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium labelled thymidine. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 43:122-128.
- WRAY, W., 1972. Mammalian metaphase chromosomes with high molecular weight DNA isolated at pH 10.5. Nature (London). New Biology. (238): 237-238.
- YASMINEH, W.G. and J.J. YUNIS., 1969. Satellite DNA in mouse autosomal heterochromatin. Biochem. Biophys. Res. Commun. 35: 779- 782.

YUNIS, J.J. and W.G. YASMINEH., 1971. Heterochromatin,
satellite DNA, and cell function. Science.
174:1200-1209.

YUNIS, J.J., 1977. Molecular Structure of Human Chromosomes. Academic Press, Inc. London. 336 p.