



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Ciencias**

**ESTUDIOS DE BANDEO CROMOSOMICO  
EN LA TRUCHA ARCO-IRIS  
(*Salmo gairdneri*)**

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G O**

P R E S E N T A :

**Juan Carlos Lara Perea**

MEXICO, D. F.

1984



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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 está 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.

"La historia de la tierra está registrada en sus  
costras; la historia de los organismos vivientes  
está inscrita en los cromosomas".

H. Kihara, 1947.

## CONTENIDO

INTRODUCCION.....	Pág. 1
ANTECEDENTES.....	Pág. 5
MATERIAL Y METODO.....	Pág. 13
RESULTADOS.....	Pág. 20
DISCUSION.....	Pág. 33
CONCLUSION.....	Pág. 44
RECOMENDACIONES.....	Pág. 45
BIBLIOGRAFIA.....	Pág. 46

## INTRODUCCION

La explosión demográfica ha determinado la necesidad de que el hombre busque los sistemas óptimos de explotación de los cuerpos de agua. Es por ello, que en vistas al aprovechamiento de los recursos en cuerpos de aguas naturales, se haya tendido en los últimos años a la intensificación de cultivos de peces para consumo humano y forrajero. De ahí se desprende la necesidad de incrementar las investigaciones que en un futuro próximo provean de bases firmes para el cultivo de especies adecuadas, (líneas puras o híbridas), con el fin de incrementar los recursos pesqueros.

En la actualidad se están llevando a cabo programas de selección artificial en las piscifactorías dedicadas a la reproducción de peces y a su siembra en algunos ríos, lagos, lagunas y presas, a fin de proporcionar las características morfológicas deseadas en los individuos de una población, como pueden ser: Mayor biomasa, coloración específica que les dé una mejor aceptación para el consumo humano, mejor factor de conversión alimenticia, etc. .

La Genética es por tanto, una de las herramientas indispensables que permiten al biólogo y al piscicultor el incrementar la producción, como es el caso de la trucha arco-iris (Salmo gairdneri o Trutta iridea), Fig. 1, de la que en 1980, el Departamento de Pesca registró un volumen de captura para consumo nacional de 1034 tons., que representaron una ganancia de \$ 74,454,858.00 .

Por otra parte, los estudios genéticos en los organismos no sólo revisten importancia en cuanto a la economía del país, sino que permiten esclarecer la problemática evolutiva de las especies, relacionando filogenéticamente a las poblaciones que en la actualidad se encuentran aisladas reproductiva o espacialmente.

Para la caracterización de las poblaciones de organismos acuáticos y terrestres, ha surgido una rama nueva de la Genética, la Citogenética, llamada así por H. J. Muller a principios de siglo. Esta disciplina producto de la fusión de la Genética y la Citología se encarga del estudio de los cromosomas, estructuras responsables de la transmisión de los caracteres hereditarios en los organismos.

El número de pares cromosómicos, así como su forma y tamaño, son caracteres particularmente estables en las poblaciones pertenecientes a una misma especie. Por ello, los estudios Citogenéticos resultan adecuados para la detección de poblaciones diferentes.

En los cariotipos de peces, todos los cromosomas con excepción de los sexuales, (si se presentan), se encuentran representados

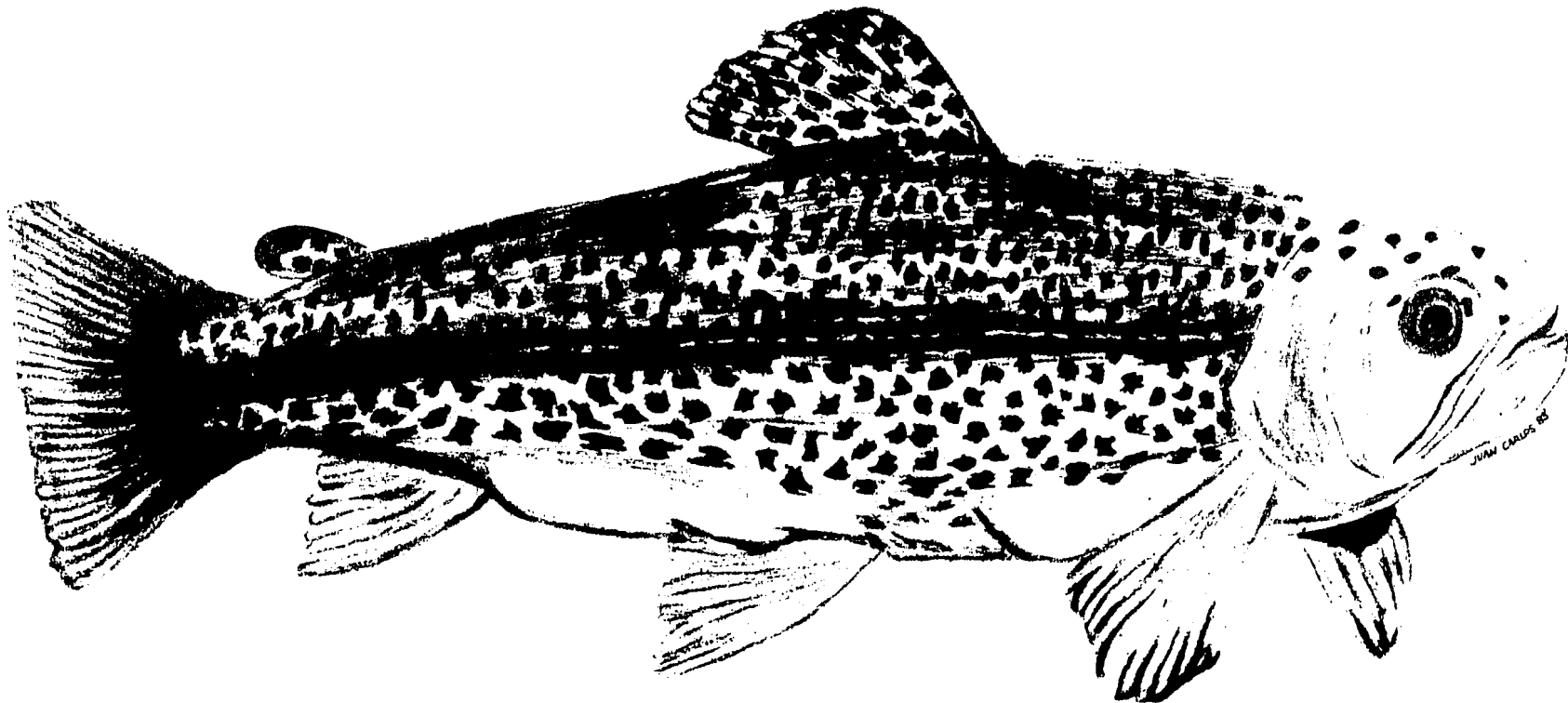


fig. 1 TRUCHA ARCO-IRIS

Salmo gairdneri

por pares de elementos similares. Los diferentes pares se pueden identificar por el tamaño y la posición del centrómero. (Patau, 1965).

Con las técnicas del bandeo cromosómico, se ha extendido la posibilidad de identificar a los diferentes pares. (Comings, 1978). Es por ello que en la actualidad, en los trabajos de Citogenética, se emplean a menudo técnicas de bandeo cromosómico para la identificación de los cromosomas homólogos, evitando con ello los posibles errores en la determinación y diferenciación de los cromosomas no homólogos del cariotipo. Otra ventaja que presentan las técnicas de bandeo cromosómico, es la gran facilidad de análisis para la detección de alteraciones cromosómicas estructurales.

Las hipótesis que explican las reacciones que ocurren en los cromosomas durante el bandeo son muy variadas y hasta el momento no existe una sola que reúna todas las características necesarias para corroborar lo que sucede exactamente en el DNA que permite la formación de un patrón de bandas o tinción diferencial uniforme.

A pesar de que el mecanismo molecular exacto para el bandeo no es bien conocido, se supone que está involucrada una desnaturalización y una renaturalización del DNA. (Comings, 1978). La secuencia de bases del DNA que más se repite a lo largo del cromosoma no se desnaturaliza tan fácilmente como la secuencia no repetitiva. El Giemsa tinte preferencialmente las uniones del DNA desnaturalizado. (Denton, 1973). El nombre genérico de éste tipo de bandeo se debe a que, en todas ellas se usa como colorante para poner en evidencia el patrón de bandas, la disolución descrita por Giemsa, (Sáez, 1978).

Hinegardner y Rosen (1972) y Kirpichnikov (1981), indican que en el curso de la evolución de la familia Salmonidae y en general en la mayoría de los peces, el número cromosómico se ha reducido como producto de la diploidización. Otra posible explicación de este decremento, es que el número cromosómico esté asociado con los procesos de especiación, en el curso de las cuales, la formación de los complejos de genes ligados representa una clara ventaja adaptativa.

De lo anterior se desprende que es factible e imperativo, el profundizar en el conocimiento de las poblaciones pesqueras, a fin de utilizar estratégicamente las técnicas del mejoramiento genético en éstos recursos de gran potencial económico y alimenticio en el país.

El objetivo del presente trabajo, consiste en establecer un cariotipo patrón, auxiliado por técnicas de bandeo cromosómico (Bandas G), para la especie Salmo gairdneri, de la estación piscícola "El Zarco", en vistas a una administración óptima de ésta pesquería y del estable-

cimiento de estrategias de mejoramiento, basadas en criterios 100% confiables, tales como los que proporciona la Citogenética.



## ANTECEDENTES

De las 60 especies que conforman a la familia de los Salmónidos, se incluyen cerca de 200 razas, cada una de las cuales está adaptada a un hábitat diferente. (Donaldson y Joyner, 1983). Esta diversidad proviene de peces progenitores portadores de un acervo genético con alto grado de heterocigocidad, que se manifiesta en caracteres que se encuentran sometidos continuamente a procesos de selección. Estos caracteres incluyen tamaño, factor de conversión alimenticia, color, tolerancia a la salinidad, tiempo y patrones de migración, etc. .

Algunos miembros de la familia son anádromos, esto es, migran al océano después de recorrer grandes distancias, retornando posteriormente a sus sistemas acuáticos nativos para la reproducción (freza). El salmón del Atlántico (Salmo), retorna año con año para su reproducción a los ríos, mientras que el salmón del Pacífico (Oncorhynchus), retorna sólo una vez y muere después de la reproducción. (Donaldson y Joyner, 1983). Algunas especies de Salmónidos permanecen en aguas dulces toda su vida, (organismos potádromos) y tal es el caso de la trucha arco-iris empleada en el presente estudio.

**IMPORTANCIA DE LA ESPECIE:** De los Salmónidos, la trucha arco-iris, es la que presenta la mayor diversidad cariotípica, ( $2n=58 - 65$ ), variación debida al polimorfismo cromosómico presente en la familia, (Kirpichnikov, 1981), lo que a su vez origina la diversidad de razas en la especie.

Su distribución zoogeográfica, se ubica a todo lo largo de la margen Este del Pacífico Norte, de donde ha sido difundida a muchas partes del globo. (Anónimo, 1982).

Los valores de captura obtenidos (producto de la pesquería de la trucha arco-iris), son la base de una gran empresa comercial en Norte América y Europa. (Donaldson y Joyner, 1983). Italia produce alrededor de 21,000 tons. de trucha por año, la cual es procesada para su consumo y exportación. Dinamarca, Finlandia, Francia, Noruega y el Reino Unido, son los países que realizan las mejores operaciones comerciales. En Estados Unidos, en el Valle del río Snake, al Sureste de Idaho, se capturan alrededor de 13,000 tons. de trucha arco-iris por año. Alrededor de 40,000 tons. fueron comercializadas en el mercado Europeo en 1981 y éste mercado se ha extendido a los Estados Unidos, en donde aparece actualmente el puerto de Seattle como la capital del mundo del salmón.

Perú es el único país Sudamericano que ha entrevisto la potencialidad del recurso y trabajó en la instalación de una serie de piscifactorías que propiciaron la venta de grandes cantidades de trucha enlatada

en 1975. (Anónimo, 1982).

En la actualidad, la selección de los stocks progenitores, ha permitido una reproducción en casi todos los meses del año, lo que respalda la gran comercialización de la trucha.

La selección artificial de los progenitores de los Salmónidos, modifica en un tiempo relativamente corto su forma, tamaño, color, comportamiento y sus hábitos alimenticios. (Kirpichnikov, 1981).

Un programa de selección de progenitores de trucha arco-iris fué puesto en operación en el Departamento de Genética del College of Ocean and Fishery Sciences de la Universidad de Wasington desde 1932. El híbrido resultante de la crusa entre los steel heads (truchas arco-iris anádromas) y la trucha arco-iris (potádroma), producto de una selección artificial, ha mostrado un crecimiento más rápido en relación con los steel heads y un crecimiento más lento con respecto a la especie de trucha arco-iris no migratoria. (Donaldson y Joyner, 1983).

La crusa de progenitores de stocks relativamente cercanos, ofrecen resultados en los que se presenta el "vigor híbrido", tendencia que puede ser observada en los Salmónidos. (Kirpichnikov, 1981).

En México, la truticultura no se encuentra aún tan desarrollada en comparación con la gran industrialización que existe en América del Norte y Europa, pero representa un potencial alimenticio que no se debe desaprovechar.

México además de contar con 10,000 Km. de litoral, dispone aproximadamente de 2.8 millones de hectáreas de cuerpos de aguas dulces y salobres (Anónimo, 1982), en los cuales la actividad acuicultural encuentra una amplia gama de posibilidades para estructurar programas y proyectos que requieren de una fuerte inversión para generar una alta producción, así como los de cultivo extensivo que implican un manejo sencillo con gran cantidad de mano de obra y mínima inversión, enfocados ambos a la satisfacción masiva de alimentos.

La trucha arco-iris, puede ser cosechada en ambos tipos de cultivos (extensivos e intensivos), en condiciones idóneas. (Rubín, 1976).

Actualmente en México, se cultiva la trucha arco-iris (Salmo gairdneri) y la trucha de arroyo (Salvelinus fontinalis), para la repoblación de lagos y lagunas tendientes a satisfacer el consumo humano directo.

Su distribución ha sido ampliada considerablemente por medio de

numerosas repoblaciones efectuadas en las zonas trutícolas de los estados de Chiapas, Chihuahua, Durango, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Puebla, Querétaro, Veracruz, Tamaulipas, Tlaxcala y Guerrero. (Anónimo, 1982).

La trucha arco-iris, es la más utilizada en la piscicultura intensiva, debido a su rápido crecimiento, a su adaptación al alimento artificial y a la tolerancia de temperaturas más elevadas que cualquier otro miembro de la familia Salmonidae, (9°- 15°C), soportando en ocasiones temperaturas de 21°C sin daño aparente. Los Salmónidos en general habitan aguas extremadamente frías, por lo tanto, las concentraciones de O<sub>2</sub> en el medio ambiente son elevadas, siendo aproximadamente de 8 a 12 ppm..

CLASIFICACION DEL ORGANISMO: La clasificación del organismo tomada de Lagler, et. al. (1977), es la siguiente:

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Superclase: Pisces

Clase: Osteichthyes

Subclase: Actinopterygii

Superorden: Teleostei

Orden: Salmoniforme (salmón, trucha marina y de agua dulce)

Género: Salmo

Especie: gairdneri (Richardson)

VARIABILIDAD GENETICA EN LA TRUCHA ARCO-IRIS: La principal fuente de variabilidad en las poblaciones de peces, es la acumulación de información genética nueva en el genoma, producto de las recombinaciones y las mutaciones que se llevan a cabo en las poblaciones.

En la tabla 1, se presentan las variaciones cromosómicas 2n y n, en algunos miembros de la familia Salmonidae.

El polimorfismo cromosómico se puede manifestar de tres maneras:

- 1) Polimorfismo cromosómico en diferentes células de un mismo individuo. (nivel intraindividuo).
- 2) Diferencias entre individuos de una misma familia o población. (nivel intrapoblacional).
- 3) Diferencias entre poblaciones de una misma especie. (nivel interpoblacional).

En la especie Salmo gairdneri, se ha reportado un número cromo-

TABLA No.1 Variaciones del No. cromosómico y NF en algunos miembros de la familia Salmonidae, según Kirpichnikov (1981)

Especie	2n	NF	Referencias
<u>Oncorhynchus keta</u>	74	106-108	23, 25
<u>O. tschawytscha</u>	68	106	17, 25
<u>O. masu (=rodurus)</u>	64-66	104	6, 17
<u>O. kisutch</u>	58-60	104-106	25
<u>O. nerka</u>	56-58	102-104	4, 5, 11, 12, 23, 25
<u>O. gorbuscha</u>	52	104	16, 25
<u>Salmo trutta</u>	78-82	98-100	8, 19, 20, 27
<u>S. ischchan</u>	80	96	9
<u>S. letnica</u>	80	104	7
<u>S. carpio</u>	80	98	15
<u>S. salar</u>	54-60	72-74	1, 18, 20, 22, 24, 27
<u>S. (Parasalmo) gairdneri</u> (=irideus)	58-65	104	13, 16, 20, 26, 27, 29
<u>S. (P.) mykiss</u>	60-62	104-108	29
<u>S. (P.) clarkii clarkii</u>	70	106	16, 26
<u>S. (P.) clarkii henshavi</u>	64	106	16, 26
<u>S. (P.) clarkii levisi</u>	64	106	16, 26
<u>S. (P.) aguabonita</u>	58	104	16
<u>S. (P.) apache</u>	56	106	16
<u>S. (P.) gilae</u>	56	105	2
<u>Salmothymus obtusirotris</u>	82	94	3
<u>Salvelinus fontinalis</u>	84	100	27
<u>S. namaycush</u>	84	100	32
<u>S. leucomaenis</u>	84-86	100	6
<u>S. alpinus</u>	80-84	96-100	19, 28
<u>S. (alpinus) cronocius</u>	78-82	100	31
<u>S. malma malma</u>	76-78	96	6, 31
<u>S. m. krascheninnikovi</u>	82-84	98	6, 31
<u>S. m. curilus</u>	84-86	100	31
<u>Huchotaimen</u>	84	102	10
<u>Brachymystax lenok</u>	92	102	10
<u>Brachymystax lenok</u>	90	116	14

REFERENCIAS: 1) Barshiene (1977a); 2) Beamish y Miller (1977); 3) Berverovic et. al., (1970); 4) Chernenko (1971); 5) Chernenko (1977); 6) Chernenko y Viktorovsky (1971); 7) Dimovska (1959); 8) Dorofeva (1965); 9) Dorofeva (1967); 10) Dorofeva (1977); 11) Fukuoka (1972a); 12) Gorshkova y Gorshkov (1978); 13) Kaidanova (1974); 14) Kang y Park (1973b); 15) Merlo (1957); 16) Miller (1972); 17) Muramoto et. al., (1974); 18) Nygren et. al., (1971b); 19) Nygren et. al., (1968b); 20) Prokofieva (1935); 21) Rees (1969); 22) Roberts (1970); 23) Sasaki et. al., (1968); 24) Sepovaara (1962); 25) Simon (1963); 26) Simon y Dollar (1963); 27) Svardson (1945a); 28) Vasilyev (1975a); 29) Vasilyev (1975b); 30) Viktorovsky (1975b); 31) Viktorovsky (1978b); 32) Wahl (1960).

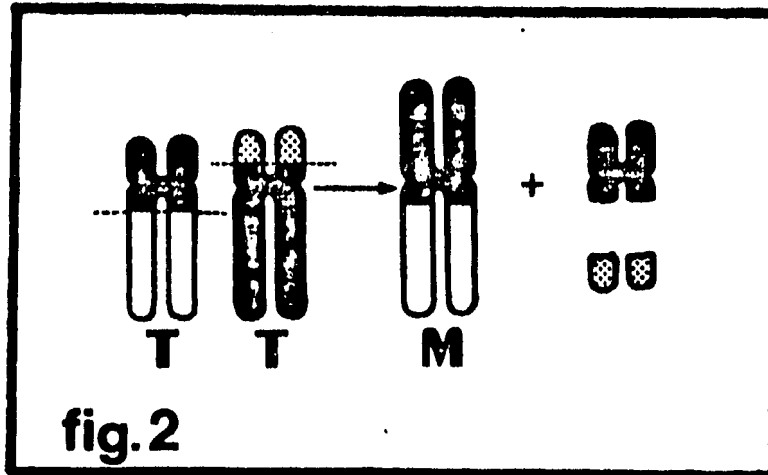
sómico variable para los diferentes tejidos. Esto se explica debido al polimorfismo cromosómico intraindividuo ya antes citado, en el que se propone que las pequeñas variaciones, son producto de fenómenos de fusión y fisión céntrica, así como la eliminación de los cromosomas pequeños y el reacomodo del complejo intercromosómico. (Kirpichnikov, 1981).

El fenómeno del polimorfismo cromosómico intraespecífico presente en éstos organismos, puede darse como resultado de las translocaciones Robertsonianas, que desestabilizan el cariotipo en el transcurso del desarrollo y juegan un papel muy importante en la evolución de los cariotipos. (Bernard y Freeman, 1975).

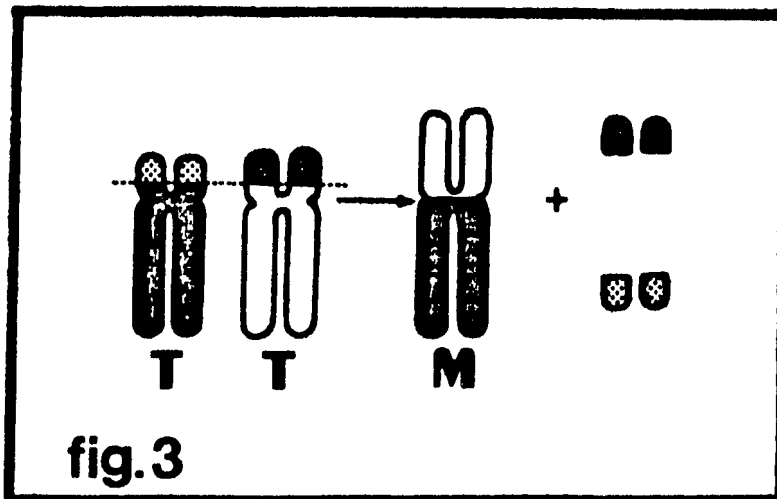
El fenómeno Robertsoniano, consiste en un cambio del número cromosómico, en el que un cromosoma birrámeo, que puede ser metacéntrico, se fisione y dé como resultado dos cromosomas de un sólo brazo, o sea, dos telocéntricos; así como también el proceso inverso, en el que a partir de dos telocéntricos, se dé una fusión y se obtenga un cromosoma de dos brazos.

El número cromosómico varía según el caso: Así por una fisión tenemos un cromosoma más y por una fusión tenemos un cromosoma menos en el total del complemento diploide. Por lo tanto, en cualquier cariotipo que haya variado su número cromosómico por una fusión o una fisión Robertsoniana, encontramos constante el número fundamental, (número total de brazos), el cual permanece inalterado. (Hsu y Mead, 1969).

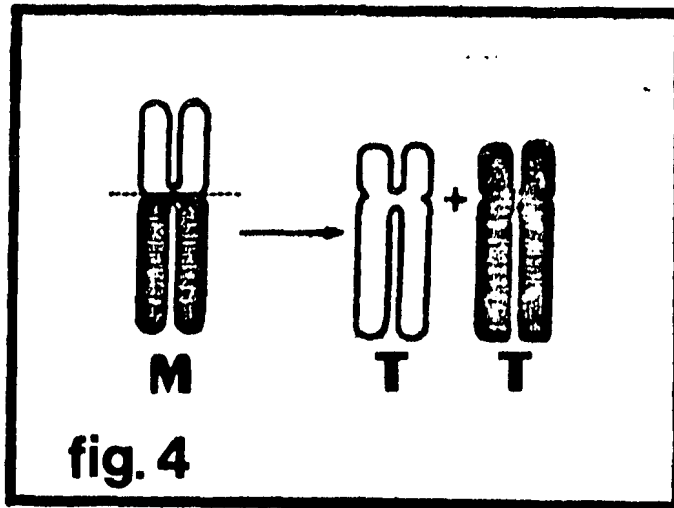
Se han formulado dos hipótesis para describir el proceso por el cual se lleva a cabo la fusión. Una de ellas postula que en los dos cromosomas telocéntricos que intervienen, se presenta un rompimiento en uno de los dos cromosomas, en los brazos largos, muy cerca del centrómero y en el otro cromosoma se presenta en los brazos cortos, de ésta manera por medio de una translocación entre ambos, se puede formar un cromosoma de dos brazos, (Fig. 2), con la subsecuente pérdida de un centrómero. (Hsu y Mead, 1969).



La otra hipótesis postula, que los dos rompimientos ocurren en los brazos cortos de ambos cromosomas telocéntricos, presentándose una translocación, por medio de la cual se obtiene un cromosoma de dos brazos con dos centrómeros tan estrechamente cercanos que se perciben y funcionan como uno sólo, (Fig. 3), perdiéndose los dos pequeños fragmentos terminales. (Hsu y Mead, 1969).



En cuanto a la fisión, se cree que se lleva a cabo por medio de la división del centrómero del cromosoma de dos brazos implicado, de tal forma que a partir de éste se obtengan dos centrómeros funcionales. (Hsu y Mead, 1969). (Fig.4).



**fig. 4**

Se supone además, que en proceso de fisión podría ser más fácil la separación cuando en elemento de dos brazos contiene dos centrómeros, puesto que en este caso, no habría necesidad de un rompimiento de centrómero y en lugar de ello se presentaría una separación de los dos ya existentes.

Otro fenómeno implicado es la poliploidía, que tiene especial importancia en la evolución, puesto que es uno de los mecanismos fundamentales de la formación de especies. (Dobzhansky, et. al., 1980).

La poliploidía consiste básicamente en formar múltiplos del número haploide, provocando que el cariotipo quede representado por más de dos homólogos. La poliploidía se presenta de dos formas: La autoploidía, donde todos los cromosomas se derivan de un sólo juego básico por multiplicación, de manera que todos los homólogos tienen un mismo origen y la Aloploidía, donde se reúnen diferentes complementos cromosómicos provenientes de especies diferentes en un mismo núcleo.

La primera se encuentra en especies que se reproducen partenogénicamente y la segunda en especies donde la reproducción es por fecundación cruzada. (Sinnot, et. al., 1961).

Finalmente, otro mecanismo que influye en el polimorfismo cromosómico de las especies es el proceso de la no disyunción, que consiste en una falla en la separación de los pares de homólogos durante la división celular, ya sea mitosis o meiosis, de manera que en lugar de que cada uno de los cromosomas homólogos migre hacia un polo celular, los dos quedan en uno solo y al constituirse las células

hijas, una queda con un cromosoma adicional y la otra con un cromosoma de menos. (Swanson, et. al., 1981).

El número cromosómico reportado para la especie *Salmo gairdneri*, varía de  $2n=58$  a  $2n=65$ , (Kaidanova, 1974; Miller, 1972; Prokofieva, 1935; Simon y Dollar, 1963; Svardson, 1945; y Vasilyev, 1975), ver Tabla 1 reportada por Kirpichnikov (1981).

A continuación se presentan los tipos cromosómicos encontrados en la trucha arco-iris. (Fig.5).





## MATERIAL Y METODO

El presente estudio se realizó con ejemplares de trucha arco-iris, procedente de la Estación Piscícola "El Zarco", localizada en el Km.37.5 de la carretera federal México - Toluca, cuya localización geográfica se encuentra en los 99° 20' Long. W y los 19° 18' Lat. N..(Fig.6).

La piscifactoría se encuentra bajo la dirección de la Secretaría de Pesca y tiene bajo su cargo actualmente la producción de crías de trucha arco-iris, para abastecer los centros piscícolas del país encargados de su cultivo y comercialización.

Tanto la piscifactoría "El Zarco", como los poblados de Huixquilucan, Dos Ríos, Ameyalco, El Olivo, La Marquesa y Cuajimalpa, se encuentran irrigados por los afluentes del Río Hondo, cuyas aguas, debido a la altitud de la zona, presentan las características idóneas (alto contenido de O<sub>2</sub>, temperaturas promedio anuales inferiores a los 15° C, transparencia, etc.), para el cultivo de ésta especie.

Se colectaron 26 especímenes de trucha arco-iris, cuya longitud promedio, grado de desarrollo, número de individuos y sexo, se presentan en la siguiente tabla:

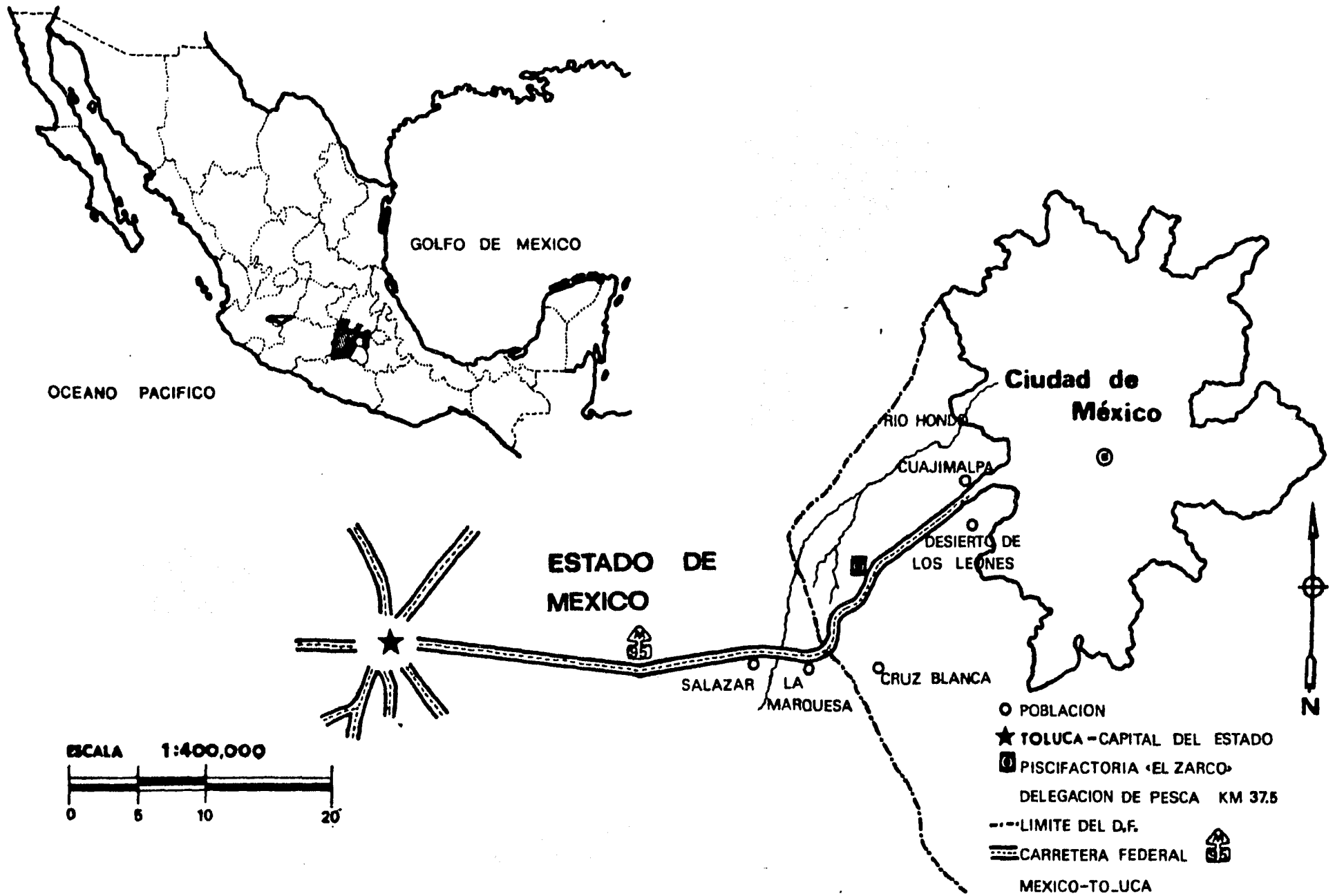
Especie <u>Salmo gairdneri</u>		
Grado de Desarrollo	Número de individuos y sexo	Long. Promedio
Adultos	3 ♂	52 cm.
Juveniles	3 ♂	23.7 cm.
Juveniles	6 ♀	24.5 cm.
Juveniles	2 ♂	14.9 cm.
Juveniles	12 ♀	14.5 cm.

En total se procesaron 8 machos y 18 hembras.

El material biológico, fué colectado, identificado y analizado en su totalidad, en el Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la U.N.A.M..

**OBTENCION DE LOS CROMOSOMAS:** Los cromosomas de peces se obtienen del epitelio de diversas partes del organismo. (Denton, 1973). El presente estudio fué realizado con epitelio proveniente de los arcos branquiales, técnica empleada por Mc. Phail y Jones (1966), en la que se recomienda el empleo del último arco branquial para la obtención del material celular y modificada por Denton (1973).

**fig. 6** AREA DE COLECTA



Epitelio branquial tiene gran actividad celular, por lo que el empleo de ésta técnica proporciona una gran cantidad de metafases no importando el arco branquial del cual se extraiga el epitelio.

Las técnicas citogenéticas empleadas en el estudio, fueron las de Mc. Phail y Jones (1966), reportadas por Denton (1973), con adaptaciones realizadas en el Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos (1981-1982).

A continuación se presenta una descripción detallada del procedimiento desarrollado para la obtención de los cromosomas empleando el epitelio de los arcos branquiales. Esta técnica ha sido dividida en cinco fases que se presentan a continuación:

1) Pretratamiento con  $\text{CaCl}_2$  : Se administró por vía intraperitoneal una solución acuosa de  $\text{CaCl}_2$  al 0.1%, de acuerdo al tamaño del ejemplar (Subrahmanyam, 1969), utilizando una jeringa para insulina, de acuerdo a la siguiente tabla:

de 5 a 10 cm.....	0.50 ml
de 10 a 15 cm.....	0.75 ml
de 15 a 20 cm.....	1.00 ml

Este pretratamiento tiene como propósito, promover las divisiones mitóticas y evitar los excesos de espiralización de los cromosomas por acción de la colchicina, (fase 2), que se utiliza posteriormente.

Los organismos tratados con esta solución de  $\text{CaCl}_2$ , permanecen por un lapso de 2.30 hrs. antes de pasar a la siguiente fase.

2) Inyección de Colchicina: Después del pretratamiento con  $\text{CaCl}_2$  se inyecta una solución de colchicina al 0.1% en los músculos anterodorsales, dependiendo del peso del organismo, de acuerdo a la siguiente tabla:

1.0 ml.....	10 gr de peso
2.0 ml.....	20 gr de peso
3.0 ml.....	30 gr de peso

El organismo reposa por un lapso de 1.30 a 2.00 hrs. antes de ser sacrificado. (Fase 3).

La colchicina es un alcaloide procedente de la raíz de Colchicum autumnale y la finalidad de inyectar colchicina al pez, estriba en que su acción provoca un bloqueo de la división celular, al interferir en la formación de los husos mitóticos durante la metafase (Denton, 1973),

de ésta manera impide la migración de los cromosomas hacia los polos, manteniendo la célula en metafase.

3) Sacrificio del organismo, choque hipotónico y fijado del material celular: Dos horas después de haber inyectado colchicina al ejemplar, es sacrificado y le son extraídos los arcos branquiales, los cuales son sometidos a tratamiento en una solución de KCl a una concentración de 0.075 M y a una temperatura de 37° C durante 30 minutos aproximadamente, lo que provoca que se lleve a cabo un choque hipotónico en las células que conforman el epitelio branquial.

Durante el transcurso del choque hipotónico (30 min.), se procede a separar el epitelio de las branquias (holobranquias), desechando el material cartilaginoso. El material que se obtiene se coloca en un tubo de centrífuga, donde es resuspendido por medio de una pipeta Pasteur, para lograr con ello una hipotonía homogénea en todo el material celular.

Al término del tiempo señalado, se procede a centrifugar la suspensión entre 700-1000 r.p.m. durante 5 minutos y se elimina el sobrenadante, dejando exclusivamente el material celular (botón) de un color blanco. Este botón se fija en solución de Carnoy (metanol absoluto y ácido acético en proporción de 3:1 respectivamente). El botón nuevamente se resuspende y se deja reposar durante 10 minutos, al cabo de los cuales se repite la operación de centrifugación dos veces más.

4) Elaboración de las preparaciones: Para la elaboración de las preparaciones, el botón celular se vuelve a resuspender con una pipeta Pasteur en 2.5 ml. de solución de Carnoy, colocada previamente en el tubo de centrífuga.

Finalmente se efectúa el goteo a una altura de 50 a 70 cm. aproximadamente sobre los portaobjetos.

Las preparaciones se dejan secar al aire por un lapso de 24 hrs. con el fin de no desnaturalizar el DNA producto del secado a la flama que comúnmente se emplea en la técnica y así poder obtener al emplear la técnica de bandeo cromosómico, resultados satisfactorios.

5) Tratamiento con urea para la obtención del patrón de bandeo (Bandas G): Las laminillas fueron sometidas a una solución 9 M de urea/NaCl a un PH de 7.8 por lapsos de tiempo que variaron de 2 a 4 min. a una temperatura constante de 37° C durante todo el proceso.

Posteriormente se enjuagaron las laminillas en agua destilada, con el objeto de detener el proceso al que fué sometido el DNA.

El secado fué nuevamente al aire por las razones ya antes expuestas.

Para la tinción de las laminillas se empleó una solución de colorante de Giemsa (Denton, 1973), elaborado a partir de una solución stock, que se diluye en una solución de Buffer Sörensen de fosfatos ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) en una proporción de 1:50 Giemsa - Sörensen respectivamente y a un PH de 6.8 . La tinción fué efectuada en cajas Coplin con la solución teñidora durante 30 min. aproximadamente. Las laminillas se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar al aire.

La observación de los campos cromosómicos se llevó a cabo en un microscopio Carl Zeiss con filtro de interferencia verde y optovar 1.0, con objetivos de 16X, 40X y 100X. Al término de las observaciones se seleccionaron los mejores campos, mismos que fueron fotografiados con película blanco y negro ASA 100.

**ELABORACION DE LOS CARIOTIPOS:** Para la elaboración de los cariotipos se contaron los cromosomas presentes en cada campo mitótico y se ordenaron de acuerdo a su homología, tamaño, posición del centrómero y patrón de bandas. (Ford, 1961).

Los cromosomas de cada una de las impresiones fotográficas fueron recortadas y acomodadas por pares de homólogos (Ford, 1961), para montar un total de 15 cariotipos.

La medición de cada cariotipo se efectuó por medio de una lupa Viewcraft graduada en 0.5 mm..

Los parámetros empleados en el análisis estadístico y que sirvieron posteriormente para la elaboración del idiograma fueron los siguientes:

- A) Longitud relativa.
- B) Proporción de brazos.
- C) Índice centromérico.
- D) Diferencia entre brazos.

A) Longitud relativa del complemento cromosómico y de cada uno de los pares cromosómicos que lo constituyen. Para ésto se utilizó la siguiente fórmula:

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

en donde:

$$Y_i = X_i (\text{Factor})$$

$Y_i$  = Longitud relativa del par cromosómico,

$X_i$  = Longitud absoluta en mm.

B) Proporción de brazos (r). Utilizando las medidas promedio relativas de cada par cromosómico de los 15 cariotipos, se empleó la fórmula:

$$(P.B.) \text{ o } r = q/p$$

en donde:

p= Longitud relativa del brazo corto de cada par cromosómico.

q= Longitud relativa del brazo largo de cada par cromosómico.

r= Proporción relativa de brazos.

C) Índice centromérico (I.C.)

$$I.C. = (p / p+q) 100 \quad \text{Según Matti y Al-Alish (1969).}$$

D) Diferencia

$$D = \frac{(P.B. - 1) 10}{P.B. + 1}$$

en donde:

P.B. = Proporción de brazos.

Los valores finales que se obtuvieron del análisis estadístico, se tabularon, determinando con ésto, la posición del centrómero y la asignación de cada par cromosómico a un grupo determinado, de acuerdo con la tabla que sugiere Levan et. al., (1964). (Tabla 2).

P.B.	I.C.	D.	Clasificación
1.00	50.0	0.0	Mediocéntrico (M)
1.05	47.5	0.5	Metacéntrico (m)
1.67	37.5	2.5	
1.87	35.0	3.0	Submetacéntrico (sm)
3.00	25.0	5.0	
3.43	22.5	5.5	Subtelocéntrico (st)
7.00	12.5	7.5	
9.00	10.0	8.0	telocéntrico (t)
39.00	2.5	9.5	
	0.0	10.0	Posición Terminal (T)

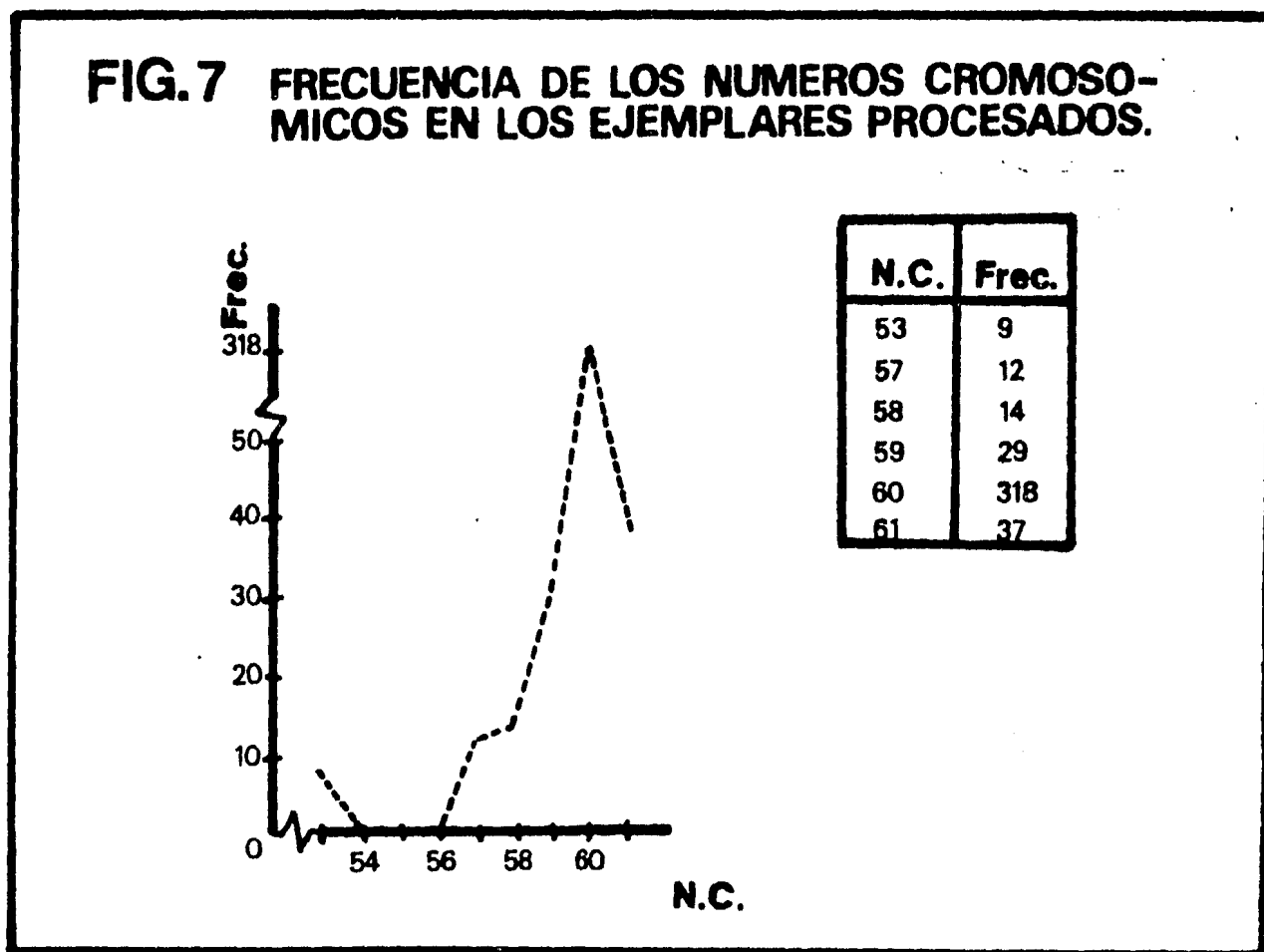
M= Mediocéntrico (Centrómero en la región o punto medio exactamente).  
m= Metacéntrico (Centrómero en la región media).  
sm= Submetacéntrico (Centrómero en posición submedia).  
st= Subtelocéntrico (Centrómero en la posición subterminal).  
t= telocéntrico (Centrómero en posición terminal).  
T= Posición Terminal (Centrómero estrictamente terminal).

A fin de poder elaborar los cariotipos de acuerdo al patrón de bandas de los distintos pares cromosómicos, se prosiguió con el siguiente método:

- 1) Se elaboró un idiograma basado en mediciones de longitud relativa de los brazos cortos, brazos largos y longitud total de cada par cromosómico.
- 2) Se identificaron las bandas más constantes y notorias de cada par cromosómico y se subdividió el cromosoma tomando como límite de cada región algunas de las bandas presentes.
- 3) Se integraron estas subdivisiones en el idiograma anteriormente establecido, obteniéndose finalmente una representación gráfica de las bandas encontradas en cada subdivisión.

De los 26 ejemplares de trucha arco-iris procesados, fueron seleccionados 3 adultos machos, 2 juveniles machos y 4 juveniles hembras, debido a la buena calidad de las metafases mitóticas obtenidas, con las que posteriormente se elaboraron los cariotipos empleados en el presente estudio.

El número cromosómico modal  $2n$  es de 60 cromosomas, encontrándose además campos con 53, 57, 58, 59 y 61 cromosomas en su complemento diploide. En la Fig. 7, se puede observar la frecuencia de los números cromosómicos en los ejemplares procesados.



El número fundamental (NF= número total de brazos cromosómicos en el complemento haploide) es de 108 y se encontró un rango de variación de 93 a 112.

La fórmula cromosómica, resultado de el análisis estadístico para ésta especie es:

$$23 m + 1 st + 6 T = 30 n$$



La clasificación se hizo en base al tamaño de los cromosomas y a la posición del centrómero.

El par subtelocéntrico, es considerado por Thorgaard (1977), como par sexual debido a diferencias en tamaño del brazo corto entre los cromosomas provenientes de machos, pero no de hembras, de trucha arco-iris (Salmo gairdneri).

Se encontraron campos en los que sí se presenta una marcada diferencia de tamaño en los brazos cortos del par 24 de organismos reproductores, (Fig. 10). Se encontraron también cariotipos de organismos machos en estado juvenil donde ésta diferencia era evidente, aunque no era significativa estadísticamente.

Por otro lado, en los organismos adultos machos no fué posible observar en todos los casos los dos cromosomas subtelocéntricos ya que faltaban uno o ambos en el complemento diploide debido a las alteraciones cromosómicas presentes.

El cariotipo patrón modal producto del análisis estadístico está formado por 24 pares birrámeos y 6 pares monorrámeos como se muestra en la Fig.8.

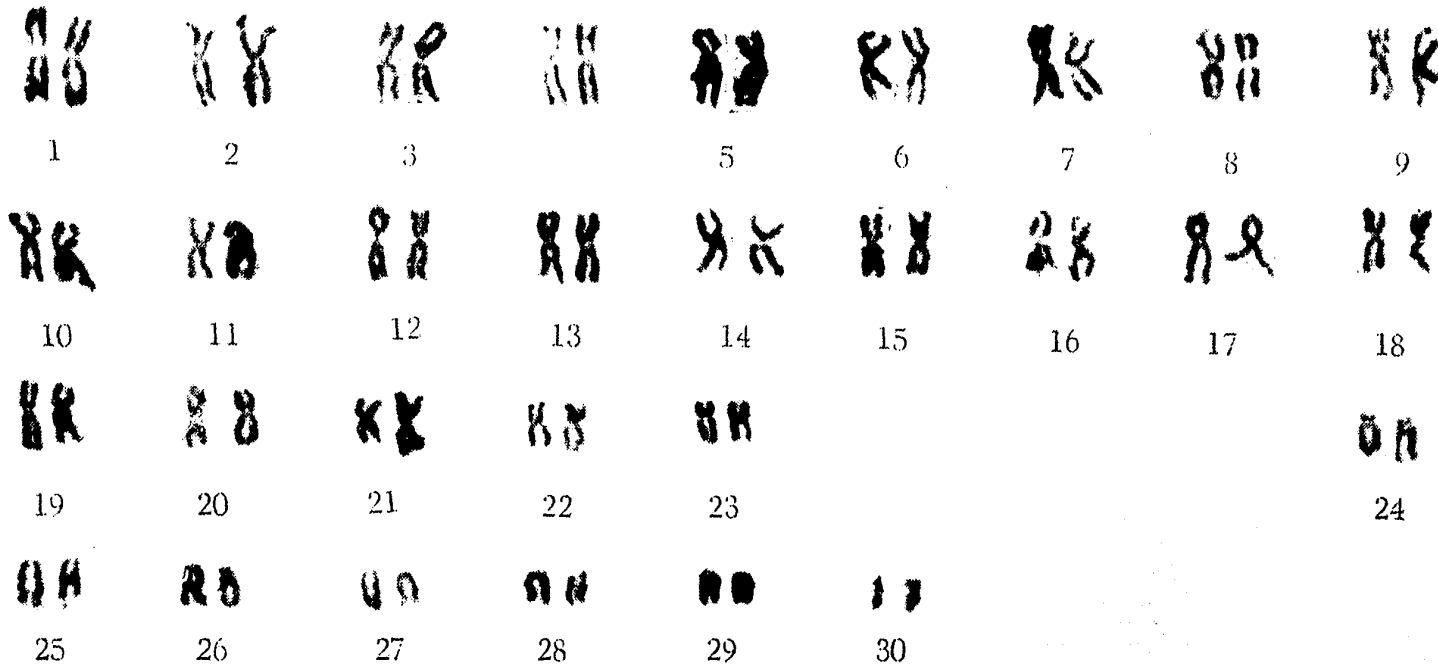
Los valores obtenidos de los 15 cariotipos se observan en la Tabla No. 3, en donde se presentan los cromosomas de acuerdo a la clasificación respectiva en base a la longitud y posición del centrómero, (Levan, et. al., 1964 y Al-Aish, 1969), en orden de longitud decreciente.

De acuerdo al análisis estadístico se considera que la especie Salmo gairdneri está caracterizada citogenéticamente por presentar:

- Los pares cromosómicos del 1 al 23 metacéntricos.
- El par 24 subtelocéntrico.
- Y los pares cromosómicos del 25 al 30 telocéntricos con el centrómero estrictamente terminal.

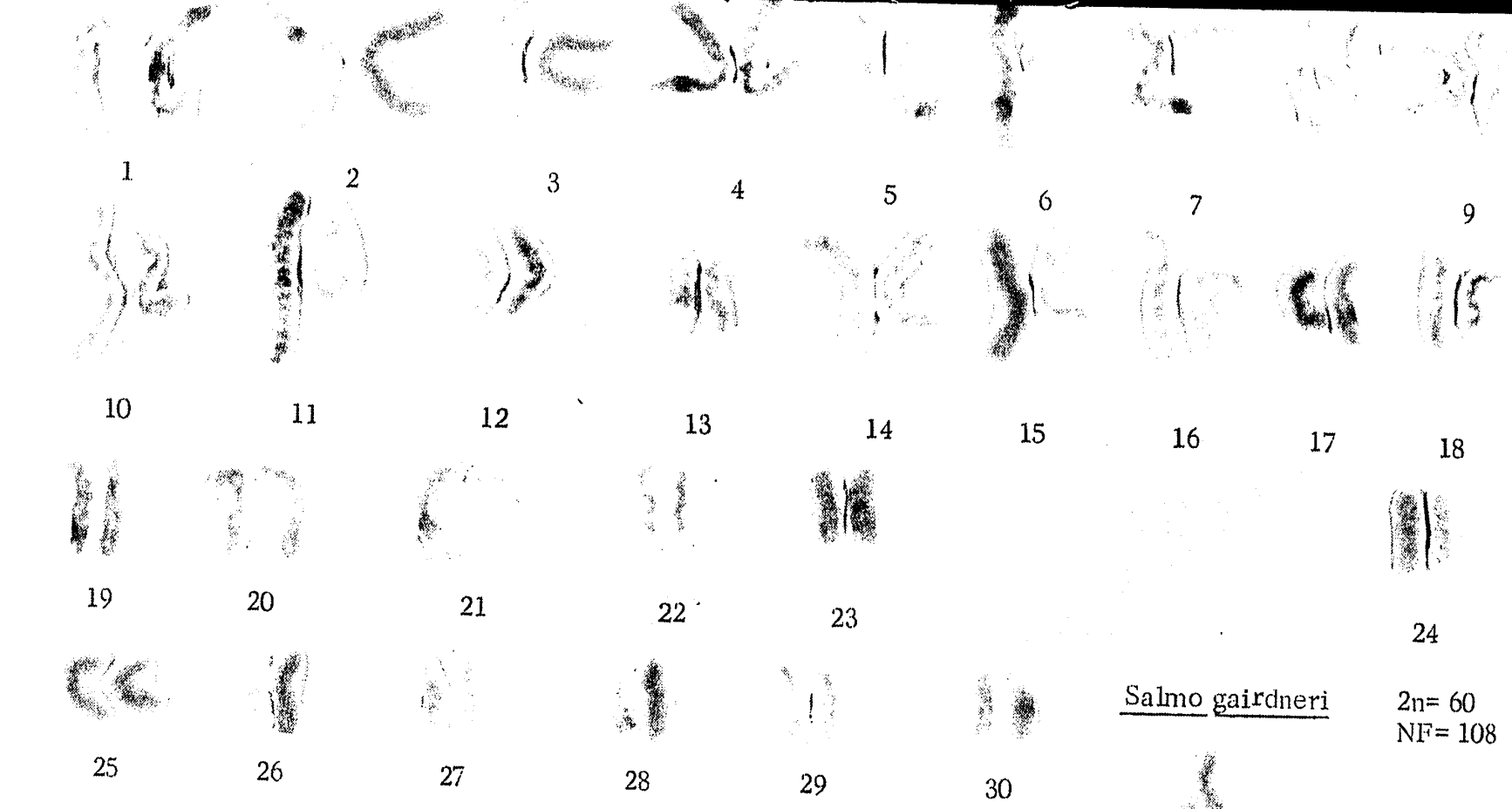
El idiograma del complemento cromosómico haploide promedio, obtenido de acuerdo a la posición del centrómero y a la longitud decreciente de los brazos cromosómicos que se observa en la Fig. 11, fué elaborado de acuerdo a las longitudes relativas de  $p + q$  de cada par cromosómico, tomados de la tabla 3.

El idiograma del patrón de bandas G, de la trucha arco-iris, se presenta en la Fig. 12 y fué elaborado en base a cariotipos prometafá-



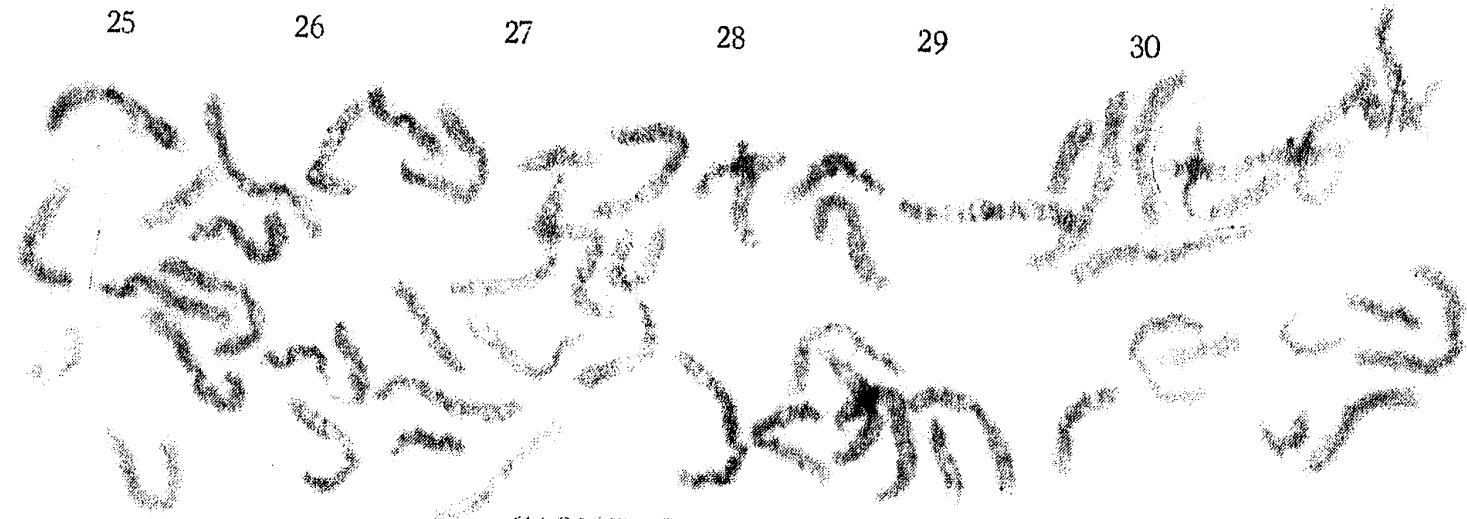
Salmo gairdneri

2n= 60  
NF= 108



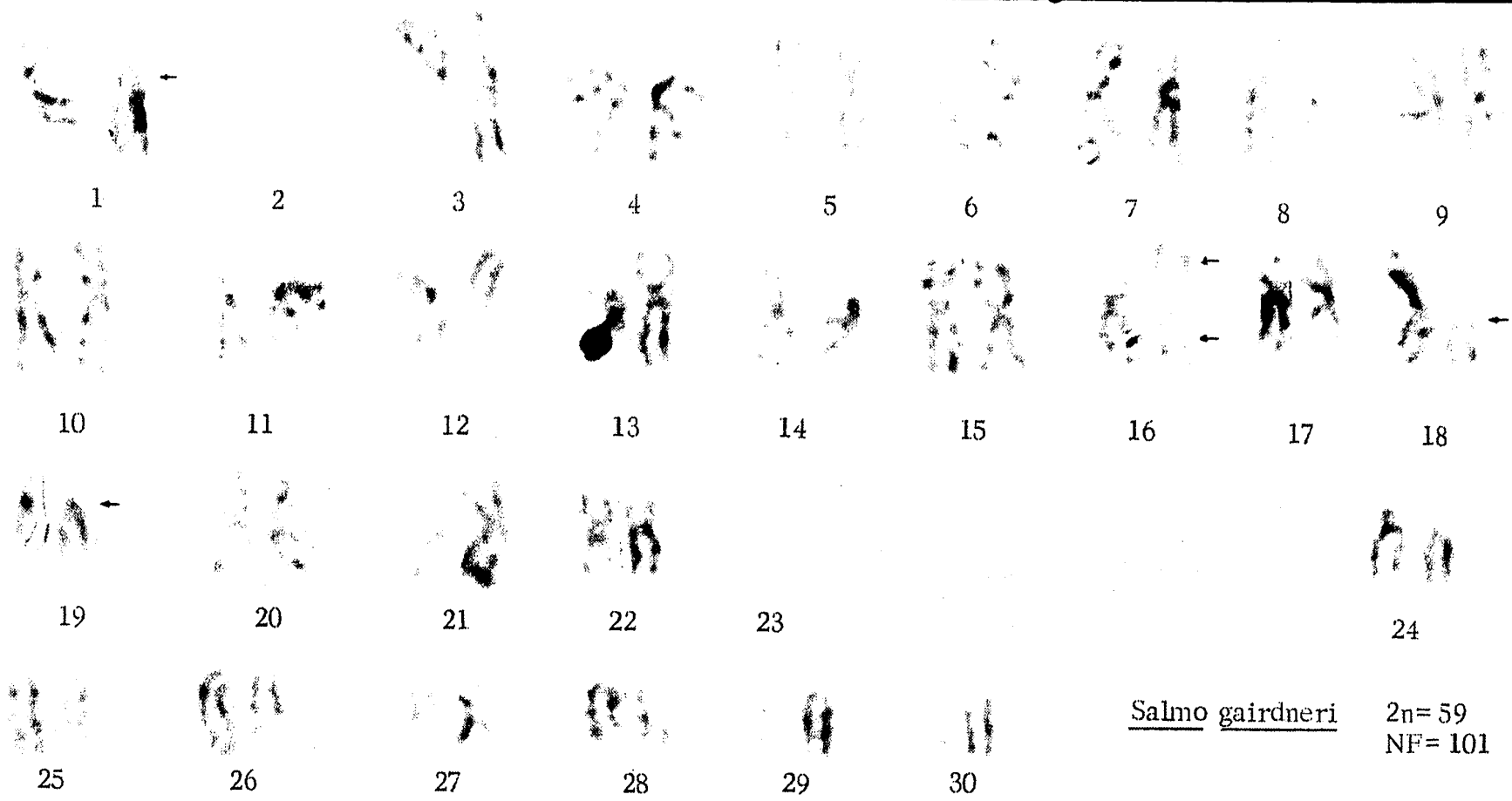
Salmo gairdneri

2n= 60  
NF= 108



CARIOTIPO No. 8

FIG. 9



Salmo gairdneri

2n= 59  
NF= 101

fig. 11 IDIOGRAMA DE Salmo gairdneri

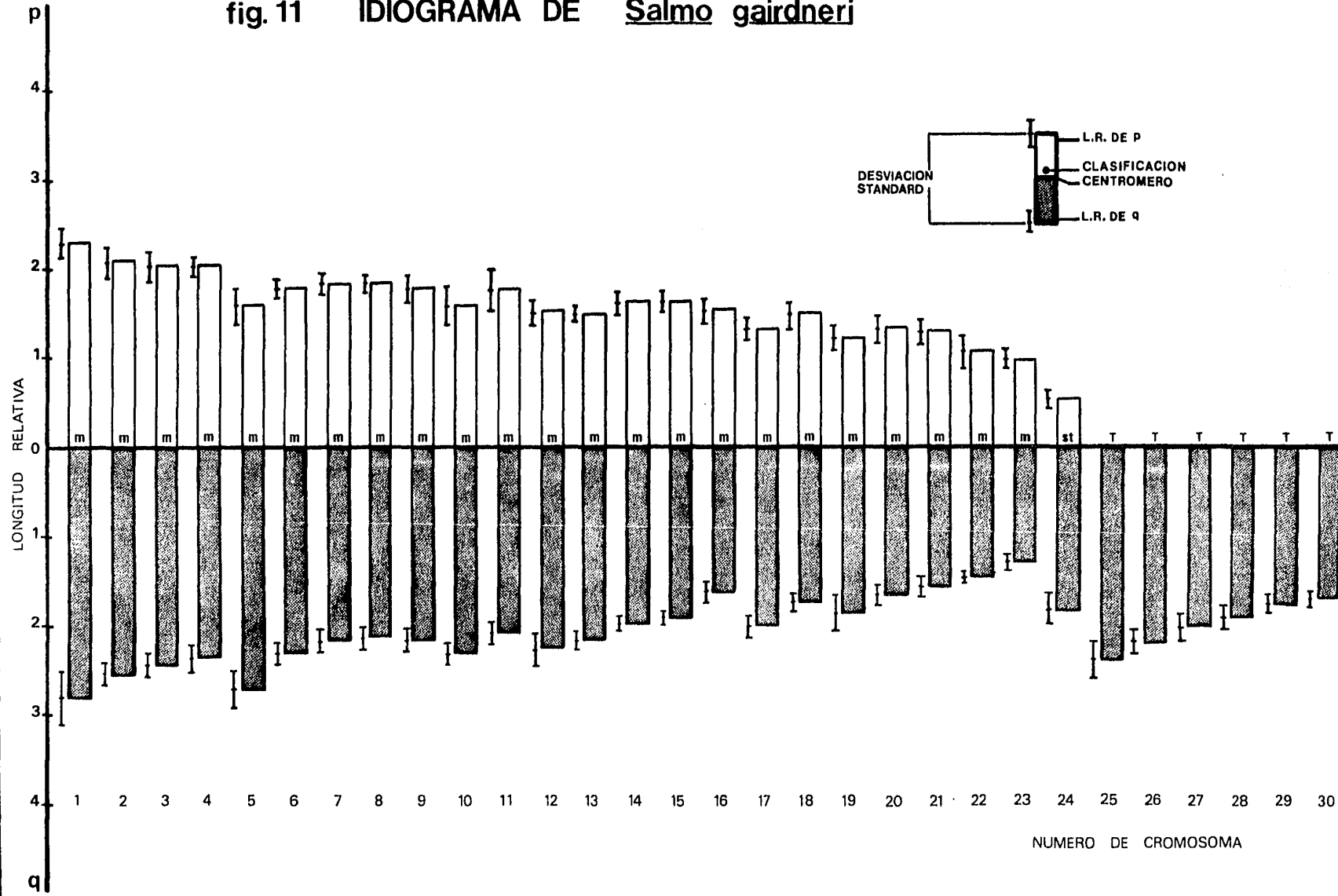
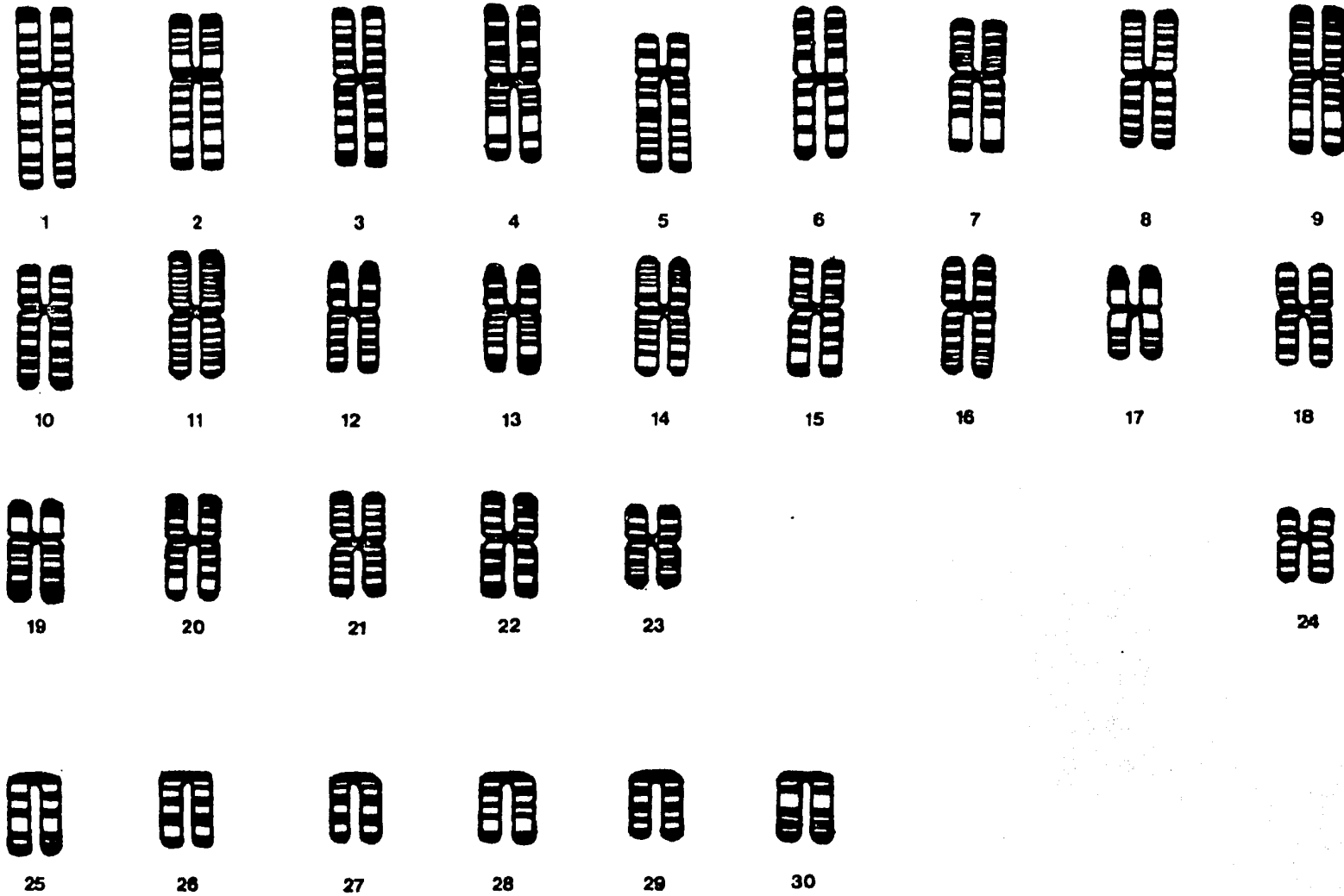


fig. 12

IDIODRAMA

PATRON DE BANDAS G, CON UREA



COMPLEMENTO HAPLOIDE n

*Salmo gairdneri*

TABLA No. 3 RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANALISIS ESTADISTICO DE LOS 15 CAKIOTIPOS DE Salmo gairdneri Y SU CLASIFICACION.

NC	L. rel. p	L. rel. q	L. rel. p + q (L. T.)	P. B.	I. C.	Dif.	Clasificación
1	2.28 ± .17	2.82 ± .27	5.12 ± .51	1.23	44.70	1.03	Metacéntrico (m)
2	2.10 ± .19	2.53 ± .10	4.65 ± .39	1.20	45.35	0.90	Metacéntrico (m)
3	2.06 ± .17	2.46 ± .12	4.52 ± .29	1.19	45.57	0.86	Metacéntrico (m)
4	2.06 ± .11	2.37 ± .15	4.47 ± .32	1.15	46.50	0.69	Metacéntrico (m)
5	1.62 ± .21	2.72 ± .23	4.35 ± .39	1.26	44.14	1.15	Metacéntrico (m)
6	1.81 ± .11	2.29 ± .13	4.15 ± .27	1.16	46.27	0.74	Metacéntrico (m)
7	1.86 ± .12	2.16 ± .14	4.04 ± .34	1.19	45.57	0.86	Metacéntrico (m)
8	1.86 ± .12	2.11 ± .10	4.03 ± .30	1.13	46.85	0.61	Metacéntrico (m)
9	1.80 ± .15	2.15 ± .13	3.98 ± .24	1.16	46.25	0.74	Metacéntrico (m)
10	1.60 ± .23	2.30 ± .12	3.91 ± .37	1.20	45.43	0.90	Metacéntrico (m)
11	1.79 ± .23	2.08 ± .10	3.87 ± .32	1.14	46.63	0.65	Metacéntrico (m)
12	1.53 ± .13	2.24 ± .19	3.76 ± .33	1.19	45.59	0.86	Metacéntrico (m)
13	1.51 ± .07	2.16 ± .12	3.66 ± .32	1.14	46.63	0.65	Metacéntrico (m)
14	1.64 ± .11	1.97 ± .09	3.62 ± .21	1.22	45.03	0.99	Metacéntrico (m)
15	1.66 ± .12	1.90 ± .08	3.43 ± .54	1.18	45.83	0.82	Metacéntrico (m)
16	1.55 ± .14	1.85 ± .12	3.40 ± .29	1.29	43.53	1.26	Metacéntrico (m)
17	1.36 ± .12	2.00 ± .13	3.33 ± .34	1.28	43.86	1.22	Metacéntrico (m)
18	1.52 ± .15	1.74 ± .09	3.26 ± .27	1.67	37.33	2.50	Metacéntrico (m)
19	1.23 ± .14	1.88 ± .22	3.10 ± .40	1.43	41.03	1.76	Metacéntrico (m)
20	1.36 ± .16	1.66 ± .10	3.04 ± .36	1.46	40.58	1.86	Metacéntrico (m)
21	1.32 ± .14	1.56 ± .11	2.88 ± .29	1.43	41.14	1.76	Metacéntrico (m)
22	1.11 ± .18	1.44 ± .06	2.55 ± .24	1.47	40.48	1.90	Metacéntrico (m)
23	1.00 ± .12	1.28 ± .08	2.31 ± .34	1.52	39.55	2.06	Metacéntrico (m)
24	0.55 ± .10	1.83 ± .18	2.39 ± .27	3.32	23.11	5.37	Subtelocéntrico (st)
25		2.39 ± .19	2.39 ± .19		0.0		Extrictamente Terminal (T)
26		2.17 ± .12	2.17 ± .12		0.0		Extrictamente Terminal (T)
27		2.02 ± .12	2.02 ± .12		0.0		Extrictamente Terminal (T)
28		1.89 ± .13	1.89 ± .13		0.0		Extrictamente Terminal (T)
29		1.76 ± .09	1.76 ± .09		0.0		Extrictamente Terminal (T)
30		1.67 ± .08	1.67 ± .08		0.0		Extrictamente Terminal (T)

sicos (Fig. 9) y metafásicos (Fig. 10). En éste último caso se observa un menor número de regiones cromoméricas delgadas teñidas en comparación con el cariotipo prometafásico, debido muy probablemente al grado de compactación del cromosoma en estado metafásico.

El cariotipo No. 6 (Fig. 13), proveniente de un individuo joven tiene un número diploide  $2n=61$ , en el que se presenta una probable trisomía en el par 1 producto de una no disyunción, que a su vez incrementó el NF de 108 a 112 brazos cromosómicos en el complemento haploide.

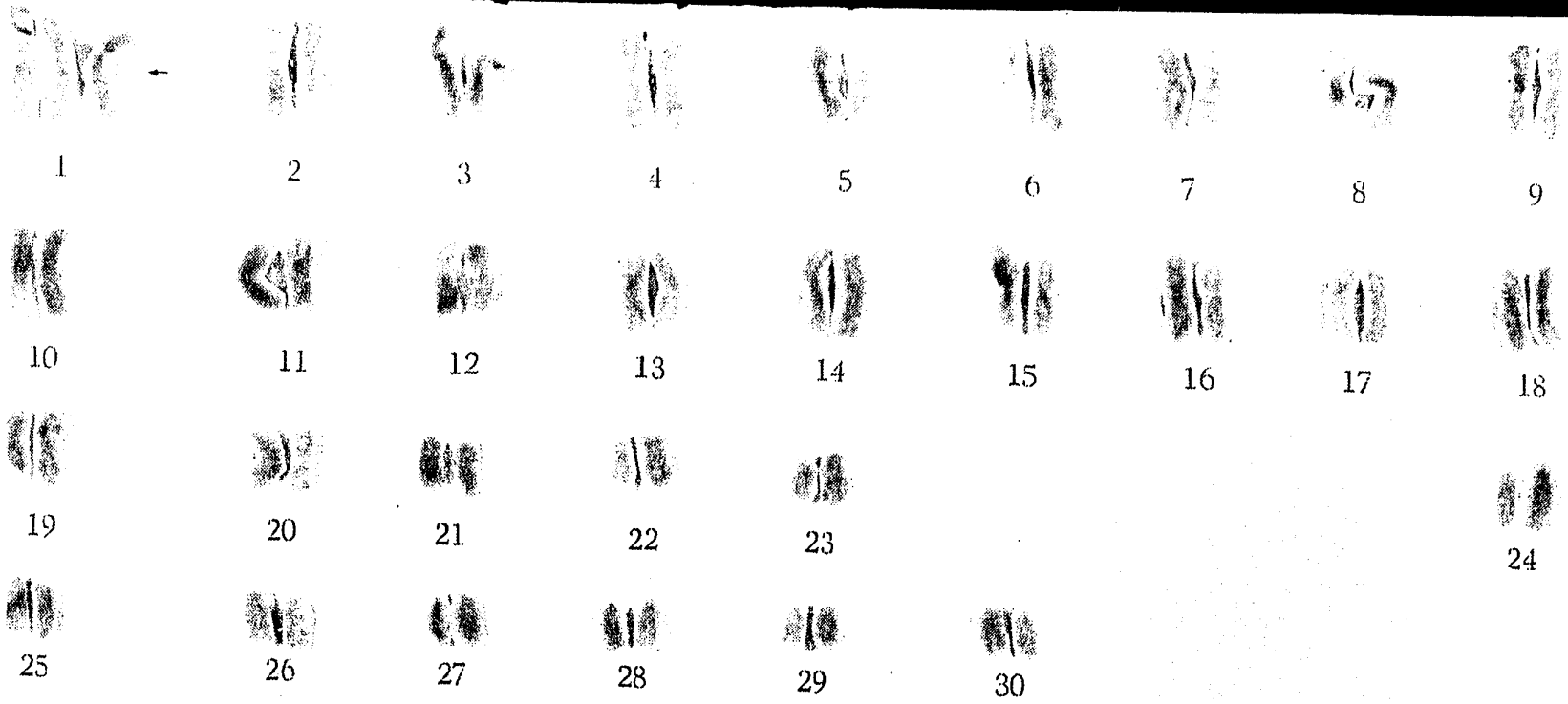
El cariotipo No. 10 (Fig. 10), corresponde a un individuo adulto con un número diploide  $2n=59$  y un NF de 101. En éste individuo se presentan 4 cromosomas impares birrámeos que corresponden a los cromosomas 1, 16, 18 y 19, determinándose además la ausencia de un par de cromosomas birrámeos en el cariotipo (par 23). Asimismo, presenta 5 cromosomas monorrámeos adicionales que corresponden muy probablemente, de acuerdo al análisis estadístico de sus longitudes relativas, al brazo q del cromosoma 1, a los brazos p y q del cromosoma 16, al brazo q del cromosoma 18 y al brazo q del cromosoma 19 respectivamente.

De ésta manera se puede inferir que el proceso involucrado en la alteración del cariotipo fué la fisión céntrica del tipo Robertsoniano, con pérdida de los brazos p del cromosoma 1, 18 y 19, así como la pérdida de los cromosomas homólogos que corresponden al par 23, debido muy probablemente a errores en la división celular (fenómeno de no disyunción). Es por ello que el NF se ve modificado de 108 en el cariotipo modal a 101 en éste cariotipo.

Otro ejemplo de éstas alteraciones corresponde al cariotipo No. 12 (Fig. 14), de un organismo reproductor con un número diploide  $2n=57$  y un NF de 100. En éste caso, el cariotipo obtenido presentó 5 cromosomas impares birrámeos y 2 cromosomas monorrámeos adicionales, que posiblemente corresponden, de acuerdo al análisis estadístico de sus longitudes relativas, al brazo q del cromosoma No. 2 y al brazo q del cromosoma No. 19. Como se puede observar en el caso del cromosoma No. 2, se presenta una trisomía de brazos q, que pudiera deberse a una no disyunción con pérdida de los brazos p y en el cromosoma No. 19 una fisión Robertsoniana con pérdida de los brazos p. En éste mismo caso, el cromosoma No. 9, 13, 21 y 24 carecen de sus homólogos respectivos debido a los procesos de no disyunción durante la división celular.

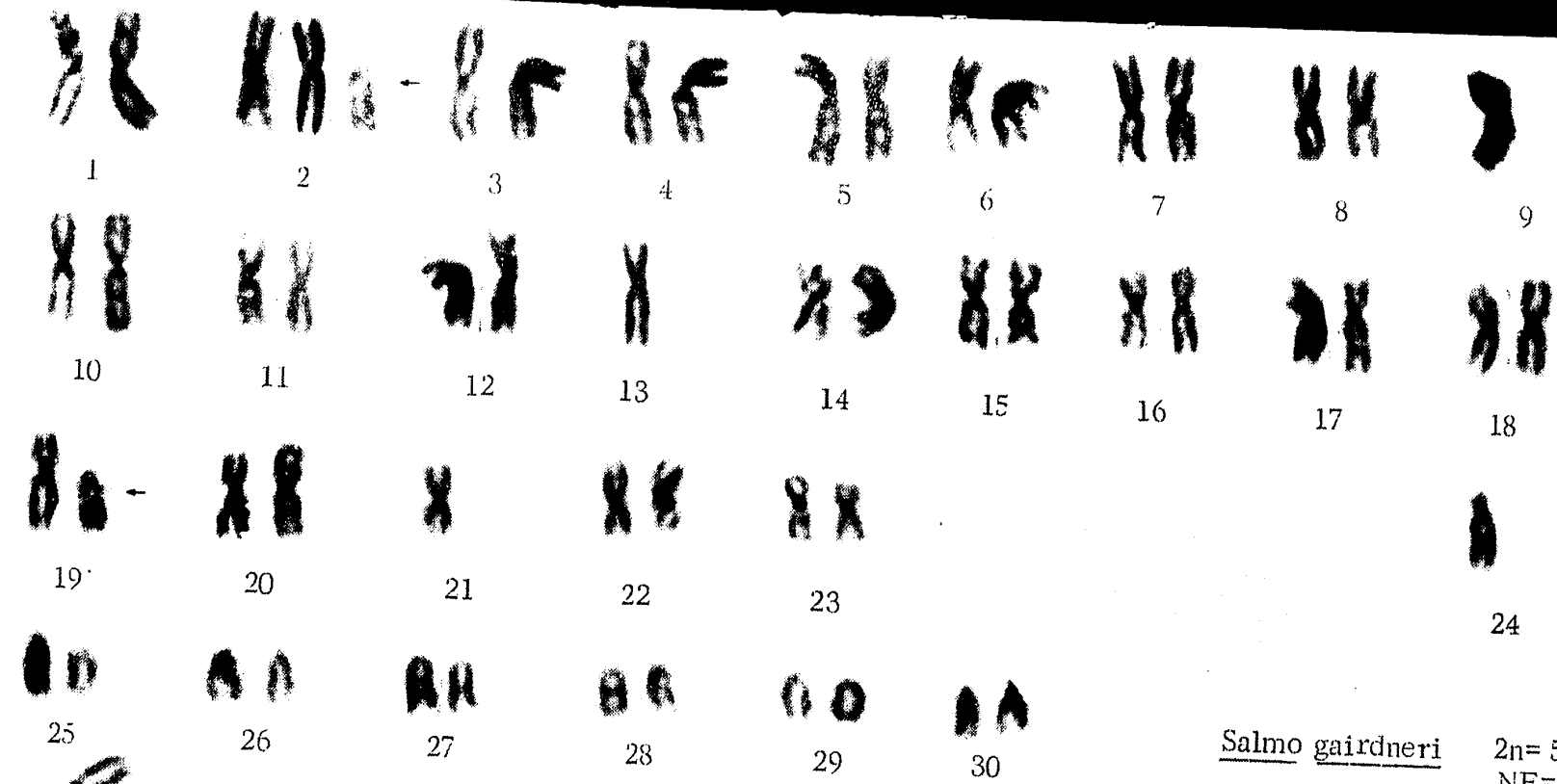
El resumen de todas las alteraciones numéricas encontradas en los cariotipos y su posible origen, así como la localización probable de los cromosomas telocéntricos adicionales en el cariotipo modal, de acuerdo al análisis estadístico realizado, se encuentran en las Tablas No. 4 y 5.





Salmo gairdneri

2n= 61  
NF= 112



Salmo gairdneri

2n= 57  
 NF= 100



CARIOTIPO No. 12

FIG. 14

TABLA No. 4

CROMOSOMAS TELOCENTRICOS ADICIONALES EN LOS CARIOTIPOS  
Y SU PROBABLE LOCALIZACION EN EL CARIOTIPO MODAL DE  
ACUERDO A EL ANALISIS ESTADISTICO.

No. Cariotipo	NC	Brazo Cromosómico	Rango de Confiabilidad ( $\bar{X}$ y S Long. rel.)	Long. rel. Crom. T.
5	2	q	2.53 $\pm$ .10	2.56
	11	q	2.08 $\pm$ .10	2.12
9	15	p	1.66 $\pm$ .12	1.65
	20	q y p	1.66 $\pm$ .10	1.62 y 1.65
10	1	q	2.82 $\pm$ .27	2.61
	16	p	1.55 $\pm$ .14	1.61
	16	q	1.85 $\pm$ .12	1.76
	18	q	1.74 $\pm$ .09	1.76
	19	q	1.88 $\pm$ .22	1.86
11	1	q	2.82 $\pm$ .27	2.94
	3	q	2.46 $\pm$ .12	2.43
	20	p	1.36 $\pm$ .16	1.31
	23	q	1.28 $\pm$ .08	1.31
	19	q y q	1.88 $\pm$ .22	1.96 y 1.96
12	2	q	2.53 $\pm$ .10	2.49
	19	q	1.88 $\pm$ .22	1.96
13	1	q	2.82 $\pm$ .27	2.68
14	16	q	1.85 $\pm$ .12	1.95
	5	p	1.62 $\pm$ .21	1.72
	24	q	1.83 $\pm$ .18	1.72
15	1	p	2.28 $\pm$ .17	2.17
	1	q	2.82 $\pm$ .27	2.96

TABLA No. 5 ALTERACIONES ENCONTRADAS EN LOS 15 CARIOTIPOS ANALIZADOS Y SU POSIBLE EXPLICACION.

Sexo	Edo. Desarrollo	No. Cariotipo	NF	No. Cromosómico (2n)	No. Cromosomas impares bivalentes.	No. Cromosomas impares monovalentes.	No. pares cromosómicos bivalentes ausentes en el cariotipo.	No. cromosomas monovalentes adicionales en el cariotipo.	Posible explicación
M	Juvenil	1	104	58	2	-	-	-	• Fenómeno de no disyunción.
M	Juvenil	2	108	60	-	-	-	-	-
H	Juvenil	3	104	58	2	-	-	-	• Fenómeno de no disyunción.
H	Juvenil	4	108	60	-	-	-	-	-
H	Juvenil	5	108	61	1	2	-	2	• Fenómeno de no disyunción y procesos de fisión centríca con pérdida de brazos.
H	Juvenil	6	112	61	-	-	-	-	• Fenómeno de no disyunción.
H	Juvenil	7	108	60	-	-	-	-	-
H	Juvenil	8	108	60	-	-	-	-	-
M	Adulto rep.	9	107	60	2	1	-	3	• Fenómeno de no disyunción y procesos de fisión centríca con pérdida de brazos.
M	Adulto rep.	10	101	59	4	3	1	5	• Procesos de fisión centríca con pérdida de brazos.
M	Adulto rep.	11	98	58	2	2	3	6	• Fenómeno de no disyunción y procesos de fisión centríca con pérdida de brazos.
M	Adulto rep.	12	100	57	5	2	-	2	• Fenómeno de no disyunción y procesos de fisión centríca con pérdida de brazos.
M	Adulto rep.	13	93	53	2	3	3	1	• Fenómeno de no disyunción y procesos de fisión centríca con pérdida de brazos.
M	Adulto rep.	14	101	58	3	1	1	3	• Fenómeno de no disyunción y procesos de fisión centríca con pérdida de brazos.
M	Adulto rep.	15	104	59	3	2	-	2	• Procesos de fisión centríca.

## DISCUSION

Los resultados del presente estudio difieren de los obtenidos en 1968 por Elorza, que es el único trabajo de Citogenética para la especie de trucha arco-iris (Salmo gairdneri), de la Piscifactoría "El Zarco" en México.

El presente estudio se enriquece, por la utilización de la herramienta estadística, así como por la utilización de las técnicas de bandeo cromosómico.

Las técnicas citogenéticas utilizadas, resultaron ser adecuadas para los objetivos del presente estudio. Asimismo la técnica de bandeo cromosómico (Bandas G) con urea, modificada para peces por Lara, Ramírez y Uribe, resultó ser un buen método, económicamente accesible y eficiente para la obtención del bandeo cromosómico.

Las variaciones encontradas a partir del número modal  $2n=60$ , se deben muy probablemente a fenómenos Robertsonianos de fisión céntrica con pérdida de brazos cromosómicos, así como a fenómenos de no disyunción durante las divisiones celulares, dada la correspondencia en longitud relativa entre los elementos impares de los cariotipos antes mencionados y en algunos elementos de los cariotipos convencionales. Confirma lo anterior, los estudios de bandeo en los que también se encontró semejanza entre los cromosomas monorrámeos impares y algunos de los brazos de los cromosomas birrámeos impares en el mismo cariotipo.

Este polimorfismo cromosómico es del tipo intraindividuo, que se presenta en las diferentes células de un mismo individuo. (Ohno, 1973).

En los organismos juveniles, se encontró un polimorfismo cromosómico que fluctuó entre los 58 y 61 cromosomas en el complemento diploide, debido muy posiblemente a los fenómenos de no disyunción y principalmente a fisiones Robertsonianas con pérdida de brazos cromosómicos.

Este tipo de anomalías es muy frecuente en ésta especie y en todos los individuos de la familia Salmonidae y es considerado por varios especialistas como un polimorfismo cromosómico constante y normal.

Diversos autores (Tabla 1), han reportado un número cromosómico  $2n$  variable para la especie Salmo gairdneri, que fluctúa entre los 58 y los 65 cromosomas debido posiblemente al resultado de 22 fusiones céntricas de cromosomas monorrámeos, presentes en un ancestro poliploide hipotético. (Kirpichnikov, 1981).

El NF es un indicador de los procesos Robertsonianos, ya que si éstos fenómenos son los únicos implicados en la evolución de los cariotipos, se tendería a conservar su número total de brazos aunque el cariotipo se encuentre modificado estructuralmente.

En la mayoría de los estudios realizados en las diferentes poblaciones de ésta especie, se ha encontrado un número  $2n=60$  y un NF de 104 (Simon y Dollar, 1963; Cuellar y Uyeno, 1972).

El NF de 104 es resultado de que no se tomen en cuenta el par de brazos p de los cromosomas subtelocéntricos (par 24), por considerarlos heteromórficos en individuos machos, (Thorgaard, 1976), mientras que en el presente estudio sí fueron considerados los brazos p de dichos cromosomas y por ello se obtiene un NF de 108.

En los steel heads (truchas arco-iris anádromas), se ha reportado un número modal  $2n=58$  y un NF de 104. (Fukuoka, 1972; Wilmot, 1974). Thorgaard (1976), menciona que el NF diferente de 104 puede haberse obtenido por errores en la determinación o también a pérdidas de brazos cromosómicos y a células aneuploides.

Además de los fenómenos Robertsonianos, en la evolución de los cariotipos se encuentran implicados otros fenómenos como son: las inversiones pericéntricas, las translocaciones recíprocas y las sencillas, así como la pérdida de segmentos cromosómicos. Estos fenómenos juegan un papel muy importante en la evolución de los cariotipos, siendo los principales mecanismos de especiación. (Freeman, 1975).

Thorgaard (1976), ha encontrado que el par 3, 15 y 16 presentan satélites y no ha sido posible hasta el momento confirmarlo debido probablemente a dificultades técnicas.

Con respecto al par 18, Thorgaard lo ha identificado como submetacéntrico, mientras que en nuestro estudio, siguiendo la clasificación de Levan, et. al., (1964), es considerado como metacéntrico.

Eventualmente puede existir un polimorfismo cromosómico como éste mismo autor lo afirma, con cromosomas subtelocéntricos adicionales en el cariotipo, originando números diploides de  $2n=58$  a  $2n=60$ . Los reordenamientos Robertsonianos han jugado un papel muy importante en ésta especie y es por ello que los individuos  $2n=59$  podrían ser heterocigóticos para ese caso. (Thorgaard, 1976).

En el presente estudio no fué posible en todos los cariotipos establecer si aparecían cromosomas subtelocéntricos adicionales, debido po

siblemente al grado de contracción de los brazos p de dichos cromosomas, por lo cual pudieron haber sido considerados como telocéntricos. Sin embargo, de haber estado presentes dichos brazos en el momento de establecer la posición de los cromosomas monorrámeos adicionales en el cariotipo, a través del análisis estadístico o del bandeo cromosómico, hubiese aparecido cierta homología entre los cromosomas clasificados como telocéntricos y los brazos q de los cromosomas subtelo-céntricos en relación a su longitud relativa o al patrón de bandas G. Tal homología no fué encontrada en dicho análisis, por lo que no podemos asegurar hasta el momento, que en ésta población aparezcan siempre en los organismos cuyo cariotipo sea  $2n=60$ , cromosomas subtelo-céntricos adicionales.

El par subtelo-céntrico descrito por Thorgaard (1977), como par sexual no fué identificado positivamente en éste trabajo, debido a que en las metafases implicadas en el estudio, no siempre se presentaron diferencias significativas de los brazos cortos en dichos cromosomas, a pesar de provenir de individuos identificados morfológicamente como machos. Esto puede deberse al grado de contracción de los brazos por efecto de la colchicina, o bien como lo menciona Thorgaard (1976), que en éstas especies se esté presentando un estado temprano de diferenciación, manifestada por la aparición de cromosomas sexuales, así como a la longitud relativa del brazo corto en relación con otros brazos p de los cromosomas subtelo-céntricos de organismos machos.

Para sustentar lo anterior, se basa en haber encontrado en sus estudios, 2 individuos machos de trucha arco-iris, con el brazo corto relativamente más largo de lo usual en el cromosoma Y, lo que probablemente se deba a que en algunas poblaciones se presenten mas fragmentos de material genético inerte.

En los steel heads, no ha sido claro el establecimiento de su par sexual, debido a que suelen presentar 1 o 2 cromosomas subtelo-céntricos adicionales ( $2n=59$  y  $2n=60$ ). (Thorgaard, 1976).

Una de las explicaciones que da Thorgaard (1976), sobre el origen del heteromorfismo del par sexual, es que todos los individuos que nacen son XX y que debido a influencias medioambientales en su desarrollo o a influencia de genes autosómicos se transformen en machos XY.

De ser correcto éste razonamiento, podría explicar el porqué en el presente trabajo, se encontraron individuos juveniles que fueron identificados como machos morfológicamente, pero no presentaban diferencias significativas en los brazos p de sus cromosomas subtelo-céntricos.

El análisis de los cariotipos provenientes de grupos de distinta edad, mostró aspectos importantes:

En los organismos adultos las alteraciones numéricas encontradas fueron más acentuadas. Su número cromosómico  $2n$  varió de 53 a 60 cromosomas y el NF por lo tanto también varió de 93 a 107, con un incremento notorio de cromosomas telocéntricos y la disminución de cromosomas birrámeos en el cariotipo.

Como podemos apreciar, en los organismos adultos las alteraciones se ven muy incrementadas en comparación con los organismos juveniles. Se puede pensar que éstos reajustes cromosómicos en los adultos reproductores se pudiesen deber a contaminantes medioambientales que afectasen la calidad del agua, siendo por ello que las células del epitelio branquial estén alteradas, ya que las branquias están constantemente expuestas al medio ambiente y por lo tanto podrían ser buenos indicadores de contaminantes.

Otra posible explicación sobre éstas anomalías, podría ser, que a una determinada edad la incidencia de alteraciones cromosómicas se incrementa, lo cual puede ser posible por la edad que presentan los reproductores en relación a su periodo de vida.

Si tomamos en consideración que los organismos adultos empleados en el presente estudio, son individuos reproductores de la Piscifactoría "El Zarco", esto refleja un gran problema.

Se puede inferir que las alteraciones de éste tipo podrían estar afectando a la descendencia de la siguiente manera:

- 1) Originando organismos portadores de reajustes cromosómicos que sufran alteraciones durante su desarrollo.
- 2) Disminuyendo la viabilidad de la descendencia, sobreviviendo sólo los organismos que no presentasen dicha alteración cromosómica.
- 3) O bien, que actuasen los dos mecanismos anteriores conjuntamente.

A nivel de producción, el hecho de utilizar como reproductores a individuos viejos, puede traducirse en pérdidas económicas considerables.

Es imperativo por consiguiente, el utilizar estratégicamente técnicas de monitoreo citogenético, a fin de obtener la producción máxima en éste recurso de gran potencial económico y alimenticio para el país.



Tomando en cuenta el número cromosómico y la cantidad de DNA, se ha encontrado que la mayoría de los Salmónidos pueden ser considerados como tetraploides de los Clupeidos. (Ohno, et. al., 1968). Ello permite una amplia variación en el cariotipo, manifiesta en 7 cambios diferentes en el complemento cromosómico asociados con los procesos Robertsonianos. (Ohno, 1965).

Según White (1973), el número  $2n=60$  de la trucha arco-iris, es más cercano al ancestro hipotético poliploide que el número diploide  $2n=58$ .

Kirpichnikov (1981), basado en trabajos realizados por diversos investigadores, ha propuesto los siguientes tres puntos para explicar los procesos que se pudieron haber presentado en el ancestro poliploide.

- 1) Las fusiones céntricas son más frecuentes que las fisiones céntricas en la evolución de ciertos grupos animales. (Sturtevant y Novitski, 1941; Baker, et. al., 1975).
- 2) Ohno, et. al., (1968, 1969 y 1974), han propuesto que en un grupo de Clupeidos ancestrales, surgió un evento tetraploide que originó alrededor de 100 cromosomas acrocéntricos.
- 3) La evolución cromosómica en los individuos  $2n=58$  y  $2n=60$ , ha requerido de la formación de nuevos centrómeros, de brazos cortos o de pares de cromosomas acrocéntricos. (Kirpichnikov, 1981).

Tratando de profundizar en las hipótesis anteriores, se realizó el análisis estadístico de los números cromosómicos de las 31 especies que conforman la familia Salmonidae y que han sido estudiadas citogenéticamente, en busca del número cromosómico ancestral que pudo haberse derivado del Clupeido tetraploide primitivo, para dar origen a los Salmónidos.

Se obtuvo un número cromosómico promedio ancestral de  $72.59 \approx 72$  empleando un análisis estadístico para comparar las densidades de frecuencia teórica y la experimental. (Fig. 15).

En la Tabla 6, se observan los valores relativos obtenidos del análisis efectuado, así como la prueba de  $X^2$  que apoya estos resultados. Los presuntos antecesores de los Salmónidos, los Clupeidos, tienen un número cromosómico que varía de  $2n=48$  a  $2n=52$ , con un promedio de  $2n=50$ , característica que los acerca al ancestro de los Teleósteos. (Ohno, 1970; Scheel, 1974). De haberse experimentado un proceso de tetraploidización en los Clupeidos ancestrales, su número cromosómico debió ser incrementado de  $2n=50$  a  $4n=100$  y el número fundamental también se incrementó de 50 a 100, debido a que en su totalidad, el complemento diploide y tetraploide del grupo está compuesto por cromosomas monorrá-

**FIG.15 DENSIDAD DE FRECUENCIAS DE LOS NUMEROS CROMOSOMICOS PRESENTES EN LA FAMILIA SALMONIDAE.**

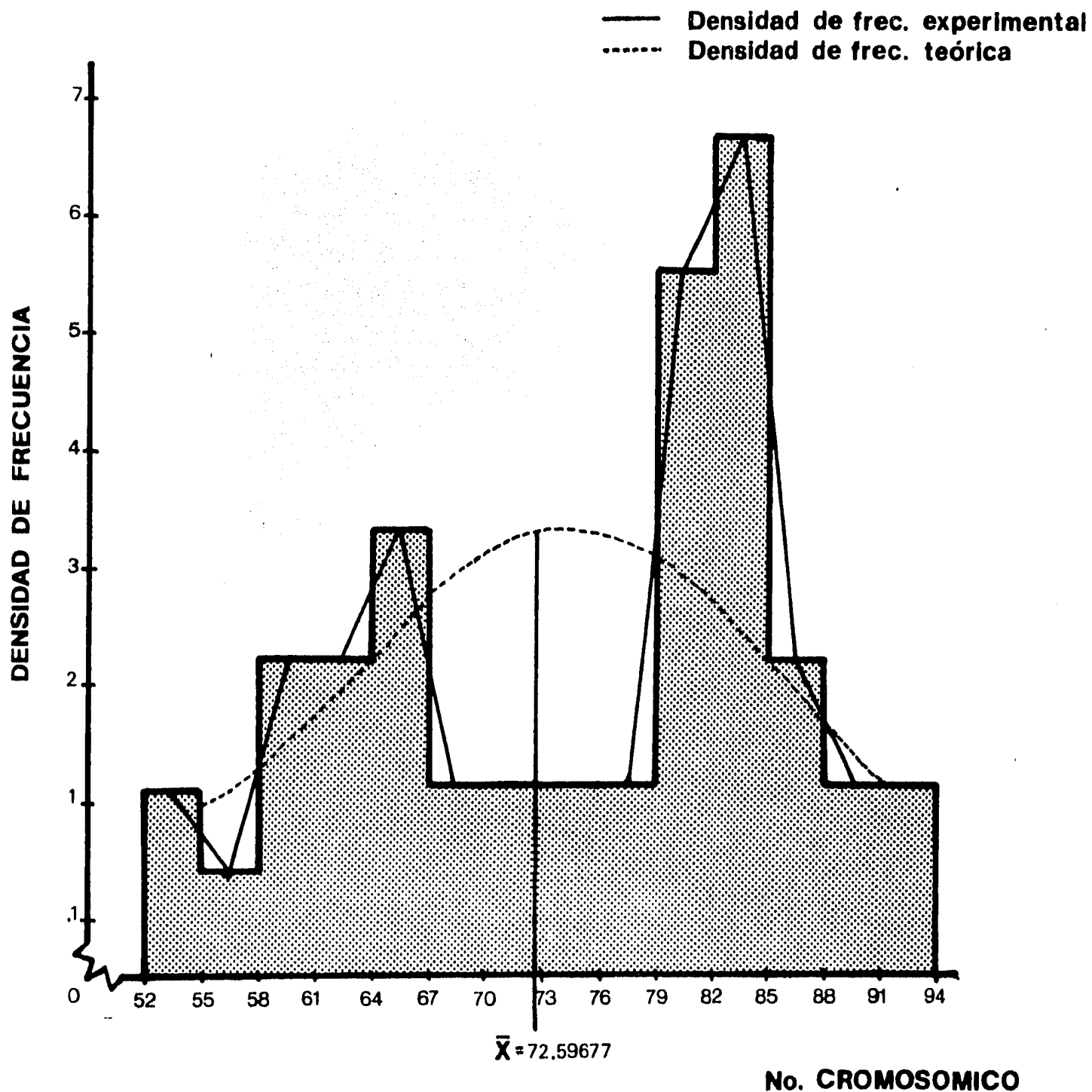


TABLA No.6

RESULTADOS DEL ANALISIS DE DENSIDADES RELATIVAS (TEORICA Y EXPERIMENTAL), ASI COMO LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA DE  $X^2$  PARA EXPLICAR EL POSIBLE ORIGEN DEL ORDEN SALMONIFORMES.

Total de especies estudiadas 31

Total de géneros incluidos en el estudio 5 (Salmo, Parasalmo, Salvelinus, Oncorhynchus y Brachymystax).

Intervalos del No. cromosómico.	Frec. absol.	Frec. rel.	Frec. rel. %	Densidad de frec. experimental.	Densidad de frec. teórica.
52 - 54.9	1	0.0323	3.23	1.1138	0.9050907
55 - 57.9	4	0.1290	1.29	0.4448	1.3246868
58 - 60.9	2	0.0645	6.45	2.2241	1.8172400
61 - 63.9	2	0.0645	6.45	2.2241	2.3366206
64 - 66.9	3	0.0968	9.68	3.3379	2.8160755
67 - 69.9	1	0.0323	3.23	1.1138	3.1810992
70 - 72.9	1	0.0323	3.23	1.1138	3.3681240
73 - 75.9	1	0.0323	3.23	1.1138	3.3425422
76 - 78.9	1	0.0323	3.23	1.1138	3.1091642
79 - 81.9	5	0.1613	16.13	5.5621	2.7107431
82 - 84.9	6	0.1935	19.35	6.6724	2.2151902
85 - 87.9	2	0.0645	6.45	2.2241	1.6967257
88 - 90.9	1	0.0323	3.23	1.1138	1.2181203
91 - 93.9	1	0.0323	3.23	1.1138	0.8196844
	$\overline{n=31}$	$\overline{1.0000}$	$\overline{100.00\%}$	$\overline{\Sigma=30.4861}$	$\overline{\Sigma=30.861113}$

$\bar{X}=72.59677$

$s^2=138.97451$

$s=11.78874$

$C.V.=16.238656$

$X^2=0.004557$

FORMULA KIO:

---

Densidad de frecuencia experimental =  $\frac{\text{frec. relativa porcentual}}{\Delta X}$

$$\text{Densidad de frecuencia teórica} = Df(X) = \left[ \frac{1}{s\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(X - \bar{X})^2}{2s^2}} \right] 100$$

$$\chi^2 = \frac{(\text{frec. experimental} - \text{frecuencia teórica})^2}{\text{frec. teórica}}$$

---

meos.

Ahora bien, pudo originarse un Salmónido ancestral con un número cromosómico  $2n=72$  y un NF de 96, (que son los valores promedio del número cromosómico y fundamental de toda la familia), proveniente de un Clupeido ancestral  $4n=100$  y un NF de 100, el cual debido a procesos Robertsonianos con pérdida de brazos cromosómicos, pudo dar origen al Salmónido ancestral.

Para corroborar ésta hipótesis, se realizó un análisis estadístico de los 5 géneros estudiados que componen a la familia Salmonidae para obtener valores más representativos sobre el ancestro hipotético y así poder inferir su origen. A continuación se presentan los valores promedio obtenidos del análisis:

Género	$2n\bar{X}$	NF $\bar{X}$	$\bar{X}de\bar{X}$ NC $2n$	$\bar{X}de\bar{X}$ NF
<u>Parasalmo</u>	71≈70	104	76	101≈100
<u>Salvelinus</u>	83≈82	99≈98		
<u>Brachymystax</u>	88	106		
<u>Oncorhynchus</u>	63≈62	104		
<u>Salmo</u>	76	94		

Con los valores obtenidos de los promedios de promedios ( $\bar{X}de\bar{X}$ ), del número cromosómico  $2n$  y el NF, se pudo establecer un árbol filogenético que nos muestra la probable divergencia que pudo presentar la familia Salmonidae en el transcurso de su evolución. (Fig. 16).

Se puede observar que el grupo compuesto por los géneros Salvelinus y Salmo, presentan los caracteres más primitivos (NC y NF), de acuerdo a nuestro análisis, en relación al ancestro Salmónido hipotético, entre los cuales no está incluida la trucha arco-iris (Salmo gairdneri), la cual se encuentra considerada dentro del género Parasalmo. (Kirpichnikov, 1981).

Ohno (1970), menciona que el origen del polimorfismo cromosómico en la trucha arco-iris puede deberse a el origen poliploide del grupo o por la pérdida de ciertos pares de cromosomas duplicados en las células, que no hubieran aparecido en la condición diploide a través de mutaciones estructurales o de sus sistemas regulatorios.

Otro posible mecanismo responsable del polimorfismo cromosómico son las translocaciones Robertsonianas que operan en los Salmónidos. (Kirpichnikov, 1981).

Ohno (1968), reportó una semejanza en el contenido de DNA entre

los Clupeidos y los Salmónidos, el cual fué confirmado en los estudios realizados por varios investigadores. (Kirpichnikov, 1981). (Tabla No.7).

Tabla No.7 ESTUDIOS REALIZADOS POR DIVERSOS INVESTIGADORES EN RELACION AL CONTENIDO DE DNA ENTRE LOS CLUPEIDOS Y LOS SALMONIDOS. (Kirpichnikov, 1981).

Familia	Cont. DNA pg/n	No. especies	Referencias
Salmonidae	2.8 - 3.5	3	1, 4, 5, 9, 12.
Clupeidae, Escocidae y Osmeridae.	0.8 - 2.7	9	2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11.

REFERENCIAS: 1) Beamish, et. al., (1971); 2) Booke, et. al., (1971); 3) Booke, (1974); 4) Ebeling, et. al., (1971); 5) Hinegardner (1968); 6) Hinegardner y Rosen (1972); 7) Muramoto, et. al., (1968); 8) Ohno, et. al., (1967); 9) Ohno, et. al., (1969); 10) Ojima, et. al., (1972); 11) Pedersen (1971); 12) Scheel (Comunicación personal).

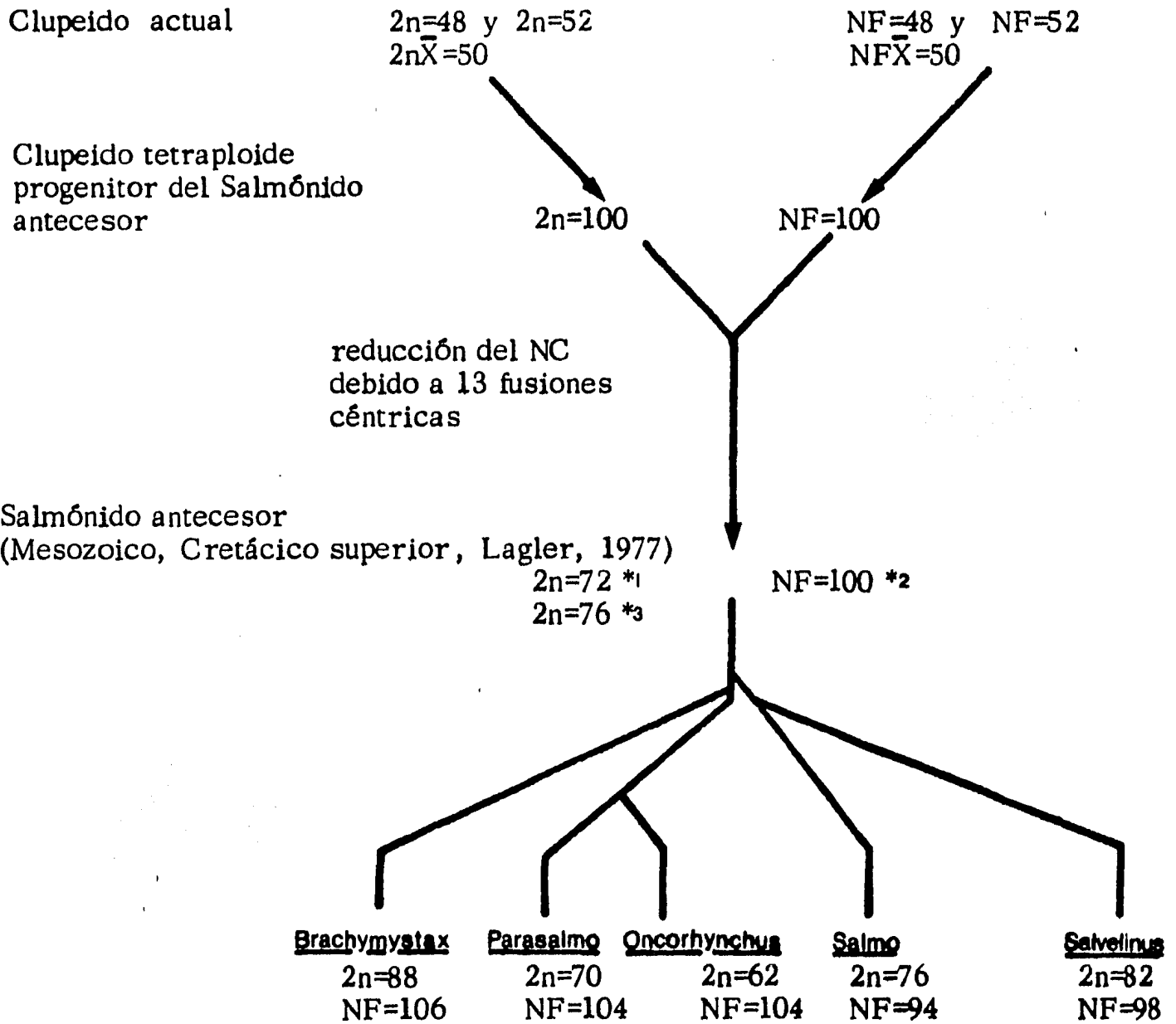
En la Tabla No.7, se muestra el contenido de DNA de los Clupeidos tetraploides actuales y los Salmónidos, (2.7 pg/n y 2.8 pg/n respectivamente). Esta gran semejanza parece indicar que el Clupeido tetraploide ancestral divergió, para originar el ancestro Salmónido, hecho que por datos derivados del registro fósil, pudo haber ocurrido en el Cretácico superior de la era Mesozoica. (Lagler, 1977).

El NF de 100 del Clupeido tetraploide, también coincide con el NF de 100, resultado del  $\bar{X}$  de  $\bar{X}$  de los grupos de géneros estudiados que conforman a la familia Salmonidae, lo que respalda el argumento anterior.

De ésta manera, podemos inferir el proceso evolutivo de la familia Salmonidae a partir de un fenómeno de tetraploidización en los Clupeidos, que dió origen a un Salmónido ancestral probablemente extinto, del cual se diversificaron los géneros que conforman a la familia Salmonidae.

En la figura 16, se representa de manera esquemática el proceso evolutivo que pudo haberse llevado a cabo, a partir de la tetraploidización de los Clupeidos.

# FIG.16 ARBOL FILOGENETICO DE LA FAMILIA SALMONIDAE



**NOTA:**

\*<sub>1</sub> De acuerdo al análisis estadístico realizado.

\*<sub>2</sub> Valor  $\bar{X}$  obtenido del  $\bar{X}$  de los NF de cada género de la familia Salmonidae.

\*<sub>3</sub> Valor  $\bar{X}$  obtenido del  $\bar{X}$  de los NC de cada género de la familia Salmonidae.

## CONCLUSION

La fórmula cromosómica para la especie de trucha arco-iris (Salmo gairdneri), de la Piscifactoría "El Zarco", fué la siguiente:

$$23 m + 1 st + 6 T = 30n$$

Se caracterizan 24 pares birrámeos y 6 pares monorrámeos.

El número diploide modal  $2n$  encontrado en las metafases mitóticas es de 60. Se deduce por lo tanto que el número haploide  $n$  es de 30.

El NF modal es de 108.

Aunque se han encontrado diferencias en el brazo corto del par cromosómico No. 24, que sugiere Thorgaard como el par heteromórfico sexual, no nos es posible hasta el momento determinar si se presenta un heteromorfismo del par sexual o par No. 24, en ésta población de trucha arco-iris.

Los resultados de nuestro estudio fueron obtenidos mediante técnicas de bandeo cromosómico (Bandas G), siendo este el primer estudio de bandeo cromosómico en peces que se realiza en nuestro país, auxiliado además por el análisis estadístico y el sistema de clasificación de Levan, et. al., 1964.

La técnica de bandeo cromosómico empleada para el presente estudio, resultó ser adecuada y de un bajo costo en relación con la tripsina, que es la que se emplea comúnmente para la obtención de bandas G en otros organismos.

Los procesos que han actuado para modificar estructural y numéricamente los cariotipos de los Salmónidos, son la fisión céntrica o Robertsoniana, las lesiones y/o los fenómenos de no disyunción.

Los resultados obtenidos hasta el momento, indican la conveniencia de efectuar un monitoreo cromosómico de las poblaciones de trucha arco-iris de la Piscifactoría "El Zarco", ya que se ha puesto de manifiesto que algunos fenómenos se encuentran alterando el cariotipo de la especie y que probablemente afecten la rentabilidad de éste recurso.

La especie de trucha arco-iris (Salmo gairdneri), no es considerada según nuestro análisis como una especie con caracteres primitivos (No. cromosómico y No. fundamental), semejantes a los que hubiese presentado el ancestro Salmónido hipotético.



## RECOMENDACIONES

Es deseable que en futuros trabajos se tomen en consideración los siguientes puntos:

Que el tiempo de exposición a la colchicina no sea muy prolongado (mayor a 2 hrs.), o a concentraciones altas, debido a que las propiedades de ésta substancia provocan constricción de las cromátidas que dificultan el análisis de las bandas.

El goteo debe realizarse a una altura no mayor de 1 mt., debido a que el material celular se expande demasiado y en ocasiones se pierden cromosomas de los núcleos celulares, resultando campos incompletos.

Se debe tomar en cuenta el NF en especies polimórficas para así poder detectar de algún modo el fenómeno genético implicado.

Se deben emplear técnicas de bandeo cromosómico para poder, de ésta manera, establecer no sólo analíticamente sino por evidencias directas provenientes de los patrones de bandas, la localización de los pares monorrámeos adicionales en el cariotipo.

Es recomendable realizar estudios sobre la calidad del agua con que se abastecen las Piscifactorías, en busca de mutágenos químicos (metales, solventes, pesticidas u oxidantes atmosféricos), que pudiesen ser los responsables de las alteraciones cromosómicas en los organismos reproductores.

Es muy conveniente proseguir el estudio de individuos juveniles y adultos, utilizando gónada y epitelio branquial (Meiosis y Mitosis), para confirmar el tipo de alteraciones. Asimismo se recomienda seguir las generaciones F<sub>1</sub> y F<sub>2</sub> de progenitores determinados, para poder profundizar en los hechos y fenómenos que se derivan del presente trabajo y así en un futuro establecer las medidas necesarias para la administración óptima de ésta pesquería.

## BIBLIOGRAFIA

- Al - Aish, M.; 1969 ; Human chromosome morphology. I studies on normal chromosome characterization, clasification and kariotiping . Can. Jours. Gen. and Cytol.; II : 370 - 381.
- Allendorf, F.W.; Ryman, N.; Stennek, A.; Stahl, G.; Utter, F.M.; 1973 ; Gene duplication within the family Salmonidae; to be tetrasomic in rainbow trout. Genetics 74: 647-654.
- Anónimo; 1980 ; Anuario Estadístico de Pesca, Departamento de Pesca. Dirección General de Planeación, Informática y Estadística. México.
- Anónimo, 1982 ; Manual Técnico para el cultivo de la trucha arcoiris. Secretaría de Pesca. México.
- Arreguín, E. R.; 1983 ; Caracterización citogenética en el bagre (Galeichthys caerulescens) . Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Benirschke, K.; 1969 ; Comparative Mammalian Cytogenetics. Edit. Springer - Verlag, New York.
- Bernard, J.; Freeman, M.; 1975 ; Causes and consequences of Robertsonian exchange. Chromosoma (Berl.). 52 : 123 - 136.
- Clarke, B.C.; 1979 ; The evolution of genetic diversity. Genetics Research Unit. Queen's Medical Centre. 205 : 453 - 474.
- Comings, D. E.; 1978 ; Mechanisms of chromosome banding and implications for chromosome structure. Ann. Rev. Genet. 12 : 25 - 46.
- Denton, T. E.; 1973 ; Fish chromosome methodology. Published by Charles C. Thomas, Illinois, USA. 166 pp.
- Dobzhansky; Ayala; Stebbins; Valentine; 1980; Evolución. Edit. Omega, Barcelona España. 588 pp.
- Donaldson, L. R.; Joyner, T.; 1983 ; The Salmonid fishes as a natural livestock. Scientific American, Vol. 249 (1) 50 - 58.
- Egozcue, J.; 1971; Técnicas en Citogenética. Edit. Espax, Barcelona España.

- Frías, V.S.; 1975 ; Estudio de la variación en el número cromosómico en Carassius aratus L. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Garber, E.D.; 1975; Introducción a la Citogenética. Edit. C.E.C.S.A. México, 248 pp.
- Gola, J.R.; Karel, W. J.; Strand, M.R.; 1979 ; Chromosome formulae of North American fishes. The Texas A&M. University System. 1411 pp.
- Hinegardner, R.; Rosen, D.E. 1972 ; Cellular DNA content and evolution of teleostean fishes. Am. Nat. 106 (951) : 621 - 644.
- Hsu, T.C.; Mead, R.A.; 1969 ; Mechanisms of chromosomal changes in mammalian especiation. Comp. Mam. Cytogenetics. Vol. IV (2).
- Imai, H.; 1977 ; On the origin of telocentric chromosomes in mammals. J. Theor. Biol. 71 : 619 - 637.
- Jackson, R.C.; 1971 ; The karyotype in systematic. Ann. Rev. of Ecol. and System. 2 : 327 - 368.
- Johnstone, K.; Simpson, T.H.; Youngson, A.F.; 1978 ; Sex reversal in Salmonid culture. Aquaculture. 13 : 115 134.
- Kirpichnikov, V.S.; 1981 ; Genetic bases of fish selection. Springer - Verlag, New York.
- Lagler, K.F.; Baradach, J.E.; Miller, R.K.; Maypassino, D.K.; 1977 ; Ichthyology. Edit. Jhon Wiley & Sons, New York.
- Levan, A.K.; Fedgay, A.; Sandberg, R.; 1964 ; Nomenclature for centromeric position on chromosome. Hereditas 52 : 201 - 220.
- Levan, A.; Levan, G.; 1978 ; Have double minutes functioning centromeres. Hereditas 88 : 81 - 92. Sweden.
- Mc. Phail, J.D.; Jones, R.L.; 1966 ; A simple technique for obtaining chromosomes from teleost fishes. J. Fish. Res. Bd. Canadá, 23 (5) : 767.

- Migdalski, E.C.; Fichter, The fresh & salt water fishes of the world. Edit. G.S.; 1983 ; Greenwich House, New York.
- Murray, R.S.; 1969 ; Estadística. Edit. Mc. Graw Hill, serie Shaum, México.
- Nelson, J.S.; 1976 ; Fishes of the world. Edit. Wiley & Sons, Toronto, Canadá. pp 94 - 111.
- Ohno; Wolf; Atkin; 1967 ; Evolution from fish to mammals by gene duplication. Hereditas 59 (6) : 169 - 187.
- Ohno, S.; 1967 ; Sex chromosomes and sex linked genes. Monographs on Endocrinology, Edit. Springer - Verlag, USA.
- Ohno, S.; 1970 ; Evolution by gene duplication. Edit. Springer- Verlag, USA.
- Ojima; Ueno, K.; 1976 ; A review of the chromosome numbers in fishes. La Kromosoma II (1) : 1974.
- Patton, J.L.; Wilson, C.; Bush, G.L.; 1977 ; Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. Proc. Nat. Acad. Sci., USA Vol. 71 (9) : 3942 - 3946.
- Prevosty, A.; 1978 ; Polimorfismo cromosómico y evolución. Investigación y Ciencia 26 (90) : 103 Nov.
- Ryman, N. K.; Allendorf, F.H.; Sthal, G.; 1978 ; Reproductive insolation with little genetic divergence in sympatric population of brown trout. (Salmo trutta). Genetic 92 : 247 - 262.
- Rubín, K. K.; 1976 ; La Piscifactoría, cría industrial de los peces de agua dulce. Edit. C.E.C.S.A., México.
- Sáez, A.F.; Cardoso, H.; 1978 ; Citogenética básica y biología de los cromosomas. Edit. OEA, Washington, D.C.
- Sinnott; Dunn; Dobzhansky; 1961 ; Principios de Genética. Edit. Omega. Barcelona España. pp 339 - 378.
- Swanson, C.P.; Merz, T.; Young, W.J.; 1981 ; Cytogenetics. The chromosome in division, inheritance and evolution. Edit. Prentice Hall, Englewood Cliffs., N.J.

- Thorgaard, G.H.; 1976 ; Robertsonian polymorphism and constitutive heterochromatin distribution in chromosomes of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Cytogenet. Cell. Genet. 17 : 174 - 184.
- Thorgaard, G.H.; 1977 ; Heteromorphic sex chromosomes in male rainbow trout. Science, Vol. 196 : 900 - 902.
- Thorgaard, G.H.; Gall, G.A.E.; 1979 ; Adult triploids in a rainbow trout family. Genetics, 93 (4) : 961 - 973.
- Wang, H.C.; Federoff, S.; 1972 ; Banding in human chromosomes treated with trypsin. Nature New Biol. 235 : 52 - 54.
- Watson, J.D.; 1965 ; Molecular biology of the gen. Edit. W.A. Benjamin, Inc. New York.
- White, M.J.D.; 1978 ; Chain Processes in chromosomal speciation. Systematic Zoology, 27 : 17 - 26.
- Wilson, A.; Sarich, V.; Maxson, L.; 1974 ; The importance of gene rearrangement in evolution, evidence from studies on rates of chromosomal, protein and anatomical evolution. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, Vol. 71 (8) : 3028 - 3030.