

INFORME TÉCNICO

Caracterización cromosómica de la especie Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisi*)



AUNAP
AUTORIDAD NACIONAL
DE ACUICULTURA Y PESCA

"Acuicultura y Pesca con Responsabilidad"

INFORME TÉCNICO DE LA CARACTERIZACIÓN CROMOSÓMICA DE LA ESPECIE CAPITAN DE LA SABANA (*Eremophilus mutisii*)

Equipo de autores y colaboradores

® Universidad de Ciencias Aplicadas - UDCA	® Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca
Cruz Elena Enríquez Valencia Luisa Fernanda Triana Lina Rodríguez Hernández Camilo Prieto Mojica	María Rosa Angarita Peñaranda Gustavo Salazar Ariza Javier Plata González Julia del Carmen Palacios Jairo Andrés Saganome

Esta publicación, es un producto resultado del convenio de cooperación No. 260 de 2019 cuyo objeto: "La evaluación del desempeño productivo de alevinos de capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*) y análisis citogenético y genético molecular de la especie en cuatro zonas del altiplano cundiboyacense (Laguna de Fúquene Suesca y embalses de Tominé y la Copa)" suscrito entre la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca y La Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales – U.D.C.A en el año 2019.

Citación sugerida: Enríquez-Valencia, C.E., Triana, L.F., Rodríguez-Hernández, L., Prieto-Mojica, C. (2019). Informe técnico de la caracterización cromosómica de la especie Capitán de la Sabana (*eremophilus mutisii*). Convenio 260 de 2019. AUNAP - UDCA. 6 p

®Todos los derechos reservados. Se autoriza la reproducción y difusión de material contenido en este documento para fines educativos u otros fines no comerciales, sin previa autorización del titular de los derechos de autor, sí y solo sí, se reconocen los créditos de los autores, editores e instituciones que han elaborado el presente documentos.

Las líneas de delimitación, así como los mapas que pudieran presentarse dentro de la publicación, son una representación gráfica aproximada, con fines ilustrativos y no expresan una posición de carácter oficial, por ende, ni los autores ni las instituciones vinculada, asumen la responsabilidad de las interpretaciones que surjan a partir de estas.

"Se prohíbe la reproducción de este documento para fines comerciales"

Responsabilidad: Las denominaciones empleadas y la presentación del material en esta publicación, no implican la expresión de opinión o juicio alguno por parte de las instituciones participantes. Así mismo, las opiniones expresadas no representan necesariamente las decisiones o políticas de las instituciones participantes, ni la citación de nombres, estadísticas pesqueras o procesos comerciales. Todos los aportes y opiniones expresadas son de la entera responsabilidad de los autores correspondientes. Los documentos que componen este libro han sido editados con previa aprobación de sus autores.

Informe Técnico de la Caracterización Cromosómica de la Especie (*Eremophilus mutisii*).

Introducción

Los sistemas ícticos a nivel mundial hacen parte de los ecosistemas más biodiversos. Sin embargo, varias especies se encuentran amenazadas o en vía de extinción. El Capitán de la Sabana, es una especie de pez endémica de Colombia (Mojica et al., 2012) del cuál poco se conocen aspectos genéticos. Sin embargo, debido a su potencial hidrobiológico y su condición de vulnerabilidad, en los últimos años se ha despertado un creciente interés por la comunidad científica en estudios de *E. mutisii* con fines de conservación. Uno de los aspectos que ha sido objeto de interés por investigadores de diferentes especies de peces es la Citogenética, ya que su estudio suministra información que contribuye a identificación y particularidades cromosómicas de cada una de las diferentes especies. Por esta razón, este trabajo se realizó con el objetivo de conocer el número de cromosomas del Capitán de la Sabana.

Materiales y Métodos

Colección de ejemplares

Se colectaron 7 individuos de la parte alta del río Bogotá, Municipio de Suesca, los cuales fueron comprados a los pescadores artesanales del Municipio.

Preparaciones citológicas

La estimulación de mitosis se realizó con levadura acorde a lo descrito por Lozano et al., (1988), para esto, se preparó una solución de levadura con las siguientes condiciones: 0,5 g de levadura, 0,5g de azúcar y 7ml de agua destilada. Se incubó la solución en baño-maría (40°C) durante 20 min y se inyectó la solución dorso-lateralmente en el pez en proporción de 1ml por cada 100g de peso del animal (Figura 1). Posteriormente, se dejó al pez en un acuario bien aireado durante 48h - 72h.



Figura 1. Preparación de materiales y reactivos e inyección de solución de levadura al animal

Preparación de células mitóticas

La preparación de células mitóticas *in vitro* se realizó según la metodología de Foresti et al. (1993). Para esto, los peces fueron sacrificados, siguiendo el protocolo de Bienestar Animal y se retiró la parte anterior del riñón (Figura 2). Este material fue colocado en 6ml de medio de cultivo RPMI 1640 y disociado con la ayuda de una jeringa de vidrio sin aguja. A este medio de cultivo, se adicionaron tres gotas de colchicina (0.05%) con jeringa de 5 ml y se incubó a 37 °C durante 1 hora y 30 minutos. Pasado este tiempo, el material se resuspendió utilizando una pipeta Pasteur y centrifugado a 1000 r.p.m durante 10min, posteriormente el sobrenadante ser descartó. Se adicionó 7 ml de solución hipotónica (KCl) a 0.075M y se incubó a 37°C durante 52 min. Terminada la incubación se le adicionó 1ml de solución fijadora (metanol-ácido acético 3:1), se esperó 5min en los cuales se resuspendió la solución y luego se centrifugó a 1000 r.p.m durante 10 min. Se retiró el sobrenadante y añadió 6 ml de fijador, luego de mezclar bien con la pipeta Pasteur, se centrifugó durante 10min a 1.000 r.p.m. (Prefijación). Posteriormente, se descartó el sobrenadante y adicionaron 6ml de fijador y se centrifugó. Se repitió este paso 2 veces. Después de la última centrifugación y eliminación del sobrenadante, se adicionó 1ml de fijador y se resuspendió el material y se colocó en un tubo de 2ml.



Figura 2. Obtención del riñón del animal y adición de Colchicina

Preparación de placas y tinción giemsa

Tres gotas de suspensión celular fueron adicionadas sobre un portaobjeto previamente calentado a 60° C. La placa se dejó secar a temperatura ambiente y

luego fue coloreada con Giemsa puro durante 2 minutos con un posterior lavado en agua corriente (Figura 3). Después de secas, las láminas fueron analizadas en un microscopio óptico.

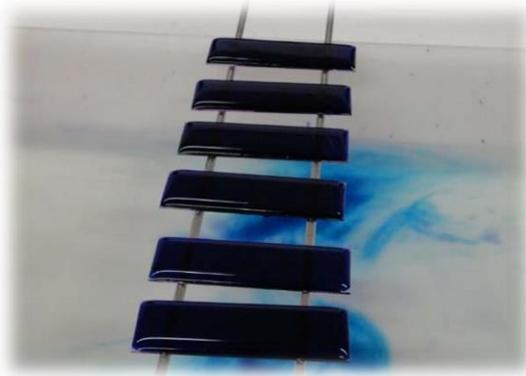


Figura 3. Coloración de láminas con Giemsa.

Resultados y discusión

En la Figura 4 se muestran los cromosomas encontrados en individuos de Capitán de la Sabana. En los resultados, se observaron 54 cromosomas. En estudios preliminares realizados por González et al. (1997) se describe que el Capitán de la Sabana posee 27 pares de cromosomas ($2n = 54$) de los cuales están clasificados en metacéntricos, submetacéntricos y subtelocéntricos. En los resultados de este estudio se encontraron cromosomas metacéntricos (centrómero en el centro y longitud de brazos similar), submetacéntricos (centrómero en un extremo y brazos con distinta longitud), subtelocéntricos (brazos muy cortos) y acrocéntricos (solo un brazo).

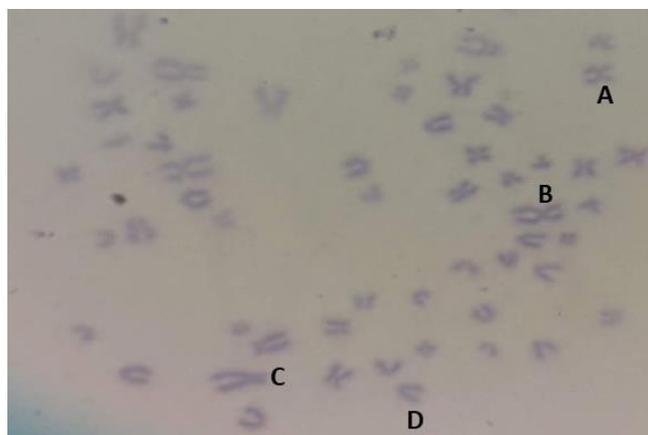


Figura 4. Cromosomas *Eremophilus mutissi*. A= cromosomas metacéntricos, B= Cromosomas submetacentricos, C= subtelocéntricos, D= acrocéntricos.

En la literatura se reportan varias especies del genero *Trichomycterus* con un número diploide conservado de cromosomas ($2n=54$) (Oliveira et al., 2016) como el observado en Capitán de la Sabana. Este grupo de peces (*Trichomycterus*) también pertenece a la familia *Trichomycteridae* a la cual pertenece el Capitán de la Sabana y presenta una amplia distribución en la región neotropical (Sarmiento-Soares et al., 2011).

Por otro lado, según González et al. (1997), el Capitán de la Sabana no se presenta dimorfismo sexual cromosómico, es decir carecen de cromosomas sexuales, sugiriendo que los genes que determinan el sexo están presentes en los autosomas. Sin embargo, aún se desconoce el proceso de determinación y diferenciación sexual en esta especie, por lo que futuros estudios deben realizarse para su determinación y coadyuvar así a su producción y conservación. Adicionalmente, en algunas especies de peces, al interactuar los factores genéticos con los ambientales se desarrollan mecanismos intrincados de determinación sexual (Pan et al., 2018). De esta manera, el sexo primario de los peces puede estar determinado cromosómicamente, ambientalmente o por la combinación e interacción de los dos (genética-ambiente), por lo que, la determinación sexual cromosómica en una especie determinada de teleosteo no siempre corresponde con el sexo fenotípico, es decir, la dotación genómica no está directamente relacionada con la definición sexual fenotípica (Rodríguez-Pulido et al., 2018; Yamamoto et al., 2019). Por ejemplo, el estudio de dos poblaciones de *Eigenmannia virescens* involucrando diversas técnicas citogenéticas mostró que, mientras los animales de una población no presentaban cromosomas sexuales, en los individuos de otra población había un sistema XX/XY de determinación del sexo (Almeida-Toledo et al., 2001 citado por Nirchio y Oliveira, 2006), por lo que este proceso debe ser estudiado cuidadosamente en el Capitán de la Sabana.

Conclusión

Los resultados de este estudio corroboran resultados previos en relación al número de cromosomas del Capitán de la Sabana y posteriores trabajos pueden estar encaminados a la existencia o no en la reorganización cromosómica y/o modificación micro-estructural.

Bibliografía

Foresti, F., Oliveira, C., Galetti Junior, P.M., Almeida-Toledo, L.F. 1993. Synaptonemal complex analysis in spermatocytes of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Genome*, 36: 1124-1128.

González, J. A., Bueno, M. L., & Forero, J. E. (1992). Caracterización cromosómica de dos especies icticas nativas; guapucha, (*Grundulus bogotensis*) y capitán, (*Eremophilus mutisii*), de la sabana de Bogotá. *Acta Biológica Colombiana*, 2(7), 45–54. <https://doi.org/10.15446/abc>.

Lozano, R. Rejon, C.R. y Rejon, M.R. (1988). A method for increasing the number of mitoses available for cytogenetic analysis in rainbow trout. *Stain Tech.*, 63: 335-338.

Mojica, J. I., Usma, J. S., Álvarez-León, R., & Lasso, C. A. (2012). Libro Rojo de peces dulceacuícolas de Colombia (J. I. Mojica, J. S. Usma, R. Álvarez-León, & C. A. Lasso (eds.)). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, WWF Colombia y Universidad de Manizales. http://awsassets.panda.org/downloads/libro_rojo_peces_dulceacuicolas_de_colombia_dic_2012.pdf

Oliveira, Maria Lígia M. de, Utsunomia, Ricardo, Pansonato-Alves, José Carlos, Scacchetti, Priscilla C., Primo, Cleberon C., Vicari, Marcelo R., Artoni, Roberto F., Centofante, Liano, Moreira-Filho, Orlando, Oliveira, Claudio, & Foresti, Fausto. (2016). Microstructural chromosome reorganization in the genus *Trichomycterus* (Siluriformes: Trichomycteridae). *Neotropical Ichthyology*, 14(2), e150084. Epub 27 de junho de 2016. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20150084> .

Pan, Q., Guiguen, Y., & Herpin, A. (2018). Evolution of Sex Determining Genes in Fish. *Encyclopedia of Reproduction*, 168–175. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20552-9>.

Rodríguez-Pulido, J., Mira-López, T., & Cruz-Casallas, P. (2018). Determinación, diferenciación sexual y pubertad en peces. *ORINOQUIA - Universidad de Los Llanos - Villavicencio, Meta*, 22, 80–91.

Sarmiento-Soares, L. M., A. M. Zanata & R. F. Martins-Pinheiro. 2011. *Trichomycterus payaya*, new catfish (Siluriformes: Trichomycteridae) from headwaters of rio Itapicuru, Bahia, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 9: 261-271.

Yamamoto, Y., Hattori, R. S., Patiño, R., & Strüssmann, C. A. (2019). Environmental regulation of sex determination in fishes: Insights from Atheriniformes. *Current Topics in Developmental Biology*, 134, 49–69. <https://doi.org/10.1016/BS.CTDB.2019.02.003>