
ALTERACIONES CROMOSÓMICAS EN *Crassostrea virginica* POR HIDROCARBUROS DEL POZO YUM II

FAUSTINO RODRÍGUEZ-ROMERO *
MARGARITA GASCA * JORGE DE LA
ROSA **

*Instituto de Ciencias del Mar y
Limnología, UNAM. Coyoacán, México
04510 D.F. México.

**Facultad de Biología, Universidad de
Baja California Sur, Ensenada, México.

RESUMEN

El ostión *Crassostrea virginica* Gmelin se encuentra formando bancos en regiones estuarinas de la costa del Golfo de México. La estabilidad y rasgos fundamentales del cariotipo de esta especie a lo largo de su distribución geográfica son considerados como indicadores biológicos, útiles en estudios de impacto de la contaminación en cuerpos de aguas costeras. En este trabajo se evaluaron las alteraciones cromosómicas causadas por la presencia de hidrocarburos fósiles en un banco ostrícola de la Laguna de Términos, Campeche, como consecuencia del derrame del pozo petrolero Yum II en noviembre de 1987. Se encontraron irregularidades en el número diploide en un 38.4% de las metafases analizadas. La mayor frecuencia de rompimientos cromosómicos se presentó en el par 2 (0.3650). Estos resultados fueron comparados con los obtenidos en el análisis de una muestra poblacional del mismo banco ostrícola 18 meses después, con organismos no contaminados. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas que indican que las alteraciones cromosómicas se debieron probablemente a la presencia del petróleo crudo durante el tiempo del derrame.

ABSTRACT

The oyster *Crassostrea virginica* Gmelin is present in estuarine waters along the Gulf of Mexico coast. Its karyotype stability and fundamental karyotypic features: diploid number ($2n = 20$), homologous metacentric chromosome pairs are considered useful as biological indicators for contamination impact studies on coastal waters at the chromosomal level thus, the chromosome alteration in a *Crassostrea virginica* population from the Terminos Lagoon, Campeche, Mexico was evaluated as a consequence of the presence of fossil hydrocarbons from the Yum II blow out in november 1987. Disorders to the diploid number were present in 38.4% of the analysed metaphases. The highest chromosome breakages frequency was registered on pair 2(0.3650). These results were compared with those obtained 18 months later on unpolluted oysters. Significant differences suggest that chromosome disorders were probably induced by the presence of pollutants mainly crude oil during the spill.

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental por hidrocarburos del petróleo en las aguas costeras mexicanas ha sido químicamente caracterizada y cuantificada por Botello (1979, 1980), Botello y Macko (1980), Botello y Soto (1981), Botello y Celis (1982) y Botello y Villanueva (1987); mientras que su desplazamiento por la acción del sistema de corrientes marinas de cada región, ha sido estudiado en casos particulares por Ogawa y Galicia (1982) y Paine et al. (1982).

Por cuanto al impacto de este tipo de contaminantes sobre las comunidades bióticas en el medio marino mexicano, las investigaciones son insuficientes aunque existen algunos trabajos con relación al derrame del Pozo Ixtoc-I en 1979 (Barud *et al.*, 1982; Guillen *et al.*, 1982; Murrieta, 1982; Yañez-Arancibia, 1982; Soto y Gracia, 1987), que son relevantes por la magnitud de los hidrocarburos descargados al océano y por el hecho de que fue analizado con un enfoque multidisciplinario. Sin embargo, a pesar de que en México se han suscitado varios casos de derrames petroleros esencialmente en la Sonda de Campeche, debido a la intensa actividad de extracción de hidrocarburos, no se tiene conocimiento, hasta el momento, de la existencia de estudios que cuantifiquen en forma precisa, el peligro que puede implicar la acción de éstos y sus derivados a nivel cromosómico, en aquellas especies que, obligadas por su carácter sésil bentónico en el medio estuarino, son sometidas al impacto de compuestos

tóxicos por periodos prolongados, de manera similar a una exposición crónica.

Uno de estos casos lo constituyen los ostiones de la especie *Crassostrea virginica* Gmelin 1791 (Mollusca: Ostreidae) que forman bancos en las lagunas costeras y estuarios a lo largo de la costa mexicana del Golfo de México. Adicionalmente, estos organismos son atractivos para este tipo de investigaciones en vista de que los adultos poseen una amplia estabilidad cariotípica (Longwell *et al.*, 1967; Stiles y Longwell, 1973; Rodríguez-Romero *et al.*, 1978) y sus huevos (Stiles y Longwell, 1973), embriones y larvas son altamente sensibles a los contaminantes del medio estuarino (Davis e Hidu, 1969; Calabrese, 1972).

El derrame petrolero ocasionado en noviembre de 1987 por el pozo Yum II de PEMEX, cuya plataforma marina se ubica frente a Puerto Frontera, Tabasco, en los límites de los estados de Tabasco y Campeche y el comportamiento de tipo ciclónico de la corriente costera en esa época del año (Figs. 1a y 1b) ocasionó la invasión de petróleo y sus derivados solubles en algunas partes de las riveras de la Isla del Carmen y de la Laguna de Términos en forma persistente durante más de 15 días, con impacto a los bancos ostrícolas de la región.

Dado que hasta el momento no se conocen estudios citogenéticos en poblaciones de *C. virginica* de las costas mexicanas que verifiquen la acción de este tipo de contaminantes sobre el acervo genético, el objeto de este trabajo es evaluar el daño cromosómico que se puede ocasionar en esta especie por la presencia de petróleo crudo en el medio estuarino.

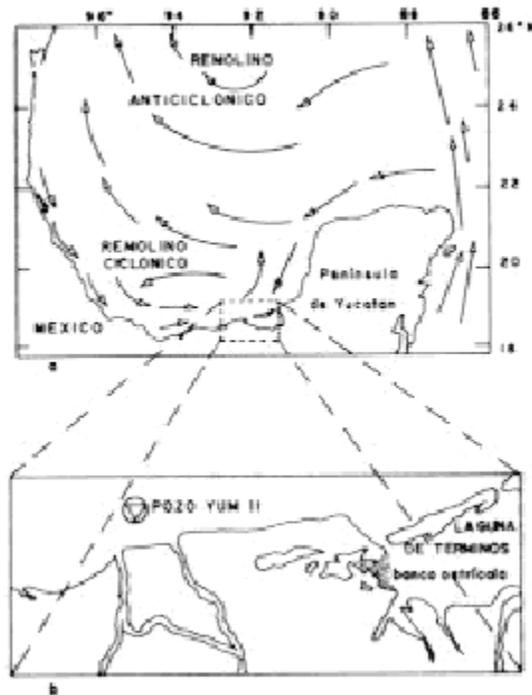


Figura 1. a) Circulación oceánica en otoño-invierno en el Golfo de México. b) Ubicación del Pozo YUM-III y del banco ostrícola estudiado en la Laguna de Términos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ostiones para este estudio fueron obtenidos en el área conocida como Boca de Atasta en la Laguna de Términos, Campeche (Fig. 1b), trece y catorce días después del arribo de hidrocarburos al banco ostrícola elegido.

En vista de que este estudio se realizó en ostiones que estuvieron expuestos a hidrocarburos durante el derrame del Pozo Yum II y debido a que no era posible contar con organismos en condiciones ambientales normales, para establecer un control de referencia, se repitió el análisis 18 meses después con ejemplares pertenecientes a la misma población ostrícola, libres de hidrocarburos y se ha considerado adecuado usar como

antecedente, los cariotipos descritos por Longwell *et al.* (1967) en poblaciones de Connecticut, Massachusetts y por Rodríguez-Romero *et al.* (1978, 1979) en las del Sureste de México, ya que estos análisis muestran que las condiciones cariotípicas son estables en cuanto al número y estructura de los cromosomas de esta especie a lo largo de su distribución geográfica (Fig. 2, Tabla 3).

La obtención de células en división mitótica se realizó mediante el procesamiento de embriones y larvas desarrolladas a partir de la fertilización de óvulos *in vitro* por el método de Loosanoff y Davis (1963) con pequeñas modificaciones. Los cromosomas mitóticos fueron logrados usando la técnica de goteo y secado al aire descrita por Rodríguez-Romero *et al.* (1991) para el procesamiento de larvas y embriones. La tinción se hizo con Giemsa a pH 6.8. Las laminillas fueron revisadas al microscopio con el fin de hacer los conteos respectivos y las observaciones con relación al total de campos por transecto, a la frecuencia de alteraciones al número diploide y a la frecuencia de rompimientos cromosómicos. Para el caso de los ostiones contaminados, se analizaron dos grupos de células, uno de 700 y otro de 300, con un total de 1,000 metafases correspondientes a diferentes organismos en estado embrionario o larvario. El análisis correspondiente a los ostiones testigo, consistió en la revisión de 1,000 células también pertenecientes a embriones y larvas.

RESULTADOS

Los mejores resultados se obtuvieron de embriones en gastrulación y primera larva trocófora, entre 5 y 7 horas después de la fertilización del óvulo. Se seleccionaron de 1 a 2 metafases por individuo para su estudio, con el fin de garantizar la representatividad de la muestra poblacional. El análisis de las metafases se presenta en la tabla 1, en la que se incluyen los resultados obtenidos en los ostiones contaminados y en los controles. Del total de 1,000 células registradas, el 61.6% no mostró alteraciones; el 38.4% restante, manifestó anomalías en el número diploide en un 29.7% y por rompimientos cromosómicos el 8.7% (Figs. 3 y 4, Tabla 2). Además se observaron dos casos con cromosomas en anillo y 8 fragmentos de brazos cromosómicos sin su complemento en organismos distintos. Por otra parte, la mayor frecuencia de rompimientos cromosómicos se determinó en los 3 pares de cromosomas de mayor dimensión en el cariotipo. Los valores encontrados se presentan en la tabla 2.

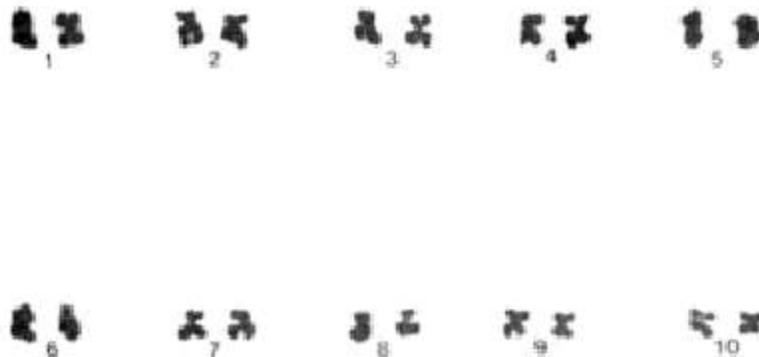


Figura 2. Cariotipo de *Crassostrea virginica*

De las metafases con rompimientos cromosómicos, algunos presentaron más de un evento por célula, con un total de 126 rompimientos en las mitosis que presentaron esta alteración.

Los testigos por su parte (Tabla 1), presentaron un valor cercano al 86% de células normales y un 14.1% con alguna alteración; de éstos, el 11% fue por modificaciones en el número diploide y un 3% correspondió a rompimientos cromosómicos.

TABLA 1

METAFASES NORMALES Y ANORMALES EN UNA MUESTRA POBLACIONAL DE CÉLULAS MITÓTICAS DE LARVAS Y EMBRIONES DE *Crassostrea virginica* DE LAGUNA DE TÉRMINOS, CAMPECHE, AFECTADOS POR PETRÓLEO CRUDO EN NOVIEMBRE DE 1987, DE UN GRUPO TESTIGO RECOLECTADO EN 1990

	OSTIONES CONTAMINADOS 1987	OSTIONES SIN CONTAMINACION 1990	TOTAL
Aneuploides	230	80	310
Haploides	58	11	69
Poliploides	9	19	28
Con rompimientos	87	31	118
Sin alteraciones	616	859	1,475
TOTAL	1,000	1,000	2,000

$$\chi^2 = 174.31 \quad P < 0.001$$

TABLA 2.

ROMPIMIENTOS CROMOSÓMICOS Y SUS FRECUENCIAS EN LARVAS DE OSTIONES *C. virginica* AFECTADOS POR PETRÓLEO CRUDO EN LA LAGUNA DE TÉRMINOS, CAMPECHE.

PAR CROMOSOMICO	ROMPIMIENTOS CROMOSÓMICOS	FRECUENCIA
1	29	0.2301
2	46	0.3650
3	25	0.1984
4	12	0.0951
5	7	0.0555
6	4	0.0317
7	3	0.0230
8	-	-
9	-	-
10	-	-
126		0.9988

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La toxicidad del petróleo crudo sobre las poblaciones de *Crassostrea virginica* ocasionada por derrames de hidrocarburos en las costas mexicanas, ha sido estudiada en forma experimental por Murrieta (1982) quien se ha apoyado en bioensayos estáticos con larvas y adultos expuestos a petróleo crudo, petróleo-dispersante y fracción soluble de petróleo, para señalar que el impacto de éstos es mayor mientras más joven es el organismo. Información complementaria al respecto ha sido publicada por Casillas y Díaz (1982), quienes concluyen que en adultos se presentan efectos letales con la mezcla petróleo crudo-dispersante Corexit a las concentraciones de 200 ml/m 22.3 ml respectivamente. Asimismo, Guillen *et al.* (1982) han evaluado la mortalidad de ejemplares expuestos a diferentes concentraciones de la fracción de hidrocarburos solubles mediante bioensayos modificados de tipo estático en ostiones adultos e indican que en los organismos estudiados no se manifiestan alteraciones en el rango de 1 a 640 ppm; no obstante, determina en sus tejidos la presencia de pristano, fitano, dimetilfenantraceno, pireno y nonadecilbenceno de origen fósil.

TABLA 3

VALORES PARA EL CARIOTIPO NORMAL DE *C. virginica* EN POBLACIONES DE CONNECTICUT, MASSACHUSETT (LONGWELL *et al.*, 1967) Y TABASCO, MÉXICO (RODRÍGUEZ-ROMERO *et al.*, 1978).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	2n
POBLACIÓN DE CONNECTICUT, MASSACHUSETTS, E.U.A. (LONGWELL <i>et al.</i> , 1967)											
CF	m	sm	m	sm	m	m	sm	m	sm	m	20
POBLACIÓN DE TABASCO, MÉXICO (RODRÍGUEZ-ROMERO <i>et al.</i> , 1978)											
CF	m	sm	m	sm	m	m	sm	m	sm	m	20
LR	136.5	122.2	109.6	109.4	105.7	98.0	97.4	80.4	79.9	60.3	
IC	47.2	35.1	46.6	35.3	46.7	48.9	35.5	45.5	34.0	47.8	
RB	1.11	1.84	1.14	1.82	1.13	1.04	1.83	1.19	1.93	1.93	

CF = CLASIFICACIÓN SEGÚN LEVAN *et al.* (1946) LR = LONGITUD RELATIVA

IC = ÍNDICE CENTROMÉRICO

RB = RELACIÓN DE BRAZOS

Huberman (1975) y Longwell (1976) señalan que los hidrocarburos policíclicos derivados del petróleo tienen propiedades mutagénicas y las fracciones más tóxicas resultan ser aquellas que corresponden a los compuestos aromáticos de menor tamaño (Nelson-Smith, 1972).

En cuanto a la acción de los mutágenos químicos sobre los huevos pelágicos, MacIntyre (1974) indica que éstos pueden ser seriamente dañados debido a que la capa superficial del océano puede contener altas concentraciones de hidrocarburos halogenados durante un derrame petrolero.

En época de desove de las poblaciones naturales, el mayor riesgo lo tienen las células gaméticas, espermatozoides y óvulos que son expulsados al medio por organismos de fecundación externa como los ostiones del género *Crassostrea*, ya que se ha comprobado que los espermatozoides son sensibles a la acción de los

contaminantes (Sidermann, 1979).

La acción de los derivados del petróleo por exposición crónica en pelecípodos, ha sido estudiada por Stekoll *et al.* (1980) en *Macoma balthica*, quienes han encontrado un significativo decremento de la población aún a concentraciones tan bajas como 0.3 mg/l-1. Recientemente, Scarpato *et al.* (1990) han evaluado el impacto del crudo en *Mytilus galloprovincialis* a través del estudio de la inducción de micronúcleos en células epiteliales de las branquias de individuos expuestos al impacto de las aguas marinas contaminadas.

Por su parte, Davis e Hidu (1969) y Calabrese (1972), demuestran que los embriones y larvas de *C. virginica* son altamente sensibles a los contaminantes del medio estuarino.

De lo anterior se puede deducir que la toxicidad de los contaminantes por hidrocarburos sobre *C. virginica* se manifiesta en forma más drástica en las larvas que en los adultos y que aunque se han determinado concentraciones letales en algunos casos, hasta el momento no se han evaluado a fondo las consecuencias genéticas de la acción subletal en estos organismos.

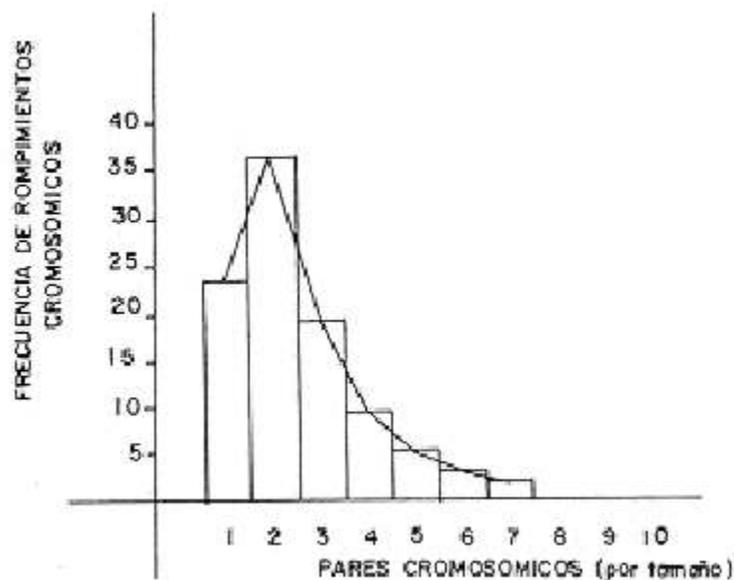


Figura 3. Frecuencia de rompimientos cromosómicos según el tamaño de los cromosomas de *C. virginica*

En cuanto a la citogenética normal de la especie, Rodríguez-Romero *et al.* (1978, 1979) establecen los cariotipos de las poblaciones de adultos de *C. virginica* en el sureste de México (Fig. 2, Tabla 3). De estos estudios se concluye que estos organismos poseen un cariotipo estable a lo largo de su distribución geográfica, ya que no muestran variaciones en el número diploide ni polimorfismo cromosómico de acuerdo con lo originalmente reportado por Longwell *et al.* (1967) para ostiones de Connecticut, Massachusetts (EUA); sin embargo, estudios cromosómicos a nivel larvario, demuestran cierta inestabilidad; Stiles y Longwell (1973) encuentran un valor promedio de 12% de heteroploides en 17 grupos de ostiones no contaminados. De este porcentaje, el 6% corresponde a organismos haploides, 1.5% poliploides, 1.5% hiperdiploides y 1.5% de mosaicos cromosómicos.

No obstante, las cualidades cariotípicas y la sensibilidad a los mutágenos a nivel larvario y embrionario, sumadas al hecho de que estos moluscos son bioacumuladores eficientes y de que carecen de mecanismos metabólicos efectivos que faciliten la degradación rápida de estos contaminantes (Lee *et al.*, 1972) permiten considerar a *C. virginica* como un buen indicador citogenético para la evaluación de la contaminación por petróleo crudo y su impacto sobre el material genético en poblaciones frecuentemente afectadas.

Por lo que se refiere al daño cromosómico que puede causar el petróleo en los organismos acuáticos, Siderman (1979) ha advertido la posibilidad de que los mutágenos químicos puedan dañar el huso mitótico y Longwell (1976) ha demostrado la presencia de una variedad de daños cromosómicos por mutagénesis en huevos

de peces.

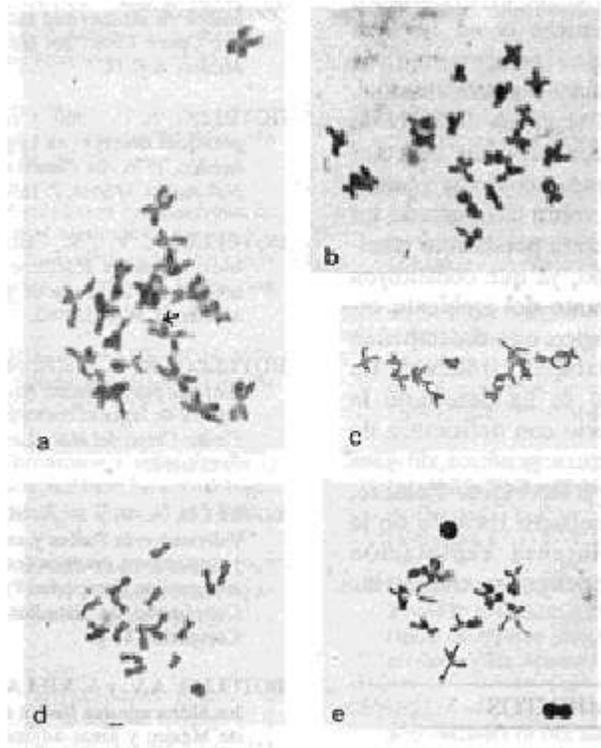


Figura 4. a) Metafase con rompimiento cromosómico en el brazo largo de un cromosoma del par 2. Se nota la presencia de un satélite. b) Metafase normal. $2n = 20$. c) Metafase con 12 cromosomas. d) Metafase con 17 cromosomas. e) Haploide.

Los resultados obtenidos en este estudio en ostiones silvestres contaminados y en los testigos, muestran que el petróleo crudo presente en esta laguna ha alterado en forma estadísticamente significativa ($\chi^2 = 174.31$; $P < 0.001$) las características normales de los cariotipos de larvas y embriones de *C. virginica*. Los valores encontrados señalan que los daños más frecuentes son los manifestados por aneuploidías (Tabla 1, Figs. 4c, 4d y 4e), como consecuencia del desequilibrio provocado a los procesos que regular la distribución correcta del genoma en la mitosis. Estos resultados son congruentes con los hallazgos de Chrisman (1974) y Chisman y Henkle (1974), quienes han demostrado que la producción de aneuploidías puede ser consecuencia directa de la acción de mutágenos como el fosfato de dietilbestrol, y aún cuando no se podría descartar la posibilidad de que un porcentaje de las aneuploidías encontradas en este estudio sean producto del tipo de procesamiento utilizado para estas células, se considera que la técnica empleada es confiable ya que este mismo procedimiento ha sido utilizado recientemente con éxito en la realización de estudios de bandedo cromosómico en larvas de *Crassostrea virginica* (Rodríguez-Romero, 1991). Por otra parte, aunque en esta investigación no es posible precisar la acción particular de cada derivado de los hidrocarburos solubles presentes sobre las células en división, debido a la gran diversidad de componentes del petróleo crudo y de los compuestos que se forman por la degradación del mismo (Zobell, 1971; Sivaider y Mikolaj, 1973), es evidente su relación con las alteraciones observadas en metafase.

Al respecto, Botello y Soto (1981) determinaron la presencia de compuestos aromáticos tales como naftaleno, metil, dimetil y trimetilnaftaleno, dibenzotiofeno, fenantreno, metilfenantreno, fluoreno, pireno, metilfluoreno, metilpireno, benzoantraceno y benzofluoreno, en concentraciones importantes en lagunas costeras del Sureste de México afectadas por derrames petroleros; algunos de ellos relacionados con procesos de mutagénesis y carcinogénesis (Ames *et al.*, 1972; Renzoni, 1975; Popescu *et al.*, 1977; Lee, 1976; Abe y Sasaki, 1977 y Hawkins *et al.*, 1989). Por otra parte, el análisis sobre la incidencia de rompimientos cromosómicos (Tabla 2, Fig.3) indica que las mayores frecuencias se registraron en los tres primeros pares, en los cuales la acción tóxica de los hidrocarburos parece ser más importante, en especial en el par 2 (Fig. 4a) en el que se encuentra el mayor porcentaje de rompimientos (36.5%).

Por último, es de esperarse que los organismos con alteraciones cromosómicas como las que aquí se han registrado, tengan menos posibilidades de alcanzar un desarrollo normal, debido a que el daño que se causa al ADN de las células germinales puede producir defectos genéticos en las generaciones venideras (Ames, 1979) y debe reflexionarse sobre el futuro de los bancos ostrícolas que en forma persistente resultan afectados en esta región, ya que constituyen un recurso pesquero relevante del ambiente estuarino, por el papel ecológico que desempeñan estas poblaciones en la estabilidad trófica de las lagunas costeras y porque se ha detectado la existencia de un desequilibrio con deficiencia de heterocigotos en la estructura genética de esas poblaciones (De la Rosa y Rodríguez-Romero, 1988), lo que, aunado al impacto reciente de la contaminación y a la intensa explotación pesquera, puede poner en peligro su existencia.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alfonso Vázquez Botello por la revisión crítica del manuscrito y a la M. en C. Rocío Vargas Sanders por su ayuda técnica. Al CONACyT por el apoyo financiero parcial otorgado a estas investigaciones a través de los proyectos PCCBBNA-A-021432 Y PCECBNA-021433. Contribución No. 586 del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM.

LITERATURA CITADA

- ABE, S. and M. SASAKI, 1977. Chromosome aberrations and sister chromatic exchanges in chinese hamster cells exposed to various chemicals. *J. Natl. Cancer Inst.*, 58: 1635-1641.
- AMES, B.N., 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science*, 204: 587-593.
- AMES, B.N., P. SIMS and P.L. GROVER, 1972. Epoxides of polycyclic hydrocarbons are frameshift mutagens. *Science*, 176: 47-49.
- BARUD, G. A., F. NAVARRO y J. BUSTAMANTE, 1982. Efectos de la fracción soluble en agua del crudo del Pozo Ixtoc-I sobre cultivos axénicos y poblaciones naturales del plancton marino. Informes sobre el accidente del Pozo Ixtoc-I. Secretaria de Marina, Dirección General de Oceanografía, pp.434.
- BOTELLO, A.V., 1979. Niveles actuales de hidrocarburos fósiles en ecosistemas estuarinos del Golfo de México. *An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México*, 6: 7-14.
- BOTELLO, A.V., 1980. Cuantificación de un derrame petrolero ocurrido en Laguna de Términos, Campeche, México, 1976. *An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México*, 7: 169-176.
- BOTELLO, A. V. y R. CELIS. 1982. Cuantificación de hidrocarburos fósiles en sedimentos y organismos marinos de la Sonda de Campeche, Simp. Intl. ixtoc I. México D. F. junio 1982.
- BOTELLO, A.V. y S.A. MACKO, 1980. Presencia de hidrocarburos fósiles (n-Parafinas) en sedimentos recientes de lagunas costeras en el Pacífico de México. *An. Centro Cienc. del Mar y Limol. Univ. Nal. Autón. México*, 7: 159-168.
- BOTELLO, A. V. y L. A. SOTO, 1981. Cuantificación de hidrocarburos fósiles y metales pesados en sedimentos y organismos marinos (camarón, moluscos y peces) de la Sonda de Campeche. Primer informe final. Programa Coordinado de Estudios Ecológicos de la Sonda de Campeche. 81 p.
- BOTELLO, A.V. y S. VILLANUEVA, 1987. Vigilancia de los hidrocarburos fósiles en sistemas costeros del Golfo de México y áreas adyacentes. I. Sonda de Campeche. *An. Inst. Cienc. del Mar y Lumol. Univ. Nal. Auton. México*, 14: 45-52.
- CALABRESE, A., 1972. How some pollutants affect embryos and larvae of american oyster and hard-shell clam. *Mar. Fish Rev.*, 34: 66-77.
- CASILLAS, B. y G. DÍAZ, 1982. Efectos del derrame Ixtoc-I y de la aplicación de Corexit en plancton, camarón y ostión, Cd. del Carmen, Campeche. Simp. Intl. Ixtoc-I. México, D. F. 2-5 junio 1982.
- CHRISMAN, C. L., 1974. Aneuploidy in mouse embryos induced by diethylstilbestrol diphosphate. *Teratology*, 9: 229-234.

- CHRISMAN, C. L. and L. L. HENKLE, 1974. Induction of aneuploidy in mouse bone marrow cells with diethylstilbestrol diphosphate. *Can. J. Genet. Cytol*, 16: 831-835.
- DAVIS, H.C., and H. HIDU, 1969. Effects of pesticides on embryonic development of clams and oysters and on survival and grow of the larvae. *Fishery Bulletin*, 67: 393-404.
- DE LA ROSA, J.V. y F. RODRÍGUEZ-ROMERO, 1988. Aplicabilidad de las mediciones de variabilidad genética a la pesquería del ostión americano *Crassostrea virginica* Gmelin del Golfo de México. *Ciencias Marinas*, 14: 43-56.
- GUILLÉN, L., A. GARCÍA-CUBAS y A.V. BOTELLO, 1982. Bioensayo de toxicidad de la fracción soluble del petróleo (Ixtoc-I) sobre el ostión *Crassostrea virginica* Simp. Intl. Ixtoc-I. México, D. F. 2-5 junio 1982.
- HAWKINS, W.E., W.W. WALKER, J.S. LYTLER, T.F. LYTLER and R.M. OVERSTREET, 1989. Carcinogenic effects of 7, 12-dimethylbenz-(a)-anthracene on the guppy (*Poecilia reticulata*). *Aquatic Toxicology*, 15: 63-92.
- HUBERMAN, E., 1975. Mammalian cell transformation and cellmediated mutagenesis by carcinogenic polycyclic hydrocarbons. *Mutat. Res.*, 29: 285-291.
- LEE, R. F., 1976. Monitoring of petroleum hydrocarbons, In: J.E. Portman (Ed.) *Manual of Methods in Aquatic Environment Research*. Part. 2. Guidelines for the use of biological acumulators in marine pollution monitoring, *FAO Fish. Tech.*, Pap.: 1-76.
- LEE, R. F., R. SAUERHEBER and A. A. BENSON, 1972. Petroleum hydrocarbons: uptake and discharge by the marine mussel *Mytilus edulis*. *Science*, 177: 344-346.
- LONGWELL, A.C., 1976. Chromosome mutagenesis in developing mackerel eggs sampled from New York Bight. *Am Asoc. Limnol. Oceanogr., Spec. Symp.*, 2: 337-339.
- LONGWELL, A.C., S.S. STILES and D.G. SMITH, 1967. Chromosome complement of the american oyster *Crassostrea virginica* as seen in meiotic and cleaving eggs. *Cart J. Genet. Cytol*, 9: 845-856.
- LOOSANOFF, V.L. and H.C. DAVIS, 1963. Rearing of bivalve mollusks. In: *Advances in Marine Biology*. F. S. Russell (Ed.). Academic Press, Nueva York y Londres, Vol. 1: 1-136.
- MACINTYRE, F., 1974. The top milimeter of the ocean. *Sci. Am.*, 230: 62-77.
- MURRIETA, X. 1982. Estimación del efecto del petróleo crudo del Pozo Ixtoc-I y del dispersante sobre larvas, postlarvas, juveniles y adultos de camarón y adultos de ostión y pulpo, por medio de bioensayos. Simp. Intl. Ixtoc-I México. D.F. 2-5 junio 1982.
- NELSON-SMITH, A., 1972. *Oil pollution and marine ecology*. Paul Elek (Scientifi Books). London, 260 p.
- OGAWA, N. y A.P. GALICIA, 1982. Dispersión de la mancha de petróleo del Pozo Ixtoc-I. Informes sobre el accidente del Pozo Ixtoc-I. Secretaría de Marina, Dirección General de oceanografía. pp. 35-67.
- PAINE, J. R., R. F. SHOKES, G.S. SMITH and N. W. FLYNT, 1982. Surface evaporation dissolution partitioning and horizontal/vertical transport of dissolved and particulated bound hydrocarbons from Ixtoc-I blow out. Simp. Intl. Ixtoc-I México, D.F. 2-5 junio 1982.
- POPESCU, N.C., D. TURNBULL and J.A. DIPAOLO, 1977. Sister chromatic exchange and chromosome aberration analysis with the use of several carcinogens and noncarcinogens: Brief communication. *J. Natl. Cancer Inst.*, 59: 289-293.
- RENZONI, A., 1975. Toxicity of three oils to bivalve gametes and larvae. *Mar. Pollut. Bull*, 6: 125-28.
- RODRÍGUEZ-ROMERO, F., M.U. ALCOCER y A. LAGUARDA, 1978. Cytogenetic study of an oyster population of the species *Crassostrea virginica* Gmelin from the coast of Tabasco, México. *Venus*, 37: 83-86.
- RODRÍGUEZ-ROMERO, F., A. LA GUARDA, M.U. ALCOCER y M.L. ROJAS, 1979. Distribution of "G". bands in the karyotype of *Crassostrea virginica*. *Venus*, 38: 180.184.
- RODRÍGUEZ-ROMERO, F., M. GASCA y J. DE LA ROSA, 1991. Un método citogenético para obtención de

cromosomas para estudios de bandeo y de morfología fina de los cariotipos de moluscos bivalvos de la Familia Ostreidae. *Ciencias Marinas*, 17:1-10.

RODRÍGUEZ-ROMERO, F., 1991. "C" and "Nor" banding patterns in the karyotype of *Crassostrea virginica* (Mollusca:Ostreidae). Proc. Tenth Inter. Malacol. Congr. (Tübingen 1989) 1991:119-123.

SCARPATO, R., L. MIGLIORE, G. ALFINITO-COGNETTI and R. BARALE., 1990. Induction of micronuclei in gill tissue of *Mytilus galloprovincialis* exposed to polluted marine waters. *Marine Pollution Bulletin* 21: 74-80.

SINDERMANN, C.J., 1979. Pollution associated diseases and abnormalities of fish and shellfish. A review. *Fish. Bull.*, 76: 717-749.

SIVAIDER, H.O. and MIKOLAJ, P. G., 1973. Measurement of evaporation rates from oil slicks on the open sea. Proc. of the EPA, API, USCG. Conference on Prevention and Control of Oil Spills. Washington, D.C. 13-15 marzo, pp. 475-484.

SOTO, L. A. y A.G. GRACIA, 1987. Evaluación de hidrocarburos fósiles sobre las poblaciones de camarones peneidos en el Banco de Campeche. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México*, 14:133-146.

STEKOLL, M.S., L.E. CLEMENT and D.G. SHAW, 1980. Sublethal effects of chronic oil exposure on the intertidal clam *Macoma balthica*. *Mar. Biol.*, 57: 5160.

STILES, S.S. and A.C. LONGWELL, 1973. Fertilization, meiosis and cleavage in eggs from large mass spawnings of *Crassostrea virginica* Gmelin the commercial american oyster. *Caryologia*, 26: 253-262.

YAÑEZ-ARANCIBIA, A., 1982. Análisis comparativos de las poblaciones de peces de la Sonda de Campeche y de la Laguna de Términos antes y después del derrame petrolero del Pozo Ixtoc-I. Simp. Intl. Ixtoc-I. México, D.F. 2-5 junio 1982.

ZOBELL, C.E., 1971. Sources and biodegradation of carcinogenic hydrocarbons. Proc. Joint Conf. on Prevent. Control Oil Spills, Washington D.C. American petroleum Institute, pp. 444-451.

1.- Trabajo recibido 18, 5, 1993; aceptado 22, 9, 1993