

CARACTERIZACION CROMOSOMICA DE DOS ESPECIES ICTICAS NATIVAS; GUAPUCHA, (*Grundulus bogotensis*) Y CAPITAN, (*Eremophilus mutisii*), DE LA SABANA DE BOGOTA

***JULIO A. GONZALEZ, MARTHA L. BUENO
& JORGE E. FORERO.***

Universidad Nacional de Colombia.

Departamento de Biología. Apartado Aéreo 14490, Bogotá, D.E.

RESUMEN

Se analizaron cariológicamente las especies Guapucha, *Grundulus bogotensis* Humboldt 1821 y Capitán, *Eremophilus mutisii* Humboldt 1805, provenientes del embalse del Neusa (Cundinamarca- Colombia).

La Guapucha, *Grundulus bogotensis* (Pisces: Characidae), presentó un número básico de $2n = 50$ cromosomas. No existe dimorfismo sexual cromosómico.

Para Capitán, *Eremophilus mutisii* (Pisces: Tricomycteridae), se estableció su número cromosómico básico como $2n = 54$, tampoco se detectó dimorfismo sexual a nivel cromosomas.

SUMMARY

Grundulus bogotensis Humboldt 1821 (Guapucha) and *Eremophilus mutisii* Humboldt 1805 (Capitán), from the Neusa reservoir (Cundinamarca-Colombia), were characterized on the basis cariology.

The Guapucha, *Grundulus bogotensis* (Pisces: characidae), exhibited a basic number of $2n = 50$ chromosomes. There is not chromosomal sexual dimorphism.

The Capitán, *Eremophilus mutisii* (Pisces: Tricomycteridae), on the other hand, has a basic chromosomes number of $2n = 54$; and similarly does not show sexual dimorphism at the level chromosomes.

Palabras Claves: Peces. Citogenética. Cariología. *Grundulus bogotensis*. *Eremophilus mutisii*.

Introducción

La presente investigación se realizó como un paso preliminar para obtener experiencia en el manejo de las técnicas cariológicas básicas, que nos permitan en un futuro utilizarlas como herramienta valiosa en estudios de sistemática, filogenia, o en investigaciones orientadas a la mejora genética de peces cultivables con fines comerciales, en donde el conocimiento del cariotipo es un aspecto primordial y es de gran valor para predecir la posibilidad de cruzar con éxito dos especies en la producción de híbridos; para detectar oportunamente algunos defectos cariológicos que pueden llevar a bajas en la fertilidad, por lo que deben ser seleccionados negativamente en los criaderos para prevenir muertes embrionarias o fallas en el desarrollo somático o sexual (Hare & Singh, 1979).

El problema más grande en la información citogenética de peces, viene dado por el pequeño tamaño y el elevado número de cromosomas; lo mismo que por las limitaciones impuestas por las técnicas utilizadas. Varias de éstas cuentan con la intrínseca actividad mitótica de los tejidos usados para el estudio; además, toda técnica a emplear, debe ser modificada y adaptada para las diferentes especies de peces (Baksi & Means, 1987).

Materiales y métodos

Las especies estudiadas fueron colectadas en el embalse del Neusa, departamento de Cundinamarca. Se efectuaron nueve colecciones de los peces correspondientes a las especies *Grundulus bogotensis* (Guapucha) y *Eremophilus mutisii* (Capitán), a partir del 14 de agosto de 1991, hasta el 7 de septiembre de 1992. Se utilizaron en total 45 Guapuchas, *G. bogotensis* (12 machos y 33 hembras) y 17 capitanes, *E. mutisii* (14 machos y 3 hembras). La captura de Guapuchas se realizó con chinchorro, los especímenes fueron transportados vivos en bolsas plásticas selladas, con saturación de oxígeno, dentro de cajas de cartón. Los Capitanes fueron facilitados por la Estación Pis-

cícola del Neusa. El transporte fue efectuado en canecas plásticas con agua, que contenían uno a dos ejemplares.

En el laboratorio se tomaron las medidas correspondientes a la longitud total en centímetros y el peso en gramos. Además se determinó el sexo de cada uno de los ejemplares tanto por características morfológicas externas como internas.

Los cromosomas mitóticos fueron obtenidos con la técnica "Air-Drying", descrita por Foresti & De Almeida (1981) en Brasil, modificada principalmente en el tratamiento con colchicina (inyección e inmersión), tiempo y tipo de solución hipotónica y número de fijaciones. Se utilizó solución Giemsa como colorante.

A los diferentes micropreparados obtenidos, se les realizó además dos tipos de coloración diferencial: Bandas C (Arrighi & Hsu, 1971), para marcar la heterocromatina constitutiva en los cromosomas, y coloración con nitrato de plata (Howell & Black, 1980), para detectar la posición de las regiones organizadoras del nucléolo (NORs).

El análisis de los diferentes micropreparados fue realizado en microscopio óptico común, observando cinco metafases en promedio por individuo. Las mejores metafases para cada individuo fueron fotografiadas con fotomicroscopio III Carl Zeiss (1000X).

Finalmente los cromosomas se organizaron dentro de tres grupos generales: metacéntricos, submetacéntricos y subtelocéntricos, según la longitud relativa y la proporción entre brazos, calculados de acuerdo al criterio propuesto por Levan et al. (1964).

Resultados y discusión

Guapucha, *Grundulus bogotensis*.

Para la obtención de metafases en *G. bogotensis*, se utilizaron varios órganos como hígado, riñón y branquia. Los mejores resultados se obtuvieron con riñón, mediante los siguientes pasos: Baño de inmersión con colchicina (4 ml. de colchicina 0.1%, en 150 ml de agua destilada) durante cinco horas; solución hipotónica KCL 0.075 M. por cincuenta minutos; realizando tres cambios de fijador (Metanol-Acido acético relación 3:1) antes de gotejar la suspensión celular.

Se estableció su número cromosómico básico como $2n = 50$ (25 pares), distribuidos de la siguiente manera: metacéntricos los pares 1-15-19-20 y 25; submetacéntricos los pares 2-5-6-8-10-12-13-14-16-17-21-22-23 y

24; subtelocéntricos los pares 3-4-7-9-11 y 18 (Figs. 1 y 2). Un 83.7% de los carácidos estudiados cariológicamente presentan un número diploide de cromosomas entre $2n = 48$ hasta $2n = 52$.

Comparando cariotipos de machos y hembras, se encontró que no existe dimorfismo sexual cromosómico en esta especie. *G. bogotensis* presenta dos grandes cromosomas metacéntricos, que corresponden al primer par del complemento, esta condición cariotípica es propia de peces carácidos.

La coloración con nitrato de plata para NORs, se realizó en varias placas, pero no fue posible identificar cromosomas portadores de nucleolos.

La coloración de bandas C (Fig. 3), en los cromosomas de *G. bogotensis*, mostró que la heterocromatina constitutiva es abundante, con bloques conspicuos en las regiones centroméricas. Algunos cromosomas presentaron pequeñas e intensas coloraciones en telómeros y algunas bandas grises intercalares en los cromosomas de mayor tamaño. Lloyd & Thorgaard (1988) anotan que los cromosomas en peces han tenido dificultad para su estudio con las técnicas de coloración diferencial, dado que estas metodologías no proporcionan índices mitóticos elevados y, en general, los cromosomas son muy condensados.

Capitán, *Eremophilus mutisii*

Para obtener células en metafase se utilizó riñon y bazo. Los ejemplares fueron estimulados con solución de levadura 48 horas antes del tratamiento. La técnica utilizada se describe brevemente así: inyección de colchicina al 0.04%, (1 ml/100 g. de peso corporal) durante una hora treinta minutos; KCL 0.075 M. por 45 minutos como solución hipotónica y tres cambios de fijador 3:1, antes de extender las láminas.

Para peces del orden siluriformes en general, los números cromosómicos pueden variar entre $2n = 50$ y $2n = 86$; sin embargo, las especies más estudiadas poseen un número de cromosomas que varía entre $2n = 50$ y $2n = 56$ (Denton, 1973).

El cariotipo para *E. mutisii* proveniente del embalse del Neusa (Cundinamarca-Colombia), está conformado por 27 pares de cromosomas ($2n = 54$) y se caracterizó de la siguiente manera: cromosomas metacéntricos, los pares 5-6-8-10-11-14-16-17-18-19- 21-24-25-26 y 27; submetacéntricos los pares 1-2-3-4-7-9-12-15-20 y 23; subtelocéntricos los pares 13 y 22 (Figs. 4 y 5). En esta especie tampoco se observó dimorfismo sexual a nivel de cromosomas.

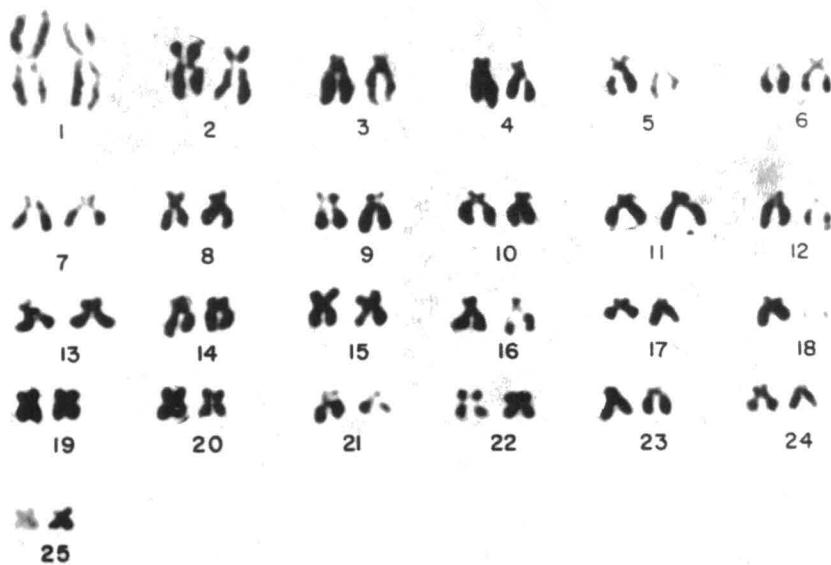


FIGURA No. 1. Cariotipo de *Grundulus bogotensis* (macho).

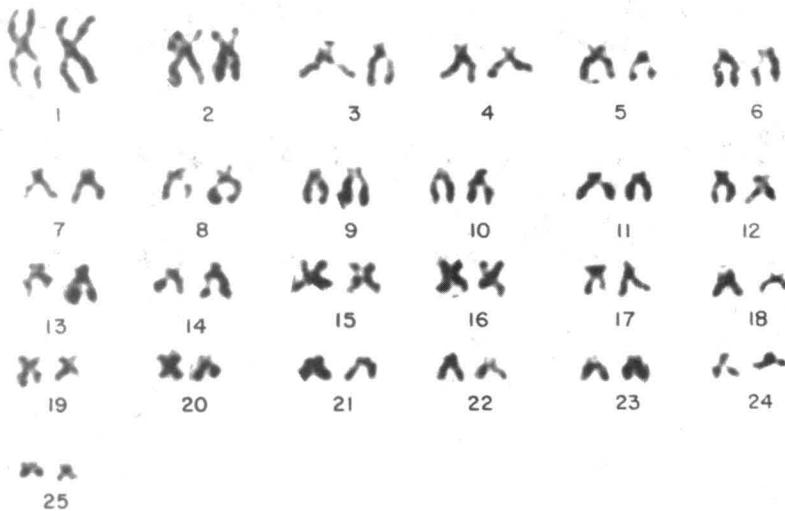


FIGURA No. 2. Cariotipo de *Grundulus bogotensis* (hembra).

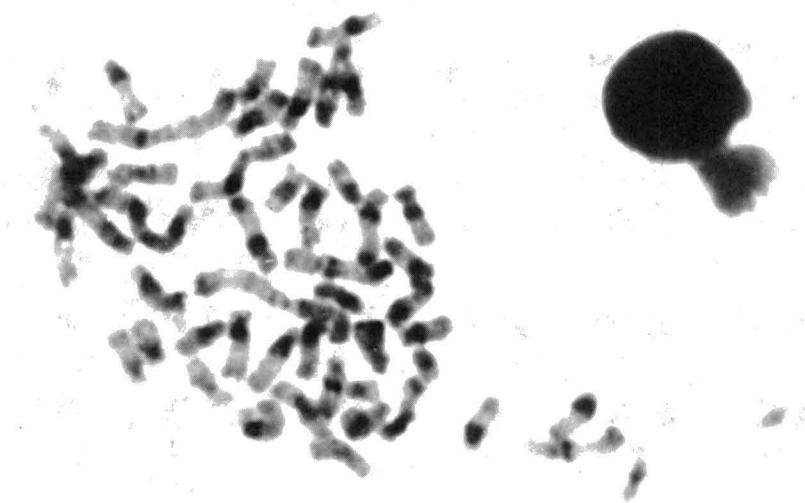


FIGURA No. 3. Metafase de *Grundulus bogotensis*, mostrando bandas C en la región centromérica de los cromosomas.

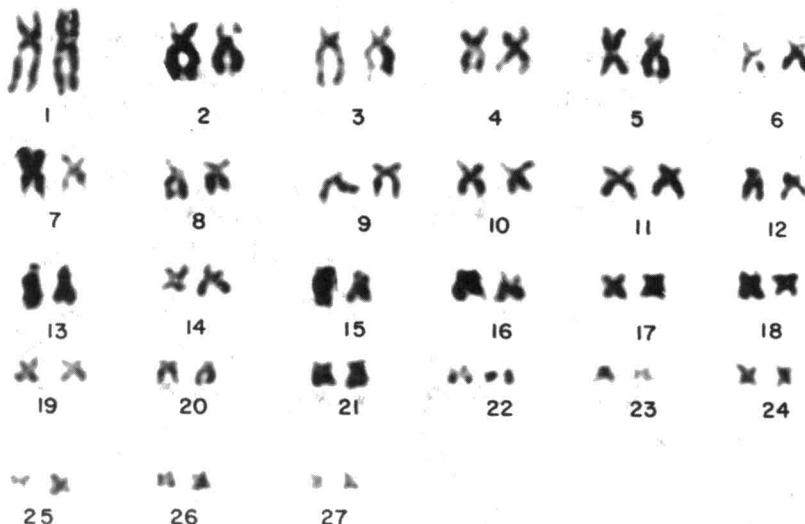


FIGURA No. 4. Cariotipo de *Eremophilus mutisii* (macho).

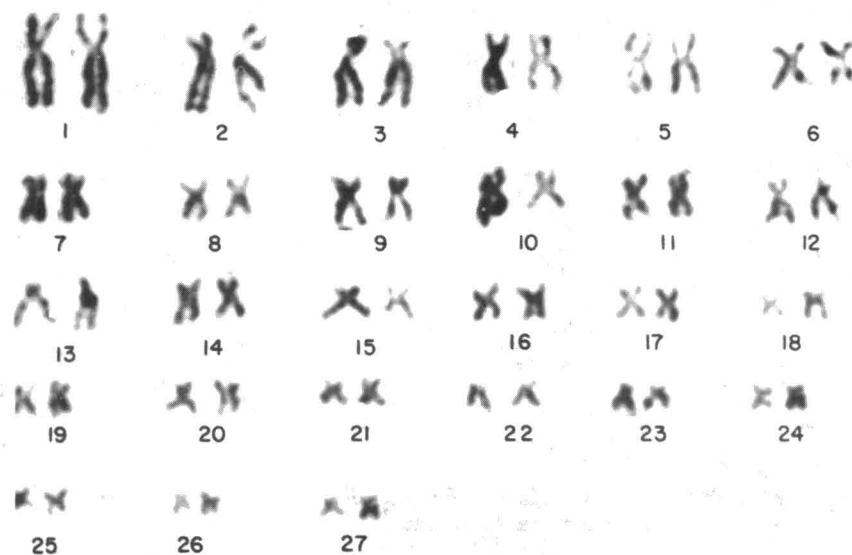


FIGURA No. 5. Cariotipo de *Eremophilus mutisii* (hembra).

Salgado (1987) realizó el estudio citogenético preliminar del Capitán proveniente del embalse del Muña; determinó su número diploide de cromosomas también como $2n = 54$, sin dimorfismo sexual cromosómico.

La especie *E. mutisii* del embalse del Neusa posee el mismo cariotipo básico que *E. mutisii* proveniente del embalse del Muña, aunque la clasificación de los pares 3-16-20 y 23 varió levemente. Estas diferencias pueden ser originadas por los diferentes sistemas de medidas empleados en los dos trabajos y por el número de metafases medidas; o pueden sugerir inversiones que han modificado la morfología cromosómica entre estas dos poblaciones de peces. Para sustentar esta hipótesis, se deben efectuar estudios citogenéticos más detallados con diferentes métodos de bandeo cromosómico.

Bandas C no se observaron en los diferentes micropreparados realizados; se puede presumir que esta especie puede tener poca heterocromatina constitutiva, es decir, heterocromatina no conspicua que no alcanza a ser evidenciada por esta técnica que utiliza Hidróxido de Bario.

La coloración con nitrato de plata para NORs, evidenció que en *E. mutisii* existe un único par cromosómico submetacéntrico (posiblemente el par 2 por tamaño), que es portador de nucleolos (Fig. 6). La posición de dichos nucleolos es de tipo intercalar. Este resultado coincide con los datos reportados para NORs en peces, en los que reiterativamente se ha encontrado un par cromosómico con nucleolos, en las diferentes especies.

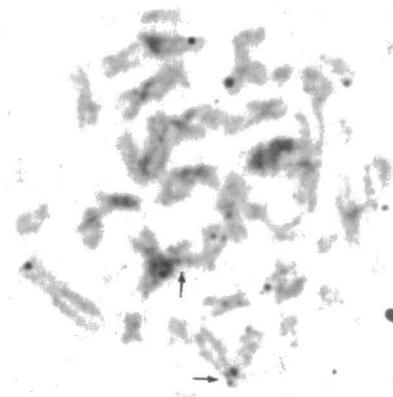


FIGURA No. 6. Metafase de *Eremophilus mutisii*, que muestra el par cromosómico portador de nucleolos.

Utilizando conteo de células interfásicas teñidas con solución de plata, para identificar haploidías, diploidías o triploidías, se contaron 200 células al azar: 39 células con un nucleolo y 161 células con dos nucleolos. No se observaron células con tres nucleolos (Fig. 7).

Phillips et al. (1986) realizando conteos de células interfásicas, similares al anterior, hallaron en general que para individuos diploides existe un único par cromosómico con NORs, es decir, individuos que presentaban dos nucleolos por célula interfásica en mayor porcentaje. Este método puede ser de gran utilidad para conocer el número de nucleolos activos en determinada especie y puede ser utilizado como un método de diagnóstico rápido en células interfásicas, para determinar el nivel de poliploidía en que se encuentran; aunque no se obtengan metafases óptimas que evidencien los cromosomas portadores de NORs.

Conclusiones

Las especies *Grundulus bogotensis* (Guapucha) y *Eremophilus mutisii* (Capitán), no presentaron dimorfismo sexual cromosómico; es decir, carecen de cromosomas sexuales XX/XY o ZZ/ZW. Se sugiere entonces que los genes que determinan el sexo están presentes en los autosomas. Para Guapucha, *G. bogotensis*, se demostró que la heterocromatina constitutiva se halla principalmente en regiones centroméricas de los cromosomas, aunque existen algunas bandas intercalares. Es necesario ensayar técnicas de cultivos celulares que produzcan cromosomas de mejor calidad,

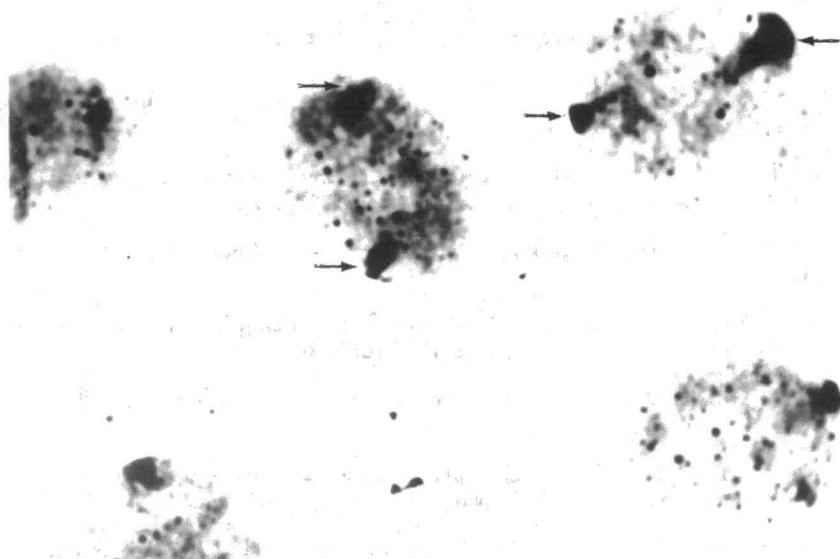


FIGURA No. 7. Células interfásicas de *Eremophilus mutisii*, mostrando dos nucleolos por célula.

que faciliten las técnicas de bandeo para estudios citogenéticos posteriores, de mucha utilidad en la identificación y caracterización de diferentes poblaciones de peces, vr. g. Capitán *E. mutisii*, proveniente del embalse del Muña y *E. mutisii* proveniente del embalse del Neusa. Estas dos poblaciones ícticas, aparentemente poseen el mismo cariotipo básico, sin embargo, se hace necesario efectuar estudios más detallados a nivel cromosómico, para verificar o no dicha afirmación. Las comparaciones entre especies sólo son válidas para ejemplares que pertenezcan a un mismo taxon; Capitán (*E. mutisii*) y Guapucha (*G. bogotensis*), no pueden ser comparadas cariotípicamente, ni a ningún otro nivel.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, por el aporte de los elementos necesarios para efectuar la investigación; al Instituto Nacional de Salud, por facilitar sus instalaciones para las fases de fotomicroscopía y fotografía; a la Corporación Autónoma Regional de las cuencas de los ríos Bogotá, Ubaté, y Suárez (CAR), entidad que facilitó el material biológico y apoyó en parte esta investigación.

BIBLIOGRAFIA

- ARRIGHI, F.E. & HSU, T.C. 1971 Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenet.*, 10: 81-86 pp.
- BAKSI, S.M. & MEANS, C. 1987. Preparations of chromosomes from early stages of fish for cytogenetic analysis. *J. Fish. Biol.* (1988). 32: 321-325 pp.
- DENTON, T. 1973. *Fish Chromosome Methodology*. Charles Thomas Publisher. Illinois USA.
- FORESTI, F. & DE ALMEIDA, S. 1981. Técnicas básicas em citogenética de peixes. Centro de Técnicas em reproducao de peixes. IB/UNESP, Brasil.
- HARE, W. & SINGH, E. 1979. *Citogenética de la reproducción animal*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza-España.
- HOWELL, W.M. & BLACK, D.A. 1980. Controlled silver staining of nucleolos organizer with a protective colloidal developer: 1-Step method. *Experientia*, 36: 1014-1045 pp.
- LEVAN, A. FREDGA, K. & SANDBERG, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on choromomes. *Hereditas* 52: 201-220 pp.
- LLOYD, M. & THORGAARD, G. 1988. Restriction endonuclease banding of rainbow trout chromoseomes. *Chromosoma*, 96: 171-177 pp.
- PHILLIPS, R. ZAJICEK, K. IHSSEN, P. & JOHNSON, O. 1986. aplication of silver staining to the identification of triploid fish cells. *Aquaculture*, 54: 313-319 pp.
- SALGADO, W.M. 1987. Estudio citogenético preliminar del Capitán de la Sabana, *E. mutisii*. Facultad de Ciencias. Programa de Postgrado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.