

Chromosomal differences in Sabaletas (*Brycon henni*) from the upper basins of the Cauca and Patia rivers[✉]

Diferencias cromosómicas en sabaletas (Brycon henni) procedentes de las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía

Diferenças cromossômicas de sabaletas (Brycon henni) procedentes das bacias altas dos rios Cauca e Patía

Fabián Gerardo Muñoz García^{1*}, Msc; Julián Antonio Villamarín², PhD; Luis Fernando Londoño Franco³, PhD.

* Autor para correspondencia: Fabián Gerardo Muñoz G. Universidad Antonio Nariño Sede-Popayán- El Tablazo, Popayán-Cauca.
Correo: fagers41@gmail.com

¹ Docente Investigador Universidad Antonio Nariño Sede Popayán, fagers@gmail.com; ² Docente Investigador Universidad Antonio Nariño Sede Popayán, julianvilla@uan.edu.co; ³ Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid.

(Recibido: 29 de marzo, 2015; aceptado: 25 de febrero, 2016)

Abstract

This research chromosomically compared Sabaletas (*Brycon henni*) from the upper basins of the Cauca and Patia rivers in the Cauca department. For the study 6 specimens were captured in each site and transported to the Genetic toxicology laboratory of the Universidad del Cauca. Once there, kidney cells were extracted and cultivated, spreads of cells in metaphase were done, pictures were taken with an optical microscope, and the modal chromosome number and types of chromosomes were determined according to the position of the centromere, manually and using an assisted segmentation system for image processing. The results showed that *Brycon henni* has a chromosomal number of $2n=52$, and two karyological formulas specific to each of the basins studied: *Brycon henni* from the Cauca river had the karyotype formula $22m+16sm+14st$, while from the Patia river basin the formula was $8m+10sm+26st+8t$. These differences suggest that the specimens studied from both basins are probably in a speciation process due to geographical isolation. Moreover, no differences in the chromosome number were found between males and females on both basins. Additionally, the physico-chemical parameters of the water from the upper basins of the Cauca and Patia rivers have not shown significant changes that could affect the physiological conditions of these fishes.

Key words

Chromosome set, fishes, karyological formula, modal number, metaphase.

Resumen

Esta investigación realizó la comparación cromosómica de la sabaleta (*Brycon henni*) pertenecientes a las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía en el departamento del Cauca. Para el estudio fueron capturados seis ejemplares de cada sitio y se trasladaron al Laboratorio de Toxicología Genética de la Universidad del Cauca, una vez allí se procesaron cultivos celulares *in vitro* extraídos del riñón^{5,9,16}, realizados los extendidos de las metafases, se tomaron

[✉]Para citar este artículo: Muñoz García FG, Villamarín JA, Londoño Franco LF. Diferencias cromosómicas en sabaletas (*Brycon henni*) procedentes de las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía. Rev. CES Med. Zotec. 2016; Vol 11 (1): 62-71.

las fotografías con microscopio óptico y se determinó el número cromosómico modal y el tipo de cromosomas según la posición del centrómero, en forma manual y con ayuda de un sistema asistido de segmentación para el procesamiento de imágenes²³ (López y Pinto, 2007), mediante este método se obtuvo: que la especie *Brycon henni* presenta un número cromosómico de $2n=52$ y dos fórmulas cariológicas específicas para cada una de las cuencas estudiadas así: *Brycon henni* del río Cauca su fórmula cariológica fue: $(22m+16sm+14st)$ y para *Brycon henni* de la cuenca del río Patía $(8m+10sm+26st+8t)$. Estas diferencias sugieren que los ejemplares estudiados en las dos cuencas probablemente se encuentren en proceso de especiación debido al aislamiento geográfico. Por otra parte no se presentaron diferencias en el número de cromosomas entre machos y hembras de *Brycon henni* en las dos cuencas estudiadas. Asimismo los parámetros físico-químicos del agua de las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía no han mostrado cambios significativos que afecten las condiciones fisiológicas de estos peces.

Palabras clave

Fórmula cariológica, número modal, metafase, peces, set cromosómico.

Resumo

Esta pesquisa realizou a comparação cromossômica da sabaleta (*Brycon henni*) pertencentes as bacias altas dos rios Cauca e Patía no departamento de Cauca. Para realizar o estudo foram capturados 6 exemplares de cada lugar e se trasladaram ao Laboratório de Toxicologia e Genética da Universidad del Cauca (Popayán, Cauca), uma vez ali, se processaram os cultivos celulares *in vitro* extraídos do rim, se realizaram os estendidos da metafase, se tiraram as fotografias com microscópio ótico e se determinou o número cromossômico modal e o tipo de cromossomos segundo a posição do centrómero. Isto se fez em forma manual e com a ajuda de um sistema assistido de segmentação para o processamento de imagens. Com a utilização desta técnica encontrou-se que: a espécie *Brycon henni* apresenta um número cromossômico de $2n=52$ e duas formulas cariológicas específicas para cada uma das bacias estudadas, assim: a formula cariológica do *Brycon henni* do rio Cauca foi: $(22m+16sm+14st)$ e do *Brycon henni* do rio Patía: $(8m+10sm+26st+8t)$. Estas diferenças sugerem que os exemplares estudados nas duas bacias provavelmente se encontram em processo de especiação devido ao isolamento geográfico. De outro lado, não se apresentaram diferenças no número de cromossomos entre machos e fêmeas de *Brycon henni* nas duas bacias estudadas. Do mesmo jeito, os parâmetros físico-químicos da água das bacias dos rios Cauca e Patía não mostraram mudanças significativas que afetem as condições fisiológicas desta espécie de peixe.

Palavras chave

Conjunto cromossômico, número modal, metafase, fórmula cariotípica, peixe.

Introducción

Durante mucho tiempo, los estudios concernientes a la determinación y caracterización de las especies ícticas, han involucrado investigaciones relacionadas con el hábitat, biología, dietas, ciclo biológico, reproducción y taxonomía^{29, 34, 41}; esta última se ha apoyado en trabajos citogenéticos³⁵ y en la actualidad se ha complementado con estudios biomoleculares (marcadores moleculares de ADN)²⁵. Por consiguiente en la presente investigación, se abordan prácticas citogenéticas, biométricas y aspectos físico químicos del hábitat acuático de la especie “*Brycon henni*” perteneciente a las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía.

En general, la familia *Characidae*, reporta una alta diversidad genética en lo referente a números

cromosómicos que oscilan entre $2n=44$ en *Oreochromis niloticus*⁴, a $2n=54$ en *Piaractus brachipomum*⁴. Por su parte, el género *Brycon* presenta alta divergencia numérica y morfológica, así: *Brycon henni* con número cromosómico $2n=48$; *Brycon moorei* con $2n=46$; *Brycon fowleri* con $2n=46$ y *Brycon medemi* con $2n=48$ ¹³; *Brycon americanus iheringii* con $2n=52$ ^{45,46}; *Brycon amazónico o siebenthalae* con $2n=50$ ³³; *Brycon meeki* con $2n=50$ ^{7,40}; *Brycon hundii* con $2n=50$ ³⁹; *Brycon microlepis* con $2n=50$ ¹⁶ y *Brycon henni* con $2n=50$ ^{22,35}, distribuidos en 26 cromosomas metacéntricos, 16 submetacéntricos y 8 subtelocéntricos²³, asimismo *Brycon amazonico o siebenthalae* (Yamú) con $2n=50$, distribuidos en 24 cromosomas metacéntricos, 26 submetacéntricos/subtelocéntricos³³, presentando gran similitud con *Brycon meeki* con $2n=50$, clasificados así: 24 metacéntricos y 26 submetacéntricos/subtelocéntricos⁴⁰.

Este tipo de investigaciones son útiles para emprender investigaciones citogenéticas en otras especies de peces e incluso en otros grupos taxonómicos de animales, para la conformación de bancos de datos con fines de contar con información relevante para la preservación de la especie, por otra parte, permite establecer relaciones con la calidad de aguas de las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía; considerando las variables fisicoquímicas, que permitan profundizar sobre los hábitats pertinentes para el manejo y la conservación de peces nativos de aguas continentales en la región y en el país^{21,30}.

Materiales y métodos

La captura de los peces se realizó con atarrayas (ojo de malla de 0.5", 1" y 2") y chinchorros (ojo de malla de 0.5", 1" y 2"), en los sitios del río que no presentaban corrientes fuertes en las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía, en la zona comprendida entre los municipios de Patía y El Tambo, ubicados al centro del departamento del Cauca.

Se realizaron dos jornadas de captura por cada sitio, con duración de 9 horas por jornada. En cada jornada se capturaron inicialmente de 6 a 14 individuos, al momento de la captura, se registraron datos de variables físicas y químicas del agua, relacionadas con las variables fisiológicas para la especie, utilizando el equipo de colorimetría marca Hach del Laboratorio de Recursos Hidrobiológicos de la Universidad del Cauca.

Obtención de los extendidos cromosómicos (metafases)

Para la obtención de las metafases cromosómicas, se tomaron doce ejemplares de cada sitio así: seis (tres machos y tres hembras), para la estandarización de la técnica y seis (tres machos y tres hembras), para el análisis cromosómico. Los peces se mantuvieron vivos en bolsas plásticas con agua del sitio de captura, suplementada con sal marina al 2%, mejorando las condiciones osmóticas de los peces, buscando proteger las escamas y piel de agentes agresores.

Los ejemplares fueron pesados y se les inyectó levadura en dilución al 10%, con agua estéril, vía intramuscular.

Fase de Laboratorio

Los peces adultos y aparentemente sanos, se pre-trataron con levadura al 10%, durante 17 a 19 horas, una vez en el laboratorio fueron sexados, pesados y medidos e inmediatamente fueron sometidos a la técnica de cultivo de riñón^{5,9}.

Técnica de cultivo de riñón

1. Se inyectó solución de levadura al 10% (0,1 ml por cada 10 gr. de peso vivo del animal), 17 a 19 horas antes del sacrificio, intramuscular, en la parte dorsal del pedúnculo del pez.
2. Se realizó el sacrificio del animal con la ayuda de un punzón, colocado en la base dorsal de la cabeza del pez, se procedió a disecar y extraer el riñón, ubicado en la parte dorsal del pez.
3. El riñón se depositó en una caja de Petri, en la cual, se realizó la maceración en 3 ml de medio RPMI 1640, SIGMA (8758) simple, suplementado con tripsina (0.0125%, SIGMA (T064J)). Esta maceración no excedió los 3 minutos. La mezcla se filtró para separar las células de tejidos no deseados, luego se adicionó 3 ml de medio RPMI 1640 SIGMA (8758), suplementado con suero fetal bovino al 10% (SIGMA), para frenar la acción de la tripsina. Se adicionó 0,5 ml de Colchicina, se dejó incubar a temperatura ambiente durante una hora y media, se centrifugó por 10 minutos a 1.200 revoluciones por 1 minuto (rpm) y se retiró el sobrenadante del botón celular.
4. Se adicionó 6 ml de solución hipotónica de KCl al 0,45 %, se dejó incubar entre 40 y 50 minutos.
5. Se colocó 1 ml de solución Carnoy (3:1 de metanol, Baker analized 9070-01): ácido acético (Codex 302002)), luego se centrifugó durante 10 minutos a 1.200 rpm y se retiró el sobrenadante.
6. Se agregó 4 ml de solución Carnoy, se dejó reposar 20 minutos, se centrifugó a 1200 rpm por 10 minutos y se retiró el sobrenadante.
7. Se añadió solución Carnoy y se colocó en refrigeración 24 horas, se realizaron 2 fijaciones, sin reposo entre ellas, a 1200 rpm por 10 minutos.
8. Luego se realizó el goteo de la suspensión celular, a una distancia de 50 a 70 cm sobre la placa portaobjetos, estas gotas se distribuyeron uniformemente en la totalidad de la placa y se dejaron secar sobre la plancha de calentamiento (Thermo Stientific), a una temperatura máxima de 37 °C.
9. Se utilizó Giemsa al 2%, por 10 minutos, para colorear los cromosomas de las metafases.

10. Se observaron las placas al microscopio y se realizó la lectura y conteo de cromosomas.
11. Las mejores metafases en tinción y morfología de cromosomas fueron fotografiadas con objetivo de 100 x 1,25X, con filtro en tono verde y tono rosado para mejorar la morfología de los cromosomas. Se utilizó el microscopio óptico Nikon, con montaje de cámara conectada al computador, para operar con el software "LEICA QWIN", compatible con el sistema Microsoft Windows.

Identificación del número cromosómico

El número cromosómico se determinó realizando el conteo de los cromosomas en ciento ochenta (180) metafases por cada sitio estudiado, correspondiendo noventa (90) metafases a machos y noventa (90) metafases a hembras. Se tomó como número cromosómico el correspondiente a la mayoría de las metafases (número modal) ^{2, 26, 46}.

Clasificación de cromosomas y montaje de cariotipos

Se seleccionaron mínimo 30 de las mejores metafases, por sexo y lugar de captura con cromosomas morfológicamente enteros y con el número cromosómico modal previamente establecido.

Para realizar el montaje de los cariotipos fueron seleccionadas quince de las mejores fotografías de las metafases previamente observadas, para cada sexo y cada uno de los dos sitios de captura.

Luego se procedió al análisis de cada imagen seleccionada, por individuo, sexo y sitio de captura con la ayuda de un sistema asistido para elaboración de cariotipos, el cual, permite procesar las imágenes por el color o contraste, otorgando un color específico para cada cromosoma. El sistema asistido de segmentación ²³ (López y Pinto, 2007) tiene varias fases y contrastes que permite realizar ajustes en la imagen de la metafase analizada.

Cariotipo manual

Para mejorar el análisis de las imágenes y montaje de los cariotipos se realizaron los cariotipos manualmente, para lo cual, las mejores metafases se imprimieron en plotter en hojas de medio pliego, teniendo en cuenta el sexo y sitio de captura, luego, fueron enumerados cada uno de los cromosomas en cada metafase, para llevar un patrón de control. Además se realizó la medición manual del brazo corto y del brazo largo de cada uno de los cromosomas de cada metafase ^{27, 29, 42}. Para esta medición se utilizó un

trozo de alambre de cobre número 14, mediante el cual, se replicaron las cromátidas, contribuyendo en darle la forma real debido a su flexibilidad. Y mediante el uso de un calibrador se tomó la medida de cada cromátida replicada y marcada en el trozo de alambre, lo mismo para cada brazo (largo, corto), con estas medidas se calculó el índice centromérico^{24,26} y se clasificaron en metacéntricos, submetacéntricos, subtlocéntricos y telocéntricos basados en la clasificación de Levan, 1964 (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los cromosomas según el valor I. C. (Índice centromérico).

Clasificación	I.C.
Metacéntrico	0,5 > 0,37
Submetacéntrico	0,37 > 0,25
Subtlocéntrico	0,25 > 0,125 ≤ 0,25 subtlocéntricos
Telocéntrico	≤ 0,125

Fuente: Levan, 1964. Reportado por (Saavedra y Pinzón, 2008; Carvajal, 2000; Burbano, 2000).

Luego se procedió a realizar el montaje del cariotipo formando parejas de cromosomas de acuerdo con la morfología y el tamaño.

Ideograma

A cada uno de los datos obtenidos en las mediciones tomando como referencia el par cromosómico más grande del cariotipo, se le asignó una valoración de cien por ciento (100%). Este cromosoma se comparó con el resto de pares cromosómicos y se les asignó una valoración en porcentaje.

Los cromosomas, según su tamaño relativo (%), se ordenaron en forma descendente, este procedimiento se realizó para cada cariotipo, por sexo, especie, sitio y de esta forma se generó el dibujo respectivo (Ideograma) ^{1, 3, 8}.

Resultados

Como se observa en la tabla 2, el número cromosómico modal obtenido para *Brycon henni* fue igual a: 2n=52, es un número diploide para esta especie respecto al número de cromosomas.

Además no se encontraron diferencias en el número cromosómico modal entre los individuos de las dos cuencas estudiadas, ni se presentaron diferencias del número de cromosomas entre los dos sexos de la *B. henni* en el presente trabajo.

Tabla 2. Identificación del número cromosómico por sexo de la especie *Brycon henni* en los sitios de estudio.

Sitio Captura	Sexo	No. Cromosomas	# Metafases (%)
Río Cauca	Macho	52	33 (36,9)
	Hembra	52	30 (33,6)
Río Patía	Macho	52	35 (39,2)
	Hembra	52	44 (49,3)

A continuación en la tabla 3, se indican las condiciones físicas y químicas del agua en los sitios de captura río Patía y río Cauca.

El río Patía presenta un pH cercano a la neutralidad y una temperatura promedio del agua que osciló entre 17 °C y 23,3 °C. Los valores de oxígeno disuelto (O.D.) variaron entre 6,6 y 7,1 mg/l y el porcentaje de saturación alternaron entre 72% y 87,5%. Y en el río Cauca la temperatura del agua estuvo entre 18 °C y 19 °C, presentando una diferencia de 2,7 °C en promedio frente a la temperatura ambiente, un pH ligeramente ácido inclinado a la neutralidad, entre 6,6 a 6,4, oxígeno disuelto (O.D.) varió entre 6,1 y 7,0 mg/l y el porcentaje de saturación cambió entre 68 y 75,5%.

Identificación y clasificación de los cromosomas

En la tabla 4, se presenta la clasificación cromosómica con base al número $2n=52$ establecido para la especie del presente estudio *B. henni*, y su respectivo número fundamental³.

En la tabla 4 se ilustra, que con respecto a los tipos de cromosomas se presentaron diferencias importantes en las dos cuencas estudiadas de la siguiente forma: *B. henni* de la cuenca alta del río Cauca presentó un mayor número de cromosomas metacéntricos (22 a 8) y de cromosomas submetacéntricos (16 a 10), comparado con *B. henni* de la parte alta del río Patía. Por otra parte, *B. henni* del río Cauca tiene un número menor de cromosomas subteloacéntricos (14 a 26), y no presenta cromosomas telocéntricos (0 a 8), comparada con *B. henni* del río Patía. Además no se presentaron diferencias en el número de cromosomas entre los sexos.

De esta forma se presenta una diferencia, que se refleja en el número fundamental (NF)^{3,9}, calculado para *B. henni* de las dos cuencas estudiadas así: el NF de *B. henni* del río Cauca fue 104 y el del río Patía 96. En consecuencia, se puede corroborar que *B. henni* del río Cauca presenta una mayor simetría cromosómica, es decir, la tendencia a igualar los brazos cromosómicos en comparación con *B. henni* del río Patía.

Tabla 3. Condiciones fisico-químicas de las dos cuencas estudiadas.

Zona	Parámetro Valor Promedio				
	pH	O.D. mg/l	% O.D.	Agua	T° Ambiente
Río Cauca	6,4	7,0	75,5	18 °C	21 °C
Río Patía	7,0	7,1	87,5	23,3 °C	26 °C

Tabla 4. Clasificación de cromosomas según la posición del centrómero y número fundamental^{3, 6, 24}.

Sitio Captura	Sexo	<i>m</i>	<i>Sb-m</i>	<i>Sb-t</i>	<i>T</i>	No. Fundamental
Río Cauca	Macho	22	16	14	-	104
	Hembra	22	16	14	-	104
Río Patía	Macho	8	10	26	8	96
	Hembra	8	10	26	8	96

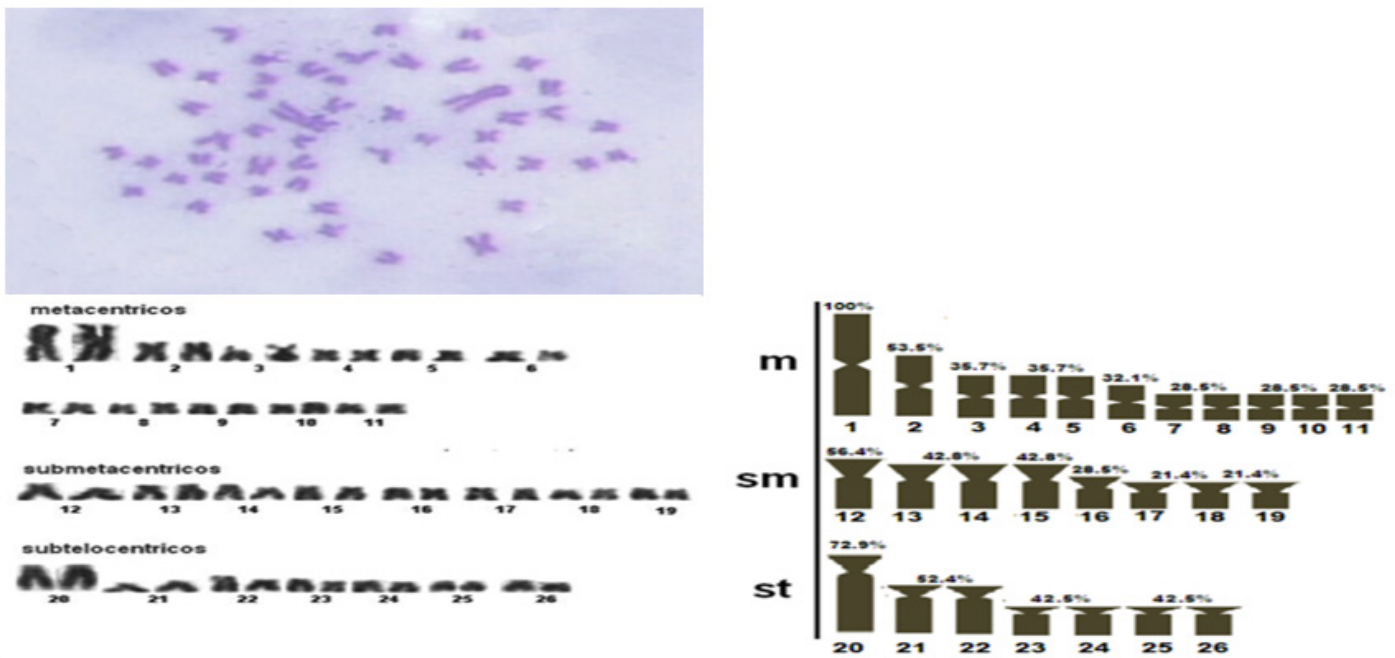


Figura 1. Metafase Cariotipo e ideograma de *B. henni* de la cuenca alta río Cauca.

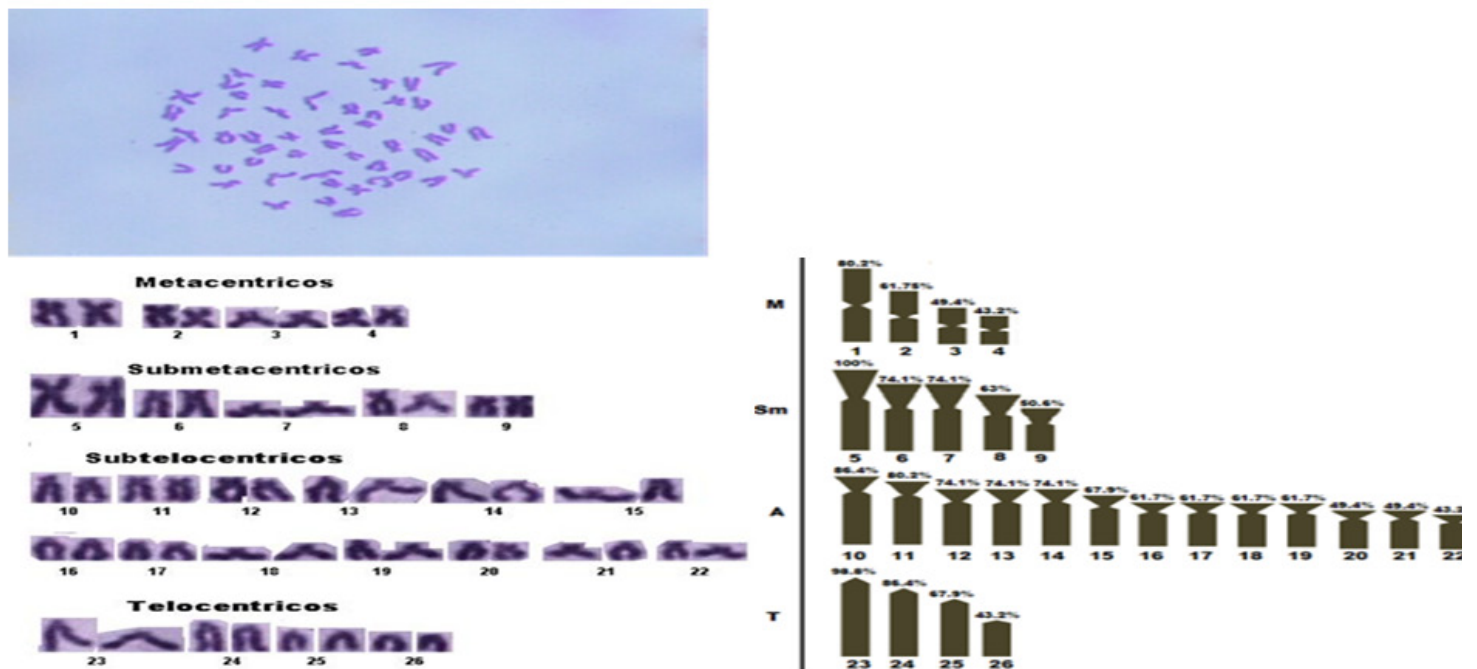


Figura 2. Metafase -Cariotipo e ideograma de *B. henni* de la cuenca alta río Patía.

Discusión

La literatura reporta numerosos estudios sobre el número de cromosomas del género *Brycon*, indicando las diferencias numéricas y morfológicas de los mismos y los contrastes con respecto a los resultados obtenidos en este estudio. Por ejemplo, *Brycon henni* con número cromosómico $2n=48$; *Brycon moorei* con $2n=46$; *Brycon fowleri* con $2n=46$ y *Brycon medemi* con $2n=48$ ¹³; *Brycon americanus iheringii* con $2n=52$ ^{38, 44, 45}; *Brycon hundii* con $2n=50$ y *Brycon microlepis* con $2n=50$ ¹⁶ y *Brycon henni* con $2n=50$, distribuidos en 26 metacéntricos, 16 submetacéntricos y 8 subtelocéntricos²²; *Brycon amazónico o siebenthalae* (Yamú) con $2n=50$ ³⁹, distribuidos en 24 metacéntricos, 26 submetacéntricos/subtelocéntricos³³, éste último presenta similitud con *Brycon meeki* con $2n=50$, clasificados así: 24 metacéntricos y 26 submetacéntricos/subtelocéntricos^{7, 40}.

Además en el presente trabajo se determinó un número modal para la especie *Brycon henni* de $2n=52$, de las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía, pudiéndose teorizar, que el número cromosómico similar hallado en las especies y sexos del presente estudio se deba a que posiblemente pertenecen a la misma familia *Characidae*, para la cual, según los investigadores citados se ha reportado una gran diversidad genética en lo referente a números cromosómicos que variaron entre $2n=44$ para *Oreochromis niloticus*^{4, 11} a $2n=54$ en *Piaractus brachipomum*⁹. Sin embargo, tal como se mencionó anteriormente, existen especies de la familia *Characidae*, que comparten rasgos cromosómicos o se relacionan con las estudiadas en esta investigación, por ejemplo: *Brycon henni* con número cromosómico $2n=48$ ¹³; *Brycon amazónico o siebenthalae* con $2n=50$ ³³; *Brycon meeki* con $2n=50$ ⁴⁰; *Brycon hundii* con $2n=50$ y *Brycon microlepis* con $2n=50$ ¹⁶; *Brycon henni* con $2n=50$ ³³ y *Brycon americanus iheringii* con $2n=52$ ^{38, 45}.

Por otra parte se obtuvo para la especie *Brycon henni* de las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía diferencias cromosómicas relacionadas con el número fundamental (NF), así: para *B. henni* del río Cauca, el NF fue 104 y para *B. henni* del río Patía su NF fue 96; es probable, que esta diferencia de 8 en el NF, se deba a rearrreglos o acomodados por inversiones pericéntricas, las cuales, puedan estar relacionadas con la evolución cromosómica. Se conoce, que un cromosoma telocéntrico por inversiones pericéntricas se puede transformar en un cromosoma metacéntrico o submetacéntrico, incrementando el número de brazos y por consiguiente el número fundamental. Por otro lado, un cromosoma metacéntrico o submetacéntrico por inversiones pericéntricas se puede transformar en un cromosoma acrocéntrico o en

telocéntrico, disminuyendo el número de brazos y de esta forma el número fundamental e incrementando la asimetría del cromosoma⁴⁷.

En la especie *B. henni* de las dos cuencas altas del estudio, no fue posible identificar diferencias cromosómicas entre los sexos, es decir, identificar heterocromosomas por tamaño o por forma. Es posible que existan, pero si existe esta diferencia sea con respecto al contenido de heterocromatina, que de acuerdo con la tinción utilizada (tinción directa), no fue posible detectar²⁶.

La especie *Brycon henni* del río Cauca presentó mayor número de cromosomas metacéntricos y submetacéntricos (22 y 16, respectivamente), comparada con *B. henni* del río Patía, con (8 y 10, respectivamente), además esta presenta cromosomas telocéntricos (8). Se sugiere que esta diferencia en el tipo de cromosomas se deba a rearrreglos por inversiones pericéntricas como se mencionó anteriormente^{27, 34}.

El presente estudio reporta a la especie *B. henni* de la cuenca alta del río Cauca con $2n=52$ ($22m+16sm+14st$) y *B. henni* de la cuenca alta del río Patía con $2n=52$ ($8m+10sm+26st+8t$), estos resultados contrastan con algunos investigadores, quienes reportaron para la especie un $2n=48$ con la siguiente fórmula cromosómica ($6m$ a $8m$, $14sm$ a $10sm$, $8acr$ a $5acr$, $20st$ a $25st$)¹³, y también difieren del *B. henni* con $2n=50$ ($26m+16sm+8st$)²². Por tanto, se podría inferir, que los *B. henni* reportados en este trabajo pertenecen a la misma especie y podrían presentar algunas semejanzas en características fisiológicas e incluso fenotípicas, aunque se localicen en diferentes cuencas. Pero a la vez difieren tanto en la fórmula cromosómica como en su clasificación debido a rearrreglos cromosómicos (fusiones o fisiones), que posiblemente dieron inicio a procesos de especiación^{34, 46}. Además, es posible incluso que pueda tratarse de especies distintas. Para dilucidar este punto, se propone realizar más investigaciones y experimentos reproductivos cruzados para determinar si se ha llegado a un grado de aislamiento reproductivo^{14, 22, 38}.

Tanto el presente estudio con *B. henni*, como en los trabajos realizados por^{13, 22}, en la misma especie³³ y en *B. siebenthalae*, concuerdan con la identificación de un par cromosómico de gran tamaño, el cual es importante, y se podría considerar como marcador de la especie³².

Conclusiones

La técnica de cultivo de riñón utilizada es un método reproducible eficiente de fácil aplicación para obtener extendidos mitóticos en especies icticas, que puede

servir de guía para la realización de futuros estudios en otras especies hidrobiológicas.

La especie *Brycon henni* de este estudio presentó un número cromosómico de $2n=52$ y dos fórmulas cariológicas para las dos cuencas así: para *Brycon henni* del río Cauca, la fórmula cariológica fue: $22m+16sm+14st$ y para *Brycon henni* de la cuenca del río Patía: $8m+10sm+26st+8t$.

No se presentaron diferencias numéricas en los cromosomas de los machos y las hembras de la especie *B. henni* en las dos cuencas estudiadas.

La especie *Brycon henni* de la cuenca alta del río Cauca presentó mayor cantidad de cromosomas metacéntricos y submetacéntricos, comparado con la especie de la cuenca alta del río Patía, por presentar un mayor número fundamental, originado posiblemente mediante inversiones y rearreglos pericéntricos.

Por tanto, los resultados obtenidos probablemente indican alta variabilidad en la especie *Brycon henni*, como reportan otros trabajos y que esta aproximación metodológica abre la posibilidad a continuar con estudios más contundentes a nivel molecular o de comportamiento reproductivo para dilucidar posibles mecanismos de especiación por barreras geográficas.

Referencias

1. Alzate C. Carlos Y. y Hurtado P. Gustavo A. Análisis Cariológico de dos Especies ícticas que habitan la parte alta del río Cauca *Pimelodus grosskopfii* y *Pimelodus clarias*. Trabajo de grado universidad del Cauca. Popayán, 1991.
2. Andreatta A, Foresti F, De Almeida Toledo, Oliveira L Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces: Siluriformes, loricariidae). II. ZZ/ZW sex-chromosome system, B chromosomes, and constitutive heterochromatin differentiation in *microlepidogaster leucofrenatus*. *Cytog.cell genet.* Vol 63. Pp. 215-220.
3. Ayala Francisco J. y Kiger Jhon A. Genética Moderna. Universidad California (Davis). Edición Omega. Barcelona 1984. Fondo educativo interamericano 1984. Versión en español Bautista Ernesto y Pachón Ernesto Universidad Javeriana Bogotá, Colombia.
4. Bolaños L. Luz H; Camayo O. Carlos J. y Penna T. Liliana estudio citogenético de las especies ícticas *Piaractus brachypomum*, *Prochilodus reticulatus*, *Oreochromis niloticus*, *O. mossambicus* y *O. roja*. Trabajo de grado universidad del Cauca. Popayán 1994.
5. Blaxhall P.C, Fish chromosome techniques. Department of life Sciences, trent Polytechnic. Fish biological No 7, pp 315-320. Nottingham, NG1 4BU. England 1974.
6. Burbano Consuelo. Citogenética aplicada a peces. Fundamentos de Acuicultura Continental, Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura "INPA". Serie fundamentos No.1, Segunda Edición. Bogotá, Colombia. 2001. Pp 423.
7. Caicedo Javier Ernesto. Aspectos reproductivos del *Brycon meeki* Eigenmann y Hildbrand, 1918 (*Pisces:Characidae*) en el río Patía, sector comprendido entre el puente de la fonda y puente de la barca, Municipio de El Patía, Departamento del Cauca. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca. Trabajo de Grado. Popayán Colombia 2004. Pp. 42.
8. Carrillo A. Mauricio. Manipulación cromosómica aplicada a la piscicultura. Fundamentos de acuicultura tropical. Segunda edición. Instituto nacional de pesca y acuicultura "INPA". Bogotá, diciembre de 2001.
9. Carvajal Silvio M. Análisis cromosómico de especies ícticas. Conferencia presentada en el IV congreso colombiano de genética. Universidad del Cauca. Facultad de ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de Biología. Unidad de Toxicología Genética y Citogenética. Popayán. 2000. Pp43.
10. Chaparro, N. Reproducción artificial y manipulación genética en peces. Editorial mejoras. Barranquilla. 1994.
11. Crosetti D; Sola L; Brunner P; Cataudella S. Artículo "Cytogenetical Characterization of *Oreochromis niloticus*, *O. mossambicus* and Their Irbid", Memorias Segundo simposio internacional de tilapia en la acuicultura. Pp 143-151. 1987.

12. Dahl, George. Los Peces del Norte de Colombia. Bogotá, D.E. Colombia. 1971.
13. De Greiff Sonia y Montoya Francisco L. Estudio Cromosómico de Cuatro especies del Género *Brycon* de origen Colombiano. Revista de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Vol. 5 No. 1 Abril. Medellín. Colombia. 1988. Pp. 12.
14. Díaz, H. Julio César, Reproducción Inducida de la Sabaleta (*Brycon henni*, 1913), diciembre. 1985.
15. Egg Ander, Ezequiel, Aguilar Idañez, María J. Como elaborar Proyectos. Editorial Lumen/ Hvmantas. Catorceava edición. Buenos Aires. 1996.
16. Galetti P. Manoel y Margarido Vladimir Pavan. Heterocromatin Patterns and Karyotype Relationships Within and between the Genera *Brycon* and *Salminus* (Pisces: Characidae). *Genetics and Molecular Biolog*, Vol 22. Brazil. 1999.
17. Gallego A. Fernando. Mejoramiento genético en acuicultura. Fundamentos de acuicultura tropical. Segunda edición. Instituto nacional de pesca y acuicultura "INPA". Bogotá, diciembre de 2001.
18. Guiset, A. La síntesis ecológica. Versión española. Primera edición española. Editorial alambra, S.A. Barcelona. 1978.
19. Hernández, Camacho, J. I. Aspectos sobre la Introducción de especies exóticas. Primer Seminario Nacional de Piscicultura. 62 p. Manizales. Colombia. 1971.
20. Kardong, Kenneth. Anatomía Comparada, Función, Evolución de Vertebrados. Segunda Edición. McGraw-Hill. México. 2000.
21. Lemus, R. Estudio del potencial hidráulico de la cuenca hidrográfica del río Patía Corporación Autónoma para la reconstrucción y el desarrollo del Cauca, Popayán. 1990.
22. López D. David, Vásquez Palacio G, Ruiz Cortes T. y Olivera A. Marta. Caracterización Citogenética del pez neotropical *Brycon henni* (Pisces: characidae). Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Revista Biología Tropical, Vol. 56. Medellín. Colombia. 2008. Pp. 10.
23. López, G. y Pinto, J. Sistema asistido de segmentación, clasificación y conteo de cromosomas en metafase para la elaboración de cariotipos basado en visión computacional. Trabajo de grado. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. Departamento de Física. 2007.
24. Levan, A, K. Fredga and A. Sanaber. Nomenclature for centromeric position on Chromosomal Hereditas. 1964.
25. Lima, M. Carvalho, Oliveira C. Navarrete M. Clara, Froehlich O. Y Foresti Fausto. Nuclear DNA Content determination in *Characiformes* fish (Teleostei, Ostariophysi) from the Neotropical región. *Genetics and Molecular Biolog*, Vol 25. Brazil. 2002.
26. Merlo M, Cross I, Sarasquete C, Palazón J y Rebordinos L. Caracterización cromosómica del pez sapo *Halobatrachus didactylus* (Schneider, 1801), (Teleostei: Batrachoididae) mediante hibridación in situ de fluorescencia. Boletín Instituto Español de Oceanografía, Volumen 21, Números 1-4, Año. 2005.
27. Molina J. Molero T. Hernández Ldwing, Acosta D. Hernández J. y Villamediana P. Cariotipo del Bagre guatero Hexanemathichth.s herbergii (*Ariidae: Siluriformes*) del estrecho del lago Maracaibo, Venezuela. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas. Volumen 38 Numero 3. Maracaibo. Venezuela. 2004. Pp 163-174.
28. Montoya A. Tabares C. Echeverri A. Arboleda L. y Olivera M. Descripción Anatómica e Histológica de las Gónadas en Sabaleta (*Brycon henni*, Eigenmann 1913). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, Volumen 19, Número 2, Año 2006, Medellín. Colombia.
29. Nicholas, F. W. Introducción a la Genética Veterinaria. Primera edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1996.
30. Ortega A. Usma J. Bonilla P. y Santos N. Peces de la cuenca del río Patía, Vertiente del Pacífico Colombiano. Revista Biota Colombiana, Volumen 7, Número 002, año. 2006.
31. Ortiz, Humberto y Prieto L. M. monitoreo ambiental con énfasis en el recurso hídrico, cuenca río Cauca, departamento del Cauca, Corporación Regional del Cauca (C.R.C.). Calidad del agua, Ministerio Medio Ambiente, convenio FONADE – C.R.C. (1287/96) Septiembre de 2000.

32. Pacheco M, Pauls E, Alfonso M Y Netto M. Cromosomas supernumerarios en el pez *Upeneus parvus* (Poey, 1853; Mullidae) del océano Atlántico. Universidad Federal Fluminense, Medicina Veterinaria, archivos zootecnia Vol. 45 No 170-171. pp 5. Río de Janeiro. Brasil. 1996. www.uco.es/organiza/servicio/publica/az/php/img/web/18-20-30-170-171.pdf.
33. Parada G. S. Arias J, Cruz P. Caracterización cariotípica del Yamú (*Brycon siebenthalae* o *amazonicus*). Universidad de los Llanos, Revista Orinoquia ISSN- 0121 – 3709, Volumen 7 Numero 1-2. Villavicencio, Colombia. 2003. Pp. 42-46.
34. Pareja M. Diego, Olivera M. y Builes Juan. Análisis de la Variación Genética en *Piaractus brachipomus* (Pisces: Characidae) en estaciones piscícolas colombianas mediante RAPD. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia. Revista Colombiana Ciencias Pecuarías Vol. 17. Suplemento. Medellín Colombia 2004. Pp11.
35. Pineda Hermes, Arboleda Lucy, Echeverri A. Urcuqui Silvio, Pareja M. Diego, Olivera M. y Builes J. Caracterización de la Diversidad Genética en el pez *Brycon henni* (Characiformes:Characidae) en Colombia por medio de Marcadores RAPD. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. Medellín Colombia. Revista Biología Tropical Vol. 55. Medellín. Colombia. 2007. Pp11.
36. Prado, Augusto. Determinación de la biología alimentaria de la especie íctica *Rhandia quelen* Heptapteridae, Quoy y Gaimard, 1824. En la cuenca media y baja de la quebrada las tallas, Municipio del Patía, Departamento del Cauca, trabajo de grado de maestría en recursos hidrobiológicos continentales, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. Universidad del Cauca. 2005.
37. Rebelo P. J. y Feldberg E. Comparative study of de armored catfishes of the genus *homoplasternun* (Siluriformes: *Callichthyidae*). Revista Genética, Volumen 15, Número 2, año 1992. Brazil.
38. Román V. César y Ruíz Raquel. Una Nueva Especie de pez del genero *Brycon americanus* (Ostariophysi: Characidae) del río Magdalena, Colombia. Revista Biología Tropical, Volumen 56, Número 4, Año 2008. Pp 1749-1763.
39. Ruppert, Eduard, Barnes, Robert. Zoología de los Invertebrados. Sexta edición. Editorial McGraw-Hill. México. 1995.
40. Saavedra, Diana y Pinzón Leonardo. Análisis cariológico de la especie *Brycon meeki* (Piscis, Characidae), en la Quebrada Las Tallas, afluente del río Patía (Cauca), trabajo de grado de el programa de Biología, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. Universidad del Cauca. 2008.
41. Sandoval D. Felipe. Caracterización de la Dieta Natural y de la calidad Biológica y fisicoquímica en la que se desarrolla la especie ictica *Brycon henni*. Eigenmann, 1913 (Pisces: Characidae), en la Quebrada las Tallas, Municipio del Patía, Departamento del Cauca. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca. Trabajo de Grado. Popayán. Colombia 2007. Pp. 45
42. Stansfiel, William D. Genética. Tercera Edición. McGRAW-HILL Interamericana, México. 1992 pp. 1, 29, 222-264.
43. Urán A. Determinación de número cromosómico y estudio cariológico en *Prochilodus reticulatus magdalenae* (Bocachico). Universidad de Antioquia. 1988.
44. Valencia C. Román. Sistemática de las especies colombianas de *Brycon americanus* (Characiformes, Characidae). Revista Dalia –Asociación Colombiana de Ictiología, ISSN 0122 – 9982, Numero 6. Editorial Unibiblos. Bogotá. D.C. 2003. Pp115.
45. Valencia C. Román. Three new species of the genus *Brycon americanus* sp. (Teleostei: Characidae) from Venezuela. Revista Dalia – Asociación Colombiana de Ictiología, ISSN 0122 – 9982, Número 6. Editorial Unibiblos. Bogotá. D.C. 2003. Pp115.
46. Vásquez et al. Identificación del número cromosómico del *Pseudopimelodus boffonius*, Universidad del Cauca. 1988.
47. Villegas J. Bernal. Genética Clínica simplificada. Segunda edición. Editorial Pregon. Santafé de Bogotá. 1992. Compendio tesis y otros trabajos de grado, edición Instituto Colombiano de Normas Técnicas Colombiana “Icontec”, Bogotá. D.C. Pp 129.