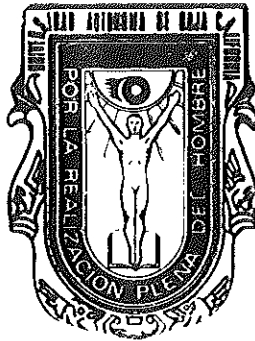


Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE CIENCIAS



**DETERMINACION DEL CARIOTIPO DE *Corbicula fluminea*, QUE HABITA EN
EL VALLE DE MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MEXICO**

T E S I S

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

BIOLOGO

PRESENTA:

Hugo Silva Kurumiya

Ensenada, Baja California.

Junio de 1995.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

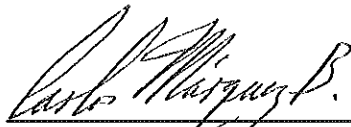
FACULTAD DE CIENCIAS

DETERMINACIÓN DEL CARIOTIPO DE *Corbicula fluminea*, QUE HABITA EN
EL VALLE DE MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

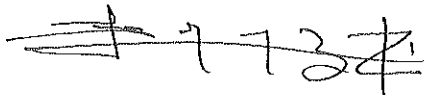
TESIS PROFESIONAL
QUE PRESENTA:

Hugo Silva Kurumiya

Aprobada por :



DR. Carlos Márquez Becerra
Presidente del Jurado
Director de Tesis



M. C. Guillermo Bojórquez Rangel
1^{er} Vocal



DR. Victor Manuel Salceda Sacanelles
Secretario

Dedicatoria

A mi Padre Alvaro Silva E.

A mi Madre Hortensia Kurumiya V. (qpd)

A mi cuñada Marina Morales (qpd)

A mis hermanos y sobrinos : Alvaro, Alicia, Patricia, Fernando,
Hortencia, Armando, Xavier, Alvaro, Fernando, Alejandro

Agradecimientos

Quiero externar mi agradecimiento a todas las personas que me han apoyado en mis estudios y durante el desarrollo del tema de tesis.

Al Dr. Carlos Márquez Becerra por haberme brindado la oportunidad de decidir y desarrollar el tema de tesis y sobre todo por la gran paciencia demostrada.

A la Facultad de Ciencias que como Institución apporto toda la infraestructura necesaria.

Al M. C. Ernesto Campos G. por el apoyo e interés demostrado durante el desarrollo de la misma.

A los Drs. Meredith Gould Ch. y José Luis Stephano H. por las sugerencias y ayuda brindadas durante la fase experimental y en la toma, revelado e impresión las microfotografías.

Al M. C. Guillermo Bojórquez por el compañerismo demostrado y ayuda recibida en todo momento en el Laboratorio de Genética.

A la Bióloga Rita Ibarra y familia por toda la ayuda proporcionada al inicio del trabajo de campo.

A la Bióloga María Elena Reséndiz R. por la revisión del texto y comentarios realizados al mismo.

Así como a los amigos que siempre estuvieron pendientes de los avances de la tesis : Ana Gatica, Larisha Calvo, Jorge Lucero, Isabel Montes, Jorge Alaniz, Martha Valles, Alejandro Gerardo, Jorge Ramírez, Alberto Cano, Alfredo Acosta, Yanet Guerrero, Yrma Cruz, Claudia Leyva, Concepción Singuenza, Rosa María Licón, Walter Zuñiga...

A los Técnicos : Fernando, Alejandro, Lucy, Cuquis, Eva, Cecy

También para : Blanca, Mayra, Lulú, Bertha, Nohemí

A los Sinodales : Dr. Victor Salceda, M. C. Guillermo Bojórquez, M. C. Olivia Tapia, M. C. Miguel Carrillo por la revisión del texto y sugerencias.

A todas las personas que me ayudaron y escaparon a mi memoria en este momento.

A todos ellos les deseo los mejores parabienes y ¡ muchas gracias !

Reconocimiento

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Genética de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Baja California y fue posible realizarlo gracias al apoyo del proyecto DETECCIÓN DE AGENTES MUTAGENICOS EN LAS COSTAS DE BAJA CALIFORNIA.

Asimismo deseo externar mi reconocimiento a las siguientes personas, ya que con su decidido apoyo y espíritu de cooperación logré salvar un sinfín de contratiempos en el momento de realizar el texto de la tesis, a todas ellas ¡mil gracias!

M. C. María Concepción Arredondo

LCC Martha Irene Estrada

LCC María de Jesus Cervantes

LCC Gustavo Barboza

Sr. Alfredo Hernández L.

Resumen

Se trabajaron 110 individuos de una población de *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) residente del Valle de Mexicali, Baja California, México, con la técnica del acuario con colchicina al 0.04% para obtener células en metafase de las branquias. Se seleccionó a los 11 mejores organismos. De los 11 organismos seleccionados se analizaron 54 células en metafase con calidad cariotipable. Se determinó el número cromosómico más frecuente en 46 cromosomas y se detectó la presencia de variación en el número cromosómico, la cual varía de 36 hasta 54 cromosomas. El análisis del cariotipo mostró que se conforma de los siguientes cromosomas : 2 cromosomas metacéntricos, 4 cromosomas submetacéntricos, 18 submetacéntrico-telocéntricos y de 22 cromosomas telocéntricos. Se muestran cariotipos de 46,48 y 52 cromosomas. Para el análisis cuantitativo se aplicó el programa computacional León 1, donde el par No. 1 presentó una longitud relativa de 6.67% y el par más pequeño una longitud relativa de 2.14%; el par de cromosomas telocéntricos de mayor tamaño presentó una longitud relativa de 5.67%. Se muestran diversos idiogramas que permiten visualizar de diferentes maneras el cariotipo y sus grupos de cromosomas.

Índice

	pag.
I.- Introducción	1
II.- Antecedentes	29
III.- Objetivo	36
IV.- Materiales y método	37
V.- Resultados	44
VI.- Discusión	58
VII.- Conclusión	64
VIII.- Bibliografía	66

Lista de Figuras

	pag
Fig. 1.-	Diferentes tipos de bivalvos y su ubicación en el sustrato. 5
Fig. 2.-	Etapas del ciclo celular. 8
Fig. 3.-	Las cuatro etapas de la mitosis. 10
Fig. 4.-	Estructuras del cromosoma. 12
Fig. 5.-	Tipos de cromosomas según la posición del centrómero 13
Fig. 6.-	Distribución del género <i>Corbicula</i> en el mundo. 30
Fig. 7.-	Distribución del género <i>Corbicula</i> en América. 34
Fig. 8.-	Ubicación del área de estudio. 38
Fig. 9.-	Zona de muestreo 39
Fig. 10.-	Cariotipo y fotografía de cromosomas metafásicos de <i>Corbicula fluminea</i> con 46 cromosomas. 45
Fig. 11.-	Cariotipo y fotografía de cromosomas metafásicos de <i>Corbicula fluminea</i> con 48 cromosomas. 46
Fig. 12.-	Cariotipo y fotografía de cromosomas metafásicos de <i>Corbicula fluminea</i> con 52 cromosomas. 47
Fig. 13.-	Se compara el número de organismos que comparten el mismo número cromosómico. 50
Fig. 14.-	Se compara el número total de células analizadas contra los diferentes números cromosómicos. 51
Fig. 15.-	El idiograma de <i>Corbicula fluminea</i> , ordenado por longitud relativa e índice centromérico. 54

	pag
Fig. 16.- El mismo idiograma anterior pero ahora ordenado por la posición del centrómero.	55
Fig. 17.- Idiograma de <i>Corbicula fluminea</i> realizado, en este caso la pareja esta representada por un cromosoma promedio.	56
Fig. 18.- El mismo idiograma de la Fig. 17, pero los cromosomas estan organizados por la posición del centrómero	57

Lista de Tablas

	pag
Tabla I.- Número de cromosomas (2n) en varios animales y plantas.	22
Tabla II.- Grupos de organismos que poseen un mismo orden de magnitud en su número cromosómico.	28
Tabla III.- Números cromosómicos de algunos animales y su escala de variación.	28
Tabla IV.- Ubicación taxonómica de <i>Corbicula fluminea</i> .	31
Tabla V.- Frecuencia de distribución del número cromosómico observado en 11 individuos <i>Corbicula fluminea</i> .	48
Tabla VI.- Parámetros citogenéticos del cariotipo de 26 pares de cromosomas.	53

I.- Introducción

El grupo de los moluscos comprende animales muy comunes. Los caracoles, almejas, calamares y pulpos, son los más representativos. Los moluscos son; después de los insectos, el filo de organismos más grande en número de especies en el planeta; se conocen cerca de 60,000 especies de fósiles, teniéndose más de 100,000 especies descritas actualmente (Brusca y Brusca, 1990).

La distribución de los moluscos es muy amplia, prueba de ello es que se encuentran en diversos tipos de hábitat. Desde las grandes profundidades oceánicas en la fosa de las Islas Marianas, hasta en montañas a 5,000 m sobre el nivel medio del mar. Desde los trópicos hasta las regiones polares, tanto en ambientes marinos como dulceacuícolas; algunos son relativamente comunes en los hábitat terrestres húmedos y desérticos (Smith y Carlton, 1975; Barnes, 1986).

A través del tiempo los moluscos han sido utilizados de diversas maneras, como lo demuestran los vestigios encontrados en diversas culturas, por ejemplo como : moneda, objeto estético, armas, utensilios, instrumentos musicales, ornato, joyería y fetiches. Asimismo han formado parte relevante de

la alimentación humana y se han empleado como suplemento alimenticio en aves (Morris, 1966; Wells, 1989; Brusca y Brusca, 1990).

Actualmente los organismos del grupo de los moluscos como las vieiras, ostras, almejas, calamares y pulpos forman parte de la alimentación del hombre y se invierte gran cantidad de dinero para su estudio, conservación y cultivo.

Las conchas de los moluscos son muy apreciadas por los coleccionistas, algunas de ellas por su belleza, rareza o colores que presentan y por la durabilidad que los caracteriza; son deseadas de la misma manera que joyas o piezas de porcelana fina (Morris, 1966). Tales objetos llegan a alcanzar precios muy elevados, por ejemplo, la comunmente llamada "Gloria de los mares" *Conus gloriamaris* en 1964, estaba valuada en los Estados Unidos en \$2,000 dólares y actualmente por la extracción masiva a la que es sujeta se cotiza de \$200 a \$300 dólares (Morris, 1966).

Las conchas de estos organismos han tenido importancia económica, ya que se han llegado a utilizar como dinero, por ejemplo *Cypraea moneta* es utilizada hoy en día por tribus de comerciantes Árabes en la costa occidental del África, para la compraventa de artículos, así como por nativos en Nueva

Guinea y Melanesia. Se tienen registros de que antes que los griegos acuñaran la primera moneda conocida, alrededor del año 670 A. C., circulaba extensivamente la *Cypraea* como moneda de uso corriente (Stix *et al.*, 1988).

Existe una gran variedad de moluscos adaptados a diversos hábitat y modos de vida diversos, por ello representan un buen material para el estudio de varias ramas de la Biología (Ecología, Fisiología, Genética, Biogeografía, etcétera). Un aspecto de particular importancia es su utilización como organismos centinelas en programas de monitoreo de contaminantes (Hartley y Johnston, 1983; Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1988, 1989; Chávez-Rosas, 1992; Johnson *et al.*, 1993; Márquez-Becerra, 1987, 1989, 1993a,b).

Las almejas pertenecen a la clase Pelecypoda o Lamellibranchia, la cual también esta conformada por las ostras y los mejillones. Se han descrito aproximadamente 20,000 especies de bivalvos agrupados en 75 familias. Los bivalvos poseen una concha comprimida lateralmente compuesta por dos valvas, que encierran el cuerpo por completo. Las valvas son articuladas por medio de una charnela. Esta disposición permite la salida del pie y la de un largo sifón musculoso con dos tubos para la absorción y expulsión de agua (Fig. 1) (Barnes, 1986).

El pie como el resto del cuerpo esta comprimido lateralmente, de aquí surge el nombre Pelecypoda, que significa pie en forma de hacha. La cavidad del manto es la más espaciosa entre las diversas clases de moluscos; las branquias, son casi siempre muy grandes y han adquirido en la mayor parte de las especies las funciones de recolectar el alimento y de intercambiar gases. Las almejas logran su alimentación por medio de la filtración del agua ingerida por el sifón, la cual es enviada hacia sus branquias. El movimiento de los cilios de la superficie branquial mantiene la corriente y así las partículas de alimento (microalgas, bacterias y detritos) son fijadas por el moco que secretan las branquias para sere llevados a la boca.

Aunque los bivalvos han invadido otros hábitats, las adaptaciones para excavar fondos blandos y arena, los ha llevado a la especialización, a tal grado que han quedado encadenados a una existencia prácticamente sedentaria (Barnes, 1986).

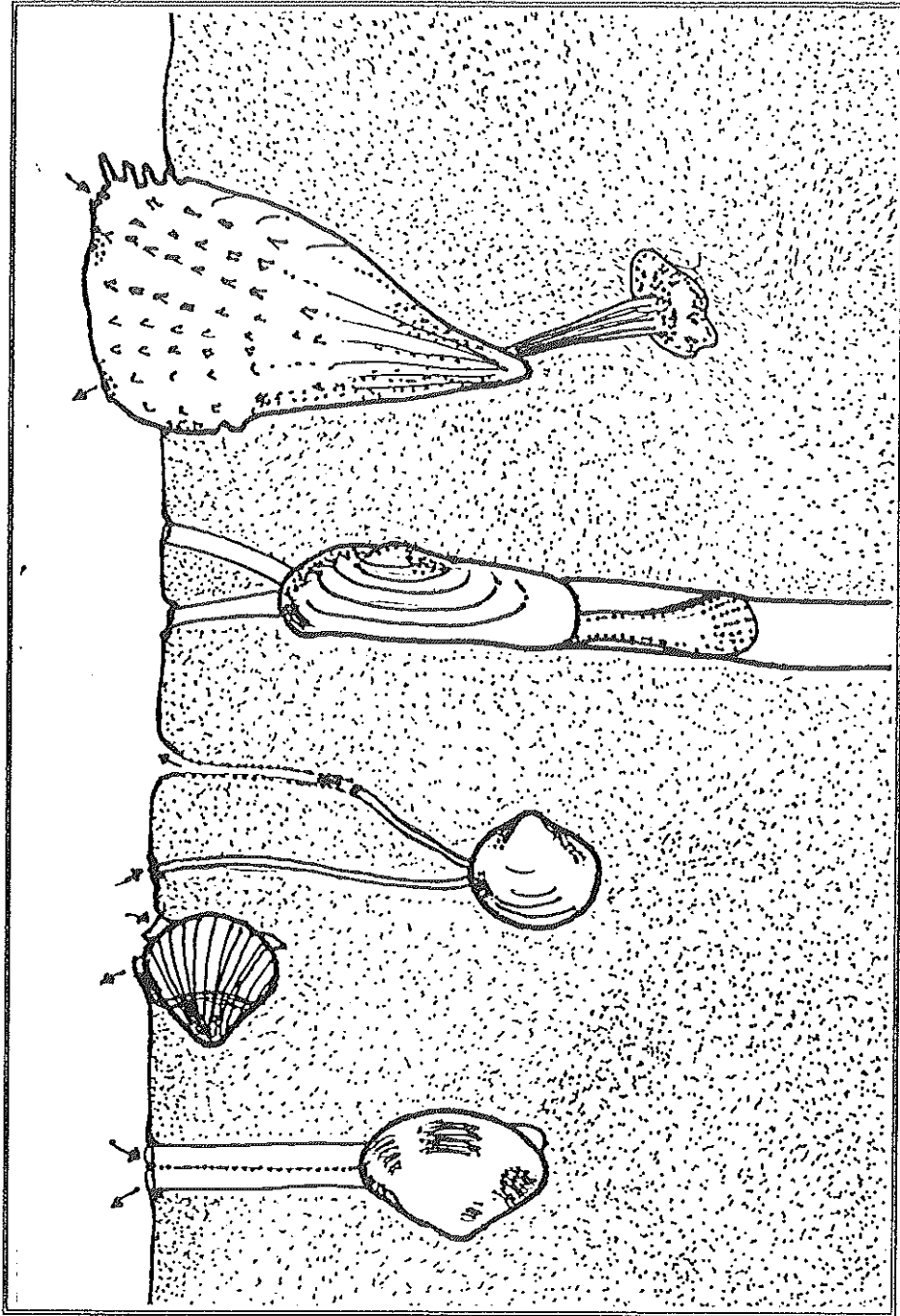


Fig. 1.- Diferentes tipos de bivalvos y su ubicación en el sustrato (tomado de Brusca y Brusca, 1990).

Generalidades del ciclo celular

Cualquier célula tiene una vida, al igual que cualquier organismo. En el caso de una célula en particular, la vida se inicia con su formación por la división celular de una célula madre y termina con la formación de las células hijas o con su muerte. Puesto que el mismo proceso, el de la división celular, es el causante tanto de la ganancia como de la pérdida de la identidad de las células, se puede hablar del ciclo de vida de la célula o del ciclo celular (Karp, 1987).

En el ciclo celular de las células que se dividen, se pueden distinguir fundamentalmente dos periodos; uno de interfase o de no división y otro periodo de división celular o citocinesis que conduce a las etapas de mitosis, conocidas como profase, metafase, anafase y telofase (Karp, 1987).

El nombre de interfase se derivó inicialmente porque representa la etapa entre divisiones mitóticas sucesivas, y en general muestra menos cambios cromosómicos espectaculares de fácil observación microscópica. En una época se consideró fase de reposo; sin embargo, hoy en día sabemos que la interfase es el periodo de mayor actividad metabólica y en general la célula se encuentra la mayor parte de su vida en interfase; por lo que se dice que el fenómeno de la mitosis es un proceso ocasional (Fig. 2) (Karp, 1987).

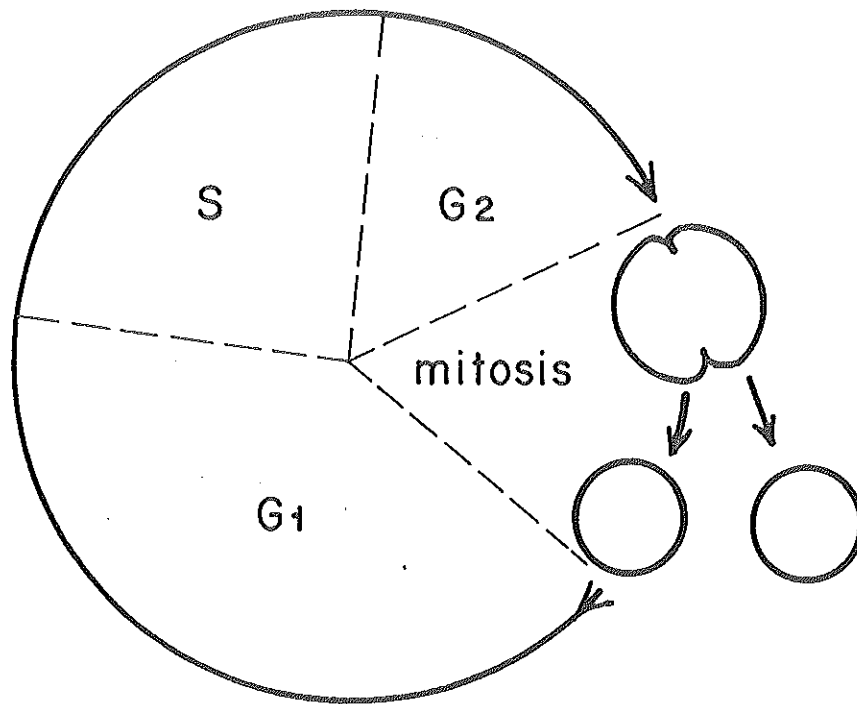


Fig. 2 - Etapas del ciclo celular. (Tomado de De Robertis y De Robertis, 1981).

Mitosis

La mitosis es un proceso de división nuclear, por el cual una célula origina dos células hijas, cada una con un complemento cromosómico idéntico al de la célula progenitora (Saez y Cardoso, 1978).

Los cromosomas se duplican durante un periodo particular anterior a la mitosis (sin embargo los duplicados solo se separan más tarde). Este periodo es llamado S que significa síntesis, debido a que el ADN de los cromosomas es sintetizado. Este periodo es precedido por un periodo G_1 (por "gap" espacio hueco) y seguido por un periodo G_2 . Durante los periodos G_1 y G_2 , la célula presenta actividad metabólica y crecimiento. En general se ha designado a la mitosis con el símbolo M y el ciclo celular se representa en la siguiente secuencia $G_1 \Rightarrow S \Rightarrow G_2 \Rightarrow M$ (Fig. 3) (Ayala y Kiger, 1984).

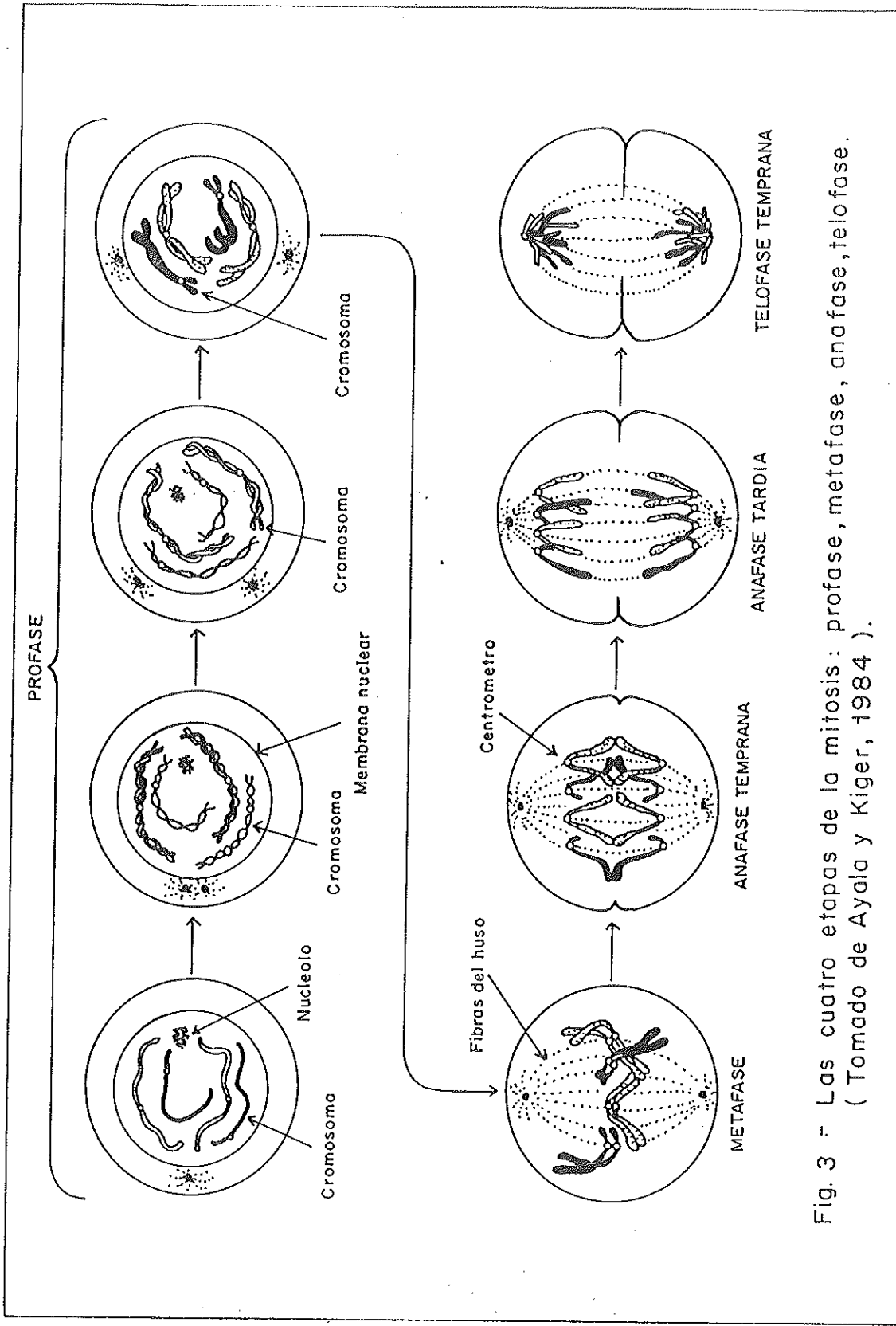


Fig. 3 = Las cuatro etapas de la mitosis: profase, metafase, anafase, telofase.
 (Tomado de Ayala y Kiger, 1984).

Los cromosomas

Los cromosomas son estructuras fibrilares del núcleo celular que son capaces de regenerarse indefinidamente mediante duplicación idéntica, los cromosomas presentan tamaños y formas que pueden ser diferentes, son capaces de teñirse intensamente con determinados colorantes básicos, de aquí proviene el nombre *cromo* (= color) y *soma* (= cuerpo). Son por una parte, portadores de los factores hereditarios, los genes, lo que les confiere la importante misión de contribuir a que este material genético se distribuya de modo uniforme durante la división celular (mitosis y meiosis) entre las células hijas. En las diferentes fases de este proceso de subdivisión presentan modificaciones características (Hienz, 1975).

Los cromosomas presentan diferentes estructuras entre las que destacan las cromátidas, con sus brazos "p" y "q", los tallos y los satélites (Fig. 4).

Aunque los cromosomas solo son visibles durante la división celular y al pasar a interfase pierden aparentemente su individualidad, siguen existiendo incluso entonces como individuos con una constitución característica (Saez y Cardoso, 1978).

Los tipos de cromosomas que se conocen de acuerdo a la posición del centrómero son: metacéntrico, submetacéntrico y acrocéntrico (telocéntrico) (Fig. 5) (Ayala y Kiger, 1984).

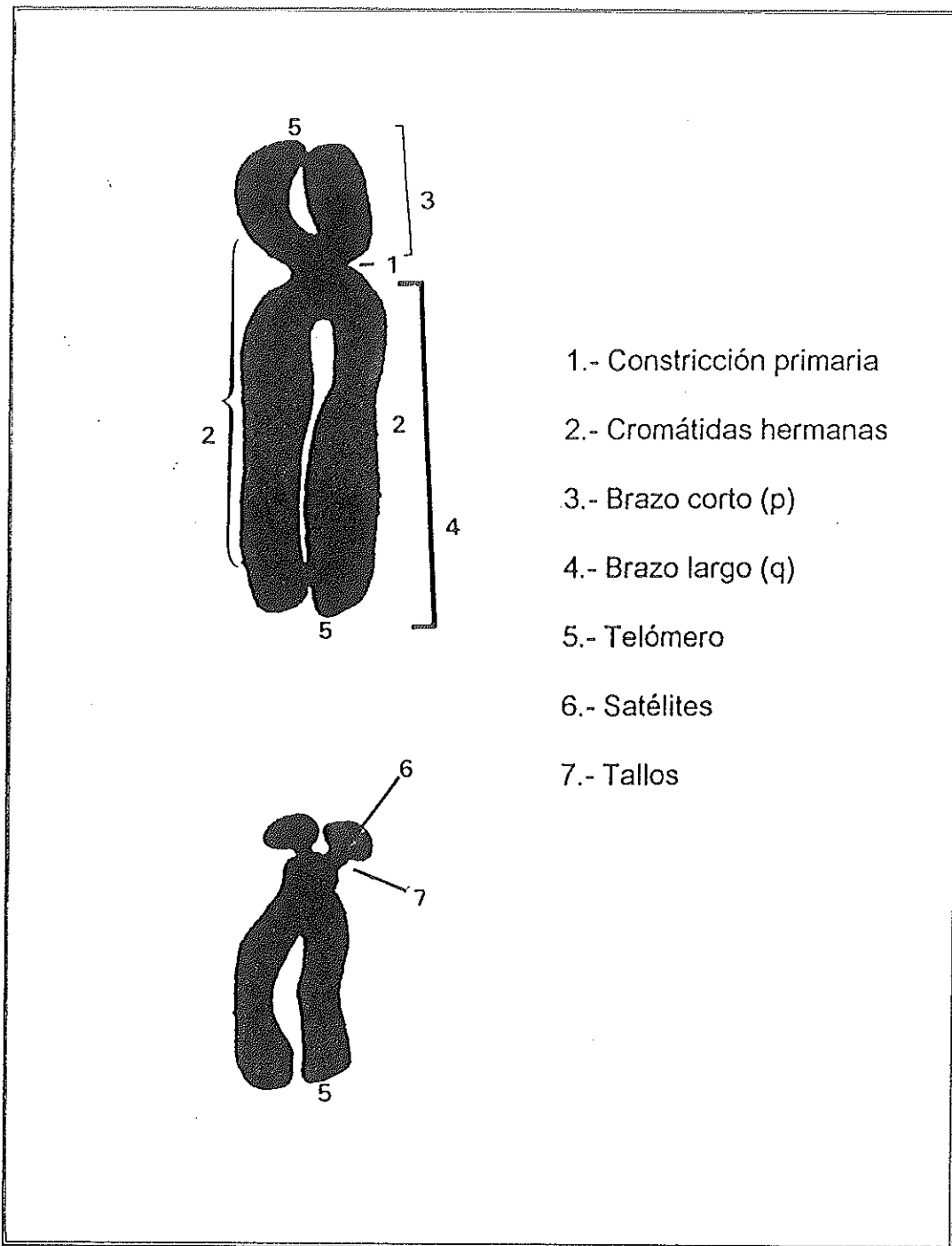


Fig. 4.- Estructuras del cromosoma.

Los cromosomas son cuerpos largos y filiformes que, durante la división celular se contraen haciéndose más gruesos y cortos, en los que se pueden distinguir un centrómero y uno o dos más brazos cromosómicos. Dependiendo de la posición del centrómero los cromosomas se clasifican así:

1.- Cromosoma metacéntrico. Los brazos tienen casi la misma longitud (p ej. el centrómero está en la mitad del cromosoma).



2.- Cromosoma submetacéntrico: Los dos brazos tienen una longitud diferente (p ej. el centrómero está más cerca de un extremo del cromosoma que del otro).



3.- Cromosoma acrocéntrico: Posee un sólo brazo claramente distinguible (p ej. el centrómero se encuentra muy cerca de una región terminal).



Fig. 5.- Tipos de cromosomas según la posición del centrómero.

Mutaciones cromosómicas

Diferentes células del mismo organismo y diferentes individuos de la misma especie tienen, por regla general, el mismo número de cromosomas, con excepción de las células gaméticas, que tienen solamente la mitad de los cromosomas de las células somáticas (De Robertis y De Robertis, 1981).

Las mutaciones somáticas no se transmiten de generación en generación, pero, pueden acumularse y producir modificaciones graves en el individuo, las cuales dependen del tipo de célula y del momento en el que tiene lugar la mutación. En contraste con las mutaciones somáticas, que sólo repercuten sobre las células del mismo individuo, las mutaciones sobre las células germinativas pueden ser transmitidas a la descendencia (De Robertis y De Robertis, 1981).

También por regla general, los cromosomas homólogos son uniformes en el número y el orden de los genes que llevan. Estas reglas tienen excepciones, llamadas mutaciones cromosómicas, anomalías o aberraciones (Ayala y Kiger, 1984). Las mutaciones cromosómicas pueden dividirse de la siguiente manera:

Cambios en la estructura del cromosoma : Pueden deberse a cambios en el número de genes de los cromosomas (deleciones y duplicaciones) o en la localización de los genes en los cromosomas (inversiones y translocaciones) (Ayala y Kiger, 1984).

Delección o deficiencia : Se pierde un segmento cromosómico.

Duplicación o repetición : Un segmento cromosómico esta presente más de una vez en una dotación cromosómica.

Inversión : Un segmento cromosómico está invertido. Si un segmento invertido incluye el centrómero, la inversión se llama pericéntrica (alrededor del centrómero); y si no, la inversión es paracéntrica.

Translocación : Cambia la localización de un segmento cromosómico. Las formas más comunes de translocaciones son las recíprocas, que incluyen el intercambio de segmentos cromosómicos entre dos cromosomas no homólogos. Un segmento cromosómico también puede trasladarse a un nuevo lugar dentro del mismo cromosoma, o a un cromosoma diferente, sin intercambio recíproco; estas clases de traslocaciones se llaman a veces transposiciones.

Cambios en el número de los cromosomas : Algunos cambios no alteran la cantidad total del material hereditario (fusiones y fisiones); otros lo hacen (aneuploidía, monoploidía y poliploidía) (Ayala y Kiger, 1984).

Fusión céntrica : Dos cromosomas no homólogos se fusionan en uno. Esto tiene como consecuencia la pérdida de un centrómero.

Fisión céntrica : Un cromosoma se fragmenta en dos. Debe producirse un nuevo centrómero; de otro modo el cromosoma sin centrómero se perdería cuando la célula se dividiera.

Aneuploidía :Uno o más cromosomas de una dotación normal faltan o se hallan en exceso. Los términos nulisómico, monosómico, trisómico, tetrasómico, etcétera; se refieren a la presencia de un cromosoma ninguna, una, tres, cuatro veces.

Monoploidía : Algunos organismos normalmente son monoploides tienen una sola dotación o juego de cromosomas.

Poliploidía : Los organismos poliploides tienen más de dos juegos de cromosomas.

El cariotipo

El conjunto cromosómico de un individuo o de una especie recibe el nombre de cariotipo, mismo que puede estar totalmente formado por cromosomas metacéntricos, por cromosomas telocéntricos o por una combinación de metacéntricos, submetacéntricos y telocéntricos (Brown y Bertke, 1979).

Para formular un cariotipo se obtienen impresiones fotográficas de los cromosomas metafásicos, estos, son recortados y dispuestos en pares que concuerden de la forma más exacta posible o como mínimo, en grupos (Hienz, 1975).

El cariotipo, es decir el número y morfología de los cromosomas de un complemento puede resultar útil para resolver problemas taxonómicos, por medio de la comparación de un cariotipo con el de otras especies, géneros o subfamilias (Brown y Bertke, 1979).

Entre los datos que se obtienen a partir de un cariotipo se puede citar: 1) El número fundamental, 2) El número cromosómico, 3) Longitud relativa, 4) Índice centromérico, 5) El sistema de los cromosomas sexuales y 6) La

morfología de los cromosomas sexuales. Estos datos también son útiles desde el punto de vista evolutivo, para indicar (pero no siempre) la mayor o menor relación entre especies y la dirección de los procesos evolutivos en un determinado grupo (Brown y Bertke, 1979).

Los estudios cariológicos son básicos, debido a que el cariotipo es característico de una especie. Este se representa por la serie ordenada de los pares de cromosomas homólogos en tamaño decreciente tomando en cuenta la posición del centrómero, de tal forma que permite la identificación de varias características, tales como número de cromosomas, tamaño relativo, posición del centrómero, longitud de brazos, constricciones secundarias, satélites (De Robertis y De Robertis, 1981).

Las constantes cromosómicas son importantes porque caracterizan a una especie. Tales constantes se ponen de manifiesto en el cromosoma durante la división celular, especialmente en la metafase. Las más importantes son: número, forma y tamaño. Existen otras constantes, las cuales sólo se hallan bajo condiciones sujetas a variaciones fisiológicas como son: organización interna, comportamiento, contracción lineal, grado de condensación (espirilización) y volumen (Sáez y Cardoso, 1978).

El número de cromosomas fué una de las primeras constantes que se estudiaron para explicar la individualidad a través de las generaciones celulares del individuo, la especie, el género o grupos de mayor jerarquía taxonómica. No obstante, hay excepciones sobre la variación del número de cromosomas de un organismo (Sáez y Cardoso, 1978).

El tamaño y especialmente la longitud relativa con respecto a la suma de la longitud de un conjunto cromosómico, es otra constante imprescindible para la individualización del cromosoma. Como en general el tamaño de los cromosomas de una misma célula es distinto, esta característica, combinada con el número y la forma, constituyen el principal fundamento de la investigación cariosistemática. El tamaño de los cromosomas es variable, y puede oscilar entre 35 micras en plantas del género *Trillium* hasta 2 micras en algunos insectos (Sáez y Cardoso, 1978).

En la actualidad se han desarrollado programas de computacionales, por ejemplo: León 1 (Márquez-Becerra, 1991) en donde se obtienen de manera rápida los pámetros longitud relativa (LR), índice centromérico (IC), relación de brazo (RB) y además se grafica en forma de barras a los cromosomas, de esta manera se facilita la apreciación de las dimensiones y formas de cada cromosoma en el contexto del cariotipo completo.

Para estimar los parámetros cuantitativos citados, se procesan mediante las siguientes fórmulas:

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

$$RB = \frac{\text{longitud de brazo corto}}{\text{longitud de brazo largo}}$$

$$IC = \frac{\text{longitud de brazo corto}}{\text{longitud cromosómica total}} \times 100$$

Cada ser vivo ya sea planta o animal, posee una dotación característica de cromosomas (Tabla I). Tal principio no solo rige en número de cromosomas, sino también su forma y tamaño. El número de cromosomas no guarda relación con la magnitud de diferenciación de cada organismo (Hienz, 1975).

Aún cuando especies afines a veces presentan cifras similares de cromosomas, ello no ofrece en ningún caso indicio sobre el grado de afinidad, ya que variedades que filogenéticamente son lejanas entre sí, pueden presentar cifras de cromosomas muy iguales, por ejemplo: la abeja de la miel y la paloma doméstica cada una posee 16 cromosomas; a veces especies muy próximas muestran números muy diferentes, como en el hamster chino con 22 y el hamster dorado con 44 (Hienz, 1975).

En general las especies, géneros e incluso familias o clases relacionadas entre sí, poseen conjuntos cromosómicos con un número del mismo orden de magnitud (Tabla II) (White, 1954, citado en Brown y Bertke, 1979).

El ser vivo que tiene el menor número de cromosomas es el nemátodo *Ascaris megalocephala* (*Parascaris equorum*) variedad *univalens* con 2 cromosomas somáticos. Las especies conocidas con el número cromosómico más alto son : en los vegetales el helecho *Ophioglossum reticulatum* con $2n = 1360$ y en los animales la mariposa *Lisandra atlantica* con $2n = 446$ cromosomas (Saez y Cardoso, 1978).

Tabla I.- Número de cromosomas (2n) en varios animales y plantas.

Organismo	Cromosomas	Organismo	Cromosomas
Hombre <i>Homo sapiens</i>	46	Roble blanco <i>Quercus alba</i>	24
Chimpancé <i>Pan troglodytes</i>	48	Pino amarillo <i>Pinus ponderosa</i>	24
Mono-rhesus <i>Macaca mulatta</i>	48	Cerezo ácido <i>Prunus cerasus</i>	32
Caballo <i>Equus caballus</i>	64	Col (repollo) <i>Brassica oleracea</i>	18
Asno <i>Equus asinus</i>	62	Rábano <i>Raphanus sativum</i>	14
Perro <i>Canis familiaris</i>	78	Guisante de jardín <i>Pisum sativum</i>	14
Gato <i>Felis domesticus</i>	38	Guisante <i>Lathyrus odoratus</i>	14
Ratón doméstico <i>Mus musculus</i>	40	Frijol <i>Phaseolus vulgaris</i>	22
Rata <i>Rattus norvegicus</i>	42	Pepino <i>Cucumis sativus</i>	14
Zatigüeya <i>Didelphys virginiana</i>	22	Algodón <i>Gossypium hirsutum</i>	52
Pollo <i>Gallus domesticus</i>	78	Papa <i>Solanum tuberosum</i>	48
Pavo <i>Meleagris gallopavo</i>	82	Tomate <i>Solanum lycopersicum</i>	24
Rana <i>Rana pipiens</i>	26	Tabaco <i>Nicotiana tabacum</i>	48
Estrella de mar <i>Asterias forbesi</i>	36	Trigo candeal <i>Triticum aestivum</i>	28
Gusano de seda <i>Bombyx mori</i>	56	T. redondillo <i>Triticum turgidum</i>	28
Mosca doméstica <i>Musca domestica</i>	12	Centeno <i>Secale cereale</i>	14
Mosca de la fruta <i>D. melanogaster</i>	8	Arroz <i>Oryza sativa</i>	24
Mosquito <i>Culex pipiens</i>	6	Boca de dragón <i>Antirrhinum majus</i>	16

[Tomado de Ayala y Kiger, 1984].

Los cromosomas son las unidades más elementales que contienen la información necesaria para el funcionamiento celular; así como de la morfogénesis y reproducción de los organismos. Los cambios del material genético contenido en ellos son la causa de la variación de los seres vivos (Sáez y Cardoso, 1978).

Lo que se denomina morfología del cromosoma se refiere al aspecto externo que este presenta tanto en mitosis como en meiosis. Son los cromosomas entidades permanentes del núcleo celular y el hecho que se presenten bajo diferentes aspectos depende del estado fisiológico en que se encuentre la célula; ya sea en delgados filamentos, como ocurre en la interfase nuclear, o bien como gruesos elementos compactos de forma y tamaño característicos en las células metafásicas (Sáez y Cardoso, 1978).

Los seres vivos están constituidos por un juego o complemento somático diploide de cromosomas originado por la unión de dos gametos: el espermatozoide y el óvulo, cada uno de los cuales aporta un juego de cromosomas, llamado haploide o monoploide. Así en la especie humana, el número somático o diploide es 46, formado por el aporte de los juegos de haploides de cada gameto, cada uno con 23 cromosomas (Sáez y Cardoso, 1978).

Es creencia bastante generalizada que el número de cromosomas es invariable en todas las células de un organismo, lo cual tiene excepciones; si bien las células sexuales poseen un número constante de ellos, algunas células somáticas del mismo individuo pueden tener un número diferente debido a adaptaciones funcionales de los mismos, como ocurre en el hígado en la especie humana (Sáez y Cardoso, 1978).

Cromosomas accesorios

En algunas especies de animales y vegetales, además de los cromosomas del complemento normal, o cromosomas A, se encuentran ocasionalmente otros cromosomas a los que se les llama cromosomas supernumerarios, cromosomas B, cromosomas accesorios (Müntzing, 1974) cuyo origen no es bien conocido y en general son heterocromáticos, de comportamiento errático durante la mitosis y la meiosis y tienen las siguientes características:

- Su tamaño suele ser más pequeño que los del complemento normal.
- No son homólogos con segmentos de los cromosomas A.
- Su número varía entre las poblaciones de una especie y entre los individuos de una misma población.
- Pueden faltar en algunos individuos de las poblaciones que los presentan.
- No son esenciales para el normal desarrollo y la reproducción.
- No parece haber en ellos localización de genes mayores.
- Producen efectos fenotípicos, que suelen aumentar con su número y que afectan el vigor y la fertilidad, especialmente cuando su número es impar (Müntzing, 1974; Sánchez-Mongue y Jouve, 1982).

Su presencia se observa con mayor frecuencia en las plantas que en los animales. Una de las características más frecuentes de estos cromosomas es que no establecen sinapsis con autosomas y tampoco con los cromosomas sexuales, pero sí entre ellos (Brown y Bertke, 1979).

Se han encontrado cromosomas accesorios en muchas especies vegetales, con mayor frecuencia en Angiospermas que en Gimnospermas y también en animales tales como insectos, moluscos, platelmintos, anfibios, reptiles, mamíferos (Murray, 1975; Sánchez-Mongue y Jouve, 1982) e incluso en el hombre (Müntzing, 1974).

Durante los últimos años un gran número de especies que presentan cromosomas accesorios se han conocido, pero, solo se hará mención de algunos a manera de ejemplo (Tabla III).

En animales se ha descrito la presencia de cromosomas accesorios. White en 1954 (En Brown y Bertke, 1979) realizó una revisión y encuentra cromosomas accesorios en 58 especies, correspondientes a dos gusanos planos y a 56 insectos, incluye en su relación 6 órdenes y 17 familias.

En el gusano *Polycelis tenuis* los individuos que presentan cromosomas accesorios sobreviven con dificultad en el acuario (Brown y Bertke, 1979).

Dentro de el grupo de vertebrados que se conocen destacan la zorra roja europea y la americana (*Vulva vulva*), que presentan un complemento básico de $2n = 34$, al cual también se le adiciona un número variable de cromosomas B, los cuales varían de 1 a 6, por lo tanto la variación del número cromosómico es de 34 a 40. Los cromosomas B presentan por lo general un cuarto del tamaño del autosoma más pequeño (Müntzing, 1974).

La rata malaya *Rattus rattus diardii* presenta 3 poblaciones en las que se pueden encontrar individuos que contienen de 0 a 4 cromosomas accesorios (Müntzing, 1974).

En el ratón de las cosechas de los Estados Unidos *Reithrodontomys megalotis* se encontraron cromosomas accesorios muy pequeños que varían en número de 0 a 7, ocasionando una variación en el número diploide de 42 a 49, siendo la clase modal de 44 cromosomas (Müntzing, 1974).

En el ratón de campo *Apodemus giliacus* se encontraron variaciones extremas en el número y morfología de los cromosomas; ya que la escala del número diploide va de 48 a 61 cromosomas, pero el número de los elementos acrocéntricos es constante e igual a 48 (Müntzing, 1974).

Los cromosomas accesorios han sido reportados como se mencionó anteriormente en los moluscos. Evans en 1960 (citado en Murray, 1975)

Tabla II .- Grupos de organismos que poseen un mismo orden de magnitud en su número cromosómico.

Organismos	Orden de magnitud
moluscos pulmonados	34 hasta 60
escarabajos	12 hasta 38
mamíferos	24 hasta 78
marsupiales	24 hasta 30
peces teleósteos	42 hasta 50
aves	76 hasta 82
tortugas	50 hasta 54
anfibios	22 hasta 28

En estas cifras no se incluyen los casos extremos, sino los números más comunes (tomado de Brown y Bertke, 1979).

Tabla III .- Números cromosómicos de algunos animales y su escala de variación.

Especie	No. diploide	Escala	Referencia
ZorraRoja <i>Vulva vulva</i>	34	34 - 40	Müntzing (1974)
Ratón <i>R. megalotis</i>	44	42 - 49	Müntzing (1974)
Ratón <i>Apodemus giliacus</i>	48	48 - 61	Müntzing (1974)

describe en particular el ejemplo de *Helix pomatia* que presenta 6 cromosomas accesorios, que son más pequeños que los cromosomas normales, pero tienen un comportamiento regular durante la meiosis.

La especie de caracol *Triodopsis fraudulenta* con un número cromosómico de $2n = 58$, presenta individuos con 59, 60, 61 y 62 cromosomas (Brown y Bertke, 1979).

Un caso muy inusual de variación intraespecífica en el número cromosómico es el descrito por Straiger (citado en Murray, 1975) en la especie *Purpura* (= *Thais*) *lapillus*; este gasterópodo habita en la costa británica y se encuentra representado por dos razas, cada una con $n = 13$ y $n = 18$ cromosomas. La raza que presenta 13 cromosomas posee 8 acrocéntricos y 5 metacéntricos; asimismo, la raza que presenta 18 cromosomas solo presenta acrocéntricos. En América sólo se ha reportado la raza que presenta 13 cromosomas.

II .- Antecedentes

Corbicula fluminea (Müller, 1774) es un bivalvo el cual se ha introducido en el Valle de Mexicali, Baja California, México. El género *Corbicula* es típico de ambientes dulceacuícolas y estuarinos del sureste de Asia, se distribuye en India, África, Islas del Pacífico, Europa y América (Fig. 6) (Britton y Morton, 1979; Morton, 1986; McMahon, 1991; Araujo *et al.*, 1993; Ituarte, 1994).

Las poblaciones de *Corbicula* en los Estados Unidos, en general son referidas con alguno de los tres nombres más utilizados para mencionar a la especie: *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Tabla IV) es el nombre que se utilizó para denominar a las primeras poblaciones (Burch, 1944); *Corbicula manilensis* Philippi, se empleó para designar a las poblaciones que posteriormente aparecieron en el medio oeste de los Estados Unidos (Sinclair, 1971) y de manera ocasional aparece el nombre *Corbicula leana* Prime, (Counts y Prezant, 1979). Por todo lo mencionado es problemático el referirse a este organismo.

Pocas son las investigaciones citogenéticas realizadas en el género, Nadamitsu y Kanai en 1978 (citado en Nakamura, 1985) sólo reportan un número cromosómico $2n = 48$ para *Corbicula leana* (*Corbiculidae*) pero sin mencionar la forma de sus cromosomas; Okamoto y Arimoto (1986), reportan para *Corbicula japonica* un número cromosómico de $2n = 38$, que corresponden a : un par de cromosomas metacéntricos, un par de submetacéntricos y 17 pares de telocéntricos; para *Corbicula sandai* reportan

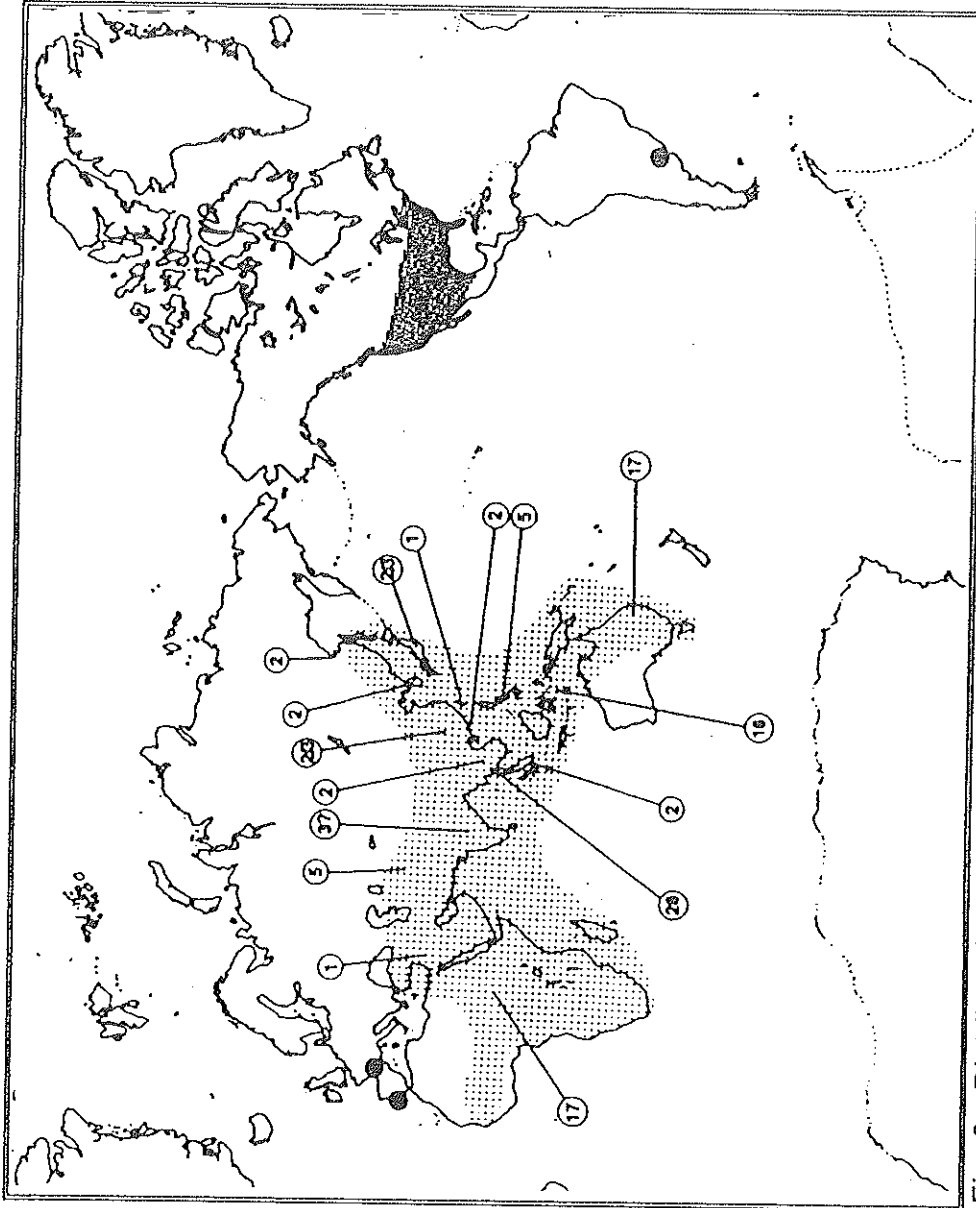


Fig. 6.- Distribución del género *Corbicula* en el mundo (tomado de Morton, 1986).

Tabla IV .- Ubicación taxonómica de *Corbicula fluminea*.

Clase: Pelecypoda
Subclase: Heterodonta
Orden: Veneroidea
Superfamilia: Corbiculacea
Familia: Corbiculidae
Género: Corbicula
Especie: fluminea

(Newell, 1969).

un número cromosómico de $2n = 36$, con : un par de cromosomas metacéntricos, un par de submetacéntricos y 16 pares de telocéntricos y finalmente, para *Corbicula leana* reportan un número cromosómico de $2n = 54$ distribuidos en : un grupo de cromosomas metacéntricos, cuatro grupos de submetacéntricos y 13 grupos de cromosomas telocéntricos. Este resultado difiere del número cromosómico reportado por Nadamitsu y Kanai en 1978, que fué de 48 cromosomas. Cabe mencionar que *Corbicula laena* fué el primer bivalvo triploide que se reportó.

Los primeros especímenes recolectados en América, fueron conchas vacías, localizadas en Vancouver, Columbia Británica, Canadá en 1924 (Counts, 1981). En 1952 se localizaron especímenes en el Valle Imperial al extremo sur del estado de California, Estados Unidos (Fitch, 1953).

En Norteamérica *Corbicula fluminea* se distribuye en el sur del Canadá, en los Estados Unidos y en México (Fig. 7) (Cherry *et al.*, 1980; Hillis y Mayden, 1985; Morton 1986).

Debido a que los distritos de riego de Coachella, Valle Imperial en California, Estados Unidos y Mexicali en Baja California, México, se encuentran interconectados para recibir y distribuir el agua del Rio Colorado, es posible que *Corbicula fluminea* habita en el Valle de Mexicali a partir de los años cincuentas, fecha en la que por vez primera se registra su presencia en los canales de Valle Imperial (Fitch, 1953).

El hábitat donde reside la almeja son los canales que distribuyen y drenan las aguas para riego y desecho del Distrito de Riego No. 14; el cual dota de agua a las parcelas del Valle de Mexicali, Baja California y San Luis Río Colorado, Sonora. El agua se distribuye por medio de una extensa red de canales, que suma aproximadamente 3,000 Km de longitud (Coronado, 1981).

La almeja habita en aguas someras, tanto en ambientes lóticos y lénticos, el sustrato puede ser muy variado, grava, grava-arena, arena suelta, lodo o cieno; teniendo poblaciones numerosas en aguas bien oxigenadas (Horne y McIntosh, 1979; Belanger *et al.*, 1985).

El modo de reproducción que presentan las poblaciones en Norteamérica es el hermafroditismo (Kraemer, 1978) aunque algunos organismos presentan un hermafroditismo protándrico (Morton, 1977). En su ciclo de vida presenta los estados de larva trocófora a las 14 horas de la fertilización, la etapa veliger de las 37 a 40 horas, la pediveliger a las 100 horas y la etapa juvenil entre las 112 y 125 horas (King *et al.*, 1986). La madurez la alcanzan entre los 3 y 6 meses, cuando la longitud de su concha alcanza entre 6 y 10 mm (Kraemer y Galloway, 1986). Presenta dos épocas reproductivas al año, la primera durante la primavera y principios de verano, la segunda a principios del otoño (McMahon, 1983). La espermatogénesis ocurre sólo durante el periodo reproductivo, pero las gónadas contienen óvulos maduros durante todo el año (Kraemer y Galloway, 1986). La escala de



Fig. 7.- Distribución del género *Corbicula* en América (Tomado de Morton, 1986).

temperaturas extremas que soporta es de 2° a 30 °C, y presenta un desarrollo normal en una escala de 7° a 25°C (McMahon, 1983).

El ambiente donde reside la almeja se caracteriza por la presencia de partículas disueltas de materia orgánica, microalgas, bacterias y detritos; sin embargo en los últimos años en la ciudad y Valle de Mexicali se han desarrollado significativamente las actividades económicas y esto a propiciado la presencia de sustancias tóxicas, que provienen principalmente de descargas domiciliarias, residuos de solventes y agroquímicos (fertilizantes y pesticidas) que son utilizados frecuentemente en la industria maquiladora y en las actividades agrícolas (Gutierrez-Galindo, 1982). Dichas sustancias pueden ser vertidas fácilmente en los canales de conducción de agua para el riego de las parcelas (Pérez-Bastidas y Sánchez-Navarro, 1983); así como en el canal de conducción de agua a la planta potabilizadora de la red municipal de la ciudad de Mexicali y parte de su Valle.

III.- Objetivo

Determinar el cariotipo normal y las posibles variaciones, de la población de *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) que reside en el Valle de Mexicali, Baja California, México.

IV.- Materiales y método

El área de estudio se localiza en el Valle de Mexicali, Baja California); la zona se encuentra en la transición de un área de uso agrícola, a uso urbano; cerca del Instituto Tecnológico de Mexicali (Fig. 8 y 9).

Se realizaron 4 recolectas en los meses de agosto, diciembre de 1992, diciembre de 1993 y febrero de 1994. Las almejas se mantuvieron en acuarios de aproximadamente 140 litros de capacidad, provistos de filtro biológico en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Baja California y se procesaron en diversas fechas posteriores. El total de organismos trabajados en el laboratorio fue de 110. Los especímenes fueron recolectados de un canal secundario de riego agrícola, revestido de concreto; dentro de él se ubicaron zonas fangosas, por ser estas áreas donde habitan este tipo de organismos bivalvos, después se procedió a recoger manualmente a los organismos de manera selectiva, cuyas tallas variaron de entre 6 a 44 mm. Para el traslado se colocaron dentro de cubetas de plástico de 19 litros de capacidad con agua potable.

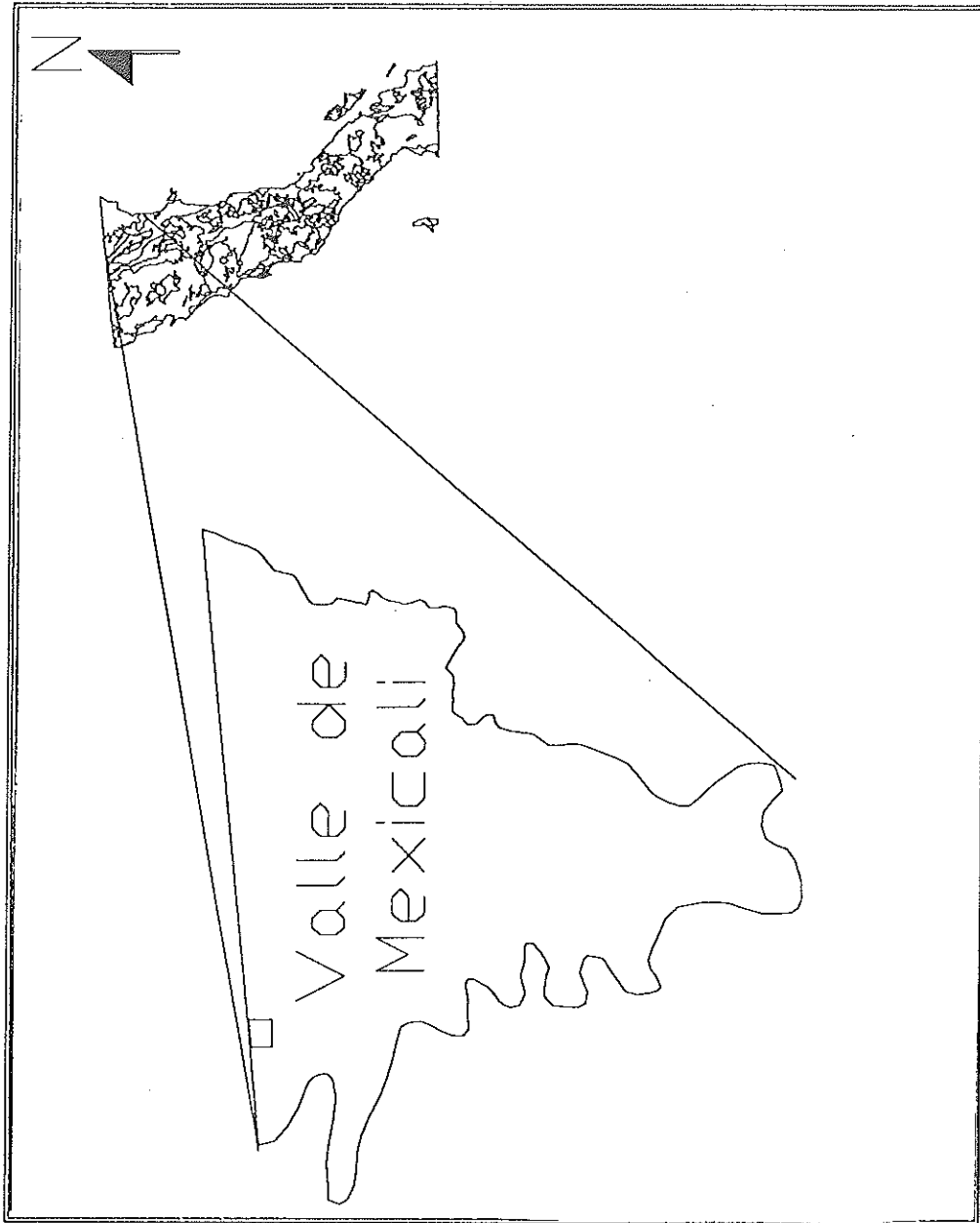


Fig. 8.- Ubicación del área de estudio, se muestra el estado de Baja California y una ampliación del Valle de Mexicali.

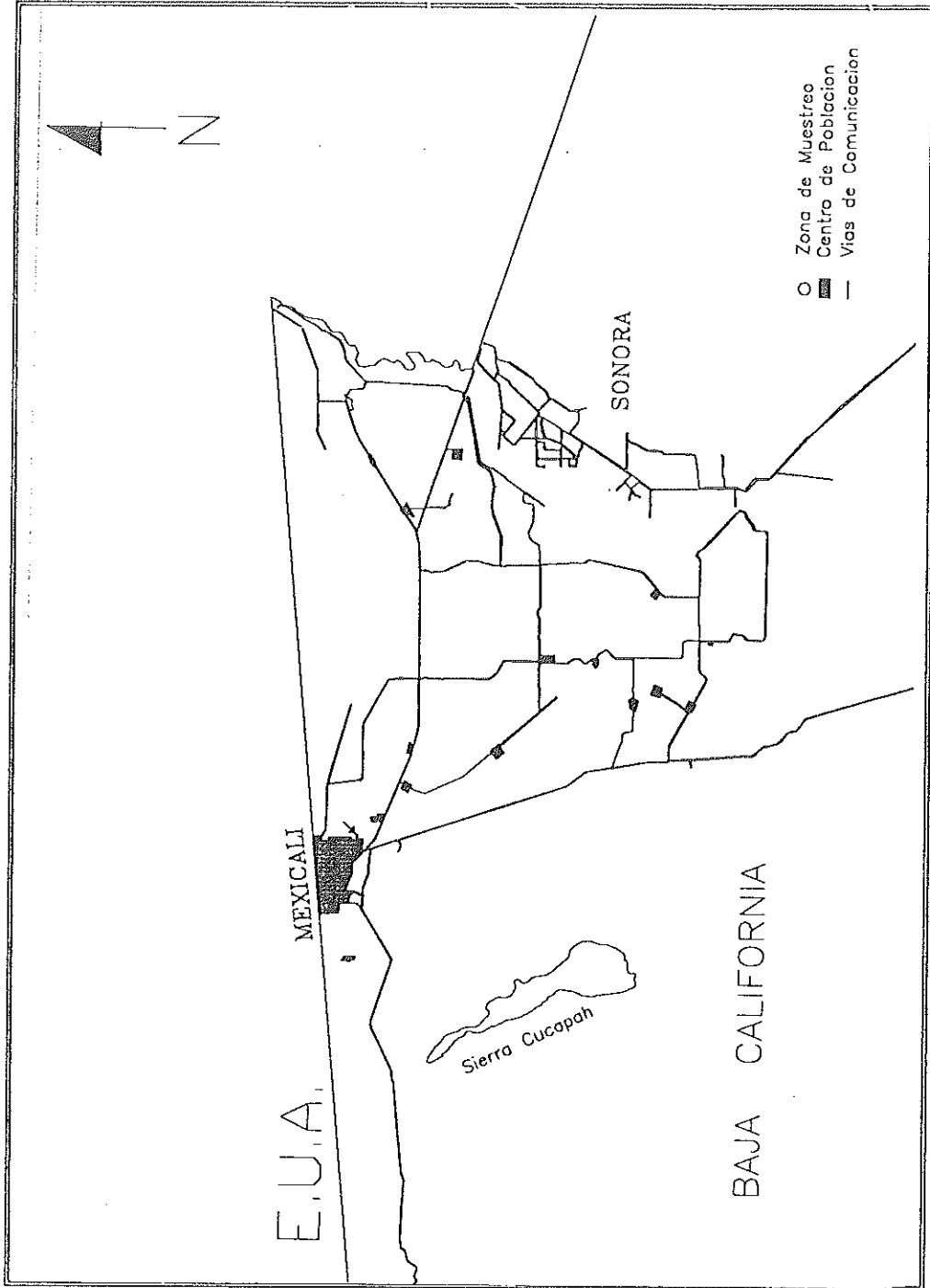


Fig. 9.- Zona de muestreo (la zona se indica con una flecha).

Técnica de obtención de células, elaboración de preparaciones y tinción

La técnica empleada en el laboratorio fué la descrita por Márquez-Becerra (1989).

El procedimiento consiste en introducir a las almejas en un acuario con colchicina al 0.04% en agua destilada, el volumen utilizado fué de 1 litro. En cada acuario se colocaron de 6 a 12 almejas (con tallas de 6 a 44 mm de longitud) durante 8 a 12 horas.

Transcurrido el tiempo de tratamiento, se les cortó el músculo aductor y se les extrajo las branquias. Las branquias se colocaron en 7 ml de H₂O destilada (choque hipotónico) y se raspó suavemente con un bisturí, se dejó reposar de 15 a 30 minutos. Se centrifugó a 1000 rpm durante 10 minutos y se eliminó el sobrenadante con una pipeta Pasteur, enseguida se les aplicó 5 ml de fijador (metanol y ácido acético 3:1). Los tejidos permanecieron a temperatura ambiente (20°C) durante 30 minutos, se volvió a centrifugar y se eliminó el sobrenadante. De nuevo se agregaron 5 ml de fijador y se dejó reposar durante 1 hora. Se desechó el fijador, y se añadieron 5 ml de ácido acético al 50%, se agitó suavemente, se dejó reposar durante 30 minutos.

Después se agitó fuertemente cada tubo hasta obtener una suspensión blanquecina, los fragmentos grandes fueron eliminados. Se centrifugó una vez más, se desechó el sobrenadante y se dejó aproximadamente 1 ml por encima del botón celular.

Se ensayaron cuatro tipos de choque hipotónico con temperaturas de 37 °C y 20 °C (temperatura ambiente). El tiempo de exposición fué de dos cambios cada 15 min. Las soluciones empleadas fueron : agua destilada, citrato de sodio al 1%, cloruro de potasio al 0.075 M y 0.05 M

Con el material precipitado se elaboraron laminillas con la técnica de goteo y secado al calor de un foco. Después se aplicó colorante de Giemsa diluído 1:20 en amortiguador de fosfatos 0.01 M a pH 6.8 durante 12 minutos. Se desecho el colorante y se dejó secar al aire.

Las observaciones se realizaron en un microscopio Will Wetzlar BX300 y las microfotografías se tomaron en un microscopio American Optical Microstar 110. Para la toma de microfotografías se utilizó película Kodak Plus X Pan, ASA 100, el revelador que se empleó fué Kodak D-76. En la impresión de los negativos se utilizó una ampliadora BESELER PRINTMAKER 35, papel

Kodabrome II, F, de diferentes grados (3 y 5) y el revelador Kodak Dektol (D-19).

Para el análisis cromosómico cuantitativo se utilizó el programa computacional León 1 (Márquez-Becerra y Licea, 1991), el cual realiza cálculos y gráficas de los cromosomas y permite obtener los parámetros citogenéticos : longitud relativa (LR), relación de brazo (RB), índice de brazo (IB) e índice centromérico (IC). Las mediciones de los brazos "p" y "q" se realizaron de forma directa sobre ampliaciones fotográficas en papel.

Procedimiento para obtener los parámetros citogenéticos LR, RB, e IC

- 1.- Aparear los cromosomas preliminarmente de acuerdo con el tamaño y la posición del centrómero cuando tienen bandas también se toma en cuenta el patrón de bandeo.
- 2.- Para cada cromosoma se hacen cuatro mediciones : longitud de brazo corto (p), donde se miden las cromátidas izquierda y derecha y en el brazo largo (q), también se miden las dos cromátidas.

3.- Se obtiene el promedio de ambas cromátidas, tanto de brazos cortos como largos y la suma de los dos promedios (de "p" y "q") es la extensión de un cromosoma. Sacar de la misma forma las longitudes de todos los cromosomas de la metafase.

4.- La longitud absoluta de un par de cromosomas se logra sí se obtiene el promedio de la longitud de las cuatro cromátidas de dicho par de cromosomas.

5.- El total del complemento haploide es igual a la mitad de la suma de la longitud de todos los cromosomas.

6.- La longitud relativa (LR) de un determinado par de cromosomas se calcula de la siguiente manera :

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

$$RB = \frac{\text{Longitud de brazo corto}}{\text{Longitud de brazo largo}}$$

$$IC = \frac{\text{Longitud de brazo corto}}{\text{Longitud cromosómica total}} \times 100$$

V.- Resultados

Se trabajaron 110 almejas *Corbicula fluminea* a partir de agosto de 1992 hasta mayo de 1994, sus tallas variaron de 6 a 44 mm. En 45 individuos se obtuvo una gran cantidad de células en metafase (se cuantificaron de 30 a 260 metafases en algunas laminillas); sin embargo sólo se escogieron 11 de los mejores organismos que presentaron células en metafase con buena dispersión. De los 11 organismos escogidos se examinaron 54 células en metafases de calidad cariotipable. En las preparaciones de tales organismos se contó el número de cromosomas de cada metafase por lo menos en tres ocasiones y este mismo procedimiento se realizó por 2 personas para corroborar los resultados obtenidos. Después se tomaron microfotografías de 30 células y se imprimieron en papel Kodak F y se elaboraron cariotipos (Fig. 10, 11 y 12).

El número cromosómico detectado en *Corbicula fluminea* es variable, se localizaron metafases cuyos números cromosómicos varían de 36 a 54 cromosomas (Tabla V). La variación se observó incluso dentro de un mismo organismo. El número cromosómico más frecuente fué 46 que se presentó en 19 metafases y en segundo término está el de 48 cromosomas que estuvo presente en 11 células (Fig. 13). Es pertinente aclarar que los organismos que

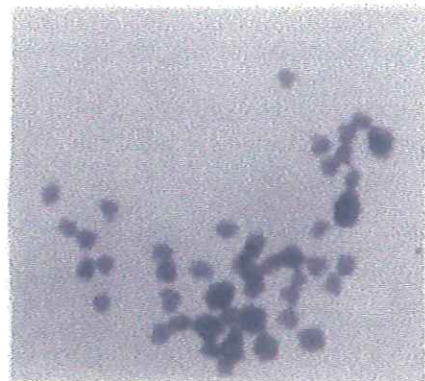


Fig. 10-Cariotipo y fotografía de cromosomas metafásicos de *Corbicula fluminea* con 46 cromosomas. La regla indica 5 μm de longitud.

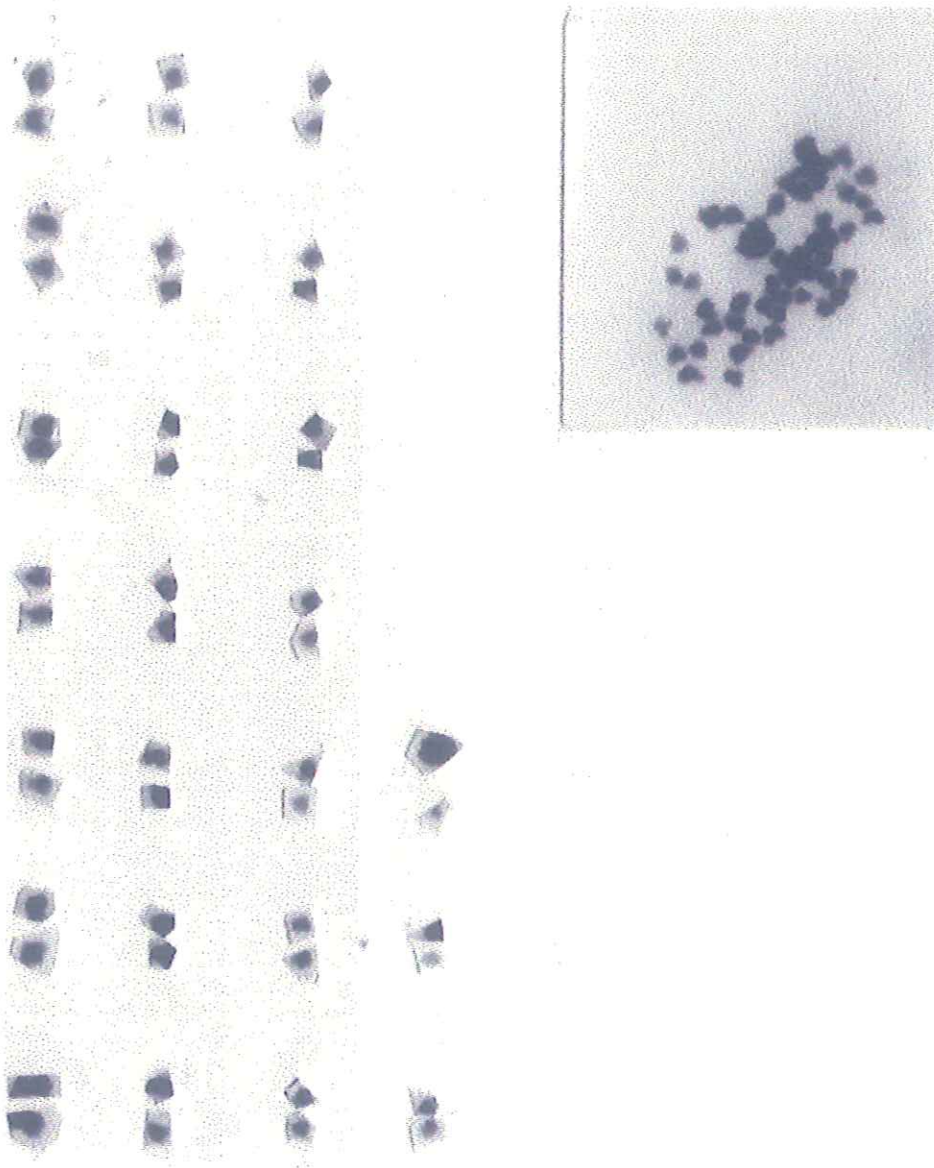


Fig. 11.- Cariotipo y fotografía de cromosomas metafásicos de *Corbicula fluminea* con 48 cromosomas. La regla indica 5 μ m de longitud.

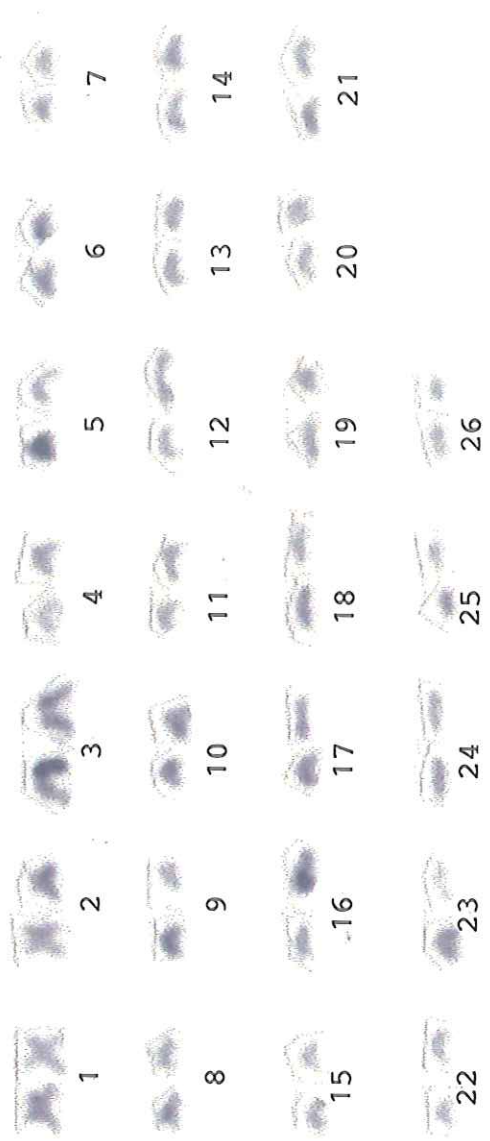


Fig. 12.- Cariotipo y fotografía de cromosomas metafásicos de *Corbicula fluminea* con 52 cromosomas. La regla indica 5 μm de longitud.

Tabla V.- Frecuencia de distribución del número cromosómico observado en 11 individuos *Corbicula fluminea*.

Individuo	Número de cromosomas											Total	
	36	38	40	41	42	44	46	48	49	50	52		54
1	1					1	2						4
2					2		2	2	1	1	1	1	10
3			1	1									2
4							1		1		1		2
5								1					1
6						2		3		1			6
7	1	1					6	2		3		1	14
8						1	2	2					5
9					2		1						4
10							4			1			4
11							1	1					2
Total de células	2	1	1	1	4	4	19	11	2	5	2	2	54

tienen 46 cromosomas (como número más frecuente) también pueden presentar células con otros números cromosómicos; aunque en menor cantidad. Como se observa en la Tabla V. En la figura 14 se comparan el número de células contra los distintos números cromosómico, y se aprecia de nuevo que el mayor número de células posee 46 cromosomas.

El análisis del cariotipo de 52 cromosomas se caracterizó de la siguiente manera : 2 cromosomas metacéntricos, muy grandes, 4 submetacéntricos, 18 submetacéntricos-telocéntricos y de 28 telocéntricos, con un par de ellos muy grande (Figuras 10, 11 y 12). Con los resultados anteriores se calculó el número cromosómico fundamental (NF) para el cariotipo de 46 cromosomas resulto de 64 brazos. Se consideró que todos los tipos de cromosomas contienen dos brazos, excepto los telocéntricos que tienen sólo un brazo.

La Tabla VI muestra los resultados de los parámetros citogenéticos, los que se utilizaron para elaborar idiogramas (Fig. 15, 16, 17 y 18) que permiten visualizar de diferentes maneras el cariotipo y sus grupos de cromosomas.

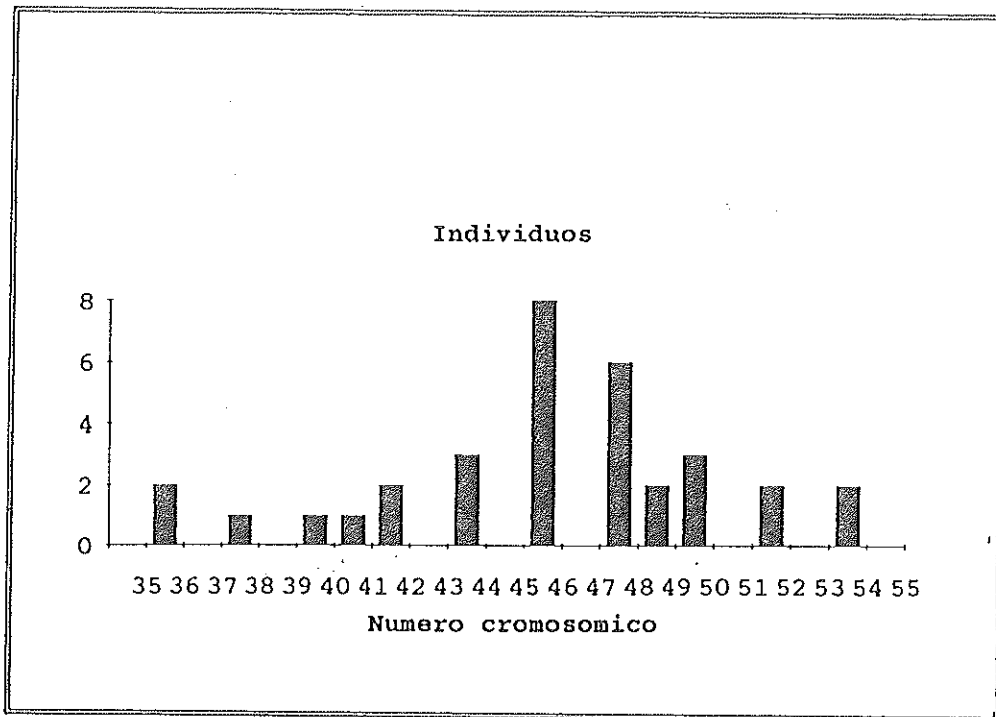


Fig. 13.- Se compara el número de individuos que comparten el mismo número cromosómico.

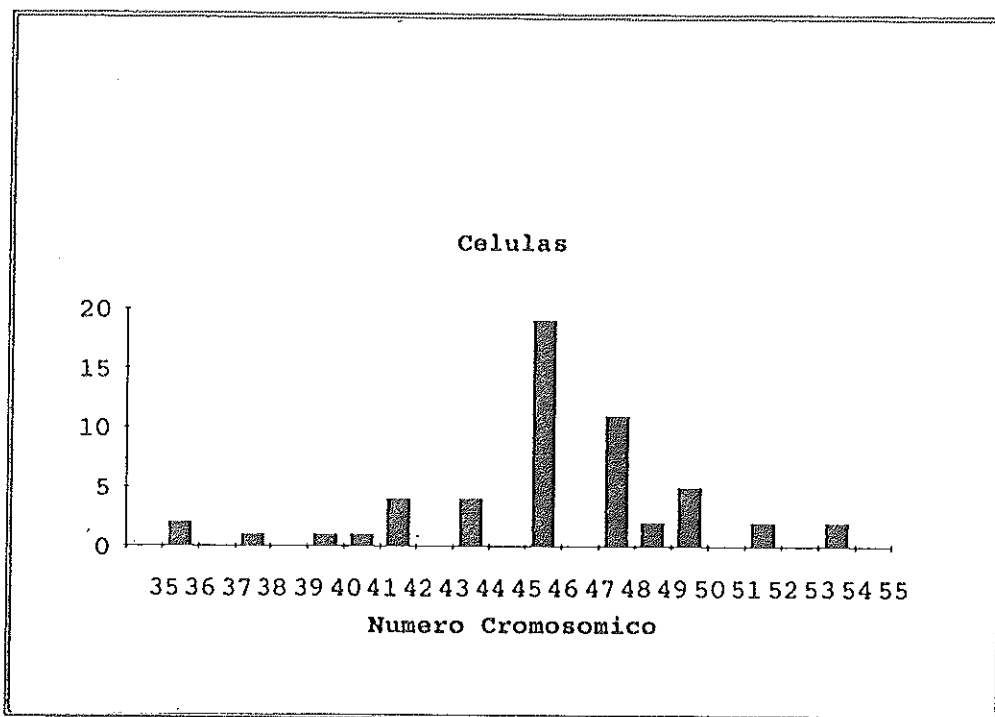


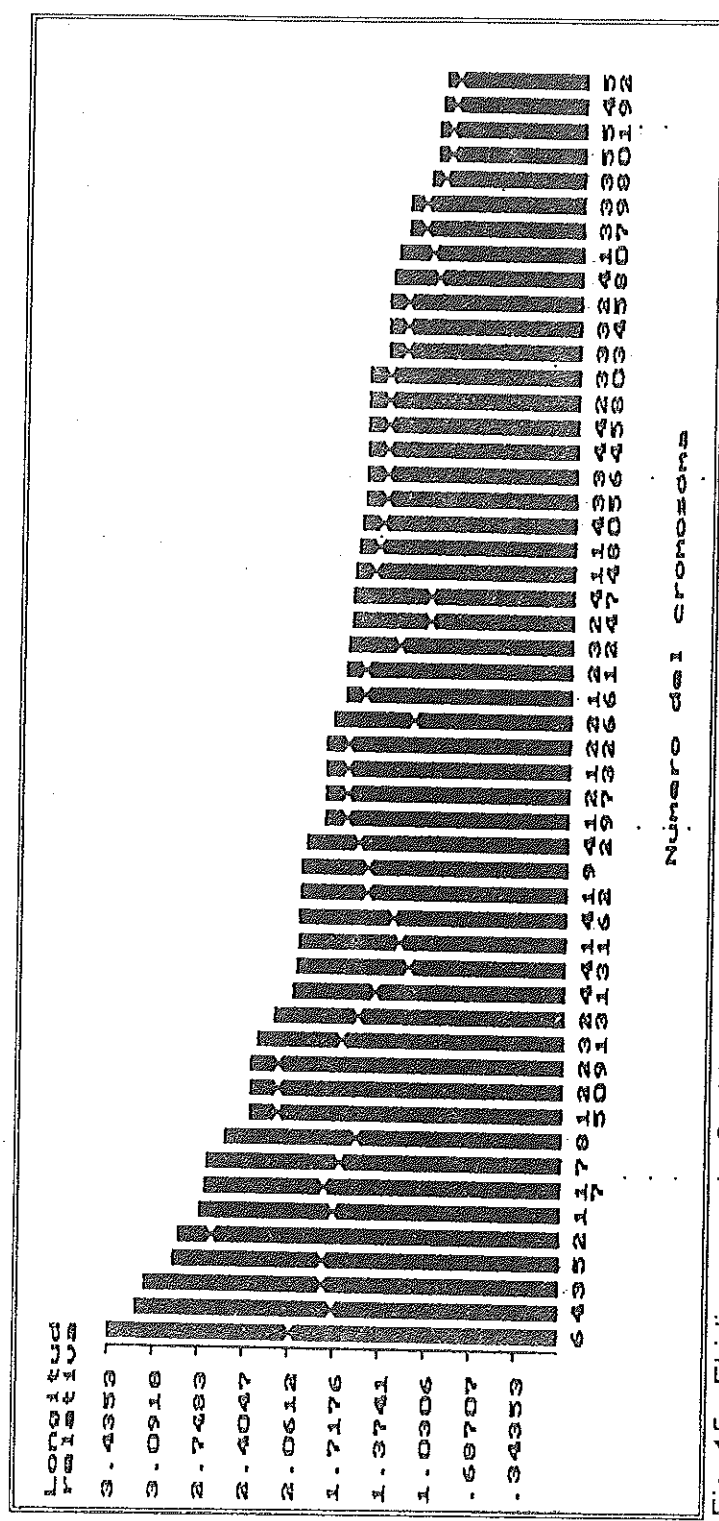
Fig. 14.- Se compara el número total de células analizadas contra los diferentes números cromosómicos.

Los resultados obtenidos en los choques hipotónicos mostraron diferencias en la dispersión de los cromosomas; siendo el choque hipotónico con cloruro de potasio al 0.075 M el que mostró mejores resultados. Como dato adicional se puede plantear que los cromosomas de ésta especie presentan una elevada tendencia a asociarse, lo cual dificulta el análisis. Por ejemplo en muchas células se observaron metafases donde 40 ó más cromosomas estaban bien definidos, pero algunos cromosomas se encontraban asociados conformando estructuras muy compactas y heteropicnóticas positivas; dicho fenómeno fué frecuente. Es importante mencionar que los organismos trabajados en los meses de mayo de 1993 y mayo de 1994, son los que presentaron mayor número de células en metafase.

Tabla VI .- Parámetros citogenéticos del cariotipo de 26 pares de cromosomas. El número que se indica para los cromosomas corresponde al orden en que se introdujeron los datos al programa León 1.

Pareja	Cromosomas	LR*	RB*	IB*	IC*
1	6 - 4	6.670	0.522	1.913	43.259
2	3 - 5	6.123	0.462	2.163	40.944
3	2 - 1	5.670	0.209	4.774	22.619
4	17 - 7	5.412	0.369	2.704	35.412
5	8 - 15	4.954	0.206	4.851	24.574
6	20 - 29	4.773	0.066	15.00	9.0909
7	31 - 23	4.544	0.267	3.738	28.381
8	41 - 43	4.122	0.381	2.622	35.672
9	11 - 46	4.074	0.374	2.672	36.094
10	12 - 9	4.050	0.222	4.500	25.000
11	42 - 19	3.847	0.114	8.728	14.786
12	27 - 13	3.712	0.066	14.99	9.0909
13	22 - 26	3.664	0.188	5.312	21.052
14	16 - 21	3.447	0.066	15.00	9.0909
15	32 - 24	3.375	0.275	3.625	28.571
16	47 - 14	3.346	0.180	5.551	22.190
17	18 - 40	3.261	0.066	14.95	9.0909
18	35 - 36	3.182	0.066	14.99	9.0909
19	44 - 45	3.182	0.066	14.99	9.0909
20	28 - 30	3.182	0.066	14.99	9.0909
21	33 - 34	2.917	0.066	14.99	9.0909
22	25 - 48	2.892	0.137	7.250	16.666
23	10 - 37	2.729	0.108	9.200	14.134
24	39 - 38	2.492	0.068	14.68	9.0909
25	50 - 51	2.222	0.065	15.36	8.893
26	49 - 52	2.148	0.066	14.93	9.0909

*LR= longitud relativa; RB= relación de brazo; IB= índice de brazos; IC=índice centromérico.



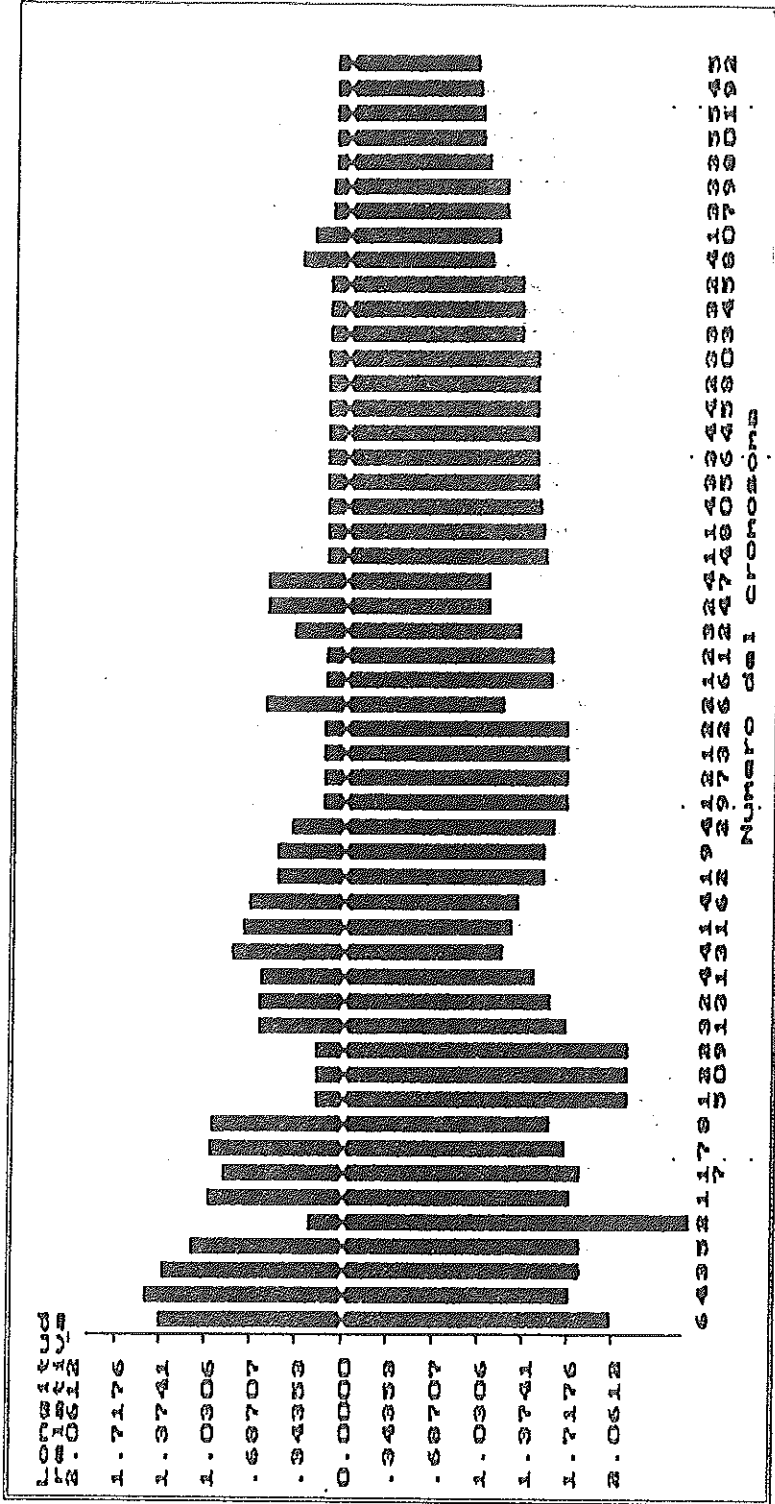


Fig. 16.- El mismo idiograma anterior pero ahora ordenado por la posición del centrómero.

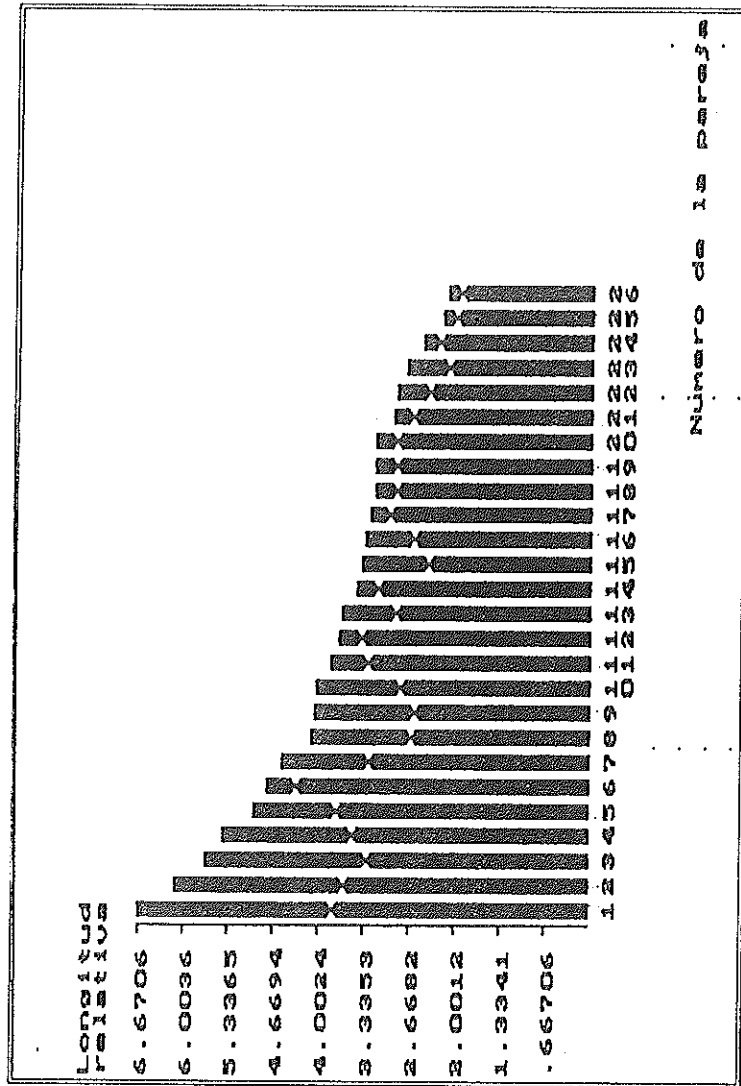


Fig. 17.- Idiograma de *Corbicula fluminea* realizado a partir de los datos de la figura No. 12, pero en este caso cada pareja esta representada sólo por un cromosoma promedio. Los cromosomas estan alineados a partir de su longitud relativa.

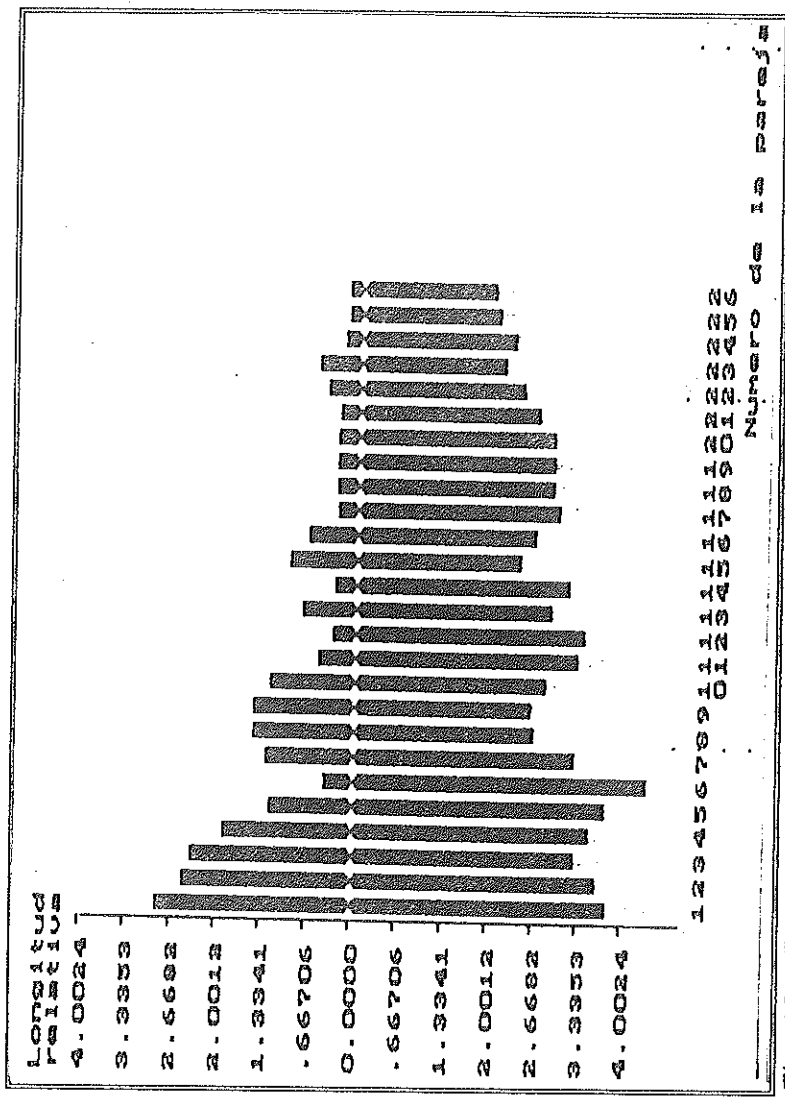


Fig. 18.- El mismo idiograma de la figura No. 17, pero los cromosomas estan organizados por la posición del centrómero.

VI.- Discusion

El número cromosómico más frecuente en *Corbicula fluminea* del Valle de Mexicali, es de 46 cromosomas, aunque se observaron otros números cromosómicos que van desde 36 hasta 54. No se esperaba encontrar variación en el número, por ser un fenómeno raro en la naturaleza; sin embargo aparece tanto en plantas como en animales (White 1954 citado en: Brown y Bertke, 1979; Müntzing, 1974; Sánchez-Mongue y Jouve, 1982) y al parecer ocurre con cierta frecuencia en especies del género *Corbicula* de acuerdo con el trabajo de Okamoto y Arimoto (1986). Tales autores al trabajar con las especies *Corbicula japonica*, *Corbicula sandai* y *Corbicula leana* en el Japón encontraron variaciones en el número de cromosomas en estas especies. *Corbicula japonica* presentó de 28 hasta 39 cromosomas, *Corbicula sandai* una variación de 32 a 38 y *Corbicula leana* una variación de 51 a 58. No obstante los números cromosómicos más frecuentes fueron en *C. japonica* 38, en *C. sandai* 36 y en *C. leana* 54 (Okamoto y Arimoto, 1986).

La presencia de variación en el número de cromosomas en *Corbicula fluminea*, indica que puede presentar cromosomas accesorios (Müntzing, 1974; Sánchez-Mongue y Jouve, 1982) debido a que presenta: 1.- cromosomas telocéntricos muy pequeños y numerosos, 2.- presenta variaciones en el número cromosómico entre individuos de una misma población y 3.- existe variación intraindividual.

Corbicula fluminea presentó en su cariotipo una cantidad mayor de formas cromosómicas con brazo "p" que las especies japonesas antes mencionadas. *Corbicula fluminea* presenta 2 cromosomas metacéntricos, 4 submetacéntricos y 18 cromosomas submetacéntricos-telocéntricos; lo cual es distinto a lo que presentan *Corbicula japonica* y *Corbicula sandai* con sólo 2 cromosomas metacéntricos y 2 submetacéntricos, a su vez también difiere de la especie triploide *Corbicula leana* que presenta 3 cromosomas metacéntricos y 12 cromosomas submetacéntricos (Okamoto y Arimoto, 1986).

El análisis cuantitativo realizado a uno de los cariotipos con mayor número de cromosomas y de mejor nitidez (Fig. 12), mostró que el par número 1 (ver Tabla V) presenta una longitud relativa (LR) de 6.67% con una longitud absoluta de 4.4 μm , el par más pequeño que corresponde a cromosomas telocéntricos, presenta una longitud relativa de 2.14% y una longitud absoluta de 1.2 μm ; además se observa un par de cromosomas telocéntricos (pareja No. 3) tan grande como el par No. 1 con una longitud relativa de 5.67% y una longitud absoluta de 3.7 μm ; el cual en este cariotipo en particular es heteromórfico. Cabe destacar que ésta es la primera ocasión en la que se realiza un análisis cromosómico cuantitativo en el género *Corbicula*.

El complemento cromosómico de *Corbicula fluminea* muestra una combinación de formas metacéntricas, submetacéntricas, submetacéntrica-telocéntricas y telocéntricas. Lo cual es una diferencia con los complementos

cromosómicos que presentan las especies japonesas *C. japonica*, *C. sandai* y *C. leana* debido a que solamente muestran cromosomas metacéntricos, submetacéntricos y telocéntricos (Okamoto y Arimoto, 1986).

Corbicula fluminea difiere de *Corbicula japonica* y *Corbicula sandai* al presentar estas especies un tamaño similar en su complemento. Similar en el sentido en que los cromosomas de *Corbicula japonica* tienen un tamaño muy parecido, aunque destacan tres pares de cromosomas acrocéntricos más grandes que sus dos pares de metacéntricos; sin embargo las formas cromosómicas que predominan son telocéntricas.

En *C. japonica* la presencia de los tres cromosomas telocéntricos grandes es una similitud existente entre ésta y *C. sandai*, pero es una diferencia marcada entre los cariotipos de dichas especies con respecto a *C. leana*.

Por su parte *C. fluminea* posee un par de cromosomas telocéntricos grandes; en tanto que en *C. sandai* se aprecia un sólo par de cromosomas metacéntricos grandes, seguido de dos pares de cromosomas submetacéntricos y de tres pares de telocéntricos igual de grandes, mientras que el resto es de cromosomas telocéntricos de un tamaño similar (excepto por un par de telocéntricos muy pequeños).

Por otro lado *Corbicula leana* presenta una disminución gradual en el tamaño del complemento cromosómico al contar con cromosomas metacéntricos muy grandes, con cromosomas telocéntricos tan grandes como los submetacéntricos y presentar cromosomas telocéntricos muy pequeños.

Una coincidencia importante con el trabajo de Okamoto y Arimoto (1986) es la dificultad que se presenta para obtener células en metafase de buena calidad. En los 11 organismos escogidos de *Corbicula fluminea*, se logró detectar 54 células en metafase de buena calidad, donde en sólo 2 organismos se observaron 14 y 10 células cariotipables; los restantes organismos (9) no presentaron más de 6 células y el promedio de células en metafase por organismo es 4.9 (Tabla V). Así, esta baja cantidad de células en metafase con calidad cariotipable también se manifiesta en las especies asiáticas : en 16 organismos trabajados de *Corbicula japonica* se obtuvieron 35 células con calidad cariotipable y el organismo que más células presentó fué de 5; el promedio por organismos fué 2.1 células. En *Corbicula sandai* se trabajaron 11 organismos localizando un total de 64 células en metafase de calidad y de el total en tan sólo un organismo se encontraron 27 células y en los restantes 10 no se encontró más de 6 con promedio de 5.8 por organismo y finalmente, en 9 organismos trabajados de *Corbicula leana* se encontró un total de 73 células con calidad cariotipable y en 2 individuos se detectaron 47 y 16 células en metafase, el resto de organismos no presentó más de 3 células, con promedio de 8.1 células por organismo.

El programa León 1 resultó ser una herramienta útil en este trabajo de Tesis, ya que elabora los cálculos y las gráficas de los cromosomas de forma automática y sencilla, aunque sólo es necesario medir previamente a los cromosomas, para después aplicar el programa. León 1 está elaborado de tal forma que permite discriminar diferencias mínimas entre los cromosomas, esto es importante debido a que puede utilizarse en estudios cuantitativos de aberraciones cromosómicas para determinar diferencias y/o similitudes entre cromosomas normales y anormales.

Es importante hacer incapié en el grado de dificultad que se presenta al tratar de establecer el número cromosómico en una especie; esta situación puede deberse a factores tales como: poca calidad en las metafases, cromosomas " empalmados " o " pegados " y sobre todo la obtención de pocas células metafásicas de buena calidad. Aunado a lo anterior puede presentarse otro factor, como lo es la presencia de cromosomas accesorios o cromosomas B, que provocan una variación en el número del complemento cromosómico. Lo cual se manifiesta en algunos trabajos, por ejemplo : los artículos mencionados por Müntzing (1974), Brown y Bertke (1979) y Sánchez-Mongue y Jouve (1982) sobre plantas y animales, en los que, al no poder establecerse un número cromosómico preciso, se menciona el número más frecuente y escala de variación.

En una población natural de bivalvos hermafroditas marinos del género *Lasaea* que fué cariotipada por Ó Foighil y Thiriot-Quéireux en 1991, se

encontró una variación en el número cromosómico de 58 hasta 108 cromosomas. siendo los más frecuentes entre 90 y 100 cromosomas. De este último trabajo resulta interesante que el género *Lasaea* posee ciertas características coincidentes con *Corbicula fluminea* tales como: reproducción hermafrodita y presencia de variación en el número cromosómico.

La variación en el número cromosómico observado en las especies de almejas antes citadas, también se ha detectado en vertebrados, entre los que se pueden citar : la zorra roja *Vulva vulva*, cuyo número cromosómico es $2n = 34$ y su escala de variación de 34 hasta 40 cromosomas; el ratón *Reithrodontomys megalotis* cuyo número cromosómico varía de 42 hasta 49, siendo el más frecuente el de 44 cromosomas y finalmente es en el ratón *Apodemus giliacus* donde se presentan las variaciones extremas en el número cromosómico conocido en animales vertebrados, ya que su número varía de 48 hasta 61 cromosomas (Müntzing, 1974).

VII.- Conclusiones

El número cromosómico más frecuente en la población de *Corbicula fluminea* residente del Valle de Mexicali, Baja California, México, es de 46 cromosomas.

La población de *Corbicula fluminea* residente en el Valle de Mexicali, presenta una variación en el número de cromosomas en una escala de 36 hasta 54.

Los cromosomas de *Corbicula fluminea* presentan una elevada tendencia a asociarse, conformando con frecuencia estructuras muy compactas y heteropicnóticas positivas.

El cariotipo que presenta *Corbicula fluminea* es distinto al que presentan las especies japonesas *C. japonica*, *C. sandai* y *C. laena* tanto en número como en formas del complemento cromosómico.

La población de *Corbicula fluminea* residente del Valle de Mexicali, presentó una baja cantidad de células metafásicas con calidad cariotipable; lo

cual es similar a los resultados obtenidos por otros investigadores al trabajar con especies del género *Corbicula* en el Japón.

La variación en el número cromosómico detectada en *Corbicula fluminea*, al parecer es un fenómeno presente no sólo en especies del género *Corbicula*, sino también se presenta en distintos grupos de animales, incluyendo mamíferos.

Bibliografía

- Araujo, R.; D. Moreno y M. A. Ramos. 1993. The asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia : *Corbiculidae*) in Europe. *American Malacological Bull.* 10(1):39-49.
- Ayala, J. F. y A. Jr. Kiger. 1984. *Genética moderna*. Fondo Educativo Interamericano.
- Barnes, D. R.. 1986. *Zoología de los invertebrados*. 4^{ta}. edición. Interamericana.
- Belanger, E. S.; J. L. Farris; D. S. Cherry y J. Cairns Jr.. 1985. Sediment preference of the freshwater asiatic clam, *Corbicula fluminea*. *The Nautilus*. 99(2-3):66-73.
- Britton, J. C. y B. Morton. 1979. *Corbicula* in North America : The evidence reviewed and evaluated. *Proceeding, Firts Inter. Corbicula Symposium*. Ed. J. C. Britton. Forth Worth, TX. 249-287.
- Brown, W. V. y M. Bertke. 1979. *Citología*. Omega.
- Brusca, R. y G. Brusca. 1990. *Invertebrates*. Sinaver, Assoc. Pub. Sunderland, Massachusetts.
- Burch, J. Q. 1944. Checklist of West American mollusk. Family *Corbiculidae*. *Min. Conchol. South. Calif.*. 36:18.
- Chávez-Rosas, L. 1992. Genotoxicidad en células epiteliales del tubo digestivo de *Mytilus californianus* (Conrad, 1837) de la Bahía de Todos Santos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California.
- Cherry, D. B.; J. Jr. Cairns y R. L. Graney. 1980. Asiatic clam invasion: causes and effects. *Water Spectrum*. 12:18-24.
- Coronado, B. B. 1981. Folleto desplegable s/n de jefatura de Distrito de Riego No. 14 en Mexicali, B. C.. SARH. febrero.

- Counts, C. L. III. 1981. *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Sphariacea) in British Columbia. *The Nautilus*. 95:12-13.
- Counts, C. L. III y R. S. Prezant. 1979. Shell structure and histochemistry of mantle of *Corbicula leana* (Prime, 1884) (Bivalvia: Sphariacea) *Am. Zool.* 1981:7.
- De Robertis, E. D. P. y E. M. F. De Robertis. 1981. *Biología celular y molecular*. 10^{ma}. Ed.. El Ateneo.
- Fitch, J. E. 1953. *Corbicula fluminea* in Imperial Valey. *Min. Conchol. South. Calif.* 130:9-10.
- Gutiérrez-Galindo, E. A. 1982. Comentario sobre el metabolismo de metales pesados en organismos marinos. *Ciencias Marinas*. 8(1): 134-138.
- Gutiérrez-Galindo, E. A.; G. Flores-Muñoz y J. Villaescusa Celaya. 1988. Hidrocarburos clorados en moluscos del Valle de Mexicali y Alto Golfo de California. *Ciencias Marinas* 14 (3): 91-113.
- Gutiérrez-Galindo, E. A.; G. Flores-Muñoz y J. Villaescusa Celaya. 1989. Diagnóstico de insecticidas organoclorados en moluscos y peces residentes en el valle agrícola de Mexicali. *Travesía* No. 17 Noviembre: 13-18.
- Hartley, D. M. y J. B. Johnston. 1983. Use of the freshwater clam *Corbicula manilensis* as a monitor for organochlorine pesticides. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 31:33-40.
- Hienz, H. A. 1975. *Cromosomas. Introducción a la citogenética clinica para médicos y estudiantes*. Ed. Alhambra. España.
- Hillis, D. M. y R. L. Mayden. 1985. Spread of the asiatic clam *Corbicula* (Bivalvia: Corbiculacea) in to the new world tropics. *Southwestern Naturalist*. 30:454-456.
- Horne, F. R. y S. McIntosh. 1979. Factors influencing distribution of mussels in the Blanco River of central Texas. *The Nautilus*. 91:54-59.

- Ituarte, C. F. 1994. *Corbicula* and *Neocorbicula* (*Bivalvia: Corbiculidae*) in the Paraná, Uruguay and Río de la Plata basins. *The Nautilus*. 107(4):129-135.
- Johnson, R. K.; T. Wiederholmy y D. M. Rosenberg. 1993. Freshwater biomonitoring using individual organisms, population, and species assemblages of benthic macroinvertebrates. p 45-125. En: Rosenberg, D. M. y V. H. Resh (Ed). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman and Hall. N.Y.
- Karp, G. 1987. *Biología celular*. 1^{ra} edición McGraw Hill, México.
- King, C. A.; C. J. Langdon y C. L. Counts III. 1986. Spawning and early development of *Corbicula fluminea* (*Bivalvia: Corbiculidae*) in laboratory culture. *American Malacological Bull.* Vol. 4(1):81-88.
- Kraemer, L. R. 1978. *Corbicula fluminea* (*Bivalvia: Spheriacea*): the functional morphology of its hermafroditism. *Bull. Am. Malacol. Union, Inc.* 40-49.
- Kraemer, L. R. y M. L. Galloway. 1986. Larval development of *Corbicula fluminea* (Müller) (*Bivalvia: Corbiculidae*): an appraisal of its heterochrony. *Am. Malac. Bull.* 4:61-69.
- Márquez-Becerra, C. 1987. Un método *in vivo* para evaluar la genotóxicidad en branquias del mejillón *Mytilus californianus*. En : Resúmenes VII Congreso Nacional de Oceanografía. Ensenada, Baja California. pag. 380.
- Márquez-Becerra, C. 1989. Método para incrementar el número de mitosis en preparaciones de branquias y tubo digestivo del mejillón *Mytilus californianus*. Memorias Primera Reunión Nacional de Investigación de la Sociedad Mexicana de Genética. p 86-88.
- Márquez-Becerra, C. 1993a. Obtención de un modelo animal para la investigación de mutagénesis en el ambiente marino. Tesis Doctoral en Ciencias (Biología). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

- Márquez-Becerra, C. 1993b. Método para obtener metafases en preparaciones de branquias del mejillón *Mytilus californianus* (Conrad, 1837). Revista de Investigación Científica. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 4(1): 75-80.
- Márquez-Becerra, C. y G. Licea. 1991. León 1 : Un programa para la enseñanza y la investigación en citogenética. En : Resúmenes del II Congreso Nacional de Genética. Saltillo, Coahuila. p 54.
- McMahon, R. F. 1983. Ecology of an invasive pest bivalve, *Corbicula*. En: The Mollusca, Vol. 6, Ecology. Ed. Wilbur. 505-563.
- McMahon, R. F. 1991. Mollusca : Bivalvia. p 315-399. En : Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. Ed. Thorp, J.H. y A. P. Covich. Academic Press.
- Morton, B. 1977. The population dynamics of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculacea) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. J. Zool.. 181:21-42.
- Morton, B. 1986. *Corbicula* in Asia : an updated synthesis. American Malacological Bull., Special Edition No. 2 : 113-124.
- Morris, P. 1966. A field guide to Pacific coast Shells, including shells of Hawaii and the Gulf of California. Houghton, Mifflin Co. Boston.
- Murray, J. 1975. The genetics of the mollusca. Handbook of Genetics. Ed. King, C. R.. Plenum Press. Vol. 3. Invertebrates of genetics interest. 3-31.
- Müntzing, A. 1974. Accessory chromosomes. Annual Review of Genetics. Vol. 8:243-266.
- Nakamura, H. K.. 1985. A review of molluscan cytogenetic information based on the CISMOCH- Computerized Index System for Molluscan Chromosomes, Bivalvia, Polyplacophora and Cephalopoda. Venus. Vol. 44(3):193-225.
- Newell, N. D. 1969. Classification of Bivalvia. En : Treatise on invertebrate paleontology; part N, Mollusca 6. Ed. Moore, R. C.. Geol. Soc. Am. Boulder, Colorado. 205-224.

- Ó Foighil, D. y C. Thiriot-Quévieux. 1991. Ploidy and pronuclear interaction in Northeastern Pacific *Lasaea* clones (Mollusca: *Bivalvia*). Biol. Bull. 181: 22-231.
- Okamoto, A y B. Arimoto. 1986. Chromosomes of *Corbicula japonica*, *C. sandai*, and *C. (C) leana* (*Bivalvia: Corbiculidae*). Venus. Vol. 45(3):194-202.
- Pérez-Bastidas, D. y J. A. Sánchez-Navarro. 1983. Ordenamiento ecológico del Valle de Mexicali. Estudios Fronterizos, Instituto de Investigaciones Sociales. Año 1, No. 1 mayo-agosto, 113-152.
- Sáez, F. A. y H. Cardoso. 1978. Citogenética básica y biología de los cromosomas. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Departamento de Asuntos Científicos Secretaría General. Organización de Estados Americanos. Washington.
- Sánchez-Mongue, E. y N. Jouve. 1982. Genética. Omega.
- Sinclair, R. M. 1971. Annotated bibliography on exotic bivalve *Corbicula* in North America. Sterkiana. Vol. 43:11-18.
- Stix, H.; M. Stix y T. Abbott. 1988. The shell. Abradale Press. N.Y.
- Smith, R. y J. Carlton. 1975. Lights manual. Intertidal invertebrates of the central California coast. Univ. of Calif. Press. Berkeley. 716
- Wells, S. M. 1989. Impact of the precious shell harvestand trade: conservation of rare of fragile resources. 443-454. En: Ed. Caddy J. F. Marine invertebrates Fisheries: their assessment and management. Wiley J. Nueva York.