

Título: CARACTERIZACIÓN POBLACIONAL Y CITOGENÉTICA DE CRASSOSTREA ANGULATA. ANÁLISIS MOLECULAR DEL ADN 5S EN OSTREIDOS

Nombre: Cross Pacheco, Ismael

Universidad: Universidad de Cádiz

Departamento: BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR, FISIOLOGIA, MICROBIOLOGIA, MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PUBLICA

Fecha de lectura: 01/04/2005

Programa de doctorado: INTERDEPARTAMENTAL DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Dirección:

> **Director:** Laureana Rebordinos González

Tribunal:

> **presidente:** Josefina Méndez Felpeto

> **secretario:** JESÚS MANUEL CANTORAL FERNÁNDEZ

> **vocal:** JUAN PEDRO MARTÍNEZ CAMACHO

> **vocal:** MARIA DEL CARMEN ÁLVAREZ HERRERO

> **vocal:** MANUEL ANGEL GARRIDO RAMOS

Descriptor:

> GENETICA ANIMAL

> GENETICA

> CITOGENETICA

El fichero de tesis no ha sido incorporado al sistema.

Resumen: La presente memoria de Tesis Doctoral consta de cuatro trabajos de investigación. En el primero de los trabajos presentados se analizan en primer lugar, el cariotipo y posteriormente se utilizaron diferentes técnicas citogenéticas. El cariotipo de la ostra portuguesa consta de diez parejas de cromosomas metacéntricos. Los NORs se localizaron en la región telomérica de un brazo del par cromosómico 10, aunque también aparecieron localizados de manera minoritaria en otras parejas de cromosomas. Este resultado se confirmó mediante el análisis de un gran número de nucleolos en individuos de varias poblaciones. Además, se puso de manifiesto la existencia de un gran polimorfismo tanto en la expresión como en la estructura de los genes ribosómicos obtenidas mediante FISH.

El segundo artículo de la Memoria presenta los resultados obtenidos tras la caracterización de los cromosomas de *C. angulata*. Los resultados mostraron una gran cantidad de heterocromatina constitutiva localizada principalmente en regiones pericentrométricas y teloméricas. Algunas de estas regiones se caracterizaron parcialmente mediante el uso de los bandeos de restricción. El uso de fluorocromos con afinidad por regiones ricas en AT puso de manifiesto que no existen grandes regiones cromosómicas con esta distribución de bases.

La localización del gen ARNr5S en ostras se describe por primera vez en este trabajo. Las hibridaciones permitieron localizar esta familia multigénica en posición subtelomérica en los cromosomas 4 y 5 del cariotipo de esta especie. Esta posición no es sintética con respecto a los genes ribosómicos mayores (par 10). En el tercer tipo se clonaron y secuenciaron productos de amplificación por PCR del 5S de *C. angulata* y también de la ostra del Pacífico *C. gigas*. El análisis de las secuencias permitió describir una unidad de repetición de una longitud total aproximada de 1100 pb. No se encontraron polimorfismos específicos de especie, por lo que este resultado apoyaría la teoría de considerarlas la misma especie. Por otra parte, se observó la presencia del gen snRNA U2 en posición invertida en el espaciador del 5S. Este ligamiento es la primera vez que se describe en un organismo. El análisis de las regiones controles externas e internas de ambos genes indica que no se tratan de pseudogenes. Además, la existencia de un microsatélite (CT(n).(GA)_n) en posición 3' del gen snRNA U2 podrá tener un papel importante en el mantenimiento de la serie en tándem de la unidad de repetición descrita.

Finalmente, se llevó a cabo la puesta a punto de una técnica de diagnóstico molecular de las ostras *C. angulata*/*C. gigas*, *O. edulis* y *O. stentina*. Las tres primeras son las de mayor interés económico en Europa y la última compete con ellas en los colectores de ostras en instalaciones de cultivo y en el medio marino. Se diseñaron cebadores para amplificar mediante PCR fragmentos de ADN_r5S específicos que permiten de manera rápida y fiable identificar las especies analizadas.