

123



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Estudios Citogenéticos en Eleotris pisonis
(Gobiidae, Perciformes).**

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 :

Rubén Cornelio Montes Pérez

México, D. F.

1981



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.

	Página.
I.- DEDICATORIA	1
II.- AGRADECIMIENTOS	2
III.- INTRODUCCION	3
IV.- CLASIFICACION DE <u>E. pisonis</u> (Gmelin).	26
V.- MATERIALES Y METODOS	27
VI.- RESULTADOS	32
1) Tabla 1	33
2) Tabla 2	34
3) Tabla 3	35
4) Tabla 4	36
5) Tabla 5	37
6) Tabla 6	38
7) Figura I	39
8) Figura II	40
VII.- DISCUSION	44
VIII.- CONCLUSIONES	53
IX.- BIBLIOGRAFIA	55

Dedico esta Tesis :

A la memoria de mi padre, que tuvo la conciencia siempre puesta - en la educación a través del buen ejemplo.

A mi madre, por el anhelo incesante de una formación íntegra en - la disciplina y el coraje, base de la voluntad firme.

A mi hermano, porque por medio de él conseguí apoyo constante e - incondicional, ejemplo de fraternidad sublime.

A mis parientes y amigos, por la buena estima que me han tenido.

A aquellos Maestros, que desde mi infancia colocaron en mí la se-
milla de sus esperanzas, hicieron descubrir mis aptitudes y permitie
ron desarrollar mis facultades.

Agradezco :

Al Dr. Manuel Uribe A. , por haber aceptado ser mi director de Tesis y permitir el desarrollo de la misma en el Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos.

Al Dr. Jesús Manuel León Cázares, cuyas orientaciones en el desarrollo del escrito fué de gran importancia.

A la Dra. Genoveva González, por la aceptación desinteresada y amistosa como miembro de la Comisión Dictaminadora.

Al M. en C. Isidro Castorena, por las sugerencias aportadas en el contenido de la Tesis.

A la Biól. Lilián Yépez, por la forma espontánea en que aceptó revisar la Tesis.

Al Biól. Raúl Rivera T. y al Sr. Francisco Reyes, por haber facilitado el material biológico del Centro Piscícola " Los Amates ".

A Ma. del C. Maldonado ya que su ayuda técnica fué fundamental en la realización del presente trabajo.

Al Quim. Julio Arreguín por su actitud siempre servicial y útil para el desarrollo de cada paso de la Tesis.

INTRODUCCION.

En la búsqueda incesante que el Hombre efectúa para percibir, -- interpretar y controlar a la Naturaleza, ha llegado a construir varios sistemas de conocimiento. Lentamente el Hombre mismo ha sido -- capaz de mejorar estos sistemas y a la vez de perfeccionar los medios que él ha creado y, en función del perfeccionamiento de estos medios, radica el alcance de sus descubrimientos.

A través del Método Científico, los investigadores tienen a su -- alcance rutas por las cuáles dirigirse al encuentro con los fenómenos naturales y aún sociales. Sin embargo, no deben ser tomadas una serie de partes del Método, como algunos investigadores así lo juzgan necesario, como si fueran procesos infalibles del encuentro con la verdad, ni mucho menos, deben ser seguidos en forma ciega, tal -- como si se trataran de fórmulas mágicas y misteriosas.

Es pues necesario, tomar en cuenta que es la mente del investigador, la fuente principal de la creatividad a la cual están sujetos todos los sistemas cognoscitivos que del Hombre mismo surgen.

Así, cuando la mente inquisitiva del Ser Pensante, penetra en la Naturaleza Física del Ser Viviente, sufre el primer impacto, por no tener el alcance físico necesario y es entonces imperativo construir instrumentos que le permitan esta compenetración física y llegar -- así a la manifestación elemental de su naturaleza viviente - La -- Célula - .

Pero aún, y a pesar de percibirla, interpretarla y manipularla, no es suficiente tal conocimiento. Existen mayores misterios concentrados en unidades menores, que la misma Célula encierra y es aquí, justamente, donde las moléculas componentes de la estructura celular determinantes de su fisiología, contienen al parecer, el misterio profundo de la Vida.

Pero en realidad, ¿ existe alguna molécula viva, que sea la rectora de las manifestaciones vivientes de todo Ser Pensante ? .

No estamos aún preparados y distamos mucho de entender plenamente la naturaleza del Ser Viviente, aunque ya sabemos algo de la --- constitución de nuestra naturaleza viva y avanzamos de esta manera en cantidades infinitesimales hacia el conocimiento del Universo.

La certeza tenemos que nuestros pasos en el Sendero del Conocimiento son reales y progresivos, permaneciendo latente en el raciocinio la Esperanza, de que enriquecidos por mejores medios cognoscitivos, hará cada vez que la Humanidad Pensante avance infinitesimalmente al conocimiento y comprensión del Universo envolvente y -- creador.

En el momento en que el primer Hombre se preguntó ¿ por qué todos los hombres son semejantes? y ¿ por qué todos los animales y -- plantas del mismo tipo son también muy parecidos ?, empieza a gestarse el futuro nacimiento de la Ciencia relacionada con los procesos hereditarios, la Genética.

Desde los descubrimientos aportados por Gregorio Mendel, la Biología se ha enriquecido con nuevos y sorprendentes enfoques contri- buídos por la Genética, por ejemplo, complementa actualmente a la Teoría Evolutiva y agiliza también entre otras muchas disciplinas a la Ecología.

A pesar de la gran diversidad de formas mostradas en los orga- nismos vivos, es paradójico pensar que todos tenemos los mismos com- ponentes químicos, lo que ha sido llamado, El Principio Fundamental de la Economía Molecular (Lehninger, 1972), puesto que el Carbono, - Hidrógeno, Oxígeno, Nitrógeno, Fósforo y Azufre, son los elementos químicos básicos de la constitución de todas las células y puesto - que los compuestos macromoleculares son estructuralmente semejantes en toda la materia orgánica. Así por ejemplo, las proteínas de cual- quier célula, están formados por múltiples combinaciones de los mis- mos 20 aminoácidos, así existen, largas cadenas polipeptídicas que- tienen actividad propia ya sea estructural o funcional.

Si el Código Hereditario está constituido por la combinación de- cinco bases nitrogenadas: Adenina, Timina, Citosina, Guanina y Ura- cilo, arregladas en tripletes, de esta forma los tripletes a la vez constituyen el vocabulario bioquímico por el cual se ordenan la se- rie de aminoácidos durante la Síntesis Proteica, siendo cada triple- te una Codificación Universal, ya que estos arreglos llevan la mis- ma información sea cual fuera la especie del individuo.

¿ Por que la célula fué formada por este tipo de elementos químicos y no de otros ?. George Wald en 1960, explicó esta selección-operada en la evolución química sufrida en los inicios de la formación de la Tierra, con base en las propiedades fisicoquímicas de cada elemento mencionado, como son :

- 1.- Los átomos pequeños como lo son el Nitrógeno, Carbono, Hidrógeno y Oxígeno, forman enlaces estables por covalencia.
- 2.- A la vez son capaces de enlazar una serie larga de átomos con configuraciones electrónicas estables de 1, 2, 3, 4 electrones.
- 3.- De establecer regularmente múltiples enlaces estables entre átomo y átomo.
- 4.- Poseen energías de enlace superiores con respecto a otros elementos de mayor masa atómica, medidos en Kcal/mole.
- 5.- Asi como las distancias interatómicas entre los elementos enlazantes son menores.

Por otro lado existe complementariedad entre las moléculas constitutivas y las informativas .

El ADN (ácido desoxirribonucleico) y el ARN (ácido ribonucleico) son los compuestos que determinan la estructuración de los compuestos moleculares de los organismos.

Los procesos hereditarios no son eventos caóticos, sin dirección por lo contrario, obedecen a ciertas normas moleculares de flujo de información, por las cuáles, los fenómenos son repetitivos y cohe-

rentes.

Francis Crick postuló en 1970 en el Dogma Central de la Biología Molecular, tres formas de dirección de la información hereditaria - que son las siguientes:

- 1.- Transferencia General.- Proceso de flujo que ocurre en todas -- las células procarióticas y eucarióticas, conocidos como Replificación, Transcripción y Traducción.

ADN -----> ADN

ADN -----> ARN

ARN -----> Proteína

- 2.- Transferencia Especial.- Procesos que ocurren bajo ciertas circunstancias especiales, en las que puede haber flujo inverso, - como ha sido descubierto en células infectadas con ARN viral, - exceptuando el último esquema del cual no se conoce ejemplo.

ARN -----> ARN

ARN -----> ADN

ADN -----> Proteína

- 3.- Transferencia Desconocida.- Procesos hipotéticos que no es posible que en la actualidad se efectúen, Crick menciona los siguientes:

Proteína -----> ADN

Proteína -----> ARN

Proteína -----> Proteína

Los argumentos para negar la existencia de estos flujos son:

- a) Una traducción inversa del código genético implicaría la for

nación de una nueva maquinaria bioquímica para la elaboración de nuevas formas de traducción.

b) Estos procesos están prohibidos en la materia viva actual, -- pero pudieron darse eventos de este flujo informacional en épocas tempranas de la aparición de la vida.

Los postulados de F. Crick son relevantes porque interpretan fenómenos de transmisión de los caracteres hereditarios a nivel molecular y aplican una Lógica Molecular de flujo de información y tienen más aún, capacidad de predicción.

Como se ha observado, ciertos elementos y moléculas pequeñas --- constituyeron los sillares estructurales de las biomoléculas, los - cuáles están regidos por fenómenos físicos y químicos, que al integrarse en otro nivel superior, manifiestan una nueva entidad, cuyas propiedades integran la forma viva de la materia, capaz de autorreplicarse, autorregularse, funcionar como un sistema termodinámico - abierto, así como una máquina isotérmica con gran rendimiento energético, de intercambiar componentes con el medio ambiente de manera continua y de utilizar relativamente poca variedad de elementos y - compuestos macromoleculares para estructurarse. (Lehninger, 1972).

La Célula, manifestación de este nivel de integración muestra -- también gran relación armónica entre sus partes. Schwann y Schleiden en 1838 y 1839, enfatizaron la importancia de la composición celular de todo organismo vivo. Actualmente estos argumentos son válidos

dos y desde entonces el conjunto de postulados es conocido como Doctrina Celular, los cuáles ya han sido probados y corregidos, como a continuación se enumeran y explican, según el punto de vista de De Lille, 1955. :

- 1.- Postulado de Unidad Anatómica.- " Todos los seres están integrados por células, desde los unicelulares hasta los pluricelulares, cuyos elementos muestran formas y estructuras semejantes - ya sean con características primitivas o embrionarias y que gradualmente irán diferenciándose hasta tomar rasgos propios en relación a las actividades o funciones específicas dentro del organismo al que pertenecen ".
- 2.- Postulado de Unidad Funcional.- La fisiología de cualquier organismo es la resultante de la fisiología de cada una de las células que lo constituyen, es decir, en un conjunto celular embrionario o primitivo, las células, tendrán actividades fisiológicas semejantes pero, conforme existe una diferenciación funcional, cada grupo o conjunto celular realizará alguna determinada actividad biológica, armonizadamente con otros conjuntos celulares diferenciados, dentro del organismo al cual constituye.
- 3.- Principio de Unidad Patológica.- Las alteraciones que sufra algún organismo es el resultado de la anormalidad que sufren las células constituyentes del individuo o de aquel órgano que se encuentre en un estado patológico.
- 4.- Principio de Unidad Genética.- " Toda célula procede de otra --

preexistente ", "este aforismo enunciado por Virchow expresa en forma sintética, el origen de todos los seres vivos de manera universal, en el caso de seres pluricelulares, la célula inicial es el --huevo o cigoto el cual por divisiones sucesivas, formará un conjunto celular organizado que gradualmente por diferenciación morfológica y fisiológica alcanzará el estado adulto donde tomará características propias del ser de que se trate".

El material hereditario de toda célula eucarionte está confinado al núcleo en forma de nucleoproteínas, los cromosomas, que son el --vehículo físico para la distribución y transmisión de los caracteres hereditarios.

La conformación de tales estructuras es compleja, Georgiev y Ba--kaev en 1978, propusieron tres niveles de empaquetamiento de los --ácidos nucleicos y las proteínas dentro de los cromosomas.

El primer nivel estructural es conocido como Nucleosoma, constituido por 120 a 160 pares de bases nitrogenadas y un octámero glo--bular histónico : $(H3)_2$, $(H4)_2$, $(H2A)_2$, $(H2B)_2$.

Además existen otras proteínas de tipo no histónico que no se --consideran importantes en la formación de los nucleosomas. Este modelo está basado en estudios realizados por dispersión de neutrones los cuáles muestran que el radio de giro del ADN es mayor que el de las proteínas del octámero histónico.

Los primeros estudios de microscopía electrónica, mostraban arre

glos lineares de esferas, llamados "cuerpos nu", separados por segmentos de ADN y surgió así la idea del modelo de "cuentas en cordón" de los polinucleosomas (Georgiev y Bakaev, 1978) (Klug, 1978), donde el ADN está encima del octámero y la histona H1 se encuentra fuera de la esfera, uniendo la partícula central de cada nucleosoma, Kornbergh y Klug, 1981, consideran que el modelo anterior debe ser modificado, "la fibra básica de cromatina, es un cordón de ADN sobre las esferas mas que esferas sobre un cordón", en base a estudios de enlaces químicos cruzados; ahora bien la localización externa de la H1, le confiere propiedades especiales en la conformación de los niveles superiores de organización del cromosoma, como es:

-) se halla asociado al ADN ligador, el cual une el "core" de un nucleosoma con el próximo.
-) la H1 está asociado a los extremos de cada nucleosoma, es decir está en el sitio donde sale y entra el ADN espiralizado.
-) la H1 es responsable de la condensación de la fibra de cromatina y por lo tanto del control de la formación del Solenoide.

El segundo nivel de estructuración es el del Solenoide, el cual está formado por la cadena de nucleosomas, denominada también como fibra base o nucleofilamento, que se enrolla en una espiral.

Esta estructura solenoidal es alterada por agentes quelantes que afectan la concentración de Magnesio o por la ausencia de la H1.

Se considera también que el Solenoide corresponde a las "super--

unidades fibrosas" (Klug, 1978) observadas en cromosomas interfásicos condensados a los que se ha llamado cuerpos cromatínicos. Si es así, entonces la distancia entre cada nucleosoma es de 10 nm, y habría por lo tanto seis nucleosomas por cada giro del solenoide. --- Klug en su reporte de 1978, deduce que la cromatina interfásica está formada por familias de estructuras con diferentes cantidades de nucleosomas en cada giro, postulando de esta manera el último nivel de organización cromosómica que es la superespiralización de ADN--- Proteína en "Loops" o "Asas" que son Solenoides ensortijados, es -- aquí donde comienza el estudio a escala de genes, de tal forma que "la unidad típica genética contiene aproximadamente de 50 a 100 x 10³ pares de bases, por ejemplo la medida que existe en 250 a 500 - nucleosomas, lo que podría ser acomodado en un solenoide de aproximadamente 500 a 1000 nm de longitud" (Klug, 1978).

Se ha demostrado la existencia de "Asas" en Escherichia coli (- Worcel y Burgi, 1972, citado en Klug, 1978), en ADN de Drosophila (- Benyajati y Worcel, 1976, citado en Klug 1978) y por último en cultivos de células humanas (Cook y Brazell 1975, oitado en Klug 1978).

Los solenoides existen ya sea en genes inactivos o en genes activos en una forma abierta a la transcripción.

Los estudios a nivel cromosómico, tienen el importante trasfondo en el sentido de que analizan las propiedades morfológicas del complemento cromosómico de cada población y por otra parte, también -- permiten comprender los fenómenos de mutación estructural cromosómi

ca que esté sufriendo la población en cuestión.

Es conocido además por los taxónomos, la importancia de los estudios citogenéticos, ya que aportan datos a la Sistemática y Taxonomía valiosa información filogenética derivada de la comparación de los cariotipos entre las especies en estudio.

Los cariotipos muestran características que les confieren validez taxonómica como son: la constancia, la curva de variación estrecha y la baja sensibilidad frente a los cambios medio ambientales. Por ello, los estudios cromosómicos, son de gran utilidad, dado que son caracteres dependientes de los genes, los cuáles se pueden considerar como muy constantes.

En los estudios citogenéticos, los principales datos que normalmente se obtienen son :

- i) Número cromosómico diploide y haploide
- ii) Número Fundamental, que es la cantidad de brazos de todo el complemento cromosómico, tomando a los metacéntricos, submetacéntricos y subtelocéntricos con posesión de dos brazos y a los telocéntricos o acrocéntricos con un brazo (Uribe, 1977 y Castro, 1980).
- iii) la forma de los cromosomas.
- iv) dimensiones de cada cuerpo cromosómico.
- v) presencia de cromosomas con satélites.
- vi) localización del centrómero.
- vii) comportamiento cromosómico durante la Meiosis.

Además de la Citogenética, existen otras disciplinas auxiliares en la Taxonomía, como son: la Palinología que estudia a las semi---llas y esporas, la Taxonomía Numérica o Taximetría que estudia el manejo de datos cuantitativamente para establecer la base del mayor o menor grado de similitud mediante la obtención de un Coeficiente de Similitud, el que varía desde 0.0, indicando que no hay similitud hasta 1.0 que indica similitud total, la Paleontología, disciplina que estudia los restos fósiles, la Quimiotaxonomía que analiza compuestos químicos de los organismos y la Biología Molecular -- que estudia la composición y estructuración del material hereditario.

La Quimiotaxonomía utiliza técnicas bioquímicas como la Serología, Electroforesis y Cromatografía que ponen de manifiesto rasgos propios de cada grupo estudiado, como es la composición química y estructura de las proteínas, la formación o no de anticuerpos específicos, ante un antígeno de naturaleza diversa de un grupo relacionado tanto en animales como en plantas, en éste último caso se utilizan injertos y se obtienen homogenizados con actividad inmunológica.

La hibridación del ADN posible únicamente en poblaciones relacionadas filogenéticamente, es un método también valioso, consistente en el apareamiento de dos hebras antiparalelas de ADN de origen distinto. Ello ocurre si éstas son complementarias y por tanto ambas hebras tienen la misma información de secuencias de bases o por lo

menos muy semejantes.

El carácter experimental de la Taxonomía es reciente y se pone de manifiesto, cuando los científicos, utilizan los cruzamientos -- intra e interespecíficos o intergenéricos, así como las técnicas de trasplantes. Con base a lo anterior, uno de los objetivos perseguidos al utilizar estas técnicas, es el analizar, si las variaciones de los rasgos son de origen genético o son el resultado de las condiciones ambientales cambiantes.

Si fuera el caso de que estas variaciones tuvieran naturaleza -- genética, entonces la posibilidad de producir híbridos fértiles sería escasa o a lo más de producir híbridos parcialmente fértiles, -- por ejemplo : la cruce de un macho de Micropterus salmoides con hembra de Lepomis cyanellus, produjo embriones con anomalías morfológicas y murieron todos al momento de eclosionar, la causa probable es, que existen mecanismos de aislamiento reproductivo más fuertemente estabilizados, sin embargo, la cruce de hembra de Micropterus salmoides con macho de Lepomis cyanellus, produjo embriones híbridos aparentemente normales, lo que demuestra finalmente, avanzada divergencia evolutiva en ramas filogenéticamente relacionadas , (Whitt S.G. and Philipp P.D. and Childers F.W., 1977).

En el caso de que la variación fuera dependiente de las condiciones ecológicas, las técnicas de trasplantes serían útiles, como por ejemplo:

- a) trasplante recíproco
- b) trasplante a un medio uniforme

c) trasplante clonal.

Así se mostrarían solamente las variaciones fenotípicas de poblaciones genéticamente análogas, de ahí que se deriven ciertos conceptos ecológicos en relación a una misma población, como son :

- 1.- Ecotipo: poblaciones interfértiles entre sí en los cuáles no hay barreras genéticas.
- 2.- Ecoespecie: poblaciones que tienen barreras reproductivas incompletas, pero cuando ocurre cruzamiento es posible obtener híbridos fértiles o parcialmente fértiles.
- 3.- Cenoespecie: poblaciones con plenas barreras genéticas, si ocasionalmente llegaran a producirse híbridos entre ellos, éstos serían estériles o no viables y si excepcionalmente fueran viables, únicamente se reproducirían por partenogénesis, multiplicación vegetativa o anfiploidía (De la Sota E. 1973).

La relativa constancia genética, debida a la replicación semiconservativa del ADN y a los mecanismos de reparación durante la réplica, puede ser considerada como una fuerza de resistencia al cambio.

Existe otra fuerza antagónica que es la presión de mutación y de selección ocasionada por el medio externo, cuya combinación en forma dialéctica resulta en la adquisición y establecimiento de nuevos caracteres, ya sean especializados o generalizados. De ahí que sea considerado frecuentemente que un rasgo avanzado sea necesariamente hacia la especialización, ya que ésta implicaría la complicación o simplificación de alguna estructura que sea eventualmente semejante

a la de algún ancestro de la línea filética estudiada.

¿ Cómo decidir entonces la tendencia evolutiva de un carácter en particular ?, la respuesta a este cuestionamiento está en función a cuatro doctrinas de la filogenia del carácter : (De la Sota E. 1973)

I.- Doctrina de las Regiones Conservativas : "Ciertas partes de un organismo son menos susceptibles que otras a las influencias -- del medio y en éstas será más probable encontrar caracteres en estado ancestral".

II.- Doctrina de la Recapitulación: Menciona en síntesis que los rasgos morfológicos y fisiológicos que exhiben los individuos durante su formación ontogénica, repiten los pasos evolutivos -- que sufrió a lo largo del tiempo el grupo al que pertenecen el individuo en cuestión.

III.- Doctrina de la Teratología: "las estructuras que no se ajustan al plan normal de la especie deben ser consideradas como un retroceso a una fase evolutiva ancestral".

IV.- Doctrina del Principio o Causa Común: Argumenta lo siguiente: Cuando algún rasgo es común entre todos o la mayoría de los -- miembros de un grupo sistemático, se considera como un rasgo -- primitivo de ese grupo y sólo aquellos rasgos que son poco frecuentes o menos frecuentes son considerados como caracteres avanzados.

A partir de esta Doctrina, Ohno et al en 1968, considera que los vertebrados terrestres evolucionaron de algún cordado primitivo con

un complemento cromosómico de 48 cromosomas acrocéntricos, puesto -- que la mayoría de los peces teleósteos actuales exhiben 48 cromosomas de este tipo.

Ohno et al, proponen que la evolución de los vertebrados terrestres a partir de cordados primitivos no se realizó únicamente por medio de mutaciones alélicas, ya que estos procesos son insuficientes dada la gran diversidad cariotípica y morfológica de los grupos vertebrados superiores.

Postula que la Duplicación Génica fué el mecanismo básico para -- la aparición de los vertebrados terrestres y su diversificación en los hábitats terrestres, en este proceso evolutivo están incluidos -- cuatro mecanismos, son :

- 1.- El intercambio desigual de cromátidas hermanas de un cromosoma.
- 2.- El entrecruzamiento desigual de cromosomas homólogos en la Meiosis.
- 3.- La duplicación regional redundante de moléculas de ADN.
- 4.- La poliploidía.

El papel más importante de la Duplicación Génica es la formación de nuevos genes, así de esta forma Ohno y col. argumenta que los -- tres primeros mecanismos mencionados, tuvieron como consecuencia, -- en especial, la duplicación de los loci génicos, los que estarían -- colocados sobre un mismo cromosoma, por ejemplo: a través del análisis de la composición de aminoácidos en las cadenas polipeptídicas de las inmunoglobulinas, se ha logrado conocer que posee dos --

fracciones, las cadenas pesadas y las cadenas ligeras, "la cadena pesada es el duplicado y triplicado de la cadena ligera y a la vez ésta misma tiene una homología interna" (Lennox 1967, citado en Ohno et al 1968). La poliploidía sería entonces considerada como un proceso complementario a la duplicación génica.

Otro ejemplo de duplicación génica es el caso particular del estrecho ligamiento de las cadenas β y δ de la molécula de Hemoglobina Humana, el surgimiento del gene para la cadena δ muy probablemente apareció por intercambio desigual o entrecruzamiento desigual a partir de la cadena β .

Por otra parte si los genes duplicados estuvieron localizados en dos cromosomas distintos donde uno de ellos sería inicialmente el homólogo del otro, entonces la duplicación génica fué realizada por poliploidización, "como es el hecho de que el locus del gene de la cadena α de la hemoglobina humana no está ligada al locus de las cadenas β y δ tanto en el hombre como en el conejo" (Kunkel 1963 y Oudin 1966, citado en Ohno 1968).

Se ha observado que la poliploidización ocurrió en estados tempranos en la evolución de los vertebrados, tanto en peces como en anfibios, por ejemplo : Cyprinus carpio tiene un número diploide de 104 cromosomas, cuya fórmula cromosómica es de 48 metacéntricos, 18 subtelocéntricos, 36 acrocéntricos y 4 cromosomas pequeños, con una cantidad de ADN nuclear del 50 % con respecto a mamíferos placentarios, Barbus tetrazona tiene un número diploide de 50 cromosomas, -

cuya fórmula cromosómica es de 34 metacéntricos, 6 subtelocéntricos 10 acrocéntricos, con valor de ADN nuclear del 20 % respecto a mamíferos placentarios, lo que muestra una relación diploide-tetraploide entre Cyprinus carpio y esta especie.

Abarcando un análisis más generalizado, donde se exhiben estas relaciones poliploides, tenemos que algunos miembros del Orden Isopondyli, en especial, el suborden Clupeoidea muestran números diploides de 48 a 52 cromosomas, de los cuáles 48 son generalmente acrocéntricos, la cantidad de ADN nuclear oscila entre 28 a 40 % respecto a mamíferos placentarios. En cambio el suborden Salmonoidea tienen número diploide de 60 a 80 cromosomas, con cantidades de ADN nuclear del 80 al 90 % respecto a mamíferos placentarios.

Por otra parte Salmo irideus tiene un rango de números diploides desde 58 hasta 64, pero su constancia en el número de brazos es de 104. Ohno y col. postula que los salmones y truchas evolucionaron por tetraploidización de un ancestro que tenía 48 cromosomas acrocéntricos y un valor de ADN nuclear del 40 % respecto a Eutheria; posteriormente a este proceso ocurrieron rearrreglos cromosómicos consistentes en fusiones Robertsonianas entre acrocéntricos, por lo cual el número de brazos no cambia aunque sí disminuye el número cromosómico.

Como evidencia del proceso de tetraploidización menciona la observación de la persistencia de formas cuadrivalentes, aunque no todos los salmonoides son tetraploides, algunos exhiben números de

36 lo que demuestra también que no son haploides ni tetraploides. -

Un requisito indispensable para permitir la variabilidad de poliploides, es que no se hallen los cromosomas sexuales diferenciados. Este proceso está a favor de la Teoría de Ohno et al en 1968, ya que son pocas las especies de peces que presentan estos cromosomas diferenciados, existen incluso casos en los cuáles, los peces muestran múltiples cromosomas sexuales, en la familia Goodeidea, el macho presenta cromosomas sexuales $X_1 X_2 Y$, las hembras presentan $X_1 X_1 X_2 X_2$ (Uyeno y Miller, 1972), o definitivamente no muestran cromosomas sexuales y por lo tanto los genes que portan los caracteres sexuales se localizan en cromosomas autosómicos no diferenciados.

"A menudo se encuentran teleósteos avanzados que poseen un genoma pequeño de sólo aproximadamente el 20% con respecto al genoma humano. La aparente evolución y especialización en los teleósteos pudo haber sido acompañada por la pérdida de ADN" (Hinegardner, 1968 citado en Fredga K. 1977).

También los anfibios experimentaron procesos de poliploidización las ranas y los sapos, tienen en promedio menor cantidad de ADN por núcleo que las salamandras, pero proporcionalmente, la cantidad de ADN en las especies de ranas está presente en correlación con la poliploidía (Fredga K. 1977).

Los reptiles y las aves tienen genomas más pequeños que los mamí

feros y la variación en la cantidad de ADN por núcleo es menor que en peces y anfibios, las aves tienen valores de ADN nuclear del 50% con relación a mamíferos placentarios, los lagartos y serpientes -- tienen cantidades de ADN por núcleo alrededor del 60 al 70 %, los cocodrilos y tortugas tienen valores de ADN nuclear de 80 al 90 % - respecto a Eutheria.

Bachmann, Harrington y Craig, 1972 (citado en Ohno, 1968), mostraron que los grupos con grandes genomas como los urodelos y peces pulmonados, tienen pocos representantes vivos, pero los grupos con pequeños genomas como los teleósteos y las aves, tienen abundancia de especies vivas, (Fredga K. 1977) "Sin embargo de las 21 especies de cocodrilos vivos, sus cariotipos y sus cromosomas son más semejantes a los mamíferos que a las aves".

En contraste con la evolución por poliploidía, Ferris y Whitt en 1977, propusieron la hipótesis de que " los organismos avanzados -- fenotípicamente perdieron más información genética. Después de un incremento inicial de ADN por poliploidía, el primer paso de la evolución será una pérdida moderadamente rápida de la expresión de los genes redundantes como se encontró en los catostómidos".

De esta forma nuevamente aparece otro proceso contradictorio, -- por una parte la Duplicación Génica por poliploidía y por otra, la pérdida de la expresión génica al poco tiempo de haberse efectuado la poliploidización.

¿ Cómo encontrar la síntesis de estas contradicciones ?, es probable que el aumento de la información y la aparición de nuevos ge-

nes trae por consecuencia, la modificación y formación de nuevos -- mecanismos de regulación génica, provocando una aparente pérdida de información, pero considérese que los genes silenciosos a la transcripción, permanecen reprimidos en sus loci y en un momento dado pu-- dieran expresarse, ya sea por consecuencia de factores ambientales que pudieran modificar a los genes activos hasta ése momento o que los repriman por consecuencia de algún agente, si éstos, tuvieran -- un papel de capital importancia en las funciones vitales de la cé-- lula, cabría aún la posibilidad de que el organismo pudiese amorti-- guar éste efecto deletéreo, induciendo la replicación activa de ge-- nes reprimidos redundantes. Por lo tanto estos genes reprimidos, -- funcionarían como un abastecimiento oculto en caso de haber pérdida o modificación drástica de genes activos a la transcripción, es en-- tonces por consecuencia, que los organismos carentes de éste alma-- cenamiento de genes redundantes por duplicación génica, serían víc-- timas fáciles frente a cambios bruscos o repentinos sobre sus geno-- mas, que producirían letalidad.

En el caso de los Góbidos, poco se conoce sobre su biología y -- aún menos sobre sus características citogenéticas, pues pocos son -- los cariotipados hasta el momento, por esta razón, es necesario --- aportar nuevos datos cariotípicos, proveyendo de esta forma, infor-- mación útil para efectuar estudios taxonómicos, evolutivos y ecoló-- gicos. Por esta razón el presente trabajo tiene por objeto enrique-- cer con datos citogenéticos para el conocimiento más amplio de la

familia de los Góbidos y fundamentar en el futuro investigaciones de cualquier índole anteriormente mencionada.

La especie Eleotris pisonis (Gmelin) ha sido localizada en México en toda la costa del Golfo de México, pero su distribución es amplia, pues se reporta que se extiende desde aguas costeras de Carolina del Sur, Bermudas, Bahamas, Las Antillas, hasta Brasil (Castro Aguirre, 1978).

Por otra parte, los Góbidos en general, son organismos útiles en la comprensión de la selección de hábitats en especies simpátricas (Hoese, 1966, mencionado en Castro A. 1978); su tolerancia a factores de temperatura y salinidad (Vlaming, 1971, mencionado en Castro A. 1978); su reproducción y crecimiento (Springer y MacErlean, 1961 mencionado en Castro A. 1978).

Ahora bien tratando en particular a Eleotris pisonis, Dawson en 1969 (citado en Castro A. 1978) menciona que es muy abundante en las marismas y pantanos de la parte superior de los estuarios. Tolerancia amplia cambios de salinidad, aunque prefiere aparentemente lugares con poca influencia del mar.

Algunos autores preferían separar a los Góbidos en dos distintas familias: la Gobiidae y la Eleotridae, debido a que ésta última presenta "aletas pélvicas separadas" y además "sin formar un disco adhesivo", pero Miller (citado en Bohkle y Chaplin, 1970; mencionado en Castro A. 1978) demostró que estos caracteres no son constantes cuando se examinan cientos de individuos, por lo tanto no son

válidos sistemáticamente y por lo cual no hay razón para separar -- esas dos familias.

La presente investigación adopta el criterio de Bohkle y Chaplin para la ubicación taxonómica de los ejemplares identificados como Eleotris pisonis (Gmelin).

Esta especie ha sido presentado por varios autores con distintos nombres, como : Gobius pisonis (Gmelin, 1788); Eleotris gyrinus --- (Cuvier y Valenciennes, 1837); Eleotris capite plagio plateo (Gro-- now, 1757) y a la vez de Amore pixuma (Marcgrave, 1748). Todos ci-- tados en Castro Aguirre J. 1978 .

Clasificación de Electris pisonis (Gmelin, 1788)

Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Superclase	Pisces
Clase	Teleostomi
Orden	Perciformes
Suborden	Gobioidei
Familia	Gobiidae
Genero	<u>Electris</u>
Especie	<u>E. pisonis</u>

MATERIALES Y METODOS.

A) Colecta del Material Biológico :

Los ejemplares de Electris pisonis, fueron colectados en un brazo -- del río Papaloapan en el Municipio de Tlacotalpan, Veracruz, durante el mes de enero de 1980, se escogieron animales de varias tallas --- desde 7 cm. hasta 13 cm.

B) Procedimiento :

La técnica utilizada ha sido separada en tres partes :

- 1.- Pretratamiento con cloruro de calcio, consiste en la aplicación-- por vía intraperitoneal de una solución acuosa de Ca Cl_2 al 0.1 % -- en un volumen de 0.3 ml., utilizando una aguja y jeringa de tubercu-- lina o insulina. Posteriormente se dejó reposar al animal por espa-- cio de 3 horas y al cabo de este tiempo se inyecta una solución acu-- sa de colchicina al 0.1 %, la cantidad de 0.2 ml., en el músculo an-- tero-dorsal. Se deja actuar al alcaloide durante 2 horas.
- 2.- Preparación de cromosomas, el proceso se inicia desde el momen-- to en que se procede a sacrificar al pez, transcurridos las 2 horas anteriores, las branquias se extraen y son sometidos a choque hipot-- ónico, colocándolas dentro de cajas de Petri o vidrios de reloj -- que contengan solución de cloruro de potasio a la concentración de-- 0.075 M. a temperatura de 37 °C, durante 30 minutos.

Durante este lapso de tiempo se procede a separar las laminillas branquiales, fragmentándolas y desechando el material grueso que es principalmente cartílago.

La suspensión así obtenida se transfiere posteriormente a un tubo de centrífuga donde es resuspendido por medio de una pipeta Pasteur. Al cabo del tiempo indicado, se centrifuga la suspensión entre 800 y 1000 rpm, durante 5 minutos y el sobrenadante se elimina quedando un botón celular blanquecino. A este botón se le agrega solución fijadora, hecha a base de la mezcla de metanol absoluto y ácido acético glacial, tres volúmenes a uno respectivamente.

Nuevamente el botón es resuspendido y se deja reposar 10 minutos al cabo de los cuales, se procede a centrifugar nuevamente, desechando el sobrenadante como anteriormente se explicó. Este proceso de centrifugación-resuspensión se repite tres veces.

3.- Dispersión de los cromosomas, la cual es efectuada sobre portaobjetos limpios, para ello el botón vuelve a resuspenderse con pipeta Pasteur en aproximadamente 2.5 ml. de solución fijadora, con ella misma se procede a efectuar el goteo a una altura adecuada, en nuestro caso fué practicado a 40 cm. de altura, inmediatamente después, la laminilla es pasada rápidamente por la flama a fin de que sólo se caliente ligeramente y la solución fijadora se evapore.

Para la tinción, se empleó, solución colorante de Giemsa, a partir de una solución stock diluída al 10 % con buffer de fosfatos a la concentración de 0.1 M. a pH 6.8 .

La solución stock de Giemsa se prepara de la siguiente forma: mezclar 1.0 g. de polvo de Giemsa en 66 ml. de glicerina a 60 °C. durante 2 horas, al final de este tiempo, se deja enfriar a tempe--

ratura ambiente y se le agrega 66 ml. de metanol absoluto, se homogeniza, dicho stock es útil por tiempo indefinido, pero se recomienda guardar en frío, no en el congelador (Denton, 1973).

Los portaobjetos goteados son colocados en vasos de Coplin y cubiertos con solución de trabajo de Giemsa durante aproximadamente - 30 minutos. Pasado este tiempo se enjuagan con agua destilada, se dejan secar las preparaciones al aire y por último se montan en bálsamo de Canada.

La observación de los cromosomas se llevó a cabo, utilizando un microscopio Carl Zeiss con filtro de interferencia verde y optovar-1.0x, colocando objetivos de 10x, 40x, 100x . Se escogieron los mejores campos y se fotografiaron con película High Contrast, regulando la intensidad de luz y tiempo de exposición de acuerdo al exposímetro.

Los rollos fueron revelados siguiendo las técnicas convencionales. Nuevamente se seleccionaron los campos y se hicieron ampliaciones adecuadas a nuestros estudios en papel Kodabromide F3, F4 y F5 .

Se contaron los cromosomas presentes en cada campo y se tabularon, la frecuencia de aparición de cada número cromosómico.

Para la elaboración de los cariotipos, se recortaron los cromosomas y se colocaron por pares homólogos de acuerdo a su tamaño y a la posición del centrómero.

Posteriormente se agrupan por pares de monorráneos y birráneos en orden decreciente en tamaño.

Cada uno de los cromosomas así arreglados son medidos por medio de una lupa graduada en mm., tomando medidas de longitud total y -- longitud de brazos, expresadas en porcentajes de longitud total del complemento cromosómico.

Para la elaboración del idiograma se procedió a efectuar cálculos de parámetros citogenéticos como son :

- i) Longitud total relativa del complemento cromosómico y de cada -- uno de los cromosomas constituyentes.
- ii) La proporción de brazos.
- iii) Índice Centromérico.

Los valores fueron obtenidos del análisis de 10 cariotipos, que incluyeron hembras y machos.

La determinación del valor relativo se efectúa de la siguiente -- forma:

$$Y_i = X_i (100 / \text{longitud total del complemento en mm.})$$

$$Y_i = X_i (\text{factor}).$$

donde:

$$Y_i = \text{longitud relativa del par cromosómico.}$$

$$X_i = \text{longitud absoluta en mm.}$$

La proporción de brazos se obtiene de la siguiente manera :

$$r = q / p$$

donde : $p =$ longitud del brazo largo del cromosoma

$r =$ proporción de brazos

$q =$ longitud del brazo corto del cromosoma

El Índice Centromérico se estima así :

$$I.C. = p / q + p (1000)$$

Según Matti y Al-Aish, 1969.

Las medidas del cariotipo final fueron obtenidos conforme a las fórmulas anteriores, las cuáles se tabularon.

Para la representación del idiograma correspondiente, se tomó -- solamente la gráfica de un cromosoma homólogo, colocándolo en un -- plano cartesiano, en el eje horizontal el par cromosómico y en el -- eje vertical la longitud relativa promedio.

Después de haber obtenido los parámetros citogenéticos, se procedió a practicar la prueba estadística de " t " o de student para valorar las diferencias entre las longitudes relativas del par metacéntrico únicamente.

La fórmula de esta prueba, se expresa a continuación :

$$t = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_b}{S_{D\bar{X}}}$$

donde : \bar{X}_a es la media de la longitud del cromosoma metacéntrico grande.

\bar{X}_b es la media de la longitud del cromosoma metacéntrico pequeño, tomando como unidades en ambas medias, longitudes relativas.

$S_{D\bar{X}}$ es la desviación típica.

(Según Downie y Heath, 1973).

RESULTADOS.

La especie Eleotris pisonis, muestra un complemento cromosómico-diploide de 46 cromosomas, de los cuáles, dos son metacéntricos birrámeos y 44 son telocéntricos monorrámeos.

El Número Fundamental que presenta es de 48 y las longitudes relativas varían en un rango de 3.01 % hasta un máximo de 5.76 % según datos tomados a partir de valores promedios de longitudes relativas de 10 cariotipos (Tabla 3).

Se elaboró una tabla de frecuencias de números cromosómicos encontrados, cuya variación se extiende desde 38 hasta 70, la muestra estudiada comprende 9 hembras y 10 machos en total (Tabla I).

No se observó alguna evidencia de la presencia de cromosomas sexuales.

De los campos cariotipados, se escogió uno como cariotipo modelo y se procedió a elaborar con él una tabulación de valores como se muestra en la Tabla 2, (Figura I y II).

Se observó que 22 pares de cromosomas metacéntricos de los machos y 25 de las hembras, mostraron distintas magnitudes entre ellos para verificar la validez estadística de esta observación se procedió a aplicar la prueba de " t ", donde se denominó a Xa a la longitud del cromosoma metacéntrico mayor y Xb a la del menor, únicamente en hembras, como se observa en la Tabla 5.

Para efectuar la misma prueba en machos, se denominó al grupo Xc longitud del metacéntrico mayor y Xd al metacéntrico menor (Tabla 6).

TABLA I. Frecuencia de números cromosómicos diploides encontrados en Electris pisonis (Gmelin).

Número diploide	Frecuencia
38	2
39	3
40	6
41	10
42	12
43	17
44	25
45	30
46	39
47	2
48	1
70	1

Número total de campos estudiados, 148

Número total de ejemplares : 9 hembras y 10 machos.

TABLA 2. Tamaño de los pares cromosómicos del cariotipo de Eleotris pisonis.

par cromosómico	p	q	p + q	r	clasificación
1	2.355(2.69) [#]	3.203(2.98) [#]	3.0(2.56) [#]	1.36	metacéntrico
2	----	5.56	5.56	----	telocéntrico
3	----	5.00	5.00	----	"
4	----	4.95	4.95	----	"
5	----	4.86	4.86	----	"
6	----	4.75	4.75	----	"
7	----	4.72	4.72	----	"
8	----	4.63	4.63	----	"
9	----	4.57	4.57	----	"
10	----	4.54	4.54	----	"
11	----	4.48	4.48	----	"
12	----	4.43	4.43	----	"
13	----	4.32	4.32	----	"
14	----	4.25	4.25	----	"
15	----	4.16	4.16	----	"
16	----	4.07	4.07	----	"
17	----	3.98	3.98	----	"
18	----	3.85	3.85	----	"
19	----	3.83	3.83	----	"
20	----	3.78	3.78	----	"
21	----	3.67	3.67	----	"
22	----	3.38	3.38	----	"
23	----	2.65	2.65	----	"

medidas tomadas del cromosoma pequeño.

TABLE 3. Longitudes Relativas en 10 cariotipos y promedios en cada par cromosómico.

PAR	CARIOTIPOS										$\sum_{i=1}^x$	\bar{x}
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X		
1	4.34	3.99	5.12	3.79	5.56	3.70	4.87	4.72	4.67	6.25	47.01	4.70
2	6.62	5.40	6.56	5.44	5.56	5.61	6.08	5.86	5.22	5.27	57.62	5.76
3	5.35	5.31	6.30	4.88	5.00	5.42	5.26	5.18	5.05	5.17	52.92	5.29
4	4.68	5.19	5.96	4.82	4.95	5.18	5.26	4.94	4.67	4.88	50.53	5.05
5	4.68	5.02	5.33	4.40	4.36	5.11	5.07	4.94	4.96	4.77	49.10	4.91
6	4.66	4.94	5.14	4.38	4.75	5.01	4.93	4.78	4.82	4.66	48.07	4.80
7	4.59	4.73	4.84	4.37	4.72	4.97	4.91	4.68	4.71	4.63	47.15	4.71
8	4.52	4.66	4.81	4.30	4.63	4.75	4.90	4.59	4.68	4.57	46.40	4.64
9	4.46	4.60	4.56	4.30	4.57	4.72	4.80	4.56	4.61	4.49	45.66	4.56
10	4.41	4.60	4.54	4.30	4.54	4.62	4.63	4.50	4.58	4.44	45.16	4.51
11	4.27	4.58	4.51	4.27	4.48	4.52	4.59	4.40	4.51	4.34	44.47	4.44
12	4.27	4.54	4.49	4.26	4.43	4.47	4.58	4.38	4.39	4.26	44.07	4.40
13	4.21	4.43	4.42	4.24	4.32	4.37	4.56	4.32	4.35	4.15	43.37	4.33
14	4.05	4.43	4.30	4.22	4.25	4.35	4.56	4.18	4.32	4.13	42.79	4.28
15	4.01	4.35	4.13	4.16	4.16	4.24	4.48	4.16	4.23	4.05	41.97	4.20
16	3.92	4.24	4.02	4.16	4.07	4.05	4.33	4.10	4.13	3.99	41.01	4.10
17	3.91	4.18	3.89	4.08	3.98	3.99	4.24	4.10	4.06	3.95	40.38	4.04
18	3.87	4.10	3.74	4.02	3.85	3.78	4.06	3.90	3.99	3.93	39.24	3.92
19	3.82	4.03	3.56	3.98	3.83	3.64	3.88	3.78	3.88	3.87	38.27	3.82
20	3.76	3.84	3.44	3.95	3.78	3.63	3.82	3.74	3.74	3.80	37.50	3.75
21	3.62	3.84	3.44	3.90	3.67	3.49	3.51	3.72	3.65	3.59	36.43	3.64
22	3.62	3.78	3.17	3.63	3.38	3.39	3.49	3.32	3.38	3.51	34.59	3.46
23	3.29	3.23	2.63	3.36	2.65	3.30	2.90	2.60	3.09	3.07	30.12	3.01

TABLA 4.- Números y Fórmulas cromosómicas de la Familia Gobiidae.

Género y especie	Número diploide	Fórmula cromosómica.
(1) <u>Tridentiger obscurus</u>	44	
(1) <u>Acanthogobius flavimanus</u>	44	
(1) <u>Gobius similis</u>	44	
(1) <u>Gobius abei</u>	46	
(1) <u>Chaenogobius urotaenia</u>	44	
(1) <u>Chaenogobius isaza</u>	46	
(1) <u>Boleophthalmus pectinirostris</u>	46	
(1) <u>Periophthalmus cantonensis</u>	46	
(1) <u>Mogruna obscura</u>	62	
(2) <u>Gillichthys seta</u>	44	6m / 14st / 24t.
(2) <u>Gillichthys mirabilis</u>	44	12st / 32t.
(3) <u>Boleophthalmus glaucus</u>	46	6m / 10sm / 2T / 1st.
(3) <u>Glossogobius giuris</u>	46	4t / 42T.
(3) <u>Gobioides rubiduncus</u>	46	1m / 13sm / 5st / 3t / 1T
(4) <u>Trypauchen vagina</u>	46	6m / 3sm / 5st / 3t / 6T
(5) <u>Brachygobius nunus</u>	48	
(6) <u>Quietula y-cauda</u>	42	42t.
(6) <u>Quietula quaymasiae</u>	42	6m / 4sm / 32t.
(7) <u>Tridentiger trigonocephalus</u>	44	

Claves de números que corresponden a los investigadores :

- (1) Nogusa S.
- (2) Chen T.R. y Ebeling A.W.
- (3) Manna G.K. y Prasad R.
- (4) Khuda-Bukhsh A.R.
- (5) Hamilton-Buchanan
- (6) Cook C. Peter
- (7) Arai y Kobayasi.

TABLA 5.- Longitudes relativas de cromosomas metacéntricos en hembras.

Clave del ejemplar	Xa	Xb
8 B ♀	3.6	1.9
9 R ♀	2.9	1.9
1 R ♀	3.4	2.5
1 R ♀	2.5	1.6
1 R ♀	2.4	1.9
1 R ♀	2.1	1.6
6 R ♀	3.8	2.6
6 J ♀	3.0	2.8
13 R ♀	2.9	2.0
3 CM ♀	3.0	2.6
1 - ♀ - B	2.2	1.6
1 - ♀ - B	2.7	1.9
1 - ♀ - B	3.4	2.2
1 - ♀ - B	3.5	1.9
1 - ♀ - B	2.5	1.7
1 - ♀ - B	2.8	2.1
1 - ♀ - B	2.9	2.2
1 - ♀ - B	3.3	1.9
1 - ♀ - B	3.8	2.6
1 - ♀ - B	2.9	2.4
1 - ♀ - B	2.6	2.2
1 - ♀ - B	2.8	2.3
1 - ♀ - B	4.3	3.4
2 - ♀ - B	3.2	2.5
1 - ♀ - B	2.9	2.2

TABLA 6.- Longitudes relativas de cromosomas metacéntricos en machos.

Clave del ejemplar	Xc	Xd
6 C C ⁺	3.7	3.1
1 J C ⁺	3.4	2.7
6 C C ⁺	3.8	2.2
1 D C ⁺	2.3	1.7
7 C C ⁺	2.9	2.6
2 J C ⁺	3.0	2.4
3 R C ⁺	5.0	3.0
2 J C ⁺	1.8	1.5
3 R C ⁺	2.1	2.0
2 J C ⁺	2.7	2.1
1 R C ⁺	2.6	2.3
5 R C ⁺	3.0	2.8
12 R C ⁺	3.4	2.4
14 R C ⁺	2.8	2.3
16 R C ⁺	3.0	2.6
1 J C ⁺	3.0	2.6
1 J C ⁺	2.7	2.2
1 J C ⁺	3.1	2.5
1 J C ⁺	3.0	2.4
2 J C ⁺	3.0	2.5
2 J C ⁺	3.1	2.4
2 J C ⁺	2.8	2.7

FIGURA I.- Cariotipo de macho, tomado con objetivo de 100x.

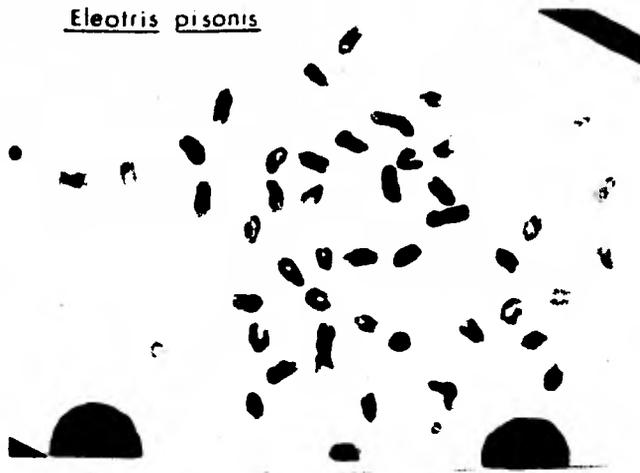
Eleotris pisonis



MACHO



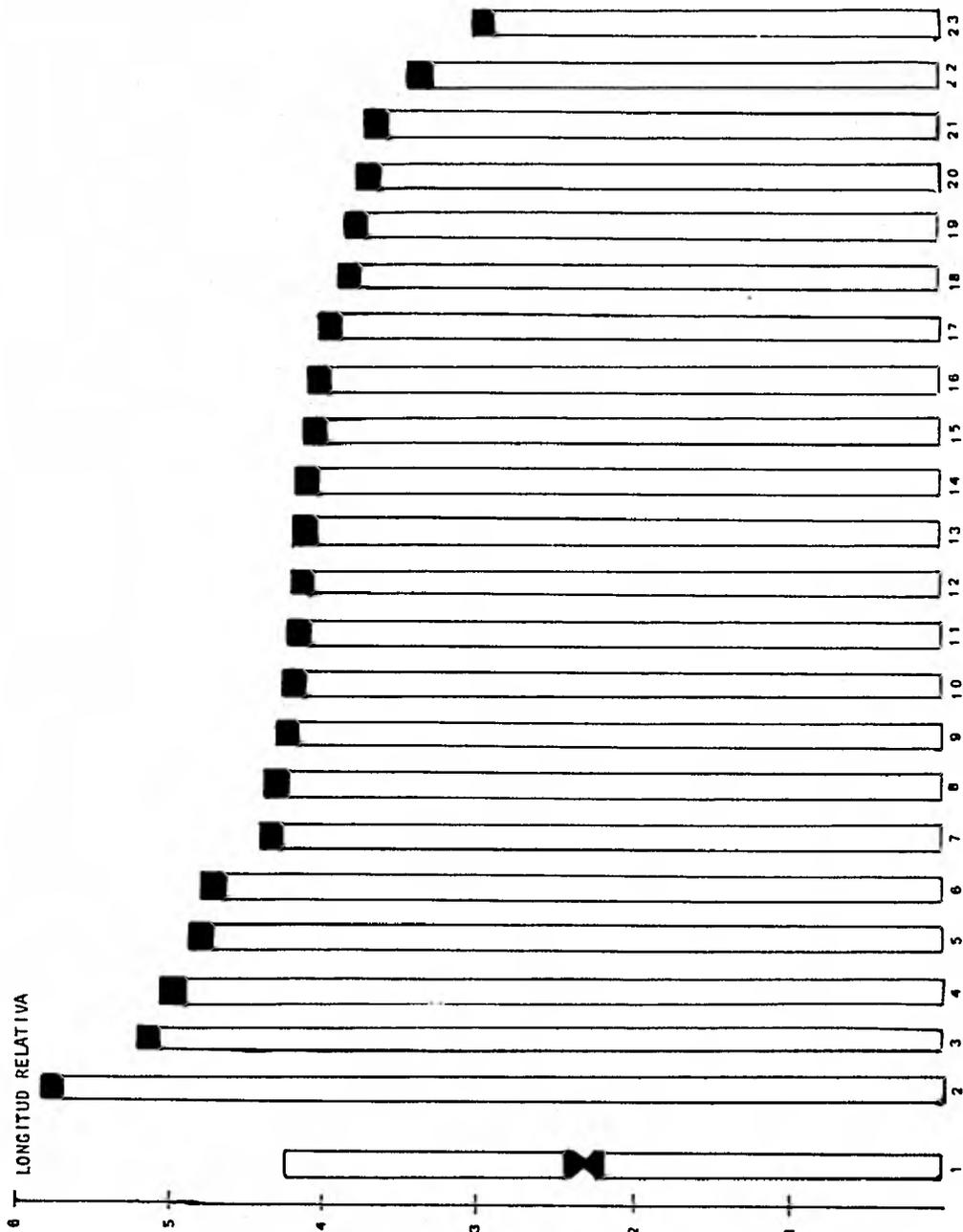
FIGURA II.- Cariotipo de hembra, tomado con objetivo de 100x.



HEMERA



LONGITUD RELATIVA



El cálculo de los estadísticos para aplicar la prueba de "t" en las hembras, es de la siguiente forma:

$$\begin{array}{llll} \bar{X}_a = 3.016 & \sum X_a = 75.40 & \sum X_a^2 = 234.080 & N = 25 \\ \bar{X}_b = 2.180 & \sum X_b = 54.50 & \sum X_b^2 = 123.320 & \end{array}$$

Para obtener $S_{D\bar{x}}$ es necesario primero:

$$S_{D\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum X_a^2 + \sum X_b^2}{N(N-1)}} \quad \text{si } N_1 = N_2$$

$$\text{donde : } \sum X_a^2 = \sum X_a^2 - \frac{(\sum X_a)^2}{N} \quad \sum X_b^2 = \sum X_b^2 - \frac{(\sum X_b)^2}{N}$$

Para el presente caso se utiliza así :

$$\sum X_a^2 = 234.080 - \frac{5685.160}{25} \quad \sum X_a^2 = 6.674$$

$$\sum X_b^2 = 123.320 - \frac{2970.250}{25} \quad \sum X_b^2 = 4.420$$

$$S_{D\bar{x}} = \sqrt{\frac{6.674 + 4.420}{25(24)}} \quad S_{D\bar{x}} = 0.136$$

Efectuando ahora el contraste de hipótesis mediante la prueba "t" tenemos que :

$$\begin{array}{ll} 1) H_0: \bar{X}_a = \bar{X}_b & \text{donde : } H_0 \text{ es la hipótesis nula y} \\ H_a: \bar{X}_a \neq \bar{X}_b & H_a \text{ es la hipótesis alterna} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 2) \text{ valor de significancia } 0.05 \\ \text{grados de libertad } N_1 + N_2 - 2 = 48 \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 2) \\ \text{grados de libertad} \end{array}} \right\} 2.02$$

$$3) \quad t = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_b}{S_{D\bar{x}}} \quad t = \frac{3.016 - 2.180}{0.136} \quad t = 6.147$$

4) Se acepta H_a : existe diferencia significativa entre las longitu-

des de ambos cromosomas del par metacéntrico en las hembras.

El cálculo de los estadísticos ahora en los machos es :

$$\bar{X}_c = 3.009 \quad \sum X_c = 66.200 \quad \sum X_c^2 = 207.842 \quad N = 22$$

$$\bar{X}_d = 2.409 \quad \sum X_d = 53.000 \quad \sum X_d^2 = 130.660$$

Para obtener $S_{D\bar{X}}$ es necesario primero :

$$S_{D\bar{X}} = \sqrt{\frac{\sum X_c^2 + \sum X_d^2}{N(N-1)}} \quad \text{si } N_3 = N_4$$

Sustituyendo directamente en la fórmula :

$$\sum X_c^2 = 207.842 - \frac{4382.440}{22} \quad \sum X_c^2 = 8.640$$

$$\sum X_d^2 = 130.660 - \frac{2809.000}{22} \quad \sum X_d^2 = 2.978$$

$$S_{D\bar{X}} = \sqrt{\frac{8.640 + 2.978}{22(21)}} \quad S_{D\bar{X}} = 0.159$$

Efectuando ahora el contraste de hipótesis mediante la prueba "t" tenemos que :

1) $H_0 : \bar{X}_c = \bar{X}_d$

$H_a : \bar{X}_c \neq \bar{X}_d$

2) valor de significancia 0.05 } 2.021
grados de libertad 42 }

3) $t = \frac{\bar{X}_c - \bar{X}_d}{S_{D\bar{X}}} \quad t = \frac{3.009 - 2.409}{0.159} \quad t = 3.774$

4) Se acepta H_a : existe diferencia significativa entre las longitudes de ambos cromosomas metacéntricos en los machos.

Se procedió posteriormente con los mismos datos a probar la exigencia de diferencias entre los cromosomas grandes de machos y de hembras, como se muestra a continuación:

1) Ho: $\bar{X}_a = \bar{X}_c$

Ha : $\bar{X}_a \neq \bar{X}_c$

2) valor de significancia 0.05
grados de libertad $22 + 25 - 2 = 45$ } 2.02

$$S_{D\bar{X}} = \sqrt{\frac{6.674 + 8.640}{45} (1/25 + 1/22)} \quad S_{D\bar{X}} = 0.170$$

3) $t = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_c}{S_{D\bar{X}}} \quad t = \frac{3.016 - 3.009}{0.17} \quad t = 0.041$

4) Se acepta Ho: No existen diferencias entre los cromosomas grandes tanto en hembras como en machos.

ahora se efectúa lo mismo con los cromosomas pequeños en ambos sexos:

1) Ho : $\bar{X}_b = \bar{X}_d$

Ha : $\bar{X}_b \neq \bar{X}_d$

2) valor de significancia 0.05
grados de libertad $22 + 25 - 2 = 45$ } 2.02

$$S_{D\bar{X}} = \sqrt{\frac{4.420 + 2.978}{45} (1/25 + 1/22)} \quad S_{D\bar{X}} = 0.407$$

3) $t = \frac{\bar{X}_b - \bar{X}_d}{S_{D\bar{X}}} \quad t = \frac{2.180 - 2.409}{0.407} \quad t = -.563$

4) Se acepta Ho : No existen diferencias en las longitudes entre ambos cromosomas pequeños de los dos sexos.

DISCUSION.

La técnica utilizada tiene limitaciones y alcances específicos.

No se puede decir que es un procedimiento totalmente eficaz y preciso, puesto que existen variables fuera de control, dadas por las condiciones biológicas del pez, por otra parte, la manipulación durante el proceso técnico, como se menciona adelante.

Se ha utilizado el epitelio branquial debido a que, por la continua descamación a la cual está sujeto, proporciona una mayor renovación de células y, por tanto, de células en mitosis. Es conveniente trabajar con tipos de tejidos cuya proliferación permita subsanar la pérdida celular causada durante el desempeño de la técnica.

El pretratamiento con el cloruro de calcio, del cual existe poca información en la bibliografía (Subrahmayam, 1945, mencionado en Denton, 1973), fué utilizado porque observé que produce un notorio incremento de mitosis, es probable que bajo concentraciones y dosis determinadas de ésta sustancia, obtener un control porcentual de mitosis, lo que proporciona mayor posibilidad de encontrar campos metafásicos suficientes.

El empleo de la colchicina es fundamental en la obtención de cromosomas en metafase, dado que este agente mitostático inhibe la polimerización de la tubulina, que forma los microtúbulos del huso acromático, deteniéndolo de esta manera la división celular (Swanson y Webster, 1977). Sin embargo, este alcaloide tiene otro efecto indeseable, que es, la contracción exagerada de las cromátidas. Ello dificulta la observación de detalles finos y lo principal, produce

alteraciones de la forma de los cromosomas que por ello pueden ser identificados erróneamente. Por ejemplo, un cromosoma subtelocéntrico, que presente un brazo pequeño corto, puede ser identificado o clasificado como telocéntrico, si la acción de la colchicina ha contraído sensiblemente a dicho brazo.

Dadas estas alteraciones inevitables y a la necesidad del uso del mitostático, sólo queda por hacer un análisis exhaustivo y estadístico sobre la morfología de los elementos del complemento cromosómico (Iordansky et al, 1975).

Se ha observado que el incremento de la temperatura durante el choque hipotónico facilita el transporte pasivo de solutos difusibles a través de la membrana, por lo cual se ha utilizado como medio auxiliar en la técnica, usándose a la vez la solución hipotónica de cloruro de potasio a la concentración de 0.075 Molar a 37 °C. Tal pareciera que la membrana disminuye su rigidez al aumentar la energía cinética en sus moléculas constitutivas, facilitando la permeabilidad de ésta a electrolitos de actividad osmótica.

El goteo es un proceso análogo al del aplastamiento, y debido a que el tejido está disociado y que se encuentra en suspensión, se utilizó con buenos resultados.

Es no obstante, necesario tomar en cuenta el efecto que tendrá el impacto de la gota sobre el portaobjetos, debido a la altura desde la cual se gotee, ya que de un adecuado goteo dependerá en buena parte el hallazgo de campos íntegros, puesto que la gran di-

ferencia de números cromosómicos encontrados, hacen sospechar que - hubo pérdida de cromosomas en varios campos.

El colorante de Giemsa en solución, de acuerdo a la modificación de Denton (1973), lo he utilizado con buenos resultados, además el tratamiento es rápido y conviene sea usado bajo control de las condiciones de acidéz por medio de buffer de fosfatos, que se usa a -- pH de 6.8 .

Por último no es suficiente tener preparaciones adecuadas y buenos campos. Es indispensable así mismo lograr amplificaciones adecuadas mediante microfotografías cuidadosas, así como revelados e impresiones bien elaboradas.

En conclusión, la estandarización de la técnica utilizada, permitió obtener un número de campos suficientes en la cantidad y en la calidad para el desarrollo del presente trabajo.

Los pasos técnicos han sido utilizados en otros peces de la familia de los Góbidos, con resultados igualmente satisfactorios. - Sin embargo, es muy probable que deban realizarse algunas modificaciones, si llegara el caso de trabajar con organismos pertenecientes a Taxa distintos.

Por otra parte, cuando enfocamos en el microscopio la imagen de un cromosoma, estamos tomándolo por planos de transmisión de la --- luz, ya que los cromosomas son cuerpos tridimensionales y si en un momento dado nuestro plano de enfoque se coloca por arriba del borde superior, podemos observar detalles de imagen que se dirigen ha-

cia el exterior del cuerpo cromosómico, y por otra parte, estaremos eliminando de la observación detalles que se encuentren en planos inferiores, es decir, en otros niveles de foco que no serán observables pero que también formarán parte del contorno y cuerpo cromosómico.

Por esta razón se puede deducir que los planos de enfoque de los cromosomas en la observación y la fotografía, nos alteran en una -- gran parte los detalles morfológicos y por lo tanto las medidas. Se debe añadir a esto la incertidumbre ocasionada por los instrumentos de medición, así como en la medición misma de cada uno de los elementos del complemento cromosómico. Ahora bien, si consideramos que la imagen que tenemos en la fotografía es la que más se aproxima a la del cromosoma real, situando al cromosoma dentro de un mismo plano bidimensional, lo cual realmente es imposible, ya que este cuerpo por más deshidratado y aplanado que se encuentre no podrá presentar características bidimensionales, por consecuencia no es posible observar la imagen real y exacta de todo el cromosoma.

Por lo anteriormente descrito, tomar únicamente los bordes como los límites del cromosoma en la fotografía, está incluyendo una -- gran porción de error. La exacta medición que incluiría la profundidad, la longitud y anchura del cuerpo cromosómico así como las posibles deformaciones que experimente el cuerpo durante todo el proceso de manipulación citogenética, sería la única forma de establecer un cariotipo lo más verdadero posible.

La forma de obtener cariotipos correctos, incluiría la estimación de diversos parámetros, adicionando si fuera posible, el tratamiento de las células con algún agente que disminuya la contracción a expensas, si fuera necesario disminuir el efecto del mitotático, los posibles parámetros serían los siguientes :

- i) Estimación del grosor, anchura y longitud de cada cromosoma, mediante la obtención de imágenes tridimensionales.
- ii) Estimar el peso de cada una de las imágenes de los elementos cromosómicos, ya sea a partir de los negativos o las impresiones fotográficas, siempre y cuando las condiciones técnicas fueran las mismas.
- iii) Calcular la cantidad de ADN nuclear o cromosómico.
- iv) Calcular la proporción de eucromatina/heterocromatina nuclear.

Todo esto complementaría la construcción del cariotipo. Con base a la forma, dimensiones, cantidad de ADN nuclear y proporción de cromatinas, se podría establecer rangos de variación o relaciones citogenéticas a nivel de individuos y/o poblaciones.

Los ejemplares exhiben diversos números cromosómicos, esta variación por el momento no tienen explicación válida, ya que fueron colectados los especímenes en iguales circunstancias :

- a) fueron ejemplares adultos y jóvenes por lo cual no influye la edad de organismo.
- b) colectados en la misma época del año, por lo que no puede haber diferencias estacionales.

c) se incluyeron organismos de la misma localidad, descartando así la posibilidad de haber muestras de distintas poblaciones.

Pero cabe la posibilidad de que esta especie esté en proceso de evolución de su cariotipo, puesto que existen altas frecuencias de números cromosómicos de 44, 45 y 46, y existe poca frecuencia de otros números diploides.

Se ha detectado que en el par metacéntrico de esta especie, la existencia de un cromosoma pequeño y el otro grande. Habiendo efectuado un estudio estadístico de la prueba de " t " en 25 pares birrámeos de hembras y 22 de machos, los cuáles exhiben esta diferencia, se ha obtenido un valor de $t = 6.147$, en el caso de las hembras y en los machos fué de $t = 3.774$, cantidades por arriba del valor permitido para aceptar la Hipótesis nula que es de 2.02, tomando un nivel de significancia de 0.05. Ante estos resultados, es posible establecer una conclusión, dado que la muestra que fué empleada puede considerarse como suficiente.

Por el momento los resultados estadísticos demuestran que existe una diferencia significativa entre la longitud de los cromosomas del único par metacéntrico en ambos sexos dentro de la misma especie.

Ahora bien, cuando se practicó nuevamente la misma prueba entre los cromosomas grandes de ambos sexos y también entre los cromosomas pequeños, se obtuvo :

- 1) el valor de "t" = 0.041 para el caso de los cromosomas grandes.
- 2) el valor de "t" = 0.056 para el caso de los cromosomas pe ---

queños en ambos sexos. El valor para aceptar la hipótesis alterna - debe ser mayor a 2.02 . Los valores demuestran que no es posible - concluir que haya diferencia significativa entre cromosomas grandes presente en ambos sexos, así como entre los pequeños.

Es probable que la desigualdad longitudinal del par metacéntrico sea debido a los siguientes mecanismos, que deberán ser probados, - en sucesivas investigaciones :

- 1.- Dos fusiones céntricas Robertsonianas de pares cromosómicos --- acrocéntricos, un par grande y otro pequeño, lo que implica que el organismo del cual evolucionó E. pisonis tenía un complemento cromosómico de 48 cromosomas acrocéntricos - lo cual postula Ohno et al, 1968 -.
- 2.- Una delección de un fragmento de brazo largo de un cromosoma sub metacéntrico y la adición del fragmento a un brazo corto de otro submetacéntrico, lo cual no altera la cantidad cromosómica ni el equilibrio génico.
- 3.- Formación de Isocromosomas debido a la defectuosa separación de cromátidas de un cromosoma submetacéntrico, este proceso sí altera la cantidad de un cromosoma de más, lo que implicaría que el organismo ancestro tendría 44 cromosomas acrocéntricos y uno submetacéntrico de tamaño mediano o grande.
- 4.- La aparición de dos inversiones pericéntricas, uno en un cromosoma acrocéntrico grande y otro en un acrocéntrico pequeño, sugiriendo así la posibilidad de que el ancestro también tendría

46 cromosomas acrocéntricos. En este caso los únicos cromosomas birrámeos no serían homólogos, lo que podría ser detectado probablemente con estudios de bandeo G.

5.- La aparición del par metacéntrico como proceso de diferenciación hacia cromosomas sexuales, puesto que existe una aparente disminución de la longitud del cromosoma pequeño metacéntrico del macho con respecto al cromosoma pequeño de la hembra.

6.- Podría pensarse también en la existencia de un factor de contracción diferencial entre los cromosomas, causado por condiciones desconocidas, por lo cual uno de éstos cromosomas sufriría mayor contracción que su homólogo.

Se propone investigar con mayor detalle este par metacéntrico - en especial, sometiéndolo a los cromosomas a bandeo G y al análisis de figuras meióticas, así sería posible descubrir, una causa concreta sobre esta diferencia de longitudes.

De entre los Góbidos estudiados cariotípicamente hasta el momento, Eleotris pisonis, tiene una posición filogenética primitiva, debido a su pequeño número de cromosomas birrámeos y su número relativamente alto de cromosomas monorrámeos, pero su ubicación en lo que respecta al número diploide está dentro de la mediana en la distribución de números diploides de la familia.

Cuando se comparan algunos cariotipos hasta el momento reportados, parece haber una relación, ya sea con base en el número cromos-

sómico o a la fórmula cromosómica, o con base en ambas.

Por ejemplo, tendríamos en un grupo :

- i) Glossogobius giuris con 46 cromosomas, $4t \neq 42T$, número fundamental 50, estaría situado también Eleotris pisonis con 46 cromosomas con $2m \neq 44t$ y número fundamental 48. Considerándose a G. giuris como un Góbido con cariotipo primitivo.
- ii) Quietula y-cauda en otro grupo distinto con 42 cromosomas todos telocéntricos y Quietula quaymasie con 42 también pero constituido por $6m \neq 4sm \neq 32t$, considerándose este último con cariotipo más reciente.
- iii) Gillichthys mirabilis con 44 ($12st \neq 32T$) y Gillichthys seta con $6m \neq 14st \neq 24t$, constituido también de 44 cromosomas en total, como se puede observar también se considera como más reciente aquél que presente menos monorráneos (Denton, 1973).

Como se observa, la familia tiene cierta diversidad de números diploides y fórmulas cromosómicas (Tabla 4), pero existen algunas semejanzas numéricas entre géneros relacionados, variando frecuentemente en la fórmula cromosómica, lo cual es posiblemente debido a rearrreglos cromosómicos, que no incluyen hasta el momento translocaciones Robertsonianas, pero sí probablemente deleciones y adiciones, inversiones para y pericéntricas.

Se puede decir que E. pisonis se encuentra dentro del grupo de Góbidos con cariotipo primitivo (Denton, 1973).

CONCLUSIONES.

La especie Electris pisonis muestra un complemento cromosómico - diploide de 46 cromosomas, 44 son telocéntricos y 2 son metacéntricos .

El Número Fundamental establecido es de 48 y las longitudes relativas varía desde 3.01% hasta 6.04 % .

Se observó que existe una diferencia estadística significativa - entre la longitud de los cromosomas birrámeos, y se probó estadísticamente a un nivel de significación de 0.05 , practicando la prueba de " t ", en una muestra constituida de 47 campos obtenidos de 6 hembras y 7 machos.

Se explican seis procesos probables que dieron origen a estos cromosomas metacéntricos desiguales longitudinalmente:

- 1.- Dos fusiones céntricas Robertsonianas.
- 2.- Delección y adición de cromosomas submetacéntricos.
- 3.- Formación de isocromosomas.
- 4.- Dos inversiones pericéntricas.
- 5.- Diferenciación de autosomas hacia cromosomas sexuales.
- 6.- La acción de un factor que produjo contracción diferencial sobre uno de los cromosomas birrámeos.

Se sugiere practicar dos procesos de estudios citogenéticos que solucionarían este enigma, tales son : el bandeo cromosómico G y el análisis de figuras meióticas .

También menciono que se encontraron varios números cromosómicos

desde 38 al 48 y 70, en el que la mayor frecuencia corresponden a los números 44, 45 y 46, tal variación no puede ser debida a :

- 1) el análisis en la muestra de distintas poblaciones.
- 2) que no es causado por factores estacionales.
- 3) que no es causado tampoco por el estado fisiológico o edad cronológica del espécimen.

Se proponen algunos parámetros complementarios para la elaboración de cariotipos tales como :

-) Estimación del grosor, anchura y longitud de cada cromosoma.
-) Estimación del peso de cada una de las imágenes de los cromosomas a partir de impresiones fotográficas o sus negativos.
-) Cálculo de la cantidad de ADN nuclear o cromosómico.
-) Cálculo de la proporción de cromatinas.

Esto proporcionará mayores rangos de validéz y certidumbre en futuros estudios de ésta naturaleza.

Los datos contenidos en esta tesis no tienen hasta el momento otra intención mas que la de aportar información citogenética de esta especie. Es posible que a partir de ello se puedan elaborar estudios más profundos que, por una parte, nos den un conocimiento más certero acerca de rasgos taxonómicos de especies que por alguna causa no se han clasificado definitivamente en algún taxón definido o haya duda en su colocación definitiva y, por otro lado, aporte datos que orienten en el discernimiento de las relaciones filogenéticas entre ciertas familias, géneros y especies, y más aún, comprender procesos evolutivos que la población en cuestión esté experimentando.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Castro Aguirre José L.
Catálogo Sistemático de los peces marinos que penetran a las --
aguas continentales de México con aspectos zoogeográficos y --
ecológicos.
Serie Científica No. 19 Dirección General del Instituto -
de Pesca. México 1978.
- 2.- Castro Pérez Arturo.
Patrón de Bandas G de Spermophilus spilosoma cabrerai (Dal---
quest, 1951) (Sciuridae-Rodentia).
Tesis Profesional. UNAM. Facultad de Ciencias. 1980.
- 3.- Crick, Francis.
Central Dogma of Molecular Biology.
Nature (1970) 227 pp. 561-563.
- 4.- De Lille, José.
Biología General.
Ed. E.C.L.A.L. México D.F. 1955.
- 5.- Denton E.T.
Fish Chromosome Methodology.
Charles C. Thomas, Publisher. 1973 Illinois, USA.
- 6.- Downie, M.N. and Heath, R.W.
Métodos Estadísticos Aplicados.
Ed. Harla 1973. México.

7.- De la Sota R. Elías.

La Taxonomía y la Revolución en las Ciencias Biológicas.
Monografías Científicas, OEA. Serie de Biología. 1973.
Monografía No. 3

8.- Ferris, D.S. and Whitt, S.G.

Loss of Duplicate gene expression after polyploidisation.
Nature vol. 265 No. 5591 pp: 258-260. 1977.

9.- Fredga, K.

Chromosomal changes in vertebrate evolution.
P. ROY SOC. B 199 (1136):377-397. 1977.

10.- Georgiev G.P. and Bakaev V.V.

Three levels of structural organization of eukariotic chromo-
somes.
Mol. Biol. (Mosc.) 12(6):1205-1230. (1978)1979.

11.- Iordansky A.B. et al.

Influence of differential chromosome spiralization on karyo--
type morphology.
Nature 253 (5494): 734-735. 1975.

12.- Klug A.

Structure of eukaryotic chromosomes and chromatin.
Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 283(997):233-240
1978.

- 13.- Kornbergh D. and Klug A.
The Nucleosome.
Sci. Amer. 244, 2 : 52. 1981.
- 14.- Lehninger, A.L.
Bioquímica: Las bases moleculares de la Estructura y Función
Celular.
Ed. Omega. 5a. Reedición Barcelona 1972.
- 15.- Matti S. Al-Aish.
Human chromosome Morphology I. Studies on Normal Chromosome
characterization, classification and Karyotyping.
Can. J. Genet. Cytol. 11:370-381. 1969.
- 16.- Ohno, S. and Wolf, U. and Atkin, N.
Evolution from fish to mammals by gene duplication.
Hereditas 59: 169-187. 1968.
- 17.- Swanson, C. and Webster, P.
The Cell.
4a. Ed. Prentice-Hall Foundation of Modern Biology Series. 1977.
- 18.- Uribe A. Manuel.
Estudios Citogenéticos en algunas especies de Roedores y La---
gomorfos de México.
Tesis Doctoral. UNAM. Facultad de Ciencias, 1977.

19.- Uyeno T. and Miller R.R.

Second discovery of multiple sex chromosomes among fishes.
Experientia 28(2): 223-225. 1972.

20.- Wald George.

Life in the Second and Third Periods; or why Phosphorus
and Sulphur for High-Energy Bonds ?

Horizons in Biochemistry

M. Kasha and B. Pullman (eds.) 1962. Academic Press N.Y.
pp: 127-142.

21.- Whitt, S.G. and Philipp P.D. and Childers, F.W.

Aberrant Gene Expression During the Development of Hybrids
Sunfishes (Perciformes, Teleostei).

Differentiation 9, 97-109 (1977).

