

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“DETERMINACION CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL CARIOTIPO
DE LA ALMEJA *Anadara tuberculosa* (BIVALVO-ARCIDAE)”**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TITULO DE**

BÍOLOGO

PRESENTA:

IRENE GUTIERREZ VAZQUEZ

Ensenada, B.C.

Enero de 2003

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

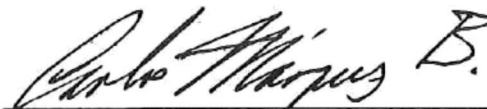
**“DETERMINACION CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL CARIOTIPO DE
LA ALMEJA Anadara tuberculosa (BIVALVO-ARCIDAE)”.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PRESENTA:

IRENE GUTIERREZ VAZQUEZ

Aprobada por:



DR. CARLOS MARQUEZ BECERRA

Presidente del jurado

Director de Tesis



DR. FAUSTINO CAMARENA ROSALES

1º Vocal



M.C. MIGUEL HUBERTO CARRILLO MENDIVIL

Secretario

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a la memoria de mi padre el Sr. Manuel Gutiérrez Urrea (Q.P.D.) y a mi madre la Sra. Marina Vázquez Tapia, por todo el apoyo, cariño y comprensión que me otorgaron desde siempre.

Quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), y en particular a la Facultad de Ciencias por haberme permitido relizar mis estudios de licenciatura.

Así mismo a toda la planta de maestros y amigos que me enseñaron lo maravilloso que es la Biología.

Muy especialmente agradezco al Dr. Carlos Márquez Becerra por compartir parte de sus conocimientos y su tiempo para la realización de este trabajo.

INDICE

	Página
Dedicatoria	I
Agradecimientos	ii
Lista de figuras	vi
Lista de tablas	v
Introducción	1
Antecedentes	22
Objetivo	43
Materiales y Métodos	44
Resultados	48
Discusión	63
Conclusiones	67
Bibliografía	68

LISTA DE FIGURAS.

	Página
Figura 1. Mitosis y División Celular.	11
Figura 2. Morfología cromosómica. Se muestran dos tamaños de cada tipo de cromosoma.	17
Figura 3. Diagrama de un cromosoma hipotético mostrando sus diferentes regiones.	18
Figura 4. Diferentes tipos de mutaciones cromosómicas.	21
Figura 5. Distribución porcentual de los números cromosómicos en 78 células de los 8 organismos seleccionados.	51
Figura 6. Distribución del número cromosómico en 78 células de los 8 organismos seleccionados.	52
Figura 7. Metafase de <i>Anadara tuberculosa</i> . Cromosomas ordenados de acuerdo al tamaño en el orden de mayor a menor.	55
Figura 8. Metafase de <i>Anadara tuberculosa</i> . Cromosomas ordenados de acuerdo al tamaño en el orden de mayor a menor.	56
Figura 9. Idiograma de la metafase de <i>Anadara tuberculosa</i> de la figura 7, donde se muestran 38 cromosomas ordenado por longitud relativa.	59
Figura 10. Idiograma anterior ordenado por la posición del centrómero.	60
Figura 11. Idiograma de la metafase de <i>Anadara tuberculosa</i> de la figura 7, mostrando 19 pares de cromosomas ordenados a partir de su longitud relativa.	61
Figura 12. Idiograma anterior ordenado por la posición del centrómero.	62

LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla I.	Clasificación de los cromosomas de acuerdo a la posición del centrómero. Tomado de Sessions, 1996.	15
Tabla II.	Especies cariotipadas de la Familia Veneridae.	23
Tabla III.	Estudio de tres especies de la Familia Veneridae realizado por Ieyama en 1980.	26
Tabla IV.	Diferencias cariomorfológicas en <i>Anomia chinensis</i> .	28
Tabla V.	Diferencias cariomorfológicas en <i>Pecten albicans</i> .	29
Tabla VI.	Diferencias en la longitud media total del complemento diploide en larva trocófora y branquias de <i>Chamys novilis</i> .	31
Tabla VII.	Algunas especies de la Superfamilia Ostracea que han sido cariotipadas.	32
Tabla VIII.	Cariotipos similares en dos especies del género <i>Pinctada</i> .	34
Tabla IX.	Algunas especies cariotipadas de la Familia Pectinidae.	36
Tabla X.	Números cromosómicos detectados en diferentes especies dentro de algunas familias de bivalvos.	37
Tabla XI.	De acuerdo con la FAO (1995) en el género <i>Anadara</i> incluye seis especies de interés para la pesca en el Pacífico centro oriental.	39
Tabla XII.	Especies de la Familia Arcidae que han sido cariotipadas.	40
Tabla XIII.	Se muestran los ensayos realizados y los organismos que presentaron las mejores metafases y el tiempo que estuvieron expuestos a la colchicina.	49
Tabla XIV.	Distribución de los números cromosómicos en 78 células metafásicas.	50

	Página
Tabla XV. Parámetros citogenéticos de 38 cromosomas de <i>Anadara tuberculosa</i> .	57
Tabla XVI. Parámetros citogenéticos de 19 pares de cromosomas de <i>Anadara tuberculosa</i> .	58
Tabla XVII. Especies de la Familia Arcidae cariotipadas.	64

Introducción

El Phylum Mollusca incluye a especies conocidas como almejas, caracoles, abulones, pulpos y calamares, entre otras. Posiblemente es el grupo mejor conocido de invertebrados en el mundo (Brusca, 1973; Meglitsch, 1978; Holguín y González-Pedraza, 1994). Su diversidad y número de especies es superada solamente por los artrópodos (Barnes, 1989; Brusca y Brusca, 1990). El conocimiento de los moluscos es amplio, debido a la importancia social, económica y alimentaria que han tenido a través de la historia de la humanidad (Meglitsch, 1978; Cifuentes-Lemus, 1984; Arizpe, 1992).

Las evidencias de la utilización de los moluscos por el hombre, son numerosas, como lo demuestran los restos de conchas encontradas en las cavernas y albergues habitados por el hombre primitivo, que posiblemente los utilizaban para su alimentación. Así mismo se han utilizado sus conchas como utensilios domésticos, en la elaboración de las artes para la cacería y la pesca, como adorno y/o símbolos en los templos (Arizpe, 1992). Aún en tiempos recientes se utilizaron las conchas de caracoles como monedas (*Cypraea moneta*), tal es el caso de algunos pueblos africanos y australianos (Cifuentes-Lemus, 1984).

El abundante registro fósil descubierto hasta la fecha ha permitido conocer la historia evolutiva de la vida en el océano a través de los diversos campos de la ciencia como la Geología, Paleontología, Paleobiología, Antropología y otras disciplinas (Holguín y González-Pedraza, 1994).

Las conchas de los moluscos son apreciadas tanto por coleccionistas y aficionados como por científicos. Las que son bonitas o raras llegan a cotizarse en precios elevados (Meglitsch, 1978; Holguín y González-Pedraza, 1994).

Existen diversos bivalvos como almejas, ostiones, mejillones entre muchos que son de importancia en la alimentación del hombre y se explotan directamente de sus bancos naturales o como especies de cultivo (Meglitsch, 1978). Otros bivalvos como los teredos, perforadores de madera, causan cuantiosos daños a muelles, pilotes y embarcaciones de madera (Morris *et al.*, 1980 y Meglitsch, 1978).

Se conocen aproximadamente 20, 000 especies vivientes de gasterópodos marinos, 10, 000 de pelecípodos y alrededor de 650 de poliplacóforos, distribuidos en los mares del mundo (Holguín y González-Pedraza, 1994). Han sido descritas por lo menos 35, 000 especies fósiles (Meglitsch, 1978), no obstante se estima que existen entre 80, 000 y 150, 000 especies de moluscos vivientes (Barnes, 1989).

La fauna malacológica del Pacífico centro-oriental comprende unas 900 especies de bivalvos marinos y de aguas salobres, agrupadas en 70 familias (FAO, 1995).

La elevada capacidad de adaptación de los moluscos les ha conferido un enorme éxito a lo largo de su historia, ya que tienen un amplio y variado alcance de distribución. Se les encuentra desde los hábitats terrestres húmedos y dulceacuícolas, hasta en los mares. En los océanos, se localizan desde el

supralitoral (zona humedecida por salpicaduras y rocío del mar), hasta las profundidades abisales y el ambiente pelágico (Meglitsch, 1978; Holguín y González-Pedraza, 1994).

Los bivalvos se encuentran comprimidos lateralmente y poseen un par de valvas calcificadas, articuladas dorsalmente por una charnela que encierran el cuerpo completamente. La cavidad del manto es la más espaciosa con respecto a otras clases de moluscos. Las branquias son grandes y tienen la función de filtrar y recolectar alimento, además de intercambiar gases. La mayoría de estas características representan modificaciones que han permitido a los bivalvos convertirse en excavadores de fondos blandos. Aunque los bivalvos modernos han invadido otros hábitats, las adaptaciones para excavar en el lodo y arena los han conducido a llevar una existencia sedentaria (Barnes, 1989).

Distribución

Los patrones de distribución de la clase Bivalvia son particularmente útiles en los estudios de biogeografía marina, ya que está bien representada en la mayoría de las comunidades bentónicas. La vida adulta de los bivalvos es virtualmente sedentaria y sus estadios larvarios planctónicos los hacen buenos indicadores de las características del ambiente (Bernard *et al.*, 1991).

De acuerdo a sus hábitos de vida como tipo de alimentación, modos de locomoción y fijación, se distribuyen en el bentos tanto en la epifauna, la infauna y semi-infauna (zona intermedia para organismos que viven parcialmente enterrados en el sustrato). De acuerdo a su tipo de alimentación, ya sea suspensívora y/o de depósito, se han clasificado en siete divisiones o grupos ecológicos: 1) fijos bisalmente, 2) cementados, 3) reclinantes, 4) nadadores, 5) perforadores, 6) excavadores y 7) anidantes (García-Cubas *et al.*, 1986).

La característica captura y transporte de los nutrientes por medio de células ciliadas y su capacidad para filtrar agua, convierte a los bivalvos en importantes transformadores de sedimentos y detritos. Además por su capacidad para retener metales pesados y residuos tóxicos como pesticidas, son utilizados como bioindicadores de contaminación (Holguín y González-Pedraza, 1994).

El número y diversidad de las especies aumenta conforme se acercan al ecuador. La relativa edad media paleontológica de los bivalvos vivientes se

incrementa de norte a sur en el hemisferio norte. Existe evidencia de que la edad media paleontológica es mayor para las especies de bivalvos intermareales que para los representantes de aguas profundas, y no hay un indicador de que los taxa más antiguos estén mas ampliamente dispersos. El número de especies en la latitud está directamente correlacionada con la temperatura media del océano tanto para los bivalvos intermareales como para los submareales. El ciclo promedio de mareas y el área de la plataforma continental disponible para el establecimiento no están bien correlacionadas con el número de especies presentes en la latitud. Hay indicios de que las especies de latitudes más altas, se han dispersado mediante la colonización de zonas profundas donde el agua es más fría, con decremento de la latitud (Bernard *et al.* 1991).

Importancia y Biología de *Anadara tuberculosa*

La familia Arcidae incluye unas 200 especies, distribuidas tanto en el océano Atlántico como en el Pacífico (Abbott, 1969). En esta familia se encuentra el género *Anadara* que ocupa una posición geográfica comprendida de los 43 grados latitud N hasta los 5 grados latitud S, con una distribución batimétrica de la zona intermareal hasta los 130 m de profundidad, y tuvo su origen temprano en América Occidental en el Mioceno (Bernard *et al.*, 1991).

Las especies del género *Anadara* viven enterradas en arenas fangosas, aunque los estadios juveniles presentan un biso simple con el que se fijan temporalmente al sustrato. Algunas especies de la familia contienen hemoglobina, lo que da el color rojo a la hemolinfa (Abbott, 1969).

Anadara tuberculosa, también es conocida por los nombres vernáculos de: pata de mula, arca negra y/o piangua, se encuentra dentro de la familia Arcidae, la cual pertenece al orden Arcodia, dentro de la subclase Pteriomorphia y su distribución abarca desde la Laguna de Ballenas, Baja California, así como el Golfo de California México, hasta el sur de Tumbes, Perú (Keen, 1971; FAO, 1995). Es una especie tropical de la Provincia Biogeográfica Panámica y extiende su distribución hasta la zona sur de la Provincia Californiana. Está ubicada en la costa exterior de Baja California y se caracteriza por complejos patrones faunísticos, debido a los ambientes intercalados con promontorios influenciados por aguas frías de surgencias que contienen elementos típicos de la fauna Californiana, y las bahías protegidas con una distintiva fauna tropical (Bernard *et al.*, 1991).

Es una especie gonocórica con una proporción de sexos de 1:1, que presenta sexos separados con fecundación y desarrollo externos (Cruz, 1984).

Anadara tuberculosa se encuentra asociada a las raíces de los mangles *Rizophora mangle*, *R. harrissoni*, *Avicenia germinans* y *Pelliciera rizophorae* (Baqueiro y Kensler, 1979; Campos *et al.*, 1990)

Es considerada una especie de importancia económica en las costas de América Central (Keen, 1971), como es el caso de Costa Rica donde se le considera la especie del ecosistema de manglar más explotada en todo el litoral Pacífico (Cruz, 1984). Así mismo en las costas de Colombia es la especie de manglar más común y explotada del Género (Squires *et al.*, 1977). En tanto que en los manglares del oeste de México es una especie explotada intensamente (Baqueiro y Kensler, 1979). Se considera que es una especie apropiada para el maricultivo ya que presenta un rápido crecimiento, es de alta producción, es aceptada en el mercado y posee un precio competitivo (Baqueiro, 1987; Campos *et al.*, 1990).

Las poblaciones de *Anadara tuberculosa* están sujetas a la explotación para consumo humano por lo que se hace necesario un estudio biológico amplio. Una parte son los estudios citogenéticos, como la determinación del número de sus cromosomas, su forma y su tamaño. Esta información conjuntada con toda la caracterización de su biología, permitirá establecer estrategias de manejo, explotación y conservación apropiadas para la especie.

En el trabajo sobre moluscos comestibles de las costas de México, García-Cubas *et al.*, (1987) consideran que existen 20 familias de moluscos, características

de ambientes marinos y salobres ubicadas en las costas del Golfo y Pacífico mexicanos. Es destacado el hecho de que el mayor número de especies se encuentra incluido en tres familias entre las que está Arcidae que contiene a las especies del género *Arca* y *Anadara*.

Por ser un recurso bentónico de hábitos sedentarios, es de fácil extracción, lo que ha conducido a la sobreexplotación de algunas poblaciones de los manglares de la costa del Golfo de California, encontrándose en densidades de 1 a 2 individuos por metro cuadrado, mientras que en los manglares del Pacífico se localizan densidades de 15 a 10 individuos por metro cuadrado (Baqueiro *et al.*, 1982).

Ciclo Celular

En este trabajo se analizaron cromosomas metafásicos de células de epitelios branquiales, por lo tanto es conveniente exponer brevemente algunos de los tecnicismos que en buena parte del texto se citan con frecuencia.

El ciclo celular de las células eucariotas, comprende fundamentalmente dos períodos: uno de interfase que abarca los períodos G_1 , S y G_2 , y otro de mitosis finalizando con la división por medio de la cuál se producen dos células hijas (Griffiths *et al.*, 1993; Tamarín, 1996).

La síntesis de ADN se lleva a cabo en el período S, que es precedido por G_1 , seguido por G_2 y la mitosis. Los cromosomas no pueden ser vistos durante la interfase, debido a que se encuentran en forma de cromatina parcialmente condensada y sus componentes macromoleculares están distribuidos laxamente dentro del núcleo. Las células son funcionalmente muy activas en muchos aspectos durante la interfase (Griffiths *et al.*, 1993).

El período de mitosis (M), es usualmente el más corto del ciclo, aproximadamente del 5 - 10% (Tamarín, 1996). Durante este período el núcleo presenta una serie de cambios complejos pero que son regulares y constantes, en cuyo transcurso la envoltura nuclear y el nucleólo se disgregan y la cromatina se condensa en cuerpos intensamente coloreados que poseen formas y tamaños bien definidos, denominados cromosomas (Griffiths *et al.*, 1993).

La mitosis está dividida dentro de cuatro estadios, llamados: profase, metafase, anafase y telofase, concluyendo con la división celular o citocinesis (figura 1).

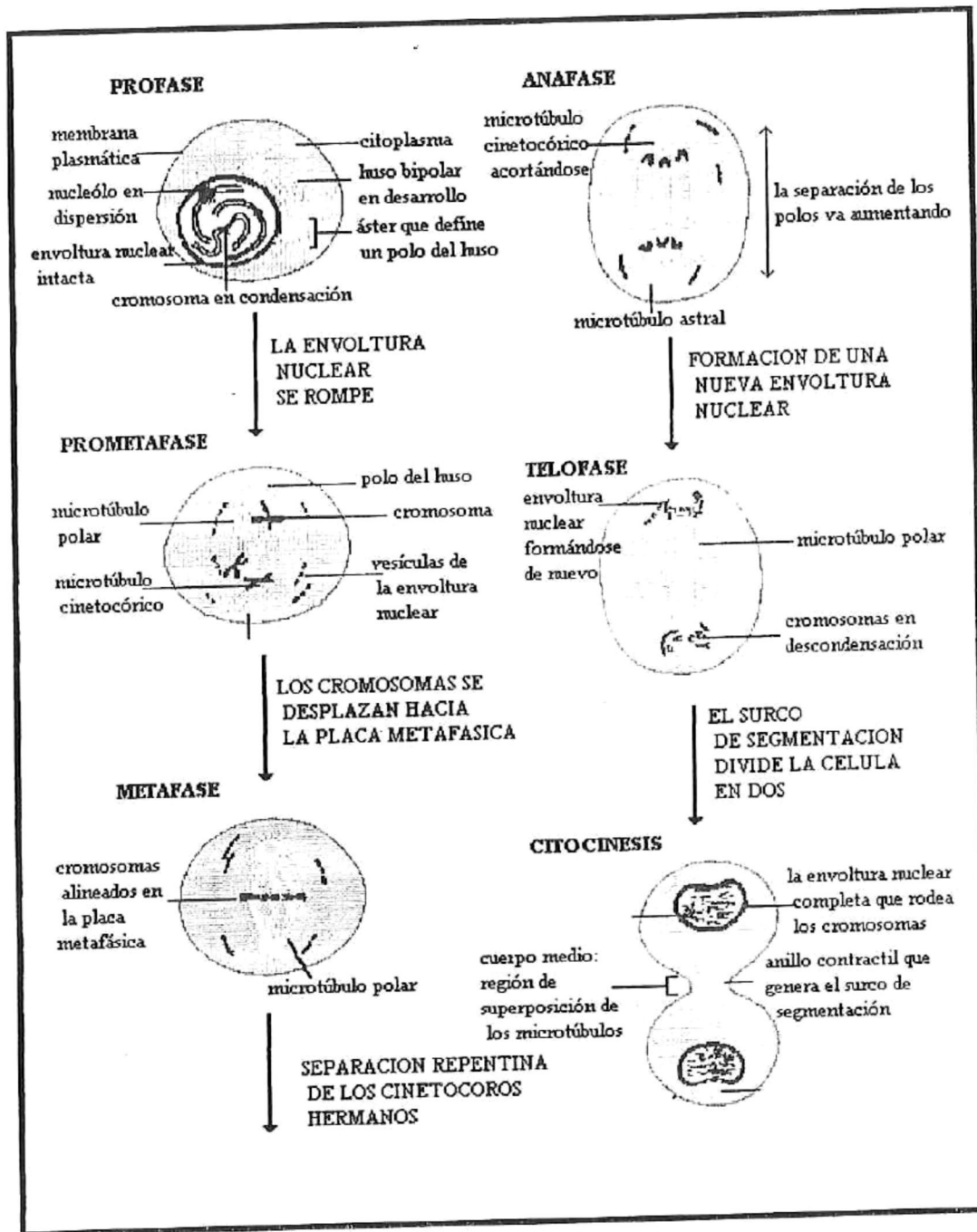


Figura 1. Mitosis y División Celular. Modificado de Alberts B. *et al.*, 1994.

Profase. Es el inicio de la mitosis y está anunciada por la aparición de los cromosomas como filamentos delgados, distintos de la interfase, los cuales se vuelven cada vez más evidentes, mediante un proceso de contracción o condensación. Cada uno de los cromosomas está compuesto de dos filamentos longitudinales enrollados llamados cromátidas. Estas cromátidas hermanas están unidas mediante las constricciones primarias o centrómeros. El nucleólo (gran estructura esférica intranuclear) desaparece en esta etapa, disgregándose en el nucleoplasma. Al final de la profase, cuando desaparece la envoltura nuclear, el nucleoplasma es liberado en el citoplasma (Griffiths *et al.*, 1993).

En el citoplasma el fenómeno más destacado es la formación del huso acromático (compuesto esencialmente por microtúbulos) el cuál está relacionado con la existencia de los centriolos. Los centriolos se duplican durante la interfase, generalmente durante el período S. Al comenzar la profase existe un áster único, formado por microtúbulos cortos que irradian en todas direcciones y que rodea a ambos pares de centriolos. Uno de los pares permanece en su lugar, junto con la mitad del áster original, mientras que el otro par con la otra mitad del áster, describe un trayecto de aproximadamente 180 grados alrededor del núcleo para alcanzar el polo opuesto (Russell, 1996).

Metafase. En esta fase, en la cuál la membrana nuclear ha desaparecido y los cromosomas se encuentran aparentemente en desorden, las fibras del huso invaden el área central y sus microtúbulos se extienden entre los polos. Los cromosomas se unen mediante sus centrómeros a algunas de las fibras del huso

y sufren movimientos oscilatorios hasta que se ordenan en un plano central, denominado placa ecuatorial (Griffiths *et al.*, 1993).

Anafase. Comienza cuando los centrómeros de los pares de cromátidas hermanas se separan e inicia la migración de cada cromátida hacia los polos. El centrómero siempre precede al resto de la cromátida, como si éste fuera arrastrado por las fibras cromosómicas del huso, dando la apariencia de “V” en el caso de los cromosomas metacéntricos, y los brazos son dirigidos hacia el plano ecuatorial (Griffiths *et al.*, 1993).

Telofase. Los cromosomas comienzan a desenrollarse y se vuelven cada vez menos condensados. Al mismo tiempo se agrupan en masas de cromatina rodeadas de segmentos discontinuos de envoltura nuclear, que finalmente se fusionan formando dos envolturas completas alrededor de cada uno de los núcleos hijos. Posteriormente se produce la citocinesis que es en sentido estricto la división celular, es decir, la segmentación y separación del citoplasma (Griffiths *et al.*, 1993).

Cromosomas

Los cromosomas pueden ser considerados como un componente celular dotado de organización, individualidad y función especial. La maquinaria celular los duplican durante la fase S y les permite mantener sus propiedades morfológicas y fisiológicas a lo largo de divisiones celulares sucesivas (De Robertis y De Robertis, 1986).

Las características morfológicas de los cromosomas tales como tamaño relativo, posición del centrómero y constricciones secundarias se estudian mejor durante la profase y la metafase de la mitosis y se emplean para la identificación de los cromosomas (Hillis *et al.*, 1996).

El término cromosoma fue introducido en 1888 por Wilhelm Waldeyer, y la teoría cromosómica de la herencia fue presentada y elaborada por Theodore Boveri, Walter S. Sutton y Thomas H. Morgan a principios del siglo XX. Desde entonces el estudio de los cromosomas es conocido como Citogenética y ha ocupado un lugar prominente en aplicaciones tanto clínicas como científicas, así como en estudios comparativos de biología y filogenética. La Citogenética comparativa es un campo útil y bien fundamentado concerniente a la estructura, función y evolución de los cromosomas (Hillis *et al.*, 1996).

Los cromosomas se clasifican en cuatro tipos de acuerdo a su forma, que a su vez está determinada por la posición del centrómero (Tabla I).

Tabla I. Clasificación de los cromosomas de acuerdo a la posición del centrómero. Tomado de Sessions, 1996.

INDICE CENTROMERICO*	TERMINOLOGIA
0.00 - 0.12	Telocéntrico = t
0.13 - 0.25	Subtelocéntrico = st
0.26 - 0.37	Submetacéntrico = sm
0.38 - 0.50	Metacéntrico = m

* Índice Centromérico = longitud del brazo corto/longitud cromosómica total.

Se conoce como cariotipo a un juego completo de todos los cromosomas metafásicos de una célula y es característico de una especie (Russell, 1996). Dicho conjunto puede presentarse en forma de diagrama, ordenándose los cromosomas por tamaños decrecientes e indicándose en el diagrama la localización del centrómero, de los satélites y de las constricciones secundarias (figuras 2 y 3). Esta representación esquemática del cariotipo recibe el nombre de idiograma y permite la comparación de los complementos cromosómicos de especies distintas (Brown y Bertke, 1979).

Las investigaciones de los cromosomas pueden ayudar a resolver problemas relativos a la formación de las especies. A veces es posible seguir la ruta evolutiva de cierta especie comparando las relaciones numéricas y estructurales de sus cromosomas con las de otras especies pertenecientes al mismo género (Gardner, 1980).

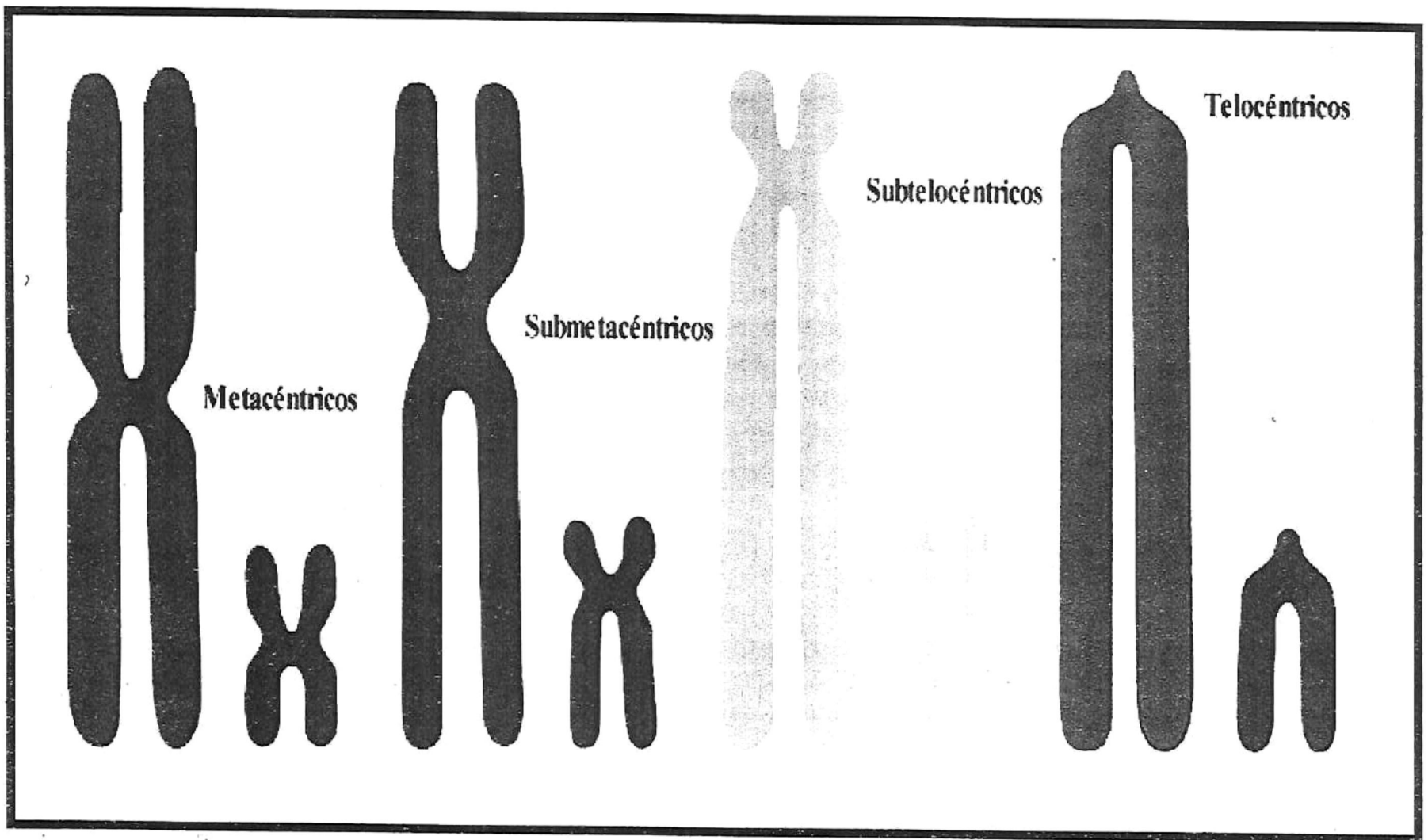


Figura 2. Morfología cromosómica. Se muestran dos tamaños de cada tipo de cromosoma. Los cromosomas telocéntricos y subtelocéntricos son referidos algunas veces como acrocéntricos. Tomado de: Sessions, 1996.

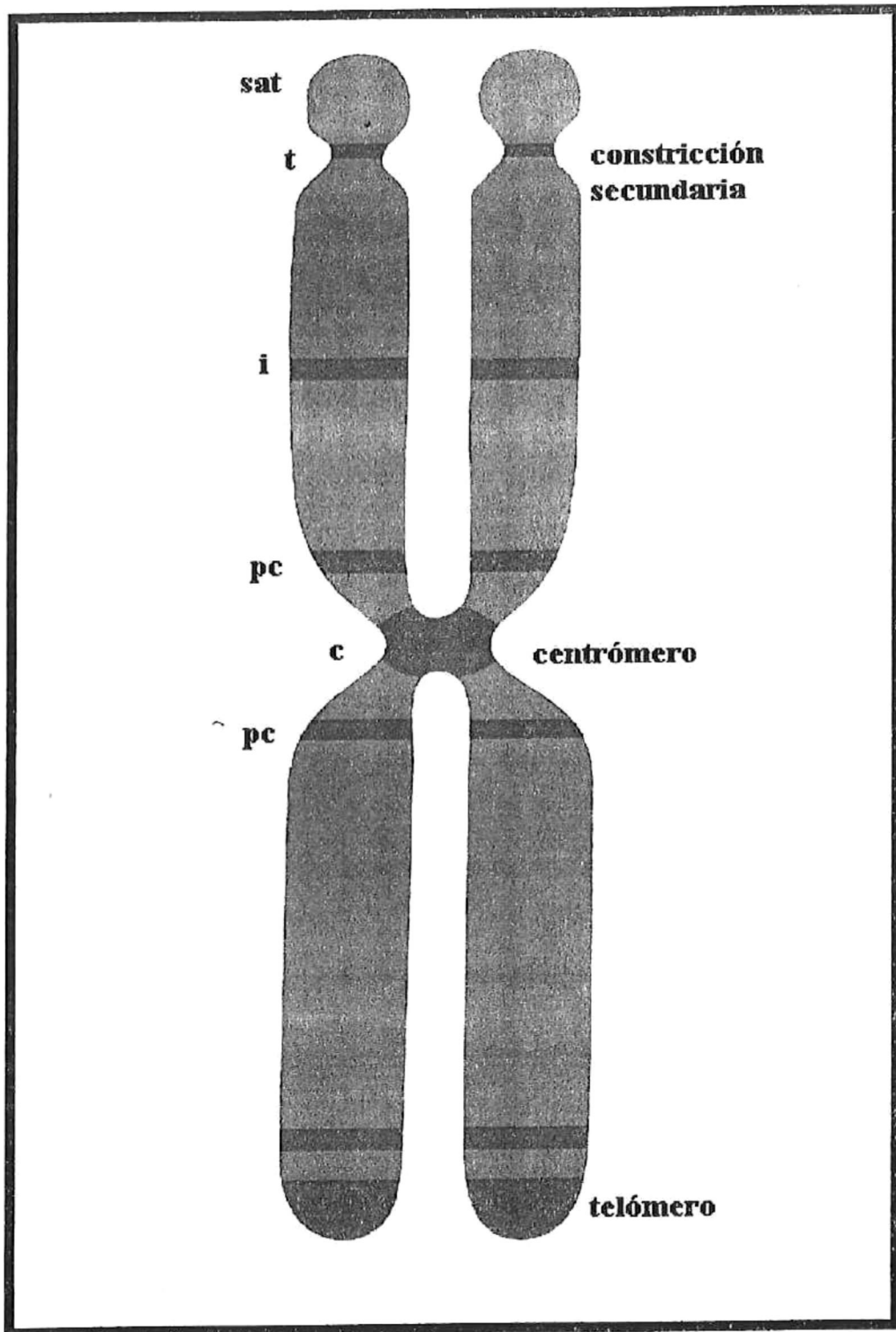


Figura 3. Diagrama de un cromosoma hipotético mostrando sus diferentes regiones como son: **t**-tallo, **sat**-satélite, **pc**-pericéntrica, **c**-centrómero e **i**-intersticial. (Modificado de Sessions, 1996).

El número cromosómico básico (x) de los organismos euploides es representado por el monoploide (n). El símbolo x designa el número básico de cromosomas, es decir el número más pequeño de un complemento cromosómico (Gardner, 1980). Dicho número básico (x) designa el número cromosómico original en determinados géneros o incluso familias (Brown y Bertke, 1979).

La Citogenética se encarga del estudio de juegos de cromosomas normales y anormales y también de sus propiedades genéticas (Griffiths *et al.*, 1993). Una variante de la traslocación recíproca tiene lugar cuando dos cromosomas acrocéntricos se unen por sus centrómeros o muy cerca de ellos. El proceso se denomina fusión robertsoniana, en honor al citogenetista W. Robertson, y produce una disminución en el número de cromosomas, aunque prácticamente sin cambio en la cantidad del material genético total. A menudo, especies estrechamente relacionadas difieren notablemente en el número de cromosomas, pero sin diferencias significativas en la cantidad del material genético, como se el caso del hámster chino con veintidós cromosomas y el hámster dorado con cuarenta y cuatro (Hienz, 1975). Tales situaciones podrían ser el resultado de fusiones robertsonianas. En consecuencia, los genetistas frecuentemente cuentan el número de brazos cromosómicos en lugar del número de cromosomas para obtener una interpretación más precisa de las afinidades entre especies. El número de brazos cromosómicos se denomina

número fundamental (NF). De una forma semejante, una fisión centromérica puede aumentar el número de cromosomas sin cambiar el NF (Tamarín, 1996).

Los cromosomas pueden mutar espontáneamente o de manera inducida por agentes químicos, físicos o biológicos, provocando cambios en la estructura y/o en el número, que resultan en cromosomas rearrreglados, números anormales de cromosomas (aneuploidías) o números anormales de juegos completos de cromosomas (poliploidías) (Griffiths *et al.*, 1993).

Las mutaciones cromosómicas son mecanismos evolutivos que permiten la modificación de los genomas (Griffiths *et al.*, 1993). Muchas de las variaciones que son utilizadas para realizar análisis evolutivos incluyen las que modifican el número y la forma de los cromosomas. Entre las que cambian la forma se encuentran las traslocaciones robertsonianas (fisión y fusión de cromosomas) y dos diferentes clases de inversiones: inversiones pericéntricas, las cuales involucran al centrómero e inversiones paracéntricas, las cuáles ocurren fuera de la región centromérica figura 4 (Hillis *et al.*, 1996).

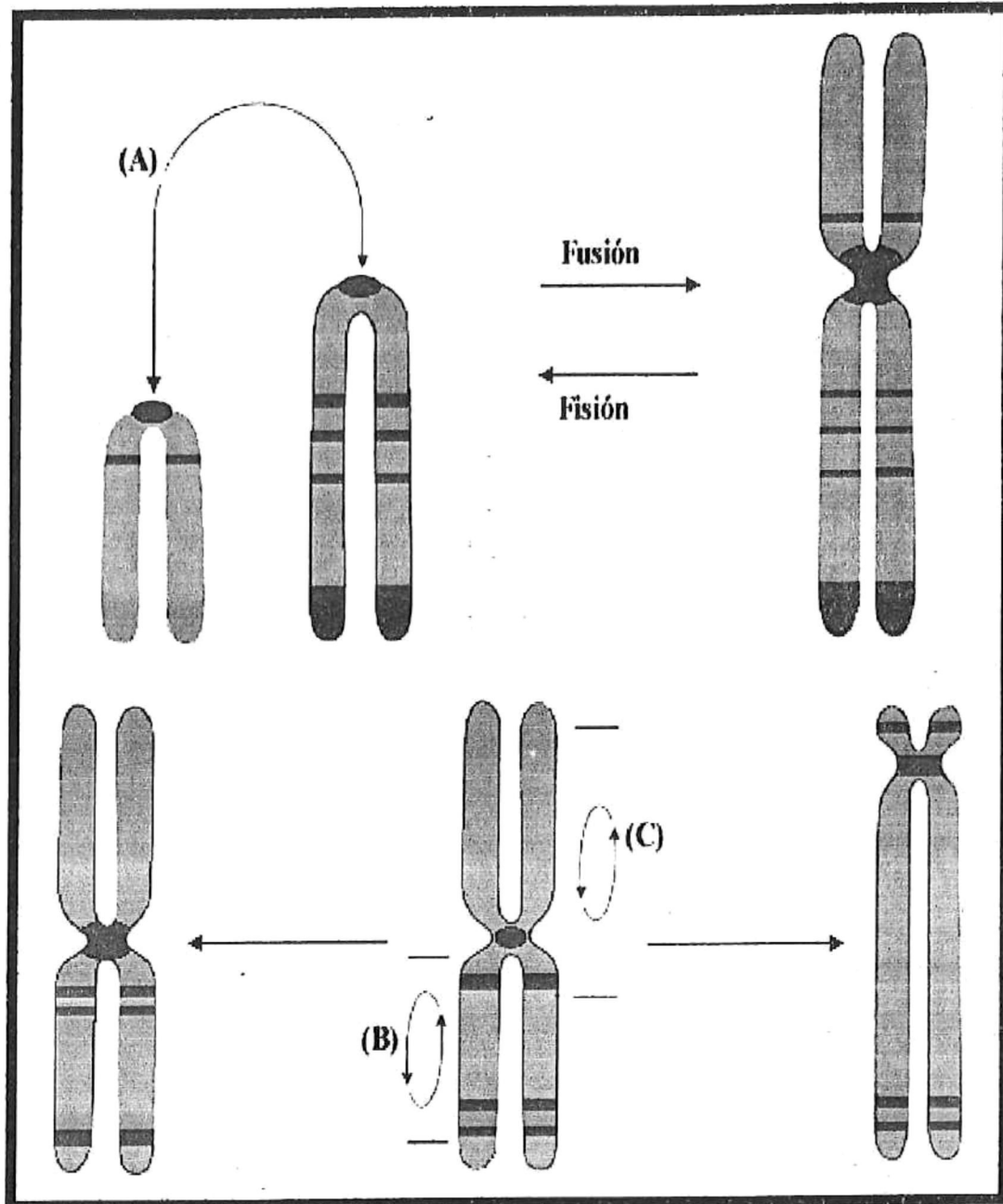


Figura 4. Diferentes tipos de mutaciones cromosómicas: A) Traslocaciones robertsonianas y fisión céntrica. B) Inversión paracéntrica (que no modifica la forma ni el tamaño del cromosoma) y C) Inversión pericéntrica (que no modifica el tamaño del cromosoma pero si su forma (Modificado de Sessions, 1996).

Antecedentes

El estudio de los cromosomas en Gasterópodos ha contribuido al entendimiento de sus relaciones filogenéticas. En este sentido se trabaja en la actualidad en estudios cariológicos y citotaxonómicos de bivalvos, de los que se han publicado reportes principalmente en almejas, mejillones y ostiones de importancia comercial (Menzel, 1968; Ieyama e Inaba, 1974; Ieyama, 1975, 1980, 1982, 1984, 1990; Wada, 1978; Komaru y Wada, 1985; Wada y Komaru 1985, 1993; Yoo, *et al.*, 1992; Insua, *et al.*, 1994).

En los primeros trabajos sobre cariotipos de bivalvos se desarrollaron técnicas que utilizaron cortes de tejido incluidos en parafina para la obtención de células metafásicas. A mediados de siglo estas técnicas fueron desplazadas por la técnica de aplastamiento, fijado y tinción de huevos y cigotos (técnica de "squash"), que se aplica al tejido gonadal que previamente fue inyectado con una solución de colchicina. En su tiempo se consideró una técnica muy precisa para el análisis de cariotipos (Menzel, 1968). Ieyama, 1980 cita a Ahmed (1976), quien considera que los primeros trabajos de cariotipos, donde se utilizaron cortes de tejidos en parafina, pudieran ser inexactos; al referirse al número cromosómico de *Tapes japonica* $2n=28$, el cual difiere con el número diploide de la Familia Veneridae $2n=38$ (Tabla II). También se han empleado otras técnicas que utilizaron el aplastamiento de huevos en aceto-orceina y más recientemente la técnica de goteo de larvas trocóforas y de branquias de adultos.

Tabla II. Especies cariotipadas de la Familia Veneridae.

FAMILIA VENERIDAE					
Género	Especie	2n	n	Técnica utilizada	Autores
<i>Saxidomus</i>	<i>nuttalli</i>	38	19	"Squash" aceto-orceina	Ahmed y Sparks, 1976 (**)
<i>Saxidomus</i>	<i>giganteus</i>	38	19	"Squash" aceto-orceina	Ahmed y Sparks, 1976 (**)
<i>Tapes</i>	<i>japonica</i>	28	14	Cortes de tejido en parafina	Nishikawa y Hisatomi, 1959 (*)(**)
<i>Circe</i>	<i>scripta</i>	38		"Squash" aceto-orceina	Ieyama, 1980
<i>Paphia</i>	<i>vernica</i>	38	19	"Squash" aceto-orceina	Ieyama, 1980
<i>Irus</i>	<i>mitis</i>	38	19	"Squash" aceto-orceina	Ieyama, 1980
<i>Chione</i>	<i>cancellata</i>	38	19	"Squash" aceto-orceina	Menzel, 1968
<i>Mercenaria</i>	<i>mercenaria</i>	38	19	"Squash" aceto-orceina	Menzel y Menzel, 1965 (*)
<i>Mercenaria</i>	<i>campechiensis</i>	38	19	"Squash" aceto-orceina	Menzel y Menzel, 1965 (*)

2n= número cromosómico diploide.

n= número cromosómico haploide.

(*)Citado por Menzel, 1968.

(**)Citado por Ieyama, 1980.

El proceso de secado de preparaciones se ha realizado a la flama o al aire a temperatura ambiente.

Los problemas técnicos son múltiples, por ejemplo cuando se procesan gametos con la técnica de aplastamiento, se afecta la forma de los cromosomas, por otra parte dicha técnica, junto con la de secado al fuego no permite obtener muchas células en metafase. Otro problema es la escasa sincronización de la división celular (Ieyama e Inaba, 1974). Ieyama (1975) cita a Sasaki (1961), quién reportó que el proceso de condensación de la cromatina no es siempre uniforme o sincronizado en todos los miembros de un complemento en una etapa dada del ciclo mitótico. Por lo tanto, existen muchos problemas que deben ser resueltos antes que los cariotipos puedan ser analizados en detalle. Pero a pesar de ello es posible el análisis cualitativo de los cariotipos que sean seleccionados adecuadamente (Ieyama, 1975).

La colchicina es un alcaloide que se une a la tubulina del huso mitótico e impide su polimerización, deteniendo la mitosis en el período de metafase (Bruce, *et al.*, 1994). Se ha utilizado ampliamente en estudios cariológicos y para la obtención de células metafásicas que pueden emplearse para distintos tipos de estudios, como los de aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas, entre otros (Ieyama e Inaba, 1974; Ieyama, 1975, 1980, 1982, 1984, 1990; Wada, 1978; Komaru y Wada, 1985; Wada y Komaru 1985, 1993; Yoo, *et al.*, 1992; Insua, *et al.*, 1994).

En un estudio sobre ostras, Wada (1978), no utilizó colchicina en la obtención de metafases de *Pinctada imbricata*, sin embargo obtuvo mucha variación en el tamaño y forma de los cromosomas. Por otra parte, Ieyama, 1980 utilizó y comparó los resultados al utilizar la técnicas de maceramiento con aceto-orceín en Veneridae, encontró una diferencia en la longitud media total del complemento diploides de 57.20 μm más grande en *Irus mitis* que en *Paphia vernicosa*. Tales diferencias las atribuyó a los efectos de la colchicina y a los diferentes métodos de preparación (Tabla III), sin embargo también pudo deberse a que son cromosomas de especies diferentes aunque de la misma familia Veneridae.

Tabla III. Estudio de tres especies de la Familia Veneridae realizado por Ieyama en 1980.

FAMILIA VENERIDAE										
GENERO	Especie	2n	n	m	m-sm	sm	Long. Cromosómica	Complemento haploide	Long. Media Total	
<i>Circe</i>	<i>scripta</i>	38		19			4.1 a 1.4 μm		89.65 \pm 24.78 (S.D.) μm	
<i>Paphia</i>	<i>vernica</i>	38	19	'	19		1.8 a 1.1 μm	53.60 \pm 3.98 (S.D.) μm		
<i>Irus</i>	<i>mitus</i>	38	19	14		5	4.9 a 1.1 μm		110.82 \pm 7.72 (S.D.) μm	

2n= número cromosómico diploide.

n= número cromosómico haploide.

m= cromosoma metacéntrico.

m-sm= cromosoma metacéntrico-submetacéntrico.

sm= cromosoma submetacéntrico

La utilización de técnicas diferentes en los estudios cariológicos ha llevado a resultados diferentes en cuanto a la forma de algunos cromosomas dentro de las mismas especies. Estas diferencias cariomorfológicas intraespecíficas, se han detectado en *Anomia chinensis*, que fue cariotipada primeramente por Ieyama e Inaba (1974), quienes reportaron en el cariotipo dos pares de cromosomas subtelocéntricos. Posteriormente en 1984, Ieyama realizó un análisis estadístico del cariotipo de esta especie clasificando cuatro pares de cromosomas como subtelocéntricos o telocéntricos, sugiriendo que en el primer trabajo, los cromosomas subtelocéntricos fueron clasificados como submetacéntricos, debido a la sobreutilización de colchicina que influyó en la condensación de los cromosomas (Tabla IV). También en *Pecten albicans* se encontraron diferencias cariomorfológicas, ya que Ieyama en 1975, al utilizar la técnica de orceína acética y aplastamiento, clasificó a 12 pares de cromosomas como telocéntricos. En tanto que Komaru y Wada en 1985, hicieron el cariotipo de la misma especie con la técnica de goteo de larvas trocóforas y de células branquiales, e identificaron 14 pares como telocéntricos (Tabla V). Estos autores sugieren que las diferencias son causadas por las diferentes técnicas empleadas. Pero es posible que puedan atribuirse a los criterios distintos de cada autor y/o a las diferencias interpoblaciones, puesto que algunas poblaciones se ubican en distintas localidades.

Tabla IV. Diferencias cariomorfológicas en *Anomia chinensis*.

FAMILIA: ANOMIIDAE									
Género	Especie	2n	n	m	sm	m-sm	st-t	st	Autores
<i>Anomia</i>	<i>chinensis</i>	14	7	X	X			2	Ieyama e Inaba, 1974
<i>Anomia</i>	<i>chinensis</i>	14		2		1	1	3	Ieyama, 1984

2n= número cromosómico diploide.

n= número cromosómico haploide.

m= cromosoma metacéntrico.

sm= cromosoma submetacéntrico.

m-sm= cromosoma metacéntrico-submetacéntrico.

st-t= cromosoma subtelocéntrico-telocéntrico.

st= cromosoma telocéntrico.

(X) Significa presencia del tipo de cromosoma, sin especificar cantidad.

Tabla V. Diferencias cariomorfológicas en *Pecten albicans*.

FAMILIA: PECTINIDAE									
Género	Especie	2n	n	m-sm	sm-st	st	t	Técnica utilizada	Autores
<i>Pecten</i>	<i>albicans</i>	38		2	3		14	"Squash" aceto-orceína	Komaru y Wada, 1985
<i>Pecten</i>	<i>albicans</i>	38	19	3		4	12	Goteo para trocófora y branquias	Ieyama, 1975

2n= número cromosómico diploide.

n= número cromosómico haploide.

m-sm= cromosoma metacéntrico-submetacéntrico.

sm-st= cromosoma submetacéntrico-subtelocéntrico.

st= cromosoma telocéntrico.

t= telocéntrico.

Así mismo se ha encontrado gran variación en el tamaño de los cromosomas en tejidos diferentes dentro de la misma especie, como es el caso del estudio realizado por Komaru y Wada (1985) en *Chlamys novilis*, quienes encontraron que la longitud media total del complemento diploide en la larva trocófora fue más grande que en tejido branquial (Tabla VI). Cabe aclarar que los cromosomas de larvas tienen un rango amplio de longitud que se empalma en parte con el rango de longitud de los cromosomas de branquias.

Los estudios cariológicos de Ostreidae, han conducido a establecer el número diploide de $2n=20$ (Menzel, 1968). Ieyama e Inaba (1974) e Ieyama (1975) hacen notar la ausencia de cromosomas subtelocéntricos y telocéntricos. Sin embargo Ieyama (1990) hizo el cariotipo de *Dendostrea folium* y encontró $2n=18$, así como dos pares de cromosomas telocéntricos y dos subtelocéntricos. Dicho autor contrastó sus datos con los de Ahmed y Sparks (1967) quién sugirió la existencia de gran estabilidad en el complemento cromosómico en Ostreidae. En el citado estudio, *Hyotissa imbricata*, presentó un complemento cromosómico similar al de *Crassostrea*. No obstante *H. imbricata* está clasificada dentro de la familia Pycnodontidae en Ostracea (Tabla VII).

Tabla VI. Diferencias en la longitud media total del complemento diploide en larva trocófora y branquias de *Chlamys novilis*.

Tejido	Longitud media total del complemento diploide
Larva trocófora	98.52 ± 19.59 (S.D.) μm
Branquias	78.78 ± 9.09 (S.D.) μm

Tabla VII. Algunas especies de la Superfamilia Ostracea que han sido cariotipadas.

FAMILIA	GENERO	ESPECIE	2n	n	m	sm	st	t	AUTOR
Pycnodonteidae	<i>Hyotissa</i>	<i>imbricata</i>	20		7	3			Ieyama, 1990.
Pycnodonteidae	<i>Pycnodonta</i>	<i>cochlear</i>	18		6	2	1		Vitturi, Carbone y Catalano, 1985. (***)
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>amasa</i>	20	10					Menzel, 1968.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>angulata</i>	20	10					Menzel, 1968.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>ariakensis</i>	20	10	X	X			Ieyama, 1975.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>belcheri</i>	20	10	X	X			Ieyama e Inaba, 1974.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>commercialis</i>	20	10					Menzel, 1968.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>corteziensis</i>	20	10	7	3			Rodríguez, Laguarda y Uribe, 1979. (***)
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>gigas</i>	20	10	X				Ieyama e Inaba, 1974.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>gigas</i>	20	10					Nadamitsu y Shinkawa, 1973. (**)
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>gigas</i>	20	10	8	2			Ahmed y Sparks, 1967. (**)(***)
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>gigas</i>	20	10					Menzel, 1968.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>iredalei</i>	20	10					Menzel, 1968.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>rhizophorae</i>	20	10					Menzel, 1968.
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>virginica</i>	20	10	6	4			Longwell, Stiles y Smith, 1967. (**)(***)
Ostreidae	<i>Crassostrea</i>	<i>virginica</i>	20	10					Menzel, 1968.
Ostreidae	<i>Dendostrea</i>	<i>folium</i>	18		5		2	2	Ieyama, 1990.
Ostreidae	<i>Ostrea</i>	<i>circumpicta</i>	20		X	X			Ieyama e Inaba, 1974.
Ostreidae	<i>Ostrea</i>	<i>denselamellosa</i>	20		X	X			Ieyama e Inaba, 1974.
Ostreidae	<i>Ostrea</i>	<i>edulis</i>	20		6	2	2		Thriot y Ayraud, 1982. (***)
Ostreidae	<i>Ostrea</i>	<i>edulis</i>	20	10					Longwell, Stiles y Smith, 1967. (*)(**)
Ostreidae	<i>Ostrea</i>	<i>equestris</i>	20						Menzel, 1968.
Ostreidae	<i>Ostrea</i>	<i>lurida</i>	20	10	7	3			Ahmed y Sparks, 1967. (*)(**)(***)
Ostreidae	<i>Saccostrea</i>	<i>echinata</i>	20	10	X	X			Ieyama e Inaba, 1974.
Ostreidae	<i>Saccostrea</i>	<i>mordax</i>	20		X	X			Ieyama e Inaba, 1974.

2n= número cromosómico diploide. n= número cromosómico haploide. m= cromosoma metacéntrico. sm= cromosoma submetacéntrico. st= cromosoma telocéntrico. t= telocéntrico.

(*) Citado por Menzel, 1968. (**) Citado por Ieyama e Inaba, 1974. (***) Citado por Ieyama, 1990.

(X) Significa presencia del tipo de cromosoma, sin especificar cantidad.

Anomia chinensis es la especie con el menor número cromosómico $2n=14$ cariotipada, aunque posee cromosomas subtelocéntricos y telocéntricos (Ieyama e Inaba, 1974; Ieyama, 1984).

No se consideran a Anomiidae y Ostreidae familias primitivas (Ieyama e Inaba, 1974).

Los números cromosómicos, para bivalvos menores de $2n=38$, generalmente se asocian a delección como en *Anomia chinensis* o a fusiones cromosómicas como en la familia Ostreidae (Ieyama e Inaba, 1974; Ieyama, 1975). Beaumont y Gruffydd (1974), citado por Wada (1978), trabajaron a *Chlamys opercularis* ($2n=26$), ellos consideraron que esta especie probablemente fue el resultado de una fusión céntrica que derivó de un tipo ancestral con más de 26 ($2n$) cromosomas.

Dentro de los estudios de las ostras de perla, Wada (1978) encontró una similitud cromosómica entre *Pinctada fulcata* y *Pinctada imbricata*, que lo condujo a sugerir que, podrían tener una relación taxonómica muy estrecha y supone que sería interesante la observación del comportamiento de un híbrido de estas dos especies (Tabla VIII).

Ieyama (1982) realizó los cariotipos de dos especies de la familia Solemydae *Petrasma pusilla* y *Acharax japonicus* con $2n=22$ y $n=11$. Detectó por medio del análisis de idiogramas que la cariomorfología de las dos especies es claramente diferente, aunque ambas presenten el mismo número cromosómico.

Tabla VIII. Cariotipos similares en dos especies del género

FAMILIA: PTERIIDAE					
GENERO	ESPECIE	2n	n	sm-m	st
<i>Pinctada</i>	<i>imbricata</i>	28	14	10 ó 11	3 ó 4
<i>Pinctada</i>	<i>fucata</i>	28	14	X	X

2n= número cromosómico diploide.

n= número cromosómico haploide.

m-sm= cromosoma metacéntrico-submetacéntrico.

sm-st= cromosoma submetacéntrico-subtelocéntrico.

st= cromosoma telocéntrico.

(*) Citado por Wada, 1978.

(X) Significa presencia del tipo de cromosoma, sin especificar.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), y en particular a la Facultad de Ciencias por haberme permitido realizar mis estudios de licenciatura.

Así mismo a toda la planta de maestros y amigos que me enseñaron lo maravilloso que es la Biología.

Muy especialmente agradezco al Dr. Carlos Márquez Becerra por compartir parte de sus conocimientos y su tiempo para la realización de este trabajo.

Tabla IX. Algunas especies cariotipadas de la Familia Pectinidae.

FAMILIA: PECTINIDAE										
GENERO	ESPECIE	2n	n	m	m-sm	sm-st	st-t	st	t	AUTOR
<i>Argopecten</i>	<i>irradians</i>	32	16							Wada, 1978.
<i>Chlamys</i>	<i>distorta</i>	38	19							Beaumont v Gruffvdd, 1974. (*)(**)
<i>Chlamys</i>	<i>farreri farreri</i>	38	19		4	6	9			Komaru v Wada, 1985.
<i>Chlamys</i>	<i>glabra</i>		14							Rasotto, Altieri v Colombera, 1981. (**)
<i>Chlamys</i>	<i>islandica</i>	38	19							Beaumont v Gruffvdd, 1974. (*)(**)
<i>Chlamys</i>	<i>nobilis</i>	32	16	3					13	Komaru v Wada, 1985.
<i>Chlamys</i>	<i>opercularis</i>	26	13							Beaumont v Gruffvdd, 1974. (*)(**)
<i>Chlamys</i>	<i>opercularis</i>	28	14							Rasotto, Altieri v Colombera, 1981. (**)
<i>Chlamys</i>	<i>varia</i>	38	19							Rasotto, Altieri v Colombera, 1981. (**)
<i>Chlamys</i>	<i>varia</i>	38	19							Beaumont v Gruffvdd, 1974. (*)(**)
<i>Patinopecten</i>	<i>vessoensis</i>	38	19		7	9			3	Komaru v Wada, 1985.
<i>Pecten</i>	<i>albicans</i>	38			2	3			14	Komaru v Wada, 1985.
<i>Pecten</i>	<i>albicans</i>	38	19		3			4	12	Ievama, 1975.
<i>Pecten</i>	<i>maximus</i>	38	19							Beaumont v Gruffvdd, 1974. (*)(**)
<i>Pecten</i>	<i>iacobaeus</i>		19							Rasotto, Altieri v Colombera, 1981. (*)
<i>Placopecten</i>	<i>magellanicus</i>	38	19							Beaumont v Gruffvdd, 1974. (*)(**)

2n= número cromosómico diploide.

n= número cromosómico haploide.

m= cromosoma metacéntrico.

m-sm= cromosoma metacéntrico-submetacéntrico.

sm-st= submetacéntrico- subteloicéntrico.

st-t= cromosoma subteloicéntrico-teloicéntrico.

st= cromosoma telocéntrico.

t= telocéntrico.

(*) Citado por Wada, 1978.

(**) Citado por Komaru y Wada, 1985.

Tabla X. Números cromosómicos detectados en diferentes especies dentro de algunas familias de bivalvos. Esta tabla muestra el número de especies cariotipadas para cada familia, así como la distribución de los números cromosómicos de las especies.

Familia	No. Spp	Números cromosómicos (2n)												(n)			
		14	18	20	22	24	26	28	32	34	36	38	46	14	16	19	
Solemyidae	2				2												
Arcidae	8							1			1	5					1
Mytilidae*	5					1		5									
Pinnidae	1								1								
Anomiidae	2	1	1														
Ostreidae	18		1	17													
Pycnodonteidae	2		1	1													
Pectinidae*	13						1	1	2			8		1			1
Isognomonidae	2						1	1									
Pteriidae	2							2									
Veneridae	9							1				8					
Mactridae**	8										3	6					1
Cardiidae	1					1											
Petricolidae	1												1				
Semelidae	1															1	
Donacidae	1											1					
Pholodaidae	2									1							

*Dentro de estas familias se encuentra una especie con dos números cromosómicos diferentes (*Mytilus edulis* $2n=28$ y $2n=24$ en Mytilidae y *Chlamys opercularis* $2n=26$ y $2n=28$ en Pectinidae).

**En esta familia se encuentran a dos especies con dos diferentes números cromosómicos cada una de ellas. (*Mulinia lateralis* $2n=36$ y $2n=38$ y *Spisula solidissima* $2n=36$ y $n=19$).

Las técnicas de bandeo cromosómico podrían ser necesarios para precisar la clasificación de cada uno de los cromosomas, así mismo podrían permitir la identificación de pares cromosómicos con pequeñas diferencias en la longitud (Wada y Komaru, 1985).

Las tinciones selectivas para las regiones organizadoras del nucleólo (NORs) han demostrado ser una herramienta citotaxonomica de gran utilidad (Insua, *et al.* 1994).

Los estudios citogenéticos son escasos en las especies americanas de bivalvos, por ejemplo dentro del género *Anadara*, la FAO (1995) incluye seis especies de interés para la pesca en el Pacífico Centro Oriental (Tabla XI), sin embargo los trabajos de citogenética para la Familia Arcidae son pocos y se muestran en la tabla XII.

Tabla XI. De acuerdo con la FAO (1995) el género *Anadara* incluye seis especies de interés para la pesca en el Pacífico centro oriental.

<i>Anadara grandis</i> (Broderip y Sowerby, 1839)
<i>Anadara mazatlanica</i> (Hertlein y Strong, 1941)
<i>Anadara multcostata</i> (Hertlein y Strong, 1943)
<i>Anadara reinhati</i> (Lowe, 1835)
<i>Anadara similis</i> (C.B. Adams, 1852)
<i>Anadara tuberculosa</i> (Sowerby, 1833)

Tabla XII. Especies de la Familia Arcidae que han sido cariotipadas.

Género	Especie	No. Cromosomas		Tipo de cromosomas*	Autores
		(2n)	(n)		
<i>Arca</i>	<i> barbata</i>		19		Rasotto, Altieri y Colombera, 1981.**
<i>Arca</i>	<i>boucardi</i>	36			Ieyama, 1983.**
<i>Arcopsis</i>	<i>symmetrica</i>	38		st-t (7 pares)	Ieyama, 1984
<i>Barbatia</i>	<i>velata</i>	38			Ieyama, 1984
<i>Barbatia</i>	<i>virescens</i>	28	14	sm-m, st-t	Ieyama, 1975
<i>Porterius</i>	<i>dalli</i>	38	19	st-t (3 pares)	Ieyama, 1984
<i>Scapharca</i>	<i>subcrenata</i>	38			Ieyama, 1984. **
<i>Scapharca</i>	<i>subcrenata</i>	38		m, m-sm, sm, sm-st	Wada y Komaru, 1985
<i>Scapharca</i>	<i>broughtoni</i>	38		m, m-sm, sm, st	Yoo, Lee y Kim, 1992

***m**, metacéntrico; **sm**, submetacéntrico; **m-sm**, metacéntrico-submetacéntrico; **sm-st**, submetacéntrico- subtelocéntrico; **sm**, submetacéntrico y **t**, telocéntrico.

**Citados por Wada y Komaru, 1985.

Como puede observarse en la Tabla XII, la Familia Arcidae presenta una marcada moda de 38 (2n), lo cual concuerda con los criterios de que la constancia de los números cromosómicos suele ser estable dentro de las familias o superfamilias de pelecípodos. Menzel (1968) fue uno de los iniciadores en el análisis de estudios cariológicos dentro de cuatro familias de bivalvos: Ostreidae 2n= 20, Veneridae 2n= 38, Mactridae 2n= 36 y Pholodidae 2n= 34. Por su parte Ieyama e Inaba (1974) plantean la tendencia en Mytilidae de 2n= 28 y en Ostreidae de 2n= 20. A su vez Wada (1978) menciona a Beaumont y Gruffydd, (1974), a quienes sus estudios los llevaron a la conclusión de que la moda de Pectinidae es 2n= 38. Ieyama (1980) sugiere que 2n= 38 es el número característico de Veneridae. En tanto que para Wada y Komaru, (1993) el número modal del complemento diploide de Mactridae es 38, además citan a Nakamura (1985) quien señala que el 40% de las 125 especies de bivalvos reportados muestran 2n= 38, que es el número más frecuente de la clase Bivalvia.

El desarrollo y mejoramiento de las diversas técnicas citogenéticas han contribuido a obtener cada vez mayor información de las estructuras celulares y cromosómicas. (Drets *et al.*, 1995).

Drets en 1994 introduce el concepto de citogenética asistida por computadora (Ascencio, Morán y Márquez, 1995) y ha seguido desarrollándose en diversos laboratorios de investigación, como es el caso del Laboratorio de Genética de la Facultad de Ciencias de la U.A.B.C., en colaboración con investigadores de

Ciencias Computacionales de la misma Facultad, que han desarrollado un programa *ex profeso* para el análisis de estructuras celulares y cromosómicas (Ascencio, *et al.*, 1995).

Objetivo:

Determinar cuantitativa y cualitativamente el cariotipo de *Anadara tuberculosa* (Sowerby,1833).

Materiales y Métodos

COLECTA

Los organismos se obtuvieron de las capturas comerciales de Bahía Magdalena, B.C.S., a través del Mercado de Mariscos de Ensenada, B.C., en el período comprendido de mayo de 1996 a febrero de 1997.

Se escogieron organismos con tallas comprendidas entre 41 a 52 mm. Los organismos seleccionados se colocaron entre 15 y 20 días en acuarios con agua de mar, con capacidad de 140 L y provistos de filtros biológicos, en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la U.A.B.C., con la finalidad de reducir el estrés, manteniéndolos bajo un sistema de filtración constante y alimentándolos con microalgas donadas por el laboratorio de Acuicultura del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, UABC.

PREPARACION DEL TEJIDO BRANQUIAL

Los cromosomas metafásicos se obtuvieron del tejido branquial de los organismos previamente tratados con colchicina diluída al 0.04% w/v en agua de mar con diferentes intervalos de tiempo de exposición, de acuerdo a la técnica desarrollada por Márquez (1993a, 1993b), que a continuación se describe:

En un litro de agua de mar con colchicina al 0.04% se expusieron los organismos a intervalos de tiempo de 8 a 16 horas. Con la finalidad de obtener metafases de buena calidad.

Se disecaron las branquias y éstas se cortaron en trozos de 1 cm de longitud, para ser colocados posteriormente en agua de mar al 25% v/v (provocando un choque hipotónico) haciéndose enseguida un raspado suave con un bisturí y el tejido obtenido se depositó en tubos de ensayo, que se dejaron reposar entre 20 y 30 minutos. Posteriormente fue centrifugado a 1000 rpm durante 10 minutos y se eliminó el sobrenadante con una pipeta Pasteur.

Para la fijación de los trozos de tejido se agregaron 5 mL de metanol-ácido acético glacial (3:1) durante 30 minutos a temperatura ambiente, después se centrifugó a 1000 rpm durante 10 minutos y desechó el sobrenadante. El paso anterior se repitió y se dejó reposar 1 hora.

Posteriormente se añadieron 5 mL de ácido acético al 50% v/v, manteniendo las branquias en agitación suave de 3 a 5 minutos, después permanecieron en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente. Enseguida se agitaron los tubos hasta observar una suspensión blanquecina y algunos restos filamentosos, éstos últimos se eliminaron. Después se centrifugó a 1000 rpm durante 10 minutos y se eliminó el sobrenadante, dejándose aproximadamente 1 mL por encima del paquete celular.

PREPARACION DE LAMINILLAS

Se tomó parte del paquete celular con una pipeta Pasteur para la preparación de laminillas por goteo, se dejaron caer de 3 a 5 gotas por portaobjeto desde una altura promedio de 1.5 metros. Una vez hechas las laminillas, las células tuvieron una segunda fijación al calor de un foco. Se aplicó la tinción con Giemsa diluido

1:20 en solución Sorensen 0.01 M a pH 7, durante 8 a 15 minutos y después se lavó con agua destilada.

Una vez obtenidas las laminillas, éstas fueron observadas con un microscopio Will Wetzlar BX300 para escoger las mejores metafases cariotipables, las cuáles se fotografiaron con una cámara montada en un microscopio de contraste de fases American Optical Microstar 110.

ANALISIS MANUAL

El análisis manual consistió en recortar a los cromosomas de las fotografías, aparearlos con sus homólogos de acuerdo al tamaño y a la posición del centrómero y hacer las mediciones correspondientes a la longitud tanto del brazo corto (p) como del brazo largo (q), así como las de sus correspondientes cromátidas izquierda y derecha.

Se obtuvieron la longitud de cada uno de todos los cromosomas de la metafase, mediante un vernier, sumando los dos promedios (p y q) de ambas cromátidas.

La longitud absoluta de un par de cromosomas se obtuvo promediando la longitud de las cuatro cromátidas de cada par de cromosomas.

La longitud del complemento haploide se obtuvo dividiendo entre dos la sumatoria de la longitud de todos los cromosomas.

Con la obtención de las mediciones anteriores fue posible calcular los

parámetros de longitud relativa, relación de brazo e índice centromérico para cada par de cromosomas mediante el método de Levan, *et al.* (1964).

Longitud relativa:

$$Lr = 100 \times \frac{\text{longitud absoluta de un par de cromosomas}}{\text{longitud total del complemento haploide}}$$

Relación de brazo:

$$Rb = \frac{\text{longitud del brazo corto}}{\text{longitud del brazo largo}}$$

Índice centromérico:

$$Ic = 100 \times \frac{\text{longitud del brazo corto}}{\text{longitud cromosómica total}}$$

ANÁLISIS COMPUTARIZADO

El análisis computarizado se realizó través del programa León 1 desarrollado por Márquez y Licea (1991), mediante el cuál se obtuvieron los parámetros: longitud relativa, relación de brazo e índice centromérico; así como los idiogramas de las metafases estudiadas.

Resultados:

Se trabajaron 20 organismos de *Anadara tuberculosa* en siete ensayos, en el Laboratorio de Genética de la Facultad de Ciencias de la U.A.B.C., obteniéndose un total de 301 laminillas.

Ocho organismos de los ensayos I, II, V y VI presentaron metafases con buena calidad y dispersión (Tabla XIII). En los doce restantes no se observaron células cariotipables, aunque se obtuvieron laminillas que contenían un gran número de metafases de calidad no cariotipable. De todas las células correspondientes a la tabla XIII se hizo otra selección final para el análisis de cariotipos y quedaron las 78 células que se indican en la Tabla XIV y figuras 5 y 6.

El tiempo en que los organismos estuvieron expuestos a la colchicina varió de 7 a 16 horas (Tabla XIII).

Se obtuvieron metafases con diferente número cromosómico que varió de 35, 36, 37, 38 y 39 (Tabla XIV y figuras 5 y 6).

Tabla XIII. Se muestran los ensayos realizados y los organismos que presentaron las mejores metafases y el tiempo que estuvieron expuestos a la colchicina.

Ensayo	No. De Organismo	No. de Metafases	Tiempo en Colchicina
I	1	12	16 hrs
	2		16 hrs
II	3	7	8 hrs
	4	13	8 hrs
III	5		7 hrs
	6		7 hrs
	7		7 hrs
IV	8		11 hrs
	9		11 hrs
	10		11 hrs
V	11		9 hrs
	12	1	9 hrs
VI	13	12	9 hrs
	14	35	10 hrs
	15	1	10 hrs
	16	6	10 hrs
VII	17		9 hrs
	18		9 hrs
	18		9 hrs
	20		9 hrs

Tabla XIV. Distribución de los números cromosómicos en 78 células metafásicas.

No. De Organismo	No. Cromosómico de las Metafases					No. de Metafases
	35	36	37	38	39	
1		3	1	7		11
2	1	1	1	4		7
3	1	2	2	4	1	10
4		1				1
5		1	3	8		12
6	5	3	5	16	1	30
7				1		1
8	1		1	4		6
TOTAL	8	11	13	44	2	78

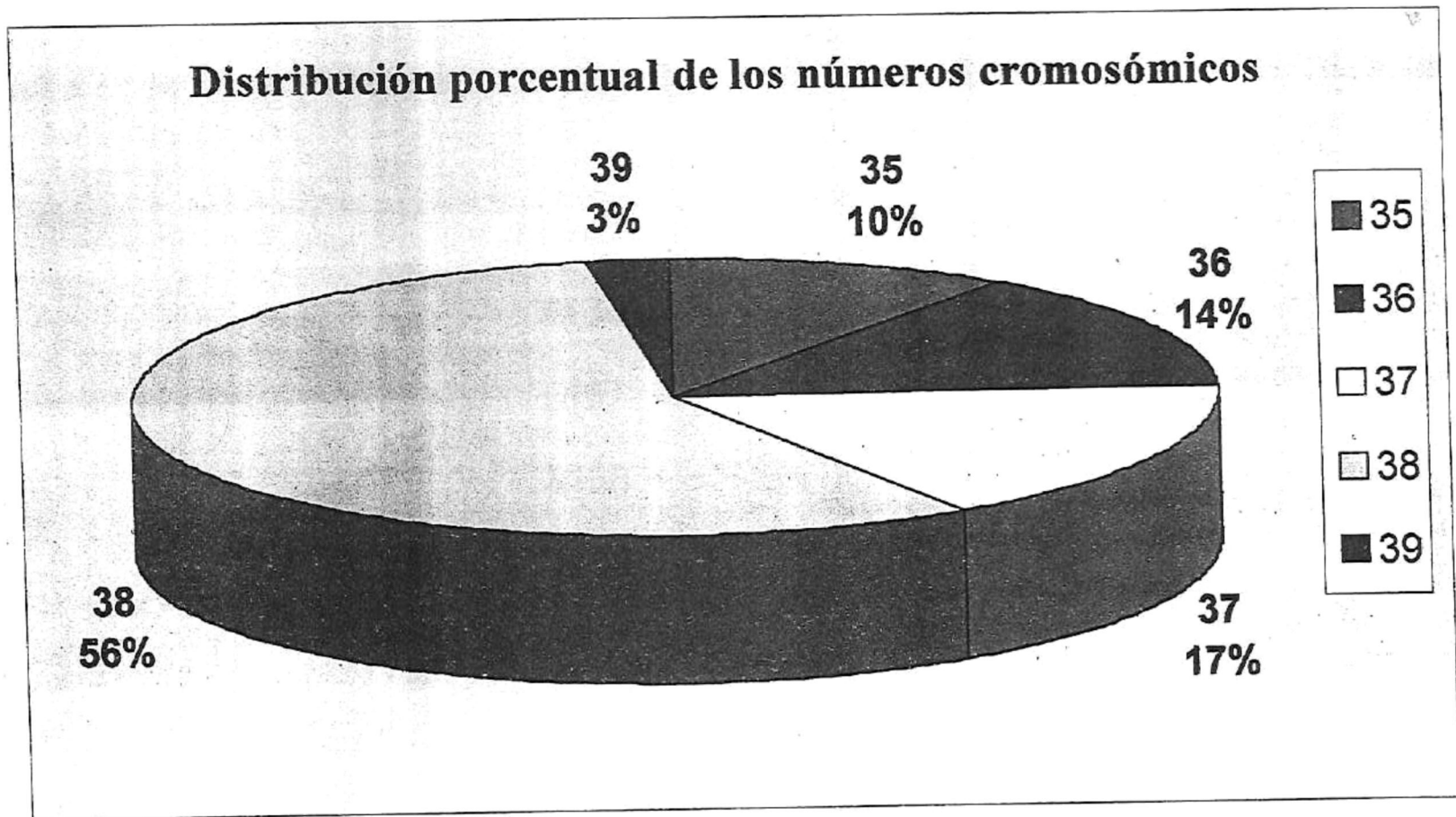


Figura 5. Distribución porcentual de los números cromosómicos en las 78 metafases cariotipadas seleccionadas en 8 organismos. Los números cromosómicos se indican a la derecha de la figura.

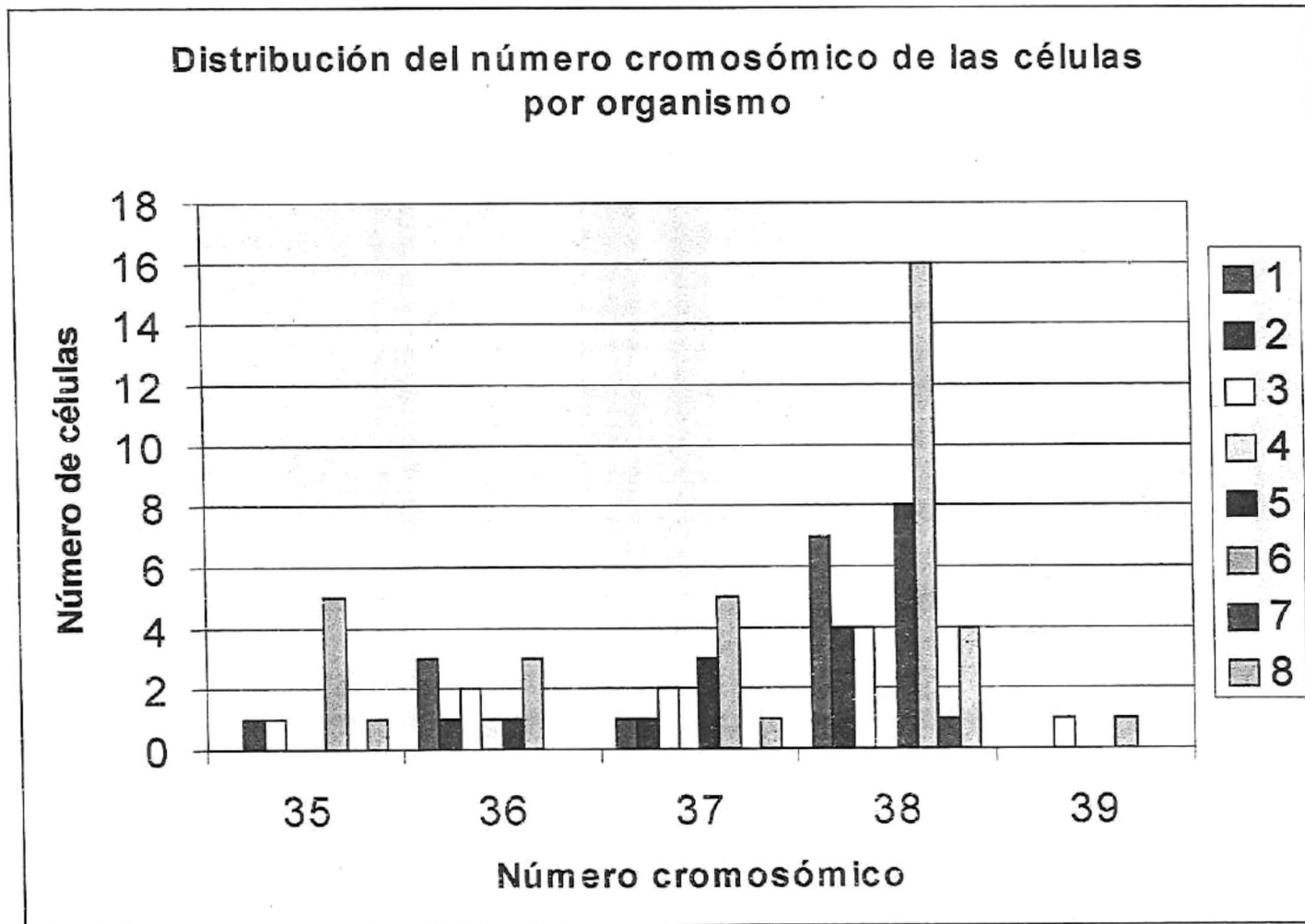


Figura 6. Distribución del número cromosómico en 78 células de los 8 organismos seleccionados. Los números a la derecha de la figura indican el número asignado a cada uno de los organismos.

La moda de los números cromosómicos fue $2n= 38$.

De las 78 células seleccionadas el 56% de las metafases presentaron 38 cromosomas, el 17% correspondió a 37 cromosomas, el 14% fue para las metafases con 36 cromosomas, el 10% para 35 cromosomas y 3% para el número de 39 cromosomas (figura 5).

A partir de los números cromosómicos detectados se establece el $2n= 38$ para *Anadara tuberculosa*.

La longitud media de los cromosomas, radio de brazo y la apariencia morfológica general, medidas y observadas en las impresiones fotográficas fueron el criterio usado para aparearlas.

En las figuras 7 y 8 se observan dos cariotipos de dos células metafásicas, a las cuales se les tomaron microfotografías, cuyos cromosomas fueron recortados, medidos y ordenados. Los cromosomas se ordenaron de acuerdo al tamaño de mayor a menor, donde se aprecian 24 cromosomas metacéntricos, 12 submetacéntricos y 2 subtelocéntricos.

Por medio del programa León 1 se obtuvieron los parámetros citogenéticos para los 38 cromosomas (Tabla XV) y para los 19 pares de cromosomas (Tabla XVI). También se elaboraron diferentes idiogramas: uno que contiene los 38 cromosomas ordenados por su longitud relativa e índice centromérico (figura 9); otro donde los cromosomas son ordenados por la posición del centrómero (figura 10), un tercero construido con los pares de cromosomas ordenados a partir de su longitud relativa (figura 11) y el último

donde los cromosomas se ordenan por la posición del centrómero (figura 12) de la metafase de la figura 7.

Se aprecia en el cariotipo, que la longitud cromosómica decrece gradualmente.

No se detectaron satélites, ni constricciones secundarias.

No se observaron cromosomas sexuales.

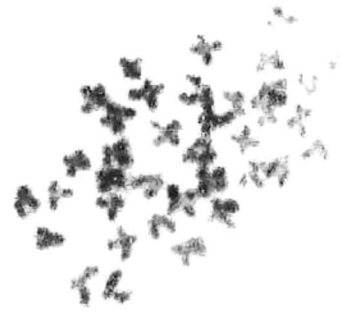
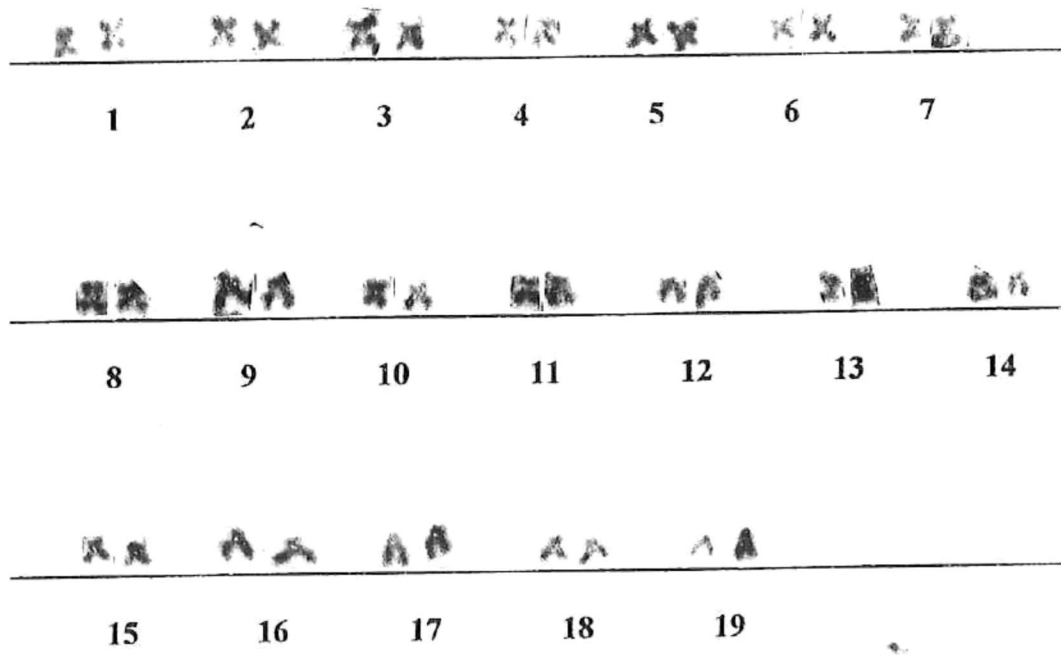


Figura 7. Metafase de *Anadara Tuberculosa*. Cromosomas ordenados de acuerdo al tamaño en el orden de mayor a menor.

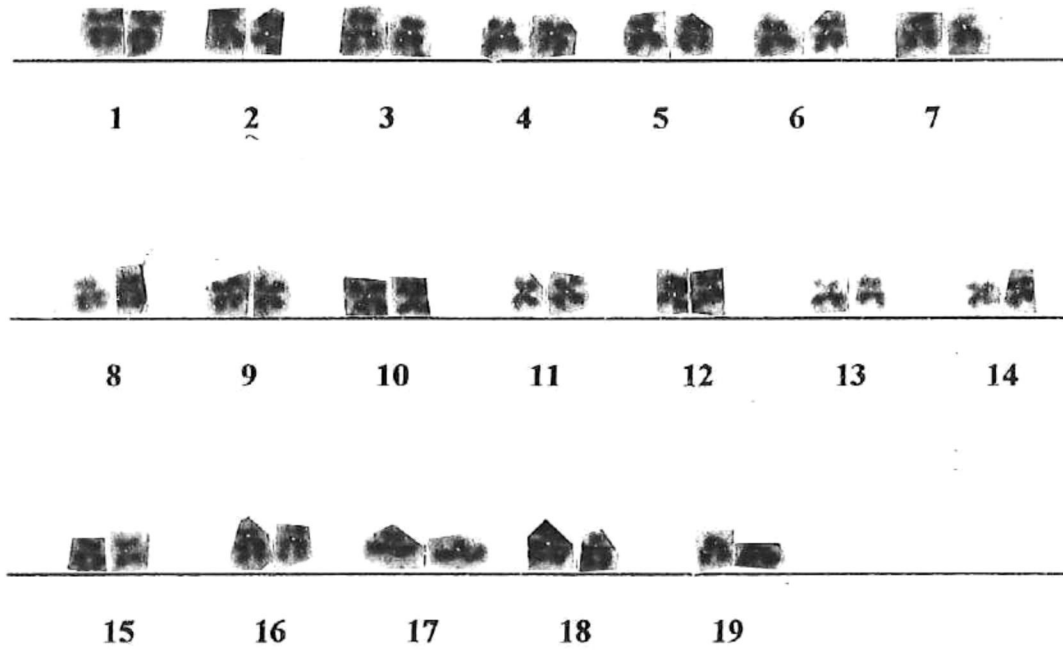


Figura 8. Metafase de *Anadara Tuberculosa*. Cromosomas ordenados de acuerdo al tamaño en el orden de mayor a menor.

Tabla XV. Parámetros citogenéticos de 38 cromosomas de *Anadara tuberculosa*.

Cromosoma	Longitud relativa	Relación de brazo	Índice centromérico	Clasificación cromosómica
1	2.8790786	0.8145162	44.8888893	m
2	2.8790786	0.8442623	45.7777786	m
3	2.8150992	0.8644068	46.3636360	m
4	2.8790786	0.7441861	42.6666679	m
5	3.0198338	0.6857143	40.6779671	m
6	2.6615484	0.7049180	41.3461533	m
7	2.7511196	0.7916667	44.1860466	m
8	2.6999359	0.8034188	44.5497627	m
9	2.5335891	0.8333333	45.4545479	m
10	2.6487525	0.7844828	43.9613533	m
11	2.5591810	0.8691589	46.5000000	m
12	2.6743441	0.9000000	47.3684196	m
13	3.1605887	0.9603174	48.9878540	m
14	2.6103647	0.7739130	43.6274490	m
15	2.5719769	0.7631580	43.2835846	ua
16	2.6103647	0.8053098	44.6078453	m
17	3.0454254	0.5866667	36.9747925	sm
18	2.8278952	0.6370370	38.9140282	m
19	2.6487525	0.7250000	42.0289841	m
20	2.2776711	0.8736841	46.6292114	m
21	2.3672426	0.8500000	45.9459457	m
22	2.6359565	0.5606060	35.9223289	sm
23	2.5847731	0.4637681	31.6831684	sm
24	2.7511196	0.4930556	33.0232544	sm
25	2.4184260	0.6578947	39.6825409	m
26	2.6231606	0.7982457	44.3902473	m
27	2.4952016	0.5000000	33.3333321	sm
28	2.1497123	0.3770491	27.3809490	sm
29	2.3416505	0.7102804	41.5300598	m
30	2.6999359	0.7295082	42.1800957	m
31	2.7127321	0.5588235	35.8490562	sm
32	2.8150992	0.5384616	35.0000000	sm
33	2.7383237	0.5070422	33.6448593	sm
34	2.6487525	0.5220588	34.2995148	sm
35	2.3288548	0.5294118	34.6153831	sm
36	2.4440179	0.5039370	33.5078545	sm
37	2.0601406	0.3089431	23.6024857	st
38	2.4312220	0.2337662	18.9473686	st

Tabla XVI. Parámetros citogenéticos de 19 pares de cromosomas de *Anadara tuberculosa*.

Pareja	Longitud relativa	Relación de brazo	Índice centromérico	Clasificación cromosómica
1	6.2060142	0.4906103	43.0927849	m
2	5.8989124	0.4824121	41.6485901	m
3	5.7581573	0.5513514	45.3333359	m
4	5.6429944	0.3871734	36.9614525	sm
5	5.5662189	0.5502793	45.2873573	m
6	5.4894433	0.3341121	33.3333321	sm
7	5.4126678	0.4342105	39.0070915	m
8	5.3742800	0.5727003	45.9523811	m
9	5.3103008	0.4779005	41.6867447	m
10	5.2975049	0.4175258	39.1304321	m
11	5.2591171	0.4583333	40.1459846	m
12	5.2207294	0.5247813	44.1176491	m
13	5.1567502	0.4125683	37.4689827	m
14	5.0927701	0.5665635	45.9799004	m
15	4.9392195	0.3359375	33.4196892	sm
16	4.8496480	0.2905759	29.2875996	sm
17	4.7088928	0.5127389	43.7500038	m
18	4.6065259	0.4724919	40.5555534	m
19	4.2098527	0.2282609	25.5319157	sm

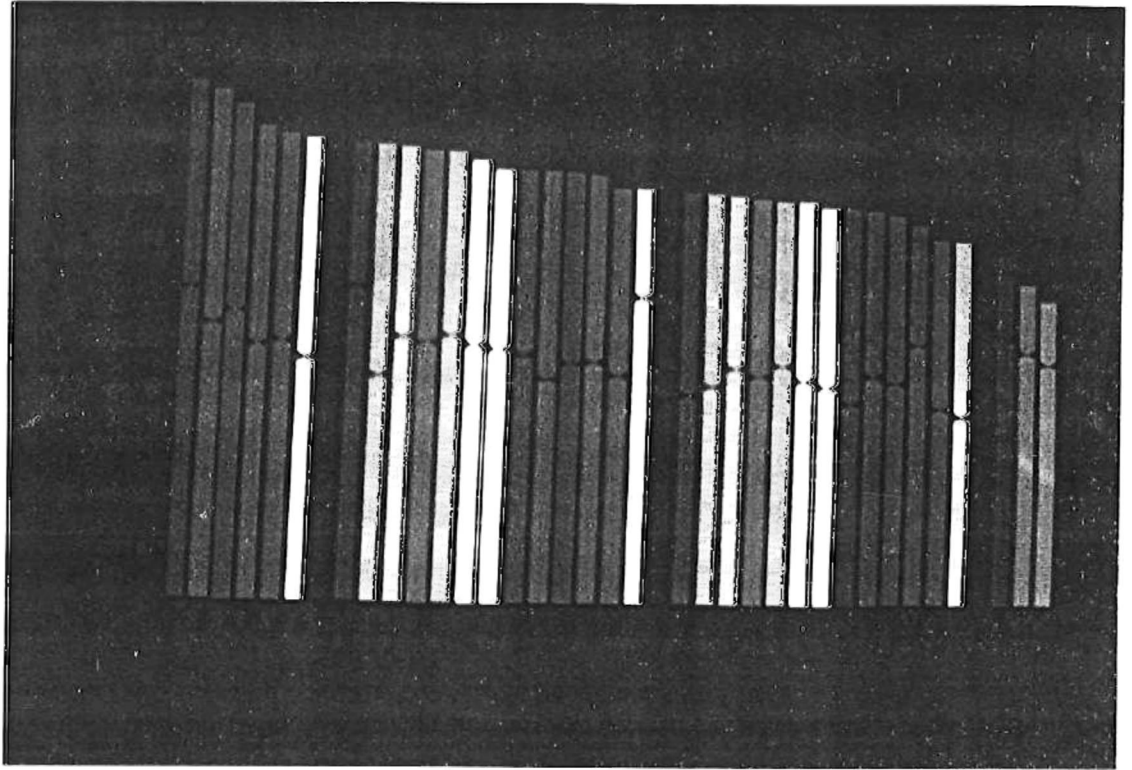


Figura 9. Idiograma de la metafase de *Anadara tuberculosa* de la figura 7, donde se muestran 38 cromosomas ordenado por longitud relativa.

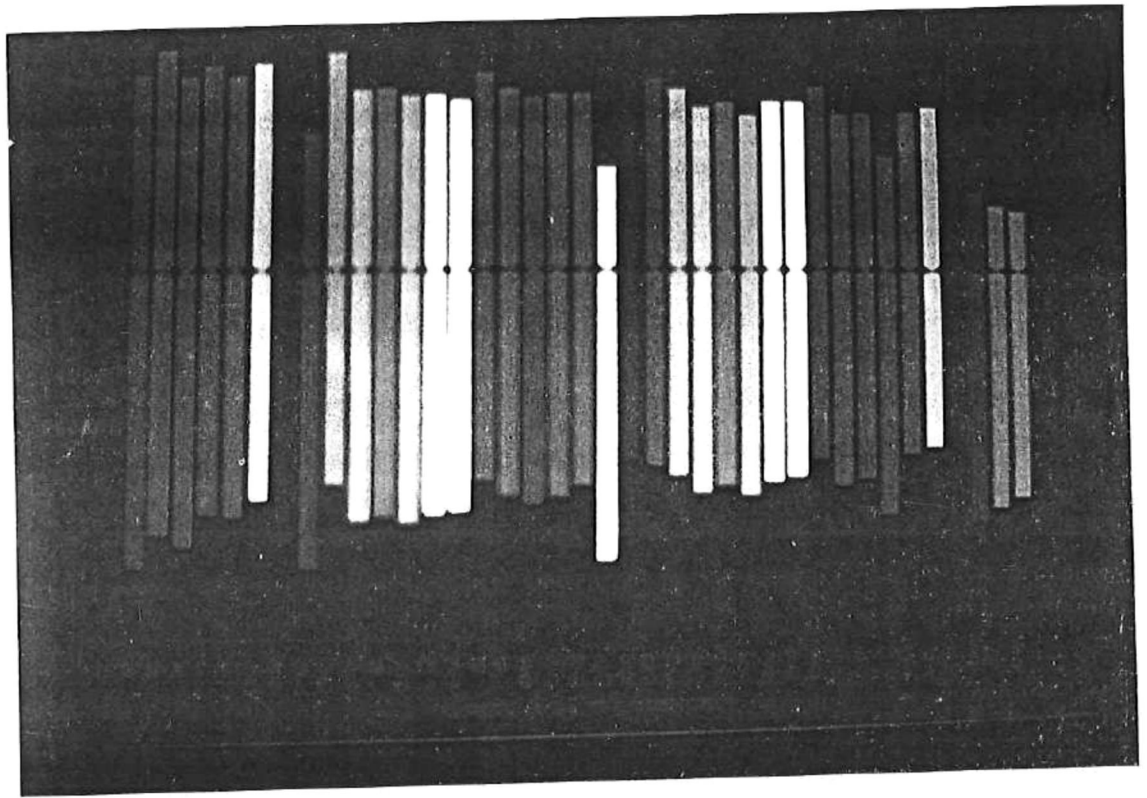


Figura 10. Idiograma anterior ordenado por la posición del centrómero.

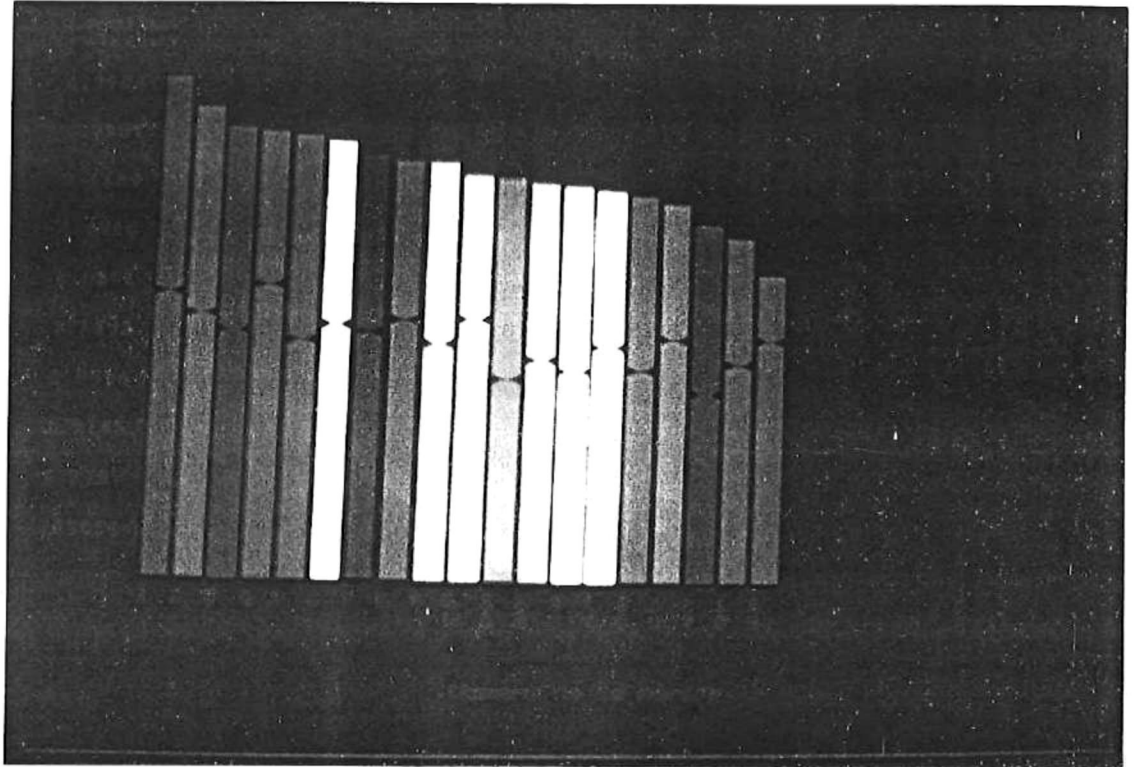


Figura 11. Idiograma de la metafase de *Anadara tuberculosa* de la figura 7, mostrando 19 pares de cromosomas ordenados a partir de su longitud relativa.

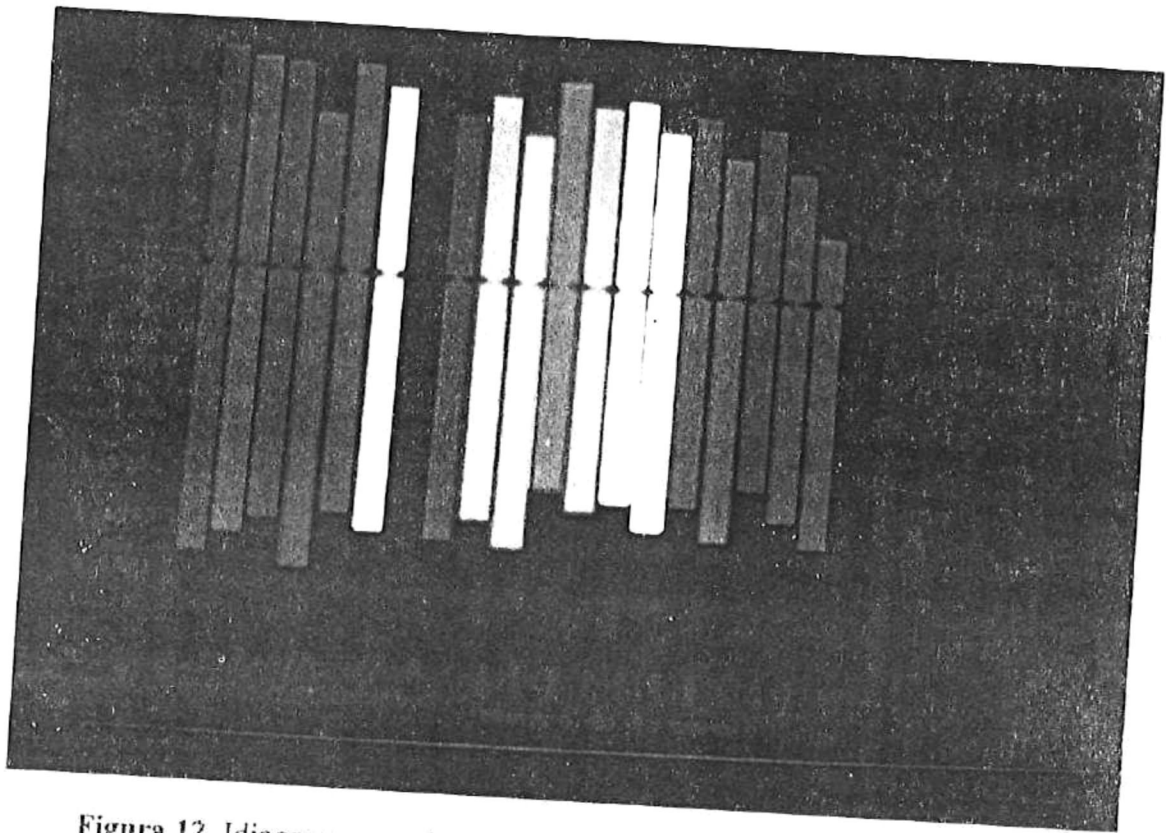


Figura 12. Idiograma anterior ordenado por la posición del centrómero.

Discusión:

Dentro de la Familia Arcidae se encuentran ocho especies cariotipadas pertenecientes a cinco géneros: *Arca*, *Arcopsis*, *Barbatia*, *Porterius* y *Scapharca*. En el presente trabajo se aborda a la especie *Anadara tuberculosa*. No obstante la familia Arcidae comprende 62 especies americanas (Abbot, 1974), por lo que restan estudiar 61, ya que 7 de las ocho especies que han sido cariotipadas pertenecen a Japón y Korea y la restante es de Italia. Esto indica que existe aún mucho trabajo citogenético por realizar en esta familia que comprende a varias especies de importancia comercial y alimentaria.

Los números cromosómicos diploides ($2n$) conocidos para las especies en Arcidae son: 28 en *Barbatia virescens* (Ieyama, 1975), 36 en *Arca boucardi* (Ieyama, 1983), y 38 en *Barbatia velata*, *Arcopsis symetrica*, *Porterius dalli* (Ieyama, 1984), *Scapharca subcrenata* (Wada y Komaru, 1985) y *Scapharca broughtoni* (Yoo *et al.*, 1992). El número haploide (n) de 19 se reportó en *Arca Barbata* (Rasotto *et al.*, 1981). En este trabajo, *Anadara tuberculosa* presentó el número cromosómico diploide ($2n$) de 38. Al revisar toda la información disponible de las especies de Arcidae cuyos cariotipos se conocen, se logra detectar que siete de nueve especies en esta familia poseen el mismo número cromosómico (Tabla XVII). Estos datos muestran que el número modal de los cromosomas diploides ($2n$) es 38 en Arcidae.

Al comparar el cariotipo de la especie estudiada en este trabajo, *Anadara tuberculosa* con otras especies de la misma familia, tales como: *Scapharca subcrenata*

Tabla XVII. Especies de la Familia Arcidae cariotipadas.

Género	Especie	2n	n	m	m-sm	sm	sm-st	st	st-t	Autor
<i>Barbatia</i>	<i>virescens</i>	28	14		5				9	Ieyama, 1975
<i>Arca</i>	<i>barbata</i>		19							Rasotto, <i>et al.</i> , 1981*
<i>Arca</i>	<i>boucardi</i>	36								Ieyama, 1983 *
<i>Barbatia</i>	<i>velata</i>	38								Ieyama, 1984
<i>Arcopsis</i>	<i>symetrica</i>	38							7	Ieyama, 1984
<i>Porterius</i>	<i>dalli</i>	38	19						3	Ieyama, 1984
<i>Scapharca</i>	<i>subcreanata</i>	38		3	10	3	3			Wada y Komaru. 198
<i>Scapharca</i>	<i>broughtoni</i>	38		3	2	10		4		Yoo, <i>et al.</i> , 1992
<i>Anadara</i>	<i>tuberculosa</i>	38		12		6		1		Presente estudio

2n= número cromosómico diploide.

n= número cromosómico haploide.

m= cromosoma metacéntrico.

m-sm= cromosoma metacéntrico-submetacéntrico.

sm= cromosoma submetacéntrico.

sm-st= cromosoma submetacéntrico-subtelocéntrico.

st= cromosoma telocéntrico.

st-t= cromosoma subtelocéntrico-telocéntrico.

t= cromosoma telocéntrico.

*Citado por Wada y Komaru. 1985.

(Wada y Komaru, 1985), se observa que esta última posee 16 pares de cromosomas metacéntricos a submetacéntricos, en tanto que *S. broughtoni* presenta 15 pares de estos tipos y *A. tuberculosa* muestra 18. Por otra parte, estas mismas especies *S. subcrenata*, *S. broughtoni* y *A. tuberculosa* presentan 3 pares de cromosomas submetacéntrico-subtelocéntrico (sm-st), 4 subtelocéntrico (st) y 1 subtelocéntrico (st) respectivamente. Lo que hace a los cariotipos similares.

La presencia de cromosomas subtelocéntricos a telocéntricos (st-t) en la familia Arcidae es variable. De tal manera que se aprecia lo siguiente: las especies con mayor presencia de estos tipos de cromosomas son *Barbatia virescens* con 9 (st-t) y *Arcopsis symetrica* con 7 (st-t). En tanto que *Scapharca broughtoni* posee 4 (st) y *Porterius dalli* 3 (st-t). La especie que posee el menor número cromosómico de este tipo de cromosomas es *A. tuberculosa* que solo presenta 1 par. Cabe señalar que a la fecha no se han detectado cromosomas telocéntricos en ninguna especie de la familia Arcidae.

En el cariotipo de *Anadara tuberculosa* no se detectaron tallos ni satélites cromosómicos, a diferencia de otras especies de bivalvos, tales como *Mytilus edulis* en donde se han identificado satélites y regiones organizadoras del nucleolo (NOR) (Dixon *et al.*, 1986). En otro reporte se han identificado con nitrato de plata a las regiones organizadoras del nucleolo (NORs) en las especies de bivalvos *Mytilus edulis*, *M. trossolus* y *M. galloprovincialis*. Las bandas NOR están asociadas con frecuencia a los tallos cromosómicos (Insua *et al.*, 1994).

Tampoco fueron evidentes constricciones secundarias, ni cromosomas heteropicnóticos. No se registraron cromosomas sexuales. Las apreciaciones antes

citadas coinciden con los estudios de otros autores (Ieyama, 1975; 1984; Rasotto *et al.*, 1981; Yoo *et al.*, 1992).

Conclusiones:

1. *Anadara tuberculosa* es la primer especie de las 62 especies americanas de la familia Arcidae cuyo cariotipo se presenta aquí.
2. *Anadara tuberculosa* posee el número diploide $2n=38$, coincidiendo con el número modal de la familia Arcidae.
3. En cuanto al tipo de cromosomas de *Anadara tuberculosa*, esta presenta semejanza en su cariotipo con el de las dos especies cuyos tipos de cromosomas se conocen bien y que poseen un $2n=38$, dichas especies son: *Scapharca subcreanata* y *S. broughtonii*.
4. No se detectaron cromosomas telocéntricos en *Anadara tuberculosa*, coincidiendo también con los otros cariotipos de las especies de la familia.
5. No se registraron tallos ni satélites en *Anadara tuberculosa*. *Anadara tuberculosa*.

Bibliografía:

Abbott, R. T., 1969. **Seashells of North America**. Ed. Golden Press. New York.

Abbott, R. T., 1974. **American Seashells**. Ed. Van Nostrand Reinhold Company. New York.

Ahmed, M. y A. K. Sparks, 1967. **A preliminary study of chromosomes of two species of oysters (*Ostrea lurida* and *Crassostrea gigas*)**. J. Fish Res. Board Canada, 24: 2155-2159.

Ahmed, M. y A. K. Sparks, 1976. **Chromosome of oyster, clams and mussels**. Proc. Nat. Shellfish. Ass., 53: 10.

Alberts, B.; D. Bray; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts y J. D. Watson, 1994. **Biología Molecular de la Célula**. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España.

Arizpe, C. O., 1992, **Los Moluscos y su importancia comercial en el Pacífico Mexicano**. Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, Baja California Sur. México.

Ascencio, J.; L. Moran y C. Márquez, 1995. **Mejoramiento de imágenes citogenéticas digitales por medio de software desarrollado *ex profeso***. Memorias VI Congreso Nacional de Genética. Xalapa, Ver., Sep. 1995, pp 83-84.

Baqueiro, C. E., 1987. **Historia, presente y futuro de cultivo de bivalvos en México**. III Reunión Nacional de Malacología y Conquiliología. Fac. de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. México.

Baqueiro, C. E. y C. B. Kensler, 1979. **Estructura de una población de pata de mula, *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) de ocho esteros de manglar en Bahía**

Magdalena y Almejas, Baja California Sur, México. Universidad Nacional Autónoma de México.

Baqueiro, C. E.; R. J. A. Masso y B. H. Guajardo, 1982. **Distribución y abundancia de moluscos de importancia comercial en Baja California Sur.** Serie divulgación No. 11. Instituto Nacional de Pesca, México.

Barnes, R. D., 1989. **Zoología de los invertebrados.** Ed. Interamericana, S. A. de C. V. México, D. F.

Beaumont, A. R., and LL. D. Gruffydd, 1974. **Studies on the chromosomes of the scallop *Pecten maximus* (L) and related species.** J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 54: 713-718.

Bernard, F. R.; S. M. McKinnell y G. S. Jamieson, 1991. **Distribution and Zoogeography of the Bivalvia of the eastern Pacific Ocean.** Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. 112:60.

Brown, W. V. y E. M. Bertke, 1979. **Citología.** Ed. Omega, S. A. Barcelona, España.

Brusca, R. C., 1973. **Common intertidal invertebrates of the Gulf of California.** The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. U. S. A.

Brusca, R. C. y G. J. Brusca, 1990. **Invertebrates.** Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. U.S.A.

Campos, M. S. A., L. M. L. Fournier y R. Soto, 1990. **Estimación de la población de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia: Aecidae) en Sierpe Terraba, Costa Rica.** Rev. Biol. Trop., 38(2b): 477-480.

Cifuentes-Lemus, J. L., 1984. **Biología de los Moluscos**. Primera Reunión Nacional de Malacología y Conquiliología. Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, Baja California Sur. México.

Cruz, R. A., 1984. **Algunos aspectos de la reproducción de *Anadara tuberculosa* (Pelecypoda: Arcidae) de Punta Morales, Punta Arenas, Costa Rica**. Rev. Biol. Trop., 32 (1): 45-50.

De Robertis, E. D. P. y E. M. F. De Robertis, 1986. **Biología Celular y Molecular**. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina.

Dixon D. R.; I. R. B. McFadzen y K. Siley, 1986. **Heterochromatic marker regions (Nucleolar Organisers) in the chromosomes of the common mussel, *Mytilus edulis* (Mollusca: Pelecypoda)**. J. Exp. Biol. Ecol. vol 97, pp. 205-212.

Drets, M. E.; G. A. Drets; P. J. Queirolo y F. J. Monteverde, 1995. **Computer graphics as a tool in cytogenetic research and education**. Cabios First Byte. vol 11 (5). 463-468.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), 1995. **Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro Oriental**. vol. I. Roma, Italia.

García -Cubas, A.; M. Reguero; R. Gasca y E. Suárez, 1986. **Clasificación de los bivalvos de acuerdo a sus hábitos de vida**. III Reunión Nacional de Malacología y Conquiliología. Fac. de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. México.

García -Cubas, A.; Z. G. Castillo- Rodríguez; A. Alvarez Herrera y R. Muñoz Chagin, 1987. **Moluscos comestibles en las costas de México**. III Reunión Nacional

de Malacología y Conquiliología. Fac. de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo Leon, Monterrey. México.

Gardner, E. J., 1980. **Principios de Genética**. Ed. Limusa. Mexico 1, D.F.

Griffiths, F. J. A.; J. H. Miller; D. T. Suzuki; R. C. Lewontin y W. M. Gelbart, 1993. **An Introduction to Genetic Analysis**. W.H. Freeman and Company. New York.

Hienz, H. A. 1975. **Cromosomas**. Ed. Alhambra. Madrid, España.

Hillis, D. M.; C. Moritz y B. K. Mable, 1996. **Molecular Systematics**. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, U.S.A.

Holguín, Q. O. E. y A. C. González-Pedraza, 1994. **Moluscos de la franja costera de Michoacán, Colima y Jalisco, México**. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México, D.F.

Ieyama, H., 1975. **Chromosome numbers of three species in three Families of Pteriomorphia (Bivalvia)**. Venus 34 (1-2): 26-32.

Ieyama, H., 1980. **Studies on the chromosomes in three species of the Veneridae (Bivalvia, Heterodonta)**. Venus 39 (1): 49-55.

Ieyama, H., 1982. **Karyotypes in two species of the Solemyidae (Bivalvia, Cryptodonta)**. Venus 40 (4): 232-236.

Ieyama, H., 1983. **Somatic Chromosomes of the arcid *Arca boucardi* (Bivalvia: Pteriomorphia)**. Chromosome Inf. Serv. 35: 3-4.

Ieyama, H., 1984. **Chromosomes of six species in three families of Pteriomorphia (Bivalvia)**. Venus 43 (1): 106-110.

Ieyama, H., 1990. **Chromosomes of the Oysters, *Hyotissa imbricata* and *Dendostrea folium* (Bivalvia: Pteriomorphia).** Venus 49 (1): 63-68.

Ieyama, H. y A. Inaba, 1974. **Chromosome numbers of ten species in four Families of Pteriomorphia (Bivalvia).** Venus 33 (3): 129-137.

Insua, A.; J. P. Labat y C. Thiriort-Quévieux, 1994. **Comparative analysis of karyotypes and nucleolar organizer regions in different populations of *Mytilus trossulus*, *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis*.** J. Moll. Stud., 60: 359-370.

Keen, A. M., 1971. **Sea shells of tropical west america: marine mollusks from Baja California to Perú.** Ed. Stanford University Press, Stanford, California.

Komaru, A. y K. T. Wada, 1985. **Karyotypes of four species in the Pectinidae (Bivalvia: Pteriomorphia).** Venus 44 (4): 249-259.

Levan A.; K. Fredga y A. A. Sandberg, 1964. **Nomenclature for centromeric position on chromosomes.** J. Hereditas 52: 201-220.

Márquez, B. C., 1993a. **Método para obtener metafases en preparaciones de branquias de mejillón *Mytilus californianus* (Conrad, 1837).** Revista de Investigación Científica 4 (1):75-80.

Márquez, B. C., 1993b. **Obtención de un modelo animal para la investigación de mutagénesis en el ambiente marino.** Tesis doctoral. Fac. de Ciencias UNAM.

Márquez, B. C. y G. Licea, 1991. **Leon 1: un programa para la enseñanza y la investigación en citogenética.** En: resúmenes del II Congreso Nacional de Genética. Saltillo, Coahuila. México. p 54.

Meglitsch, P. A., 1978. **Zoología de Invertebrados.** H. Blume Ed. Madrid,

España.

Menzel, R. W., 1968. **Chromosome numbers in nine families of marine pelecypod mollusks.** Nautilus 82: 45-58.

Menzel, R. W. y M. Y. Menzel, 1965. **Chromosomes of two species of quahog clams and their hybrids.** Biol. Bull., 129: 181-188.

Morris, R. H.; D. P. Abbott y E. C. Haderlie, 1980. **Intertidal Invertebrates of California.** Stanford University Press. Stanford California.

Nadamitsu, S. y H. Shinkawa, 1973. **On the chromosomes of the japanese oyster (*Crassostrea gigas*).** Chromosome Inf. Serv. 15: 29-30.

Nakamura, H., 1985. **A review of molluscan cytogenetic information based on the CISMOCH-Computerized Index System for Molluscan Chromosomes. Bivalvia, Polyplacophora and Ccephalopoda.** Venus 44: 193-225.

Nishikawa, S.; y Y. Hisatomi, 1959. **Chromosomes of *Tapes (Amygdala) japonica* Deshayes.** Zool. Mag. Tokyo. 68: 279-280.

Rasotto, M.; D. Altieri y D. Colombera, 1981. **I cromosomi spermatocitari di 16 specie appartenenti alla classe Pelecypoda,** in Lavori della Soc. Mal. Ital. ed. by G. Cantaluppi et al, Univ. Pavia, Pavia, Italia. 113-127

Rodríguez-Romero, F.; A. Laguarda-Figueras y M. Uribe-Alcocer, 1979. **Comparative analysis of the caryotypes of two oyster species of the genus *Crassostrea* from México: *C. virginica* and *C. corteziensis*.** An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nat. Auton. México. 6(I): 19-24.

Russell, J. P., 1996. **Genetics.** Ed. Harper Collins. New York.

Sasaki, M., 1961. **Observations on the modification in size and shape of chromosomes due to technical procedure.** *Chromosoma*, 11: 514-522.

Sessions, S. K., 1996. **Chromosomes: Molecular Cytogenetics.** En Hillis, D.M.; C. Moritz y B. K. Mable. **Molecular Systematics.** Sinauer Associates, Inc. Massachusetts.

Squires, H. J.; M. Estévez; O. Barona y O. Mora, 1977. **Mangrove cockles, *Anadara* spp. of the Pacific Coast Colombia.** *Veliger* 18 (1): 57-68.

Tamarin, H. R., 1996. **Principios de Genética.** Ed. Reverté. Barcelona, España.

Thiriot-Quiévreux, C. y N. Ayraud, 1982. **Les caryotypes de quelques espèces de bivalves et de gastropodes marines.** *Marine Biology*, 70: 165-172.

Vitturi, R.; P. Carbone y E. Catalano, 1985. **The chromosomes of *Pycnodonta cochlear* (Poli) (Mollusca, Pelecypoda).** *Biol. Zbl.*, 104: 177-182.

Wada, K., 1978. **Chromosome karyotypes of three Bivalves: the oysters, *Isognomon alatus* and *Pinctada imbricata*, and the bay scallop, *Argopecten irradians irradians*.** *Biol. Bull.*, 155: 235-245.

Wada, K., 1976. **Number and gross morphology of chromosomes in the pearl oyster, *Pinctada fulcata*, collected from to regions of Japan.** *Venus*, 35: 9-14.

Wada, K. T. y A. Komaru, 1985. **The karyotype of the ark shell, *Scapharca subcrenata* (Lischke, 1869).** *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture* 8: 1-4.

Wada, K. T. y A. Komaru, 1993. **Karyotype of the Chinese Mactra Clam, *Mactra chinensis* (Bivalvia: Mactridae).** *Venus* 52 (1): 63-68.

Yoo, M. S.; Lee, J. M. y Kim, I. B., 1992. **Chromosomes of arkshell, *Scapharca***

broughtonii Shrenck. Bull. Korean Fish. Soc. 25 (3): 171-175.