
PRESENCIA DE SATÉLITES EN EL CARIOTIPO DE *Crassostrea virginica* GMELIN

NOTA CIENTÍFICA

FAUSTINO RODRÍGUEZ ROMERO

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología., UNAM, México, Apartado Postal 70-305, C. P. 04510.

RESUMEN

La aplicación de métodos modernos en el estudio de los cromosomas que conforman el cariotipo de *Crassostrea virginica* han permitido confirmar la presencia de constricciones secundarias y de satélites en el par cromosómico número dos mediante el análisis de bandas "C" para la detección de regiones heterocromáticas. La tinción específica para el revelado de regiones "NOR" no indicó la presencia de organizadores nucleolares primarios en la región de la constricción secundaria. Estos indicadores morfológicos son importantes para la identificación individual de este par cromosómico y de las mutaciones cromosómicas que en esta región de los brazos cortos se presentan.

ABSTRACT

The karyotype analysis of *Crassostrea virginica* by means of modern cytogenetic methods have permitted to confirm the presence of secondary constrictions and satellites on the pair two of the karyotype as seen by means of the "C" Bands analysis. These morphologic features are useful in the individual identification of this chromosome pair and for the search of their chromosome mutations in those telomeric regions. No primary nucleolar organizers were related to these secondary constrictions.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales motivaciones de los estudios cromosómicos en los ostiones comerciales de la familia Ostreidae, ha sido su posible aplicación en la dilucidación de problemas taxonómicos (Ahmed y Sparks, 1967; Menzel 1968a, 1968b). No obstante, las aportaciones citotaxonómicas se han limitado a la determinación del número cromosómico de las especies en estudio y en algunos casos, a la inferencia de la morfología general de los cromosomas que constituyen a sus cariotipos. Esta limitación se ha debido principalmente a la carencia de técnicas citogenéticas que permitan la obtención de metafases mitóticas adecuadas y de tinciones de alta resolución.

En 1978, Rodríguez-Romero *et al.* desarrollaron un procedimiento que permite el análisis con más detalle de la morfología cromosómica de estos organismos y conforman la presencia en el cariotipo, de un número diploide (2n) de 20, con cromosomas en pares, metacéntricos y submetacéntricos, sin cromosomas sexuales (Fig. 1).

Aunque la presencia de satélites en los cromosomas de *Crassostrea virginica* fue sugerida por Longwell *et al.* en 1967, la falta de resolución del procedimiento utilizado no permitió su demostración plena y su ubicación precisa.

Ha sido hasta recientemente, (Rodríguez-Romero *et al.* 1991) que se ha dado a conocer un procedimiento altamente perfeccionado que produce campos mitóticos de alta calidad, capaz de lograr cierta sincronización de las células en división que permite un número importante de mitosis con estados similares de espiralización cromosómica, con lo cual se hace posible la aplicación de tinciones específicas para la obtención de diferentes tipos de bandas. Una de ellas, la de Bandas "C", de participación decisiva en la identificación de satélites por su especificidad para la observación de regiones heterocromáticas.

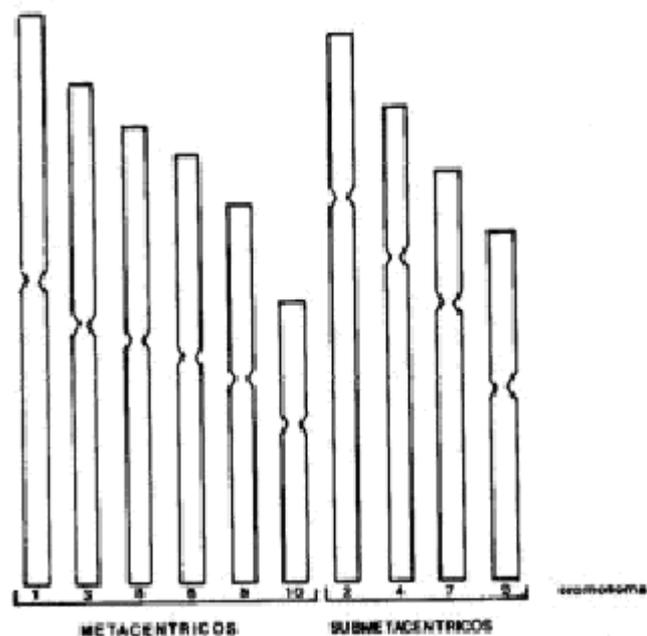


Figura 1. Ideograma del cariotipo de *Crassostrea virginica* Gmelin según Rodríguez-Romero *et al*, (1978). No se indica la presencia de satélites.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ostiones de la especie *Crassostrea virginica* procedentes del banco natural ubicado en la Boca de Atasta, en la laguna de Términos, Campeche fueron tratados para obtener larvas por fertilización in vitro de acuerdo con el método utilizado por Rodríguez-Romero *et al* (1987), el cual se encuentra basado, con modificaciones menores, en el método de Loosanoff y Davis (1963).

Para la obtención de laminillas con campos cromosómicos, las larvas fueron procesadas siguiendo el método de Rodríguez-Romero *et al*. (1991). Para la obtención de bandas "C" se utilizó el procedimiento de Tantravahi (1980) que implica el tratamiento de las laminillas con hidróxido de bario y la tinción con colorante Giemsa. Las regiones de los organizadores nucleolares fueron reveladas mediante la tinción utilizada por Goodpasture y Bloom (1975).

El análisis de los cromosomas implicó su ordenamiento por pares para ubicar el correspondiente al número dos en el cariotipo, y la medición de los brazos cortos y largos para determinar su relación de brazos e índices centroméricos y la ubicación topográfica de las constricciones secundarias y de sus respectivos satélites.

RESULTADOS

Los valores para la longitud relativa, índice centromérico y relación de brazos, son congruentes con los encontrados por Rodríguez-Romero *et al* (1978) (Tablas 1 y 2).

La longitud del cromosoma 2 del cariotipo de *Crassostrea virginica* representa el 12.2% de la longitud total del complemento haploide.

TABLA 1

VALORES RELATIVOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS CROMOSOMAS QUE CONSTITUYEN EL CARIOTIPO DE *Crassostrea virginica* (SEGÚN RODRÍGEZ-ROMERO *et al*, 1978)

Par	p	q	LT	RL	CI	AR	D	Clasif.
1	6.29	7.58	14.37	136.59	47.24	1.11	0.52	m
2	4.52	8.34	12.86	122.24	35.14	1.84	2.95	sm
3	5.38	6.15	11.54	109.69	46.66	1.14	0.65	m

4	4.07	7.43	11.51	109.41	35.38	1.82	2.90	sm
5	5.20	5.92	11.31	105.79	46.77	1.13	0.61	m
6	5.05	5.27	10.32	98.09	48.94	1.04	0.19	m
7	3.60	6.60	10.25	97.43	35.15	1.83	2.95	sm
8	3.85	4.60	8.46	80.41	45.58	1.19	0.86	m
9	2.86	5.52	8.41	79.94	34.03	1.93	3.17	sm
10	3.04	3.31	6.35	60.36	47.84	1.08	0.38	m

p= brazo corto; q = brazo largo; LT = longitud total; RL = longitud relativa; CI = índice centromérico; AR = relación de brazos; D = diferencia.

TABLA 2
VALORES DE LAS MEDICIONES DEL CROMOSOMA
2 EN 12 CAMPOS MITÓTICOS PERTENECIENTES A
INDIVIDUOS DIFERENTES De *Crassostrea virginica*

Mitosis	p	q	p+q	X-/X	(X-/X) ²
1	5.0	9.25	14.25	1.39	1.9321
2	4.5	8.0	12.50	0.36	0.1296
3	4.0	8.75	12.75	0.11	0.01
4	4.0	8.75	12.75	0.11	0.01
5	5.0	9.0	14.00	1.14	1.2996
6	4.0	7.75	13.75	0.89	0.7921
7	5.0	9.0	14.00	1.14	1.2296
8	4.0	7.0	11.00	1.86	3.4596
9	4.5	7.87	12.37	0.48	0.2352
10	4.25	8.5	12.75	0.11	0.01

Desviación estándar (DS) = 1.091

p = brazo corto; q = brazo largo

El análisis de los satélites y de las constricciones secundarias en cada uno de los componentes del par dos, permite ubicarlos en la porción distal del brazo corto de cada cromosoma. Los satélites ocupan una longitud equivalente al 9% de la longitud del cromosoma. La longitud de la constricción secundaria que precede al satélite, corresponde al 5% de la longitud del cromosoma portador. Por su pignosis positiva, se infiere que el satélite representa una rica en heterocromatina constitutiva (Figs. 2 y 3). Las pruebas de tinción específica con nitrato de plata para el revelado de bandas "NOR", no indicaron la presencia de organizadores nucleolares primarios asociados con las instrucciones secundarias en este par cromosómico.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Aún cuando la determinación cuantitativa de sus valores relativos constituye el método formal para la caracterización de los cariotipos de los organismos, la descripción de los rasgos morfológicos peculiares que permiten identificar fácilmente a los diferentes cromosomas, es de gran valor para detectar alteraciones a la morfología normal debidas a mutaciones cromosómicas tales como inversiones, deleciones y translocaciones.

En el caso del cariotipo de los ostiones de la especie *Crassostrea virginica* no resulta fácil la identificación individual de sus cromosomas debido a que, con excepción de los pares: uno, que es el de mayor tamaño, y 10 que es el más pequeño, al resto, de tamaño intermedio, resultan difíciles de identificar por el estrecho rango de sus longitudes relativas que se encuentran en el rango de 122.2 a 79.9 (pares 2 al 9. Tabla 1).

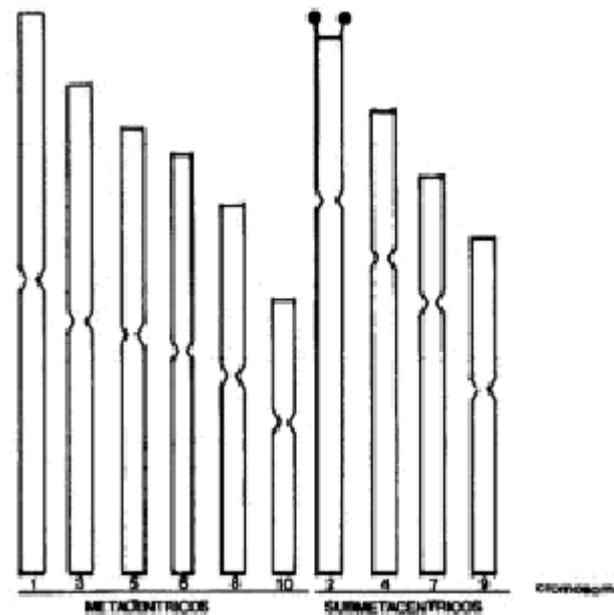


Figura 2. Figuras mitóticas de *Crassostrea virginica* Gmelin ($2n = 20m$). Las flechas indican los cromosomas con satélites y constricciones secundarias.

Las constricciones secundarias y satélites son indicadores morfológicos, que cuando están presentes se localizan en el extremo de uno de los brazos del cromosoma. En cuanto a su función se les ha relacionado con la síntesis del ARN nucleolar, en virtud de que se ha demostrado la síntesis de este tipo de ácido nucleico en las regiones que ocupan la constricción secundaria (Brown y Gurdon, 1964; Angelier *et al.*, 1979). La observación al microscopio ha revelado una relación estrecha entre constricciones secundarias y nucleolos con un probable contacto físico entre las dos estructuras. No obstante, como Palmer (1970) lo ha señalado, es posible que no siempre exista una relación de uno a uno entre ambas. En el caso de la constricción secundaria presente en el cromosoma dos del cariotipo de *C. virginica*, no fueron detectadas bandas primarias del tipo NOR (Nucleolar Organizer Region) aún cuando existe evidencia de una banda secundaria.

Finalmente, aún cuando se conoce algo respecto de la morfología y la fisiología de las constricciones secundarias, no se sabe con certeza cual puede ser su importancia en la diferenciación específica (Miller *et al.*, 1978). En el caso del cariotipo de *Crassostrea virginica*, la constricción secundaria del par dos y su satélite, se presentan como un rasgo morfológico distintivo de la especie, en vista de que los cariotipos de otras especies muy cercanas pertenecientes al mismo género, como *C. rhizophorae*, *C. corteziensis*, y *C. gigas*, no presentan este rasgo, el cual siendo privativo de *C. virginica*, no impide el éxito de la hibridación interespecífica entre *C. virginica* y *C. rhizophorae* (Rodríguez-Romero *et al.*, 1978).

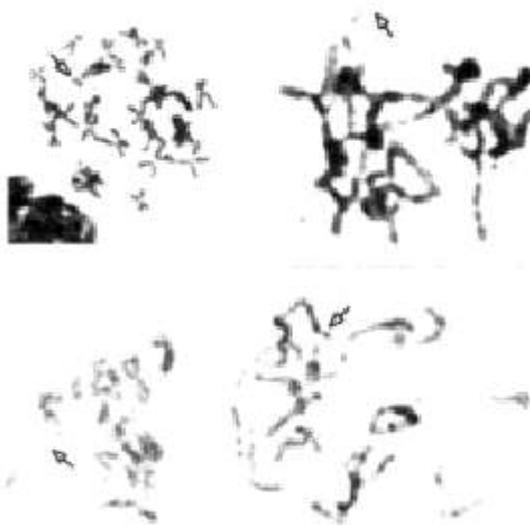


Figura 3. Ideograma corregido del cariotipo de *Crassostrea virginica* Gmelin. Se indica la presencia de satélites en la porción distal del brazo corto del cromosoma 2.

LITERATURA CITADA

- AHMED, M. y A. K SPARKS. 1967. A preliminary study of chromosomes of two species of oysters (*Ostrea lurida* and *Crassostrea gigas*). *J. Fish Res. Bd. Can.* 24: 2155-2159
- ANGELIER, N., D. HEMON y M. BOUTEILLE, 1979. Mechanisms of transcription in nucleoli of amphibian oocytes as visualized by high resolution autoradiography. *J. Cell Biology* 80: 277-90.
- BROWN, D. D., y J. B. GURDON. 1964. Absence of ribosomal RNA synthesis in the anucleolated mutant of *Xenopus laevis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 51:139-146.
- GOODPASTURE, C. y S. E. BLOOM. 1975. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* 53: 37-50.
- LONGWELL A. C, S.S. y D. G. SMITH. 1967. Chromosome complement of the american oyster *Crassostrea virginica* as seen in meiotic and cleaving eggs. *Can. J. Genet. Cytol.* 9: 845-856.
- LOOSANOFF, V. L y H. C. DAVIS, 1963. Rearing of bivalve mollusks. *Recent Advances in Marine Biology.* Academic Press, N. Y. 1: 1-136.
- MENZEL, R. W. 1968a. Chromosome number in nine families of marine pelecypod mollusks. *Nautilus*, 82 (2): 45-58.
- MENZEL, R. W. 1968b. Cytotaxonomy of clams (*Mercenaria*) and oysters (*Crassostrea*). *Proc. Symp. Moll. Part 1:* 75-87.
- MILLER O. J., D. A. MILLER R TANTRAVAHY y V. G. DEV. 1978. Nucleolus organizer activity and the origin of Robertsonian translocations. *Cytogenet. Cell. Genet.* 20: 40-50.
- PALMER C. G. 1970. 5-Bromodeoxyuridine induced constriction in human chromosomes. *Can. J. Genet. Cytol.* 12: 816-830.
- RODRÍGUEZ-ROMERO, F., M. U. ALCOCER y A. L. FIGUERAS. 1978. Cytogenetics study of an oyster population of *Crassostrea virginica*. *Venus* 37 (2): 83-86.
- RODRÍGUEZ-ROMERO, F., C. ZÁRATE y M. D. CHON. 1987. Hibridación experimental interespecífica en dos especies de ostiones comerciales del Golfo de México. *Mem. III Reun. Nal. Malacol. y Conquiliol.* Octubre de 1986. p 399-404.
- RODRÍGUEZ-ROMERO, F., M. GASCA y J. ROSA. 1991. Un método citogenético para la obtención de cromosomas para estudios de bandedo y de morfología fina de los cariotipos de moluscos bivalvos de la familia Ostreidae. *Ciencias Marinas* 17 (4): 1-10.
- TANTRAVAHY, R. 1980. AgAs silver staining of nucleolar organizer regions. *In: Laboratory Protocols. Chromosome Banding Techniques.* W. Alton Jones Cell Science Center. Lake Placid. N. Y. Sept. 15-19 (1980): 6, 7.

V. Trabajo recibido 21, 1, 1993; aceptado 26, 2, 1993.