

**ANÁLISIS CROMOSÓMICO COMPARATIVO
DE LAS ESPECIES *Astroblepus grixalvii* (ASTROBLEPIDAE, Eigenmann 1912)
Y *Astroblepus chapmani* (ASTROBLEPIDAE, Humboldt 1805)
DE LA CUENCA ALTA DE LOS RÍOS
CAUCA Y PATIA**

ALVARO RAÚL GUACA FUENTES

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Magíster en Recursos Hidrobiológicos Continentales.**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
INSTITUTO DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS CONTINENTALES POPAYÁN
2013**

**ANÁLISIS CROMOSÓMICO COMPARATIVO
DE LAS ESPECIES *Astroblepus grixalvii* (ASTROBLEPIDAE, Eigenmann 1912)
Y *Astroblepus chapmani* (ASTROBLEPIDAE, Humboldt 1805)
DE LA CUENCA ALTA DE LOS RÍOS
CAUCA Y PATIA**

ALVARO RAÚL GUACA FUENTES

**Director:
SILVIO MARINO CARVAJAL V. Mg.**

**Asesor:
ALVARO RENAN CAJAS. Mg.**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
INSTITUTO DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS CONTINENTALES
POPAYÁN
2013**

Nota de Aceptación

Director: Silvio Marino Carvajal. Mg.

Firma del jurado

Firma del jurado

Fecha de Sustentación: _____

DEDICATORIA

**A Dios, a mis padres Olga Marina Fuentes,
Héctor Raúl Guaca, hermanos, familia, esposa
Azucena Carvajal e hijos Juan Pablo,
y Thomas que está en el cielo,
Compañeros de estudio en la maestría
y director del trabajo de Grado, amigos
que brindaron apoyo para alcanzar los
logros planteados en esta investigación.**

AGRADECIMIENTOS

Con mucho cariño y respeto y una exaltación a las personas e instituciones que de una u otra manera contribuyeron a una feliz culminación de este trabajo de grado e investigación.

Es mi gratitud con el director del trabajo de grado el Magíster Silvio Marino Carvajal, quien con sus conocimientos y asesoría, posibilitó la donación de materiales como reactivos e insumos, facilitando la finalización exitosa de esta investigación.

De la misma forma agradezco a la Doctora Luz Stella Hoyos y su asistente Elsa Velasco, por su oportuna asesoría e introducción a la citogenética en peces.

Al profesor Hildier Zamora, quien con sus asesorías en el proyecto nos condujo en la recolección de las muestras.

Al Magister Armando Ortega, profesor de Universidad Nacional, por sus asesorías en taxonomía de peces y ubicación de los sitios de muestreo

De igual manera al Magister José Beltrán por sus aportes en el trabajo de grado.

Agradezco a los compañeros de estudio de la maestría; Paulo Cesar Gamboa, Fabián Muñoz y a la bióloga Ofelia Mejía por la recolección de peces y sus oportunos aportes.

Así mismo, agradecimientos a las instituciones como la Corporación Regional Autónoma del Cauca CRC, por su colaboración y prestamos de equipos y análisis de aguas, encabezados por el Doctor Diego Zuluaga y el Biólogo Jaime Mauna y personal técnico de la estación de Timbío.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	12
INTRODUCCION	13
1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	14
2. ANTECEDENTES	16
3. OBJETIVOS	19
3.1. OBJETIVO GENERAL	19
3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	19
4. JUSTIFICACIÓN	20
5. MARCO TEORICO Y CONCEPTUAL	21
5.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES	21
5.1.1. Características y taxonomía de la especie <i>Astroblepus grixalvii</i> .	21
5.1.2. Características y taxonomía de la especie <i>Astroblepus chapmani</i>	22
5.2. DISTRIBUCION GEOGRÁFICA	23
5.3. TERMINOS ECOLOGICOS	25
5.3.1. Nicho ecológico	25
5.3.2. Nicho espacial o ambiental	25
5.3.3. Nicho trófico o alimentario	25
5.3.4. Nicho multidimensional	25
5.3.5. Nicho fundamental o potencial	25
5.3.6. Nicho realizado o real	25
5.3.7. Especiación	25
5.4. CITOGENÉTICA	26
5.4.1. Aplicación	27
5.4.2. Cromatina y cromosoma	27
5.4.3. Número y tipo de cromosomas	29
5.4.4. Tamaño e índices	30
5.4.5. Asimetría cromosómica	31
6. METODOLOGÍA	33
6.1. UBICACIÓN DE LAS ZONAS DE MUESTREO	33
6.1.1. Cuenca Alta río Cauca	33
6.1.2. Cuenca Alta río Patía	34

6.2. MATERIALES Y EQUIPOS	
6.2.1. Equipos	39
6.2.2. Materiales	39
6.2.3. Insumos	40
6.3. MÉTODOS DE CAPTURA	40
6.4. ESPECIES OBJETO DE ESTUDIO	41
6.5. CITOGENÉTICA	41
6.5.1. Obtención de Extendidos Cromosómicos (metafases)	41
6.5.1.1. Técnica cultivo de riñón	42
6.5.1.2. Técnica tratamiento del pez	43
6.6. ANÁLISIS CROMOSÓMICO	44
6.6.1. Identificación del número cromosómico	44
6.6.2. Clasificación de los cromosomas y montaje de los cariotipos	44
6.6.3. Cariotipo manual	49
6.6.4. Determinación del Ideograma	49
6.6.5. Análisis de resultados cromosómicos	50
7. RESULTADOS	51
7.1. PARAMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	51
7.2. CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES	52
7.2.1. <i>Astroblepus grivalvii</i>	52
7.2.2. <i>Astroblepus chapmani</i>	53
7.3. NÚMERO CROMOSÓMICO	57
7.4. CLASIFICACIÓN DE LOS CROMOSOMAS	58
7.5. CARIOTIPOS E IDEOGRAMAS	59
7.5.1. Asimetría cromosómica	72
8. DISCUSIÓN	74
CONCLUSIONES	80
RECOMENDACIONES	82
BIBLIOGRAFIA	84
ANEXOS	91

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Clasificación de los cromosomas según el valor índice centromerico (IC) y índice braquial (IB).	49
Tabla 2.	Valores promedio de los Parámetros físico-químicos hídricos de los sitios de muestreo.	51
Tabla 3.	Biometrías <i>A. chapmani</i> y <i>A. grivalvii</i>	53
Tabla 4.	Características morfológicas de <i>A. chapmani</i> y <i>A. grivalvii</i> .	53
Tabla 5.	Peso promedio de machos y hembras de <i>A. grivalvii</i> , de la Cuenca Alta de los ríos Cauca y Patía.	56
Tabla 6.	Longitud promedio de machos y hembras de <i>A. grivalvii</i> de la Cuenca Alta de los ríos Patía y Cauca.	56
Tabla 7.	Peso promedio para machos y hembras de <i>A. chapmani</i> , de la Cuenca Alta del río Cauca.	57
Tabla 8.	Longitud promedio de machos y hembras de <i>A. chapmani</i> de la Cuenca Alta del río Cauca.	57
Tabla 9.	Número Cromosómico de la especies en estudio, relacionado con el sexo y metafases analizadas.	58
Tabla 10.	Clasificación de los Cromosomas, según la posición del centrómero.	58
Tabla 11	Valores de asimetría A1 y A2, para machos y hembras de <i>A. grivalvii</i> y <i>A. chapmani</i> de la Cuenca alta de los ríos Cauca y Patía.	72
Tabla 12	Comparativa de estudios cromosómicos para algunos peces del orden Siluriformes y el género <i>Astroblepus</i> . Tomado de Swarca et al., 2007.	73

LISTA DE FÍGURAS

	Pág.
Figura 1. Ejemplar de <i>Astroblepus grixalvii</i> .	22
Figura 2. Ejemplar de <i>Astroblepus chapmani</i> .	23
Figura 3. Distribución geográfica de la familia Astroblepidae en América.	24
Figura 4. Sitios de Muestreo Departamento del Cauca para la Captura de los peces de las especies <i>Astroblepus grixalvii</i> y <i>Astroblepus chapmani</i> .	35
Figura 5. Mapa del municipio de Popayán, sitio de muestreo	36
Figura 6. Mapa del municipio de Timbío, sitio de muestreo	37
Figura 7. Mapa del municipio de Puracé, sitio de muestreo	38
Figura 8. Atarrayas y anzuelos utilizados en la pesca.	40
Figura 9. Equipo de Pesca eléctrica.	41
Figura 10. Separación de cromosomas.	45
Figura 11. Unión de fragmentos de cromosomas.	45
Figura 12. Eliminación de objetos indeseados.	46
Figura 13. Diferenciación de los Cromosomas en colores.	46
Figura 14. Rotación de los cromosomas en ángulos.	47
Figura 15. Ubicación del centrómero en los cromosomas.	47
Figura 16. Clasificación de los cromosomas.	48
Figura 17. Hemipene en el género <i>Astroblepus</i> .	52
Figura 18. Características biométricas y morfológicas del <i>A. grixalvii</i> .	54

Figura 19.	Características biométricas y morfológicas del <i>A. chapmani</i>	55
Figura 20.	Cariotipo de la especie <i>Astroblepus grixalvii</i> hembra, Cuenca Alta del río Cauca.	60
Figura 21.	Cariotipo de la especie <i>Astroblepus grixalvii</i> macho, Cuenca Alta del río Cauca.	61
Figura 22.	Ideograma de la especie <i>Astroblepus grixalvii</i> hembra, Cuenca Alta del río Cauca.	62
Figura 23.	Ideograma de la Especie <i>Astroblepus grixalvii</i> , macho, Cuenca Alta del río Cauca.	63
Figura 24.	Cariotipo de la especie <i>Astroblepus grixalvii</i> hembra, Cuenca Alta dl río Patía.	64
Figura 25.	Cariotipo de la especie <i>Astroblepus grixalvii</i> macho, Cuenca Alta del río Patía.	65
Figura 26.	Ideograma de la Especie <i>Astroblepus grixalvii</i> hembra, Cuenca Alta del río Cauca.	66
Figura 27.	Ideograma de la Especie <i>Astroblepus grixalvii</i> macho, Cuenca Alta del río Patía.	67
Figura 28.	Cariotipo de la especie <i>Astroblepus chapmani</i> hembra, Cuenca Alta del río Cauca.	68
Figura 29.	Cariotipo de la especie <i>Astroblepus chapmani</i> macho, Cuenca Alta del río Cauca.	69
Figura 30.	Ideograma de la Especie <i>Astroblepus chapmani</i> hembra, de la Cuenca Alta del río Cauca.	70
Figura 31.	Ideograma de la Especie <i>Astroblepus chapmani</i> macho, de la Cuenca Alta del río Cauca.	71

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1.** Fotografías de metafases de cultivo de riñón en proceso de estandarización, sitio No 1 Río Gualimbío, protocolo tratamiento del pez, sin levadura.
- Anexo 2.** Fotografías de metafases de cultivo de riñón en proceso de estandarización, sitio No 2 Río Timbío, protocolo riñón, con levadura.
- Anexo 3.** Fotografías de metafases de cultivo de riñón en proceso de estandarización, sitio No 3 Río Grande Coconuco, protocolo riñón, sin levadura.
- Anexo 4.** Biometría *Astroblepus grivalvii*, Río Patía.
- Anexo 5.** Biometría *Astroblepus grivalvii*, Río Cauca.
- Anexo 6.** Biometría *Astroblepus chapmani*, Río Grande – Coconuco.
- Anexo 7.** Planilla para el conteo de metafases y número cromosómico
- Anexo 8.** Número de metafases y conteo cromosómico de la especie *Astroblepus grivalvii* Sitio No 1, Timbío hembras y machos.
- Anexo 9.** Número de metafases y conteo cromosómico de la especie *Astroblepus grivalvii* Sitio No 2, Gualimbío hembras y machos.
- Anexo 10.** Número de metafases y conteo cromosómico de la especie *Astroblepus chapmani* sitio No 2, Coconuco hembras y machos.
- Anexo 11.** Prueba de student para las especies *A. grivalvii*, Cuenca Cauca y Patía.

RESUMEN

El pez negro o barbudo (*Astroblepus grivalvii*) y el pez baboso (*Astroblepus chapmani*), son peces nativos de la fauna Colombiana, algunos de estos endémicos de ciertas regiones, como es el caso del *A. chapmani*. Para su estudio citogenético, se muestrearon en quebradas y ríos afluentes de las Cuencas Cauca y Patía, de los municipios de Popayán, Coconuco, Timbío y Sotará.

Existen pocos trabajos a nivel genético sobre estas especies y de su género, para ahondar en esta área de investigación se reporta el estudio citogenético que permitió identificar los cariotipos de estos peces y determinar los posibles cambios cromosómicos mediante los procesos de especiación.

Las especies en estudio se capturaron con métodos convencionales: pesca eléctrica, atarraya, y anzuelo, en los ríos Timbío (Vereda el Platanillo Sotará) y río Cauca (río Grande Coconuco y Gualimbío), posteriormente se transportaron al laboratorio con el mayor cuidado en recipientes plásticos acondicionados con un aireador para evitar la muerte de los peces y se preparó un acuario, simulando su hábitat natural para evitar su mortandad, finalmente se aplicó la metodología basada en la obtención de extendidos mitóticos a partir de tejido de riñón, previamente se estandarizó el protocolo para cada especie, para ello se emplearon 21 ejemplares entre hembras y machos de cada especie y para cada sitio de muestreo.

Los análisis cariológicos obtenidos en el laboratorio de citogenética concluyeron un número cromosómico de $2n$ igual 54 cromosomas para la especie *Astroblepus grivalvii*, de las dos cuencas, permitiendo establecer que esta especie en las cuencas de los ríos Timbío (Municipio de Timbío) y Gualimbío (Popayán, corregimiento Santa Rosa) muestran similitudes genéticas, lo cual se puede inferir por su morfología, color, tamaño, tipo de hábitat y cariotipo, obtenidos en el presente estudio: especie *Astroblepus grivalvii* sitio No 1, Cuenca del Cauca parte alta del río Gualimbío, con número cromosómico diploide $2n$ igual a 54, determinado en la especie, tanto para hembras como para machos, siendo en su mayoría los cromosomas metacéntricos, seguido de submetacéntricos, subtelocéntricos y telocéntricos, con la siguiente fórmula; $28M + 12 Sm + 8 Sub-t + 6 T$ y *Astroblepus grivalvii* sitio No 2, Cuenca Alta río Patía, su número cromosómico igual a 54, igual a la especie de la otra cuenca y con fórmula cromosómica $34 M + 12 Sm + 6 sub-T + 2 T$.

La especie *Astroblepus chapmani* presenta un número $2n$ igual 56 cromosomas y con una fórmula cromosómica $42 M + 10 Sm + 2 Sub-t + 2 T$, su entorno acuático es diferente para esta especie, respecto al *A. grivalvii*, teniendo como hábitat aguas frías, cuya temperatura no supera los 12 grados centígrados.

INTRODUCCIÓN

A través del tiempo, los estudios concernientes a la determinación y caracterización de las especies ícticas, han involucrado investigaciones acerca de los hábitat, nichos, dietas, ciclo biológico, reproducción y taxonomía; esta última se ha apoyado en estudios citogenéticos, biomoleculares (marcadores moleculares de ADN) en la actualidad. Por tal motivo, el presente trabajo de investigación, da a conocer los estudios citogenéticos, biométricos y aspectos físico-químicos hídricos del hábitat de las especies "*Astroblepus grixalvii* y *Astroblepus chapmani*" de las cuencas de los ríos Cauca y Patía, zonas comprendidas entre los ríos Gualimbío, vereda la Mercedes (afluente del río Cauca) y río Timbío, vereda El Platanillal Sotará afluente de la Cuenca del Patía, y río Grande Coconuco afluente de la Cuenca del Cauca.

El género *Astroblepus* pertenece a la familia *astroblepidae*, peces que son comunes en las aguas continentales de Colombia y especialmente de los ríos Cauca y Patía con sus afluentes, localizándose desde los cero (0) metros hasta los cuatro mil metros sobre el nivel del mar (4000m), (Ortega., *et al* 2005).

El presente trabajo tuvo como objetivo la caracterización cromosómica comparativa de las especies *Astroblepus grixalvii* y *Astroblepus chapmani*, de los cuales no se tiene reporte a nivel bibliográfico, utilizando la técnica de cultivo de riñón, implementada y mejorada en el laboratorio de Toxicología, Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca.

Este tipo de investigación será útil para estudios citogenéticos posteriores en otras especies de peces y otros grupos taxonómicos de animales, además de evaluar agentes genotóxicos de la cuencas donde se realizó el muestreo, permitiendo la mejora y conservación de los hábitat de esta clase de peces de aguas continentales.

Igualmente se estableció un estudio sobre la calidad de aguas de las cuencas de los ríos Cauca y Patía con sus afluentes, teniendo en cuenta las variables fisicoquímicas analizadas fueron pH, oxígeno disuelto (O₂D), porcentaje de saturación de oxígeno (%O.D.) y temperatura (T).

1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Uno de los problemas del país y especialmente del departamento del Cauca, es la conservación de los recursos naturales, de los cuales hay pocos estudios a nivel biológico, ecológico y muchos más a nivel citogenético.

De ahí el interés por valorar los peces nativos del departamento del Cauca, especialmente las Cuencas altas de los ríos Cauca (quebrada río Grande en Coconuco, río Gualimbío en Popayán) y Patía (río Timbío).

En esta investigación se realizó el estudio citogenético de las especies: *Astroblepus chapmani* y *Astroblepus grivalvii*; de los cuales no se tiene mayor información, debido a que son peces primitivos (Maldonado Javier *et al.*, 2005), de poca importancia comercial, pero su valor a nivel ecológico y biológico no se ha establecido.

La presente investigación respondió a los siguientes interrogantes:

¿Cuál es el número y tipo de cromosomas de las especies *Astroblepus grivalvii* y *Astroblepus chapmani*, que habitan en las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía?

¿Existen diferencias numéricas o morfológicas en los cromosomas, entre machos y hembras de cada especie?

¿Existen diferencias cromosómicas de estas especies, que habitan en estas cuencas, que permitan establecer posibles hipótesis sobre los mecanismos de evolución cromosómica o modos de especiación por barrera o aislamiento geográfico?

Las dos primeras preguntas implican un estudio descriptivo y se resolverán cuando se conozca a fondo las características cromosómicas de cada especie.

La última pregunta implica una investigación comparativa y por lo tanto, para resolverse, se probarán las siguientes hipótesis: Si los especímenes de las especies *Astroblepus grivalvii* y *Astroblepus chapmani* de la cuenca alta del río Cauca son las mismas a las registradas en la parte alta del río Patía, entonces serán cromosómicamente semejantes, de lo contrario se observarán algunas diferencias en el número o tipo de cromosomas, permitiendo hipotetizar algún mecanismo de diferenciación cromosómica por aislamiento geográfico.

Si las especies *Astroblepus grivalvii* y *Astroblepus chapmani*, realmente pertenecen al mismo género, se espera que haya alguna semejanza cromosómica que evidencie la existencia de un criterio común a nivel taxonómico y genético.

2. ANTECEDENTES

En Colombia habitan especies ícticas continentales, que han sido poco estudiadas y más aun a nivel citogenético. De acuerdo a lo anterior, se cita una corta reseña histórica de estudios citogenéticos realizados con diversas especies ícticas.

Saavedra Diana y Pinzón David, 2008; en su Trabajo de grado “Análisis Cariológico de la especie *Brycon meeki* (Piscis. Characidae), en la Quebrada las Tallas, afluente del río Patía, municipio del Patía (Cauca)”, determinaron el número cromosómico de esta especie ($2n=50$), distribuidos en 24 metacéntricos y 26 submetacéntricos, que morfológicamente no se detectaron heterocromosomas, utilizando para este estudio citogenético la técnica de riñón, obteniéndose extendidos mitóticos, además de describir la taxonomía e ideogramas.

Lopez Diana et al., 2008; En su artículo “Caracterización citogenética del pez neotropical *Brycon henni* (Pisces: Characidae)” determinaron un número cromosómico con $2n = 50$, con la fórmula cromosómica: 26 metacéntricos, 16 submetacéntricos y 8 subtelocéntricos y un número fundamental igual a 100.

Swarca et al., 2007; en el estudio titulado “Revisión Citogenética Actualizada para las especies de la Familia Pseudopimelodidae, Pimelodidae y Heptapteridae (Pisces, Sluriformes)”. Sugerencia para la clasificación Citotaxonomía, presenta un resumen del número cromosómico y sus respectivas fórmulas para las especies del orden Siluriformes que habitan los ríos de Brasil, con lo cual pretendieron divulgar, ampliar y actualizar la información recopilada hasta la fecha.

Molina et al., 2004; determinaron el cariotipo del Bagre guatero *Hexanemataichthys herbergii* (Ariidae: Siluriformes) del estrecho del lago Maracaibo, Venezuela, con $2n = 56$.

Parada Guevara S.L. y Arias Castellanos, 2003; reportan la caracterización cariotípica del *Brycon siebenthalae* (Yamú) determinando el número cromosómico de esta importante especie nativa mediante cultivo sanguíneo. Se obtuvo un número cromosómico $2n=50$ con la siguiente fórmula: 24 cromosomas metacéntricos y 26 cromosomas submetacéntricos / subtelocéntricos.

Valencia César Román, 2002; en su artículo “Sistemática de las Especies Colombianas de *Bryconamericus*” presenta un estudio reconociendo 21 especies para Colombia pertenecientes al género *Bryconamericanus* (*alpha*, *andresoi*, *caucanus*, *cismontanus*, *cristiani*, *dahli*, *emperador*, *galvisi*, *guaytarae*, *guizae*,

heteresthes, *huilae*, *hypopterus*, *ichoensis*, *loisae*, *miraensis*, *multiradiatus*, *orteguasae*, *plutarcoi*, *peruanus.sp*), comprendidas en todos los sistemas hídricos.

Carvajal 2000; reporta estudios similares para las especies ícticas foráneas como *Oreochromis mossambicus* (tilapia negra), *Oreochromis niloticus* (tilapia nilotica), y *oreochromis roja* (híbrida, Tilapia roja), y para *Prochilodus reticulatus* (bocachico) de la parte alta del río Cauca y *Piaractus brachypomum* (cachama blanca).

Bolaños L et al., 1994; En su trabajo de grado titulado, Estudio citogenético de las especies ícticas *Piaractus brachypomum*, *Prochilodus reticulatus*, *Oreochromis niloticus*, *O. mossambicus* y *O. roja*, reportan los cariotipos de estas especies, con sus números cromosómicos.

Alzate C y Hurtado P 1991; determinaron la fórmula cromosómica de *Pimelodus clarias* (Nicuro), reportando un número cromosómico $2n=56$, con las siguientes clases de cromosomas para ambos sexos: 7 metacéntricos, 12 submetacéntricos y 9 acrocéntricos. Determinando también la fórmula cromosómica de *Pimelodus grosskopffi* (Capaz) con número cromosómico $2n=56$, con las siguientes clases de cromosomas para hembras y machos: 7 metacéntricos, 13 submetacéntricos y 8 acrocéntricos.

Uran A 1988; realizó el análisis Cariológico de *Prochilodus reticulatus* (Bocachico) de dos sitios diferentes del río Cauca (La Pintada y Tarazá), en el Departamento de Antioquia, en ambos casos encontró un número cromosómico igual a 52 y tres clases cromosómicas, pero con diferencias numéricas en la posición del centrómero de los cromosomas así: Metacéntricos: 42 para la Pintada y 48 para Tarazá Submetacéntricos: 6 cromosomas para la Pintada y 2 para Tarazá; Telocéntricos: 4 para la Pintada y 2 para Tarazá. También reporta algunas diferencias cariológicas consideradas como polimorfismos cromosómicos.

Vásquez 1988; presenta el análisis cariológico de *Pseudopimelodus bufonius* (Bagre sapo) en el departamento del Cauca, reportando un número cromosómico igual $2n= 54$ y las siguientes clases de cromosomas: 7 acrocéntricos, 10 metacéntricos y 10 submetacéntricos.

Molina F. y Uribe M. en 1988; presentan el estudio citogenético en el bagre marino (*Arius felis*), con organismos colectados en la Laguna de Términos, Campeche, México. El número cromosómico de esta especie es 54, con fórmula cromosómica $8m + 6sm + 10st + 3t$. No se detectaron diferencias con las Poblaciones específicas en Caminada Bay, EE.UU.

Arreguín E et al., en 1988; realizaron los estudios de los cromosomas en peces de la familia Gobidae, en sus artículos titulados "Los cromosomas de *dormitator latifrons* (Pices: Gobidae)".

Crosetti D; Sola L; Brunner P; Cataudella S en 1985; en el artículo "Cytogenetical Characterization of *Oreochromis niloticus*, *O. mossambicus* and Their Hybrid," Relaciona los números cromosómicos de tres especies de *Oreochromis* (Tilapia), así: *O. niloticus* $2n=44$ donde hay 1 metacéntrico, 8 submetacéntricos y 13 subtelocéntricos; *O. mossambicus* $2n=44$ donde hay 3 subtelocéntricos y 19 telocéntricos; *O. niloticus* x *O. mossambicus* $2n=44$ donde hay 3 metacéntricos, 2 subtelocéntricos y 17 acrocéntricos.

Sánchez et.al., 1983; caracterizaron cromosómicamente el híbrido entre *Oreochromis niloticus* (Tilapia nilótica) y *Oreochromis mossambicus* (Tilapia negra) reportando un número cromosómico $2n = 44$, con 3 metacéntricos, 2 subtelocéntricos y 17 acrocéntricos.

Andreatta A, Foresti F, De Almeida Toledo, Oliveira L en 1983; realizaron el estudio cromosómico de la familia loricariidae, artículo titulado "Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces: Siluriformes, loricariidae).

A nivel de las especies *Astroblepus chapmani* y *Astroblepus grixalvii* no se han reportado estudios citogenéticos, para ello se consultó universidades colombianas, así mismo las publicaciones de las revistas de los congresos a nivel de Biología y genética e internet.

3. OBJETIVOS

3.1.- OBJETIVO GENERAL

Realizar el estudio cariológico comparativo de las especies *Astroblepus chapmani* y *Astroblepus grixalvii* de las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía.

3.2.-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estandarizar el método para la obtención de los cariotipos en las especies *Astroblepus Chapmani* y *Astroblepus grixalvii*.
- Identificar el número y tipo de cromosomas de las especies *Astroblepus Chapmani* y *Astroblepus grixalvii* que habitan en las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía, en el departamento del Cauca.
- Determinar las diferencias y semejanzas que a nivel cromosómico, se presenten entre los dos sexos de una misma especie.
- Comparar las características cromosómicas (número y tipo), de peces de la misma especie (*Astroblepus chapmani* o *Astroblepus grixalvii*) que habitan cuencas diferentes (Cauca y Patía), para identificar posibles cambios cromosómicos asociados a posibles procesos de especiación por aislamiento geográfico.
- Determinar las características físico-químicas hídricas en las áreas de captura de las especies *Astroblepus chapmani* y *Astroblepus grixalvii* determinadas para este estudio.

4. JUSTIFICACIÓN

Las especies *Astroblepus grixalvii* y *Astroblepus chapmani* son poco conocidas, a nivel genético, debido a que existen pocos estudios en estos campos, además su consumo es mínimo, siendo peces de tamaño pequeño y de poco valor comercial, por lo cual no son apetecidos.

A demás, en Colombia, no existe información acerca de la citogenética del género *Astroblepus*, que comprende aproximadamente 56 especies (Ortega *et al.*, 2006)

Esta clase de vertebrados habitan en las zonas frías del Cauca, compartiendo su hábitat con la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), que es considerada su principal depredador y una de las posibles causas de su desaparición en ciertos ríos del departamento como: zonas altas del Cauca, Molino, Ejido, Cofre, Palacé y Paletará. De igual forma, el género *Astroblepus* se localiza en zonas más templadas como los ríos comprendidos entre Popayán, Santander de Quilichao y Patía, con su tributario río Timbío. Estas especies sirven de alimento para sabaleta, nutrias de río y aves pescadoras (Ortega *et al.*, 2005).

El presente trabajo da a conocer la primera aproximación cariotípica para poblaciones del género *Astroblepus*, de la cuenca alta del río Cauca (Quebrada río Gualimbío, corregimiento las Mercedes y río Grande Coconuco) y de la cuenca alta del río Patía (río Timbío, municipio de Sotará y Timbío), ampliando los conocimientos en el marco de los aspectos citogenéticos, realizando al mismo tiempo un análisis comparativo de los resultados obtenidos con otras investigaciones, los cuales se reportan en las referencias bibliográficas.

A largo plazo, esta investigación servirá como soporte ecológico y ambiental para la conservación de la diversidad biológica, en especial de la fauna íctica del departamento del Cauca.

5. MARCO TEORICO Y CONCEPTUAL

La familia Astroblepidae o Argidae (orden Siluriforme; clase Actinopterygii), deriva su nombre de su género *Astroblepus*, (Astrón = estrella; blepos = mirada), por sus ojos de color amarillo luminoso y su cuerpo oscuro (Ortega, 2007).

Está formada por un solo género “*Astroblepus*”, el cual agrupa más de cincuenta y seis especies (56). La mayoría son de tamaño pequeño y están adaptadas a la vida en quebradas corrientosas de las montañas (Ortega, 2007).

El primer científico que menciona al género *Astroblepus* fue Humboldt, quien, en el año 1840, describió el pez negro de Popayán y la especie *grixalvii* en honor del padre Grixalva, rector en ese entonces del Seminario Mayor. La especie descrita por Humboldt carecía de aletas ventrales. Sin embargo, todas las capturas posteriores mostraron individuos que poseían aletas ventrales y, por tal circunstancia, fueron ubicados en el género *Ciclo-podium de Swaison*, más tarde, de acuerdo a lo descrito por Miles: “Eigenmann concluyó que el dibujo de Humboldt tenía error”. (Dahl, 1971).

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES

Esta clase de peces se describen como: cuerpo anguiliforme, con aletas pares, dos aberturas branquiales con espino branquias, sin escamas o placas óseas y cuerpo cubierto por una mucosa que le sirve como mecanismo de protección; boca ubicada en posición ventral en forma de ventosa (Ortega, 2007).

Los astroblepidos se pueden adherir a las piedras de las quebradas caudalosas, permitiéndoles avanzar en contra de la corriente, por medio de saltos o nado continuo, adhiriendo la boca contra las piedras (Dahl, 1971).

5.1.1. Características y taxonomía de la especie *Astroblepus grixalvii*: su cuerpo puede alcanzar una longitud hasta de treinta centímetros (30 cm.), presentan una coloración oscura uniforme en todo su cuerpo y pintas negras en la región dorsal y lateral de la cabeza, sus aletas terminan en unas finas puntas membranosas a manera de hilos finos; su aleta dorsal se prolonga hasta la aleta caudal, característica propia de la especie (Dahl., 1971).

Se diferencia del *A. chapmani* por presentar la mayoría de los dientes anteriores intermaxilares o pre-maxilares puntiagudos unicúspides; el barbillón nasal de la misma longitud que el labio superior y el barbicelo maxilar alcanzando a llegar a la

abertura branquial; con una aleta adiposa larga y carnosa, tanto para hembras como machos, que va desde el borde posterior de la base de la aleta dorsal hasta unirse por medio de una membrana con el primer radio de la aleta caudal, con una espina rígida y corta en la parte posterior (Ortega, 2007).



Figura 1. Ejemplar de *Astroblepus grixelvii*

Esta especie se clasifica de la siguiente forma:

Dominio:	Eukarya
Reino:	Animal
Subreino:	Metazoa
Phylum:	Chordata
Grupo:	Craniata (Vertebrata)
Clase:	Actinopterygii
Orden:	Siluriformes
Familia:	Astroblepidae
Género:	Astroblepus
Especie:	<i>Astroblepus grixelvii</i>
Nombre común:	Pez negro, barbudo (Humbolt, 1805), (Kardong, 2000)

5.1.2. Características y taxonomía de la especie *Astroblepus chapmani*: puede llegar a tener una longitud hasta de doce centímetros (12 cm) y como hábitat solamente en aguas frías, y altura sobre el nivel del mar a 1800 m.s.n.m. o más (Ortega, 2005).

Su hábitat, son ríos que presentan buena calidad de aguas, es una especie bentónica que prefiere los ríos y quebradas con alta pendiente, en donde no hay turbulencias y corrientes fuertes, es capaz de remontar el cauce y migrar río arriba sin importar la topografía y la velocidad de la corriente gracias a la adaptación de sus labios en forma de ventosa que le sirve para aferrarse a las

rocas y evitar su arrastre; sus hábitos reproductivos se desconocen hasta el momento; se alimenta de insectos acuáticos bentónicos y material vegetal; es sensible a los cambios bruscos de temperatura, requiriendo aguas frías de 12 a 17 grados centígrados, con alta concentración de oxígeno disuelto y buena calidad físico química (Ortega *et al.*, 2005).



Figura 2. Ejemplar de *Astroblepus chapmani* (Fotografía cedida por Armando Ortega)

Su clasificación taxonómica es la siguiente:

Dominio:	Eukarya
Reino:	Animal
Subreino:	Metazoa
Phylum:	Chordata
Grupo:	Craniata (vertebrata)
Clase:	Actinopterygii
Orden:	Siluriformes
Familia:	Astroblepidae
Género:	Astroblepus
Especie:	<i>Astroblepus chapmani</i>
Nombre común:	Baboso (Eigenmann, 1912)

5.2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La familia de los Astroblepus se halla dispersa desde Centro América hasta el sur del continente, encontrándose en Argentina y México, pero con mayor diversidad de especies en Perú (en los ríos Amazonas, Santa y Marañón) y Colombia (tributarios de los ríos Cauca, Magdalena, Patía, Caquetá y Orinoco).

Este género es muy diverso en el departamento del Cauca y se encuentra desde zonas frías, aproximadamente a 4000 m.s.n.m hasta 800 m.s.n.m, presentando diferencias en variedad de formas y tamaños (Dahl, 1971).



Figura 3. Distribución geográfica de la familia Astroblepidae en América
 Fuente actual “La primera visión de **América**” en Estudios sobre el español de **América**, julioprensa.wordpress.com.

5.3. TÉRMINOS ECOLÓGICOS

5.3.1 Nicho Ecológico: las ideas de nicho y hábitat están estrechamente relacionadas y se define como la unidad de distribución última dentro de la cual una especie se encuentra retenida por las limitaciones de su fisiología, estructura física y posición de los gradientes ambientales (Temperatura, pH, Suelo, etc.), (Odum, 1971).

Para caracterizar el nicho ecológico de una especie se deben tener en cuenta aspectos fundamentales como:

5.3.1.1 Nicho espacial o ambiental: es el espacio físico que ocupa el organismo. Otra definición, según Odum (1971), es la suma total de sus distintos ambientes efectivos a lo largo de su vida, estos ambientes o entornos efectivos están formados por los hábitats y micro-hábitats, entendiéndose como un hábitat un área determinada en la que viven las plantas y los animales.

5.3.1.2 Nicho trófico o alimentario: rol funcional que este desempeña dentro de una comunidad; también se puede definir como el nivel que ocupa una especie en la cadena trófica, de acuerdo con sus relaciones alimentarias con otras especies, (Odum, 1971).

5.3.2 Nicho multidimensional: su posición en los gradientes ambientales de temperatura, humedad, pH, suelo y otras condiciones de existencia, (Odum, 1971).

Otro concepto de nicho es el de un espacio que le ofrece al individuo como un medio para sobrevivir indefinidamente. Este tipo de nicho es susceptible de medición y manipulación matemática y, además, dentro de él se pueden diferenciar otros tipos de nichos como:

5.3.2.1 Nicho fundamental o potencial: que se refiere a los rangos totales en donde se pueden encontrar determinada especie, teniendo en cuenta que no se vean afectados por competencia, tanto de espacio como por alimento, (Odum, 1971).

5.3.2.2 Nicho realizado o real: que es donde realmente se encuentra una especie, a pesar que presente un nicho potencial con rangos muy amplios. No hay un rango definido, pues se trata de un lugar pequeño específico, donde hay pocos individuos sometidos a coacción-biótica, la cual depende del tipo de ecosistema, (Odum, 1971).

5.3.3 Especiación: es el proceso mediante el cual una población de una determinada especie da lugar a otra u otras poblaciones, aisladas

reproductivamente entre sí y con respecto a la población original. Este proceso de 4.000 millones de años, ha dado origen a una enorme diversidad de organismos, que son los que actualmente pueblan la Tierra (Salisbury *et al.*, 1988).

Existen dos tipos de especiación:

Especiación alopátrica o especiación geográfica: básicamente es la especiación gradual que se produce cuando una especie ocupa una gran área geográfica que no permite que los individuos que estén muy alejados, puedan cruzarse entre sí, debido a barreras geográficas como mares, montañas o desiertos. Se trata, entonces, de la separación geográfica de un acervo genético continuo, de tal forma que se establecen dos o más poblaciones geográficas aisladas.

La separación entre las poblaciones puede ser debida a migración, a extinción de las poblaciones situadas en posiciones geográficas intermedias, o mediada por sucesos geológicos. La barrera puede ser geográfica, por ejemplo cumbres que separan valles en las cordilleras o zonas desérticas que separan zonas húmedas. La separación espacial de dos poblaciones de una especie durante un largo periodo de tiempo da lugar a la aparición de novedades evolutivas en una o en las dos poblaciones, debido a que el medio ambiente es distinto en las diferentes zonas geográficas; se detiene el flujo genético entre poblaciones, (Smith *et al.*, 2001).

Especiación simpátrica o simpátrida: implica la divergencia de algunas poblaciones locales (demes), hasta conseguir independencia evolutiva dentro de un mismo espacio geográfico. Habitualmente conlleva a que las nuevas poblaciones utilicen nichos ecológicos diferentes, dentro del rango de distribución de la especie ancestral, desarrollando mecanismos de aislamiento reproductivo, (Smith *et al.*, 2001).

5.4. CITOGENÉTICA

Es la ciencia híbrida que intenta correlacionar los eventos celulares, especialmente de los cromosomas, con los fenómenos genéticos.

Es una disciplina de la genética, encargada de la organización, segregación y distribución del material genético, (Burbano, 2000).

Citogenéticamente, una especie se caracteriza porque posee un cariotipo específico tanto en su número cromosómico como en su morfología; sin embargo, se han reportado variación cariotípica entre individuos de la misma especie (polimorfismos), (Nirchio *et al.*, 2005).

5.4.1. Aplicación: la información obtenida mediante el análisis cromosómico tiene varias aplicaciones como:

Estudios de cariotipo: Se denomina cariotipo al complemento cromosómico del individuo típico, respecto a la morfología, tamaño y número del juego cromosómico, que se perpetúa normalmente en la descendencia. Cada especie presenta un determinado cariotipo que lo diferencia de las demás y, al mismo tiempo lo condiciona frecuentemente a su aislamiento reproductor entre los individuos de una y otra especie, (Villegas, 1992). (Nicholas, 1996).

El cariotipo es la representación o imagen cromosómica completa de un individuo que se obtiene a partir de la microfotografía de una célula somática en fase de mitosis. El mejoramiento de las técnicas de análisis cromosómico llevó a establecer una nomenclatura a través de un comité internacional, que en 1978 publicó «An international system for human cytogenetic nomenclature», obra que constituye el código universal para describir el cariotipo normal y en especial sus alteraciones, (Nicholas, 1996).

Citotaxonomía: Los análisis citogenéticos se aplican a los estudios taxonómicos; para ello se debe establecer el cariotipo característico de cada especie y las semejanzas y posibles diferencias intersexo. Posteriormente a esto, se pueden hacer comparaciones entre especies emparentadas, con el fin de establecer posibles re-arreglos cromosómicos implicados en el proceso de especiación (Carvajal, 2000).

5.4.2. Cromatina y cromosoma: cromatina, es una sustancia albuminoidea fosforada constituida por ADN y proteínas (histonas y no histonas) que contiene a las demás, se encuentra en el núcleo de las células y se tiñe intensamente con colorantes básicos como el giemsa y la orceina acética, (Donald, Mc. 2002).

Cromosoma: se denomina cromosoma a cada uno de los corpúsculos, generalmente en forma de filamentos, que existen en el núcleo de las células y controlan el desarrollo genético de los seres vivos. Los cromosomas eucarióticos son filamentos de cromatina que aparecen contraídos durante la mitosis y la meiosis; sin embargo, cuando la célula no está en división (interfase o reposo), aparecen contenidos en un núcleo y no se pueden distinguir mediante tinción con determinados colorantes, (Stansfiel, 1992).

- Composición: el cromosoma está constituido por cadenas lineales de ácido desoxirribonucleico (ADN) y por proteínas, denominadas histonas, que empaquetan el ADN en unidades de repetición denominadas nucleosomas.

El ADN tiene un porcentaje (10-15% dependiendo del organismo) de pequeñas unidades llamadas genes. Éstos determinan las características hereditarias de la célula u organismo. Las células de los individuos de una

especie determinada, suelen tener un número fijo de cromosomas, que en plantas y animales superiores, por ser organismos diploides, se presentan en pares. Durante la fecundación, el espermatozoide y el óvulo se unen y reconstruyen en el nuevo organismo la disposición por pares de los cromosomas; la mitad de estos cromosomas procede de un parental y la otra mitad del otro, (Burbano, 2000).

La estructura y la actividad de los cromosomas varían en el ciclo celular, de tal manera que solo son visibles al microscopio durante la metafase, cuando se ubican en el plano ecuatorial y son inactivos transcripcionalmente, (Burbano, 2000).

- Ubicación: los cromosomas son estructuras complejas localizadas en el núcleo de las células, compuestos por ADN, histonas y otras proteínas, ARN y polisacáridos, (Herráez, 2002).
- Los cromosomas están presentes en todas las células de un organismo (excepto en algunos tipos muy particulares, de vida corta, como los glóbulos rojos, que carecen de núcleo en su etapa madura). Los cromosomas pueden llegar a medir entre 5 y 15 micrómetros, y para identificarlos hay que observar la célula en fase de división celular, especialmente durante la metafase o profase tardía, (Nicholas, 1996).
- El número de cromosomas es distinto para cada especie, aunque es constante para todas las células de la misma (ley de la constancia numérica de los cromosomas), excepto para las células reproductoras, que tienen una constitución cromosómica reducida a la mitad (haploide) con respecto a las células somáticas (Diploide), (Stansfiel, 1992).
- Función: las cadenas de ADN presentan secuencias no repetitivas de nucleótidos, con información genética, en unidades llamadas genes, codificadores de proteínas específicas, cada uno de los cuales posee por término medio entre 1.000 a 2.000 pares de nucleótidos. Las técnicas de estudio de los cromosomas han permitido obtener, con gran precisión, el cariotipo humano y de otras especies, detectar alteraciones genéticas responsables de síndromes genéticos. En todo cromosoma es posible distinguir dos mitades longitudinales o cromátidas (que se escinden durante la división celular), y un centrómero o constricción primaria a la que se fijan las fibras del huso acromático en el curso de la mitosis y de la meiosis, que delimita dos porciones laterales, los brazos del cromosoma, (Stansfiel, 1992).
- Fenotipo: Es un conjunto de caracteres hereditarios, que posee cada individuo perteneciente a una determinada especie vegetal o animal; en

otros términos, es una realización visible expresada del genotipo en un determinado ambiente o lo que se puede observar del genotipo, (Nicholas, 1996).

- Genotipo: Es la constitución genética de un individuo, explícitamente el conjunto de los genes constitutivos de un individuo o de una especie; generalmente referido a uno o varios genes relevantes en un contexto determinado, (Nicholas, 1996).

5.4.3. Número y tipo de cromosoma: el número cromosómico de cada especie tiene un número característico de cromosomas. La mayoría de los organismos superiores son diploides ($2n$), con dos juegos de cromosomas homólogos: un juego donado por el padre y el otro por la madre: En la naturaleza, es común encontrar alguna diferencia o variación en el número cromosómico (poliploide), (Stansfiel, 1992).

El término euploidía se aplica a los organismos con cromosomas que son múltiplos de cierto número básico, la cual puede ser:

Monoploide:	N
Diploide:	$2n$
Triploide:	$3n$
Tetraploide:	$4n$
Poliploide:	Más de $2n$

(Stansfiel, 1992)

Otra forma puede ser la aneuploidía, que consiste en presentar variaciones en el número cromosómico que no incluyen juego de cromosomas completos, si no solo a parte del complemento y se puede presentar en varias formas:

Monosómico:	$2n - 1$
Trisómico:	$2n + 1$
Tetrasómico:	$2n + 2$
Trisómico doble:	$2n + 1 + 1$
Nulisómico:	$2n - 2$

(Stansfiel, 1992).

Tipo de Cromosoma: los cromosomas están conformados por dos brazos uno corto y uno largo, separados por una constricción primaria llamada centrómero, según la posición de éste, los cromosomas se pueden clasificar en metacéntricos, submetacéntricos, telocéntricos y acrocéntricos, dependiendo del desplazamiento del centrómero hacia el extremo del brazo corto del cromosoma. Esta clasificación permite identificar el número fundamental del paquete cromosómico de una especie, (Burbano, 2000).

5.4.4. Tamaño e índices: en general, los cromosomas de la mayoría de los organismos son pequeños y son considerados como buenos materiales para la investigación citogenética. Una forma de observarlos al microscopio es en la etapa de metafase, la cual permite clasificarlos según su forma y tamaño, sexuales o no, y para ello se tiñen con colorante genéticos, (Stansfiel, 1992).

Uno de los índices de más uso en este tipo de estudios es el índice braquial o relación entre la longitud del brazo largo sobre la longitud del brazo corto. Según este, los cromosomas se clasifican como:

0.50 a > 0.37 Metacéntricos

0.37 a > 0.25 Submetacéntricos

0.25 a > 0.125 Subtelocéntrico

≤ 0.125 Telocéntricos

Fuente: Levan et al 1964; tomado de Carvajal, 2000.

Se calcula mediante la siguiente relación:

$$IC = \frac{q}{p + q}, \text{ donde } q = \text{brazo largo, } p = \text{brazo corto}$$

Otro de los índices de mayor uso es el índice centromérico o relación entre la longitud del brazo corto y la longitud total del cromosoma, (Burbano, 2000).

El cariograma se establece con los valores promedios de los índices y del tamaño de los cromosomas, de al menos tres metafases por sexo, el Ideograma es la representación gráfica del cariotipo, (Burbano, 2000).

Los mecanismos de evolución cromosómica implican re-arreglos cromosómicos. Entre los de mayor frecuencia están las inversiones pericéntricas y las translocaciones (especialmente las fusiones céntricas), (Burbano, 2000)

Las inversiones pericéntricas (IP) no cambian el número cromosómico pero sí su morfología. Las fusiones céntricas cambian el número cromosómico, mediante este mecanismo, dos cromosomas acrocéntricos pueden transformarse en un cromosoma submetacéntrico o metacéntrico, (Carvajal, 2000).

Los re-arreglos cromosómicos, por lo tanto, al cambiar la morfología del número cromosómico, se constituyen en una barrera reproductiva especialmente mediante la infertilidad de los híbridos, la cual se debe a que poseen juegos cromosómicos

morfológica o numéricamente diferentes. Entre mayores sean las diferencias morfológicas y numéricas entre las especies emparentadas, mayor es la infertilidad del híbrido y, por lo tanto, el proceso meiótico que conduce a la formación de los gametos es irregular. La sinapsis (apareamiento de cromosomas homólogos durante la profase I), no se realiza o se realiza parcialmente, originando gametos desequilibrados cromosómicamente, los cuales generalmente son inviables, (Carvajal, 2000).

5.4.5. Asimetría cromosómica: las medidas de asimetría, son indicadores que permiten establecer el grado de simetría o asimetría de un cromosoma, que se presentan en la elaboración de un cariotipo de una determinada especie.

Considerando al complemento cromosómico en su conjunto, se establecen dos clases de cariotipos-ideogramas: simétrico y asimétrico, diferenciación que presenta gran importancia en estudios de filogenia y evolución de los organismos.

El cariotipo y el ideograma simétrico: presenta todos los cromosomas aproximadamente del mismo tamaño y centrómeros de posición media y submedia.

Cariotipo-ideograma asimétrico: se presenta sus cromosomas más heterogéneos, con marcadas diferencias en el tamaño relativo de los cromosomas del complemento, como consecuencia de reordenamientos cromosómicos estructurales.

Hay dos tipos de asimetría, que se presentan en los cromosomas de una especie, la asimetría intracromosómica (A1) e intercromosómica (A2), por medio de estos parámetros numéricos, A1 y A2, se puede establecer los nexos genéticos y evolutivos entre especies taxonómicamente iguales o semejantes, de acuerdo al método propuesto por Romero-Zarco (1986), (Ferrer *et al.*, 2009).

El primer índice mide la asimetría intracromosómica y se calcula mediante la siguiente fórmula:

A1 = $(1 - (b1 / B1)) / n$; donde:

A1: Índice de Asimetría Intracromosómica. Varía de 0 a 1 y tiende a cero cuando los cromosomas son metacéntricos.

b1: Longitud promedio del brazo corto de cada par de cromosomas homólogos.

B1: Longitud promedio del brazo largo de cada par de cromosomas homólogos.

n: Número de pares de cromosomas homólogos.

El segundo índice (A2), mide la asimetría intercromosómica debido a la relación entre el largo de los cromosomas. Se estima utilizando el Coeficiente de Pearson, (Romero, 1986):

A2 = S/X; donde:

A2: Índice de Asimetría Intercromosómica.

S: desviación típica.

X: Promedio de la longitud de los cromosomas.

La asimetría intercromosómica, es un parámetro que ayuda a visualizar la variación existente entre los cromosomas del cariotipo de la misma especie. Cuando los tamaños de los cromosomas de una misma especie son más o menos uniformes o poco variables entre sí, la asimetría intercromosómica tiende a mostrar valores muy bajos, (Romero *et al.*, 1986).

Estos índices de asimetría permiten identificar posibles diferenciaciones de especiación evolutiva.

“Por lo expuesto anteriormente, todo programa de mejoramiento genético que implique el manejo y reproducción cruzada de variedades de la misma especie o de especies diferentes, debe partir del conocimiento de sus características cariológica”, (Carvajal, 2000).

6. METODOLOGÍA

La presente investigación comprendió los siguientes pasos:

Recolección de información: se acudió a una revisión bibliográfica en bibliotecas de las universidades, biblioteca de la maestría en Recursos Hidrobiológicos Continentales, Internet y profesores que realizaron trabajos a nivel de citogenética, especialmente con peces; también se acudió a pescadores de la zona para realizar bosquejos de posibles sitios de muestreo.

Salidas de campo: se realizaron jornadas de pesca, con el fin de recolectar los ejemplares para los análisis citogenéticos. Durante el trabajo de campo, se registraron los parámetros físico-químicos hídricos, para el posterior análisis y determinación de la calidad del agua donde habitan las especies.

Fase de laboratorio: en el laboratorio de Recursos Hidrobiológicos Continentales y laboratorio de Toxicología y Citogenética pertenecientes al Departamento de Biología de la Universidad del Cauca, se realizó la identificación taxonómica, morfológica, biométrica y el estudio citogenético,

Análisis de resultados: para lo cual se utilizó el diseño estadístico con la implementación de tablas para un mejor manejo de datos, con ayuda de una computadora y orientación del director de tesis.

6.1. UBICACIÓN DE LAS ZONAS DE MUESTREO

Se escogieron tres sitios de muestreo para la captura de los peces (Figura 4).

6.1.1. Cuenca alta del Río Cauca: Se encuentra delimitada por las divisorias de agua de las cordilleras Occidental y Central y por el norte con el límite del departamento del valle del Cauca. Tiene 7.395 Km de extensión, que equivalen a cerca del 25,2% de la superficie del departamento del Cauca, (Méndez N et al., 2006) y con una geoposición de 2° 26` 22" latitud norte y 76° 45` 66" longitud oeste (Ortiz *et al.*, 2000).

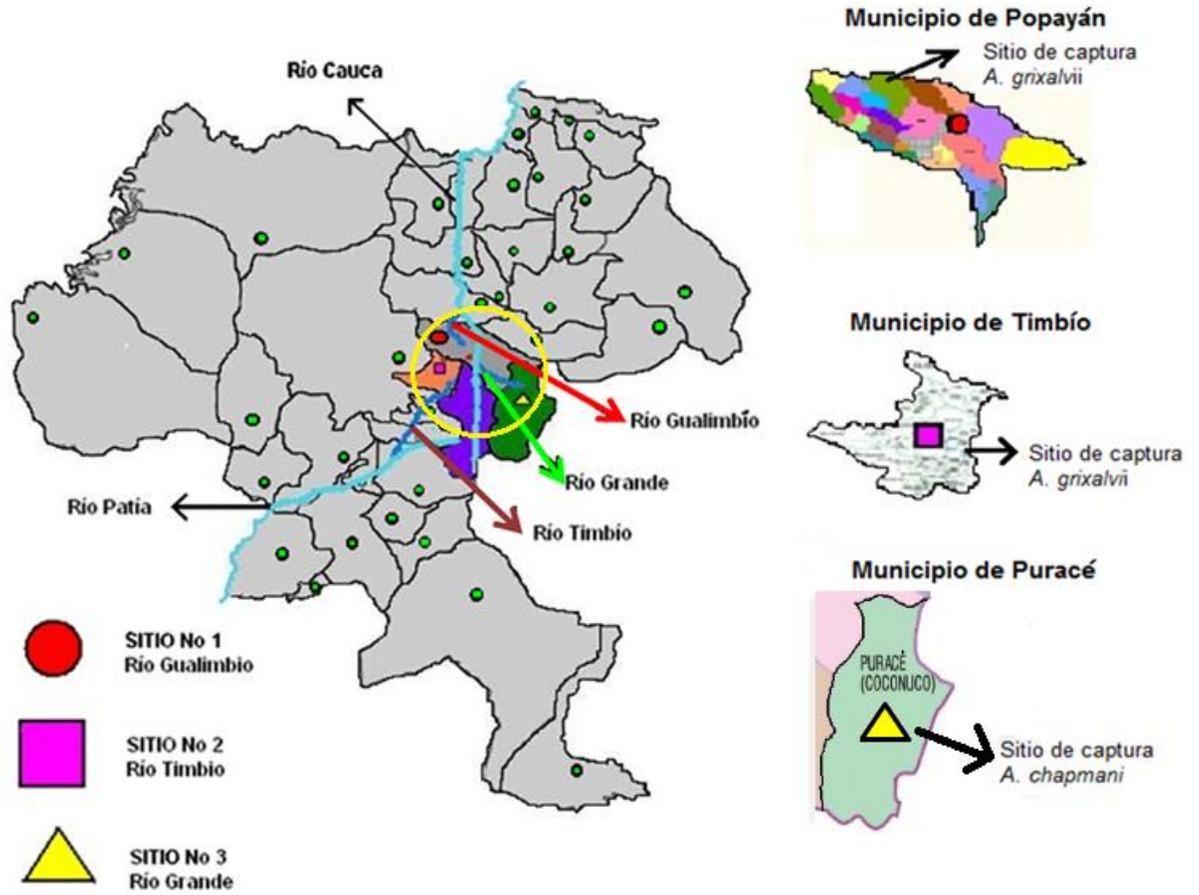
Río Gualimbío, en La Vereda Las Mercedes (Municipio Popayán) a 1.750 m.s.n.m. Es el sitio de muestreo No 1, está a una distancia de 40 km de la ciudad de Popayán, latitud de 2.°52", temperatura promedio de 22°C, desemboca directamente al río Cauca. En este sitio se capturó la especie *Astroblepus grivalvii*.

Río Grande (Municipio Coconuco) a 2.800 m.s.n.m, este río surte de agua potable al municipio de Coconuco, temperatura media de 16 °C, con precipitaciones anuales entre 1.600 y 2.500 mm.; regularmente las épocas de “baja pluviosidad” que se presentan en los meses de junio, julio, agosto y parte de diciembre y enero; el resto del año es de “alta pluviosidad”, predomina una vegetación de pastos, arbustos y árboles, con bastante deforestación, (Tobar, 2008). En este sitio se capturó a la especie *Astroblepus chapmani*.

6.1.2. Cuenca Alta del Río Patía: sitio No 2, río Timbío, vereda el Platanillal (Cabecera Municipio de Sotará) a 1.800 m.s.n.m. y con una geoposición de 29°.20' de Latitud Norte y a 29°.35' Longitud Oeste (Ortiz et al., 2000).

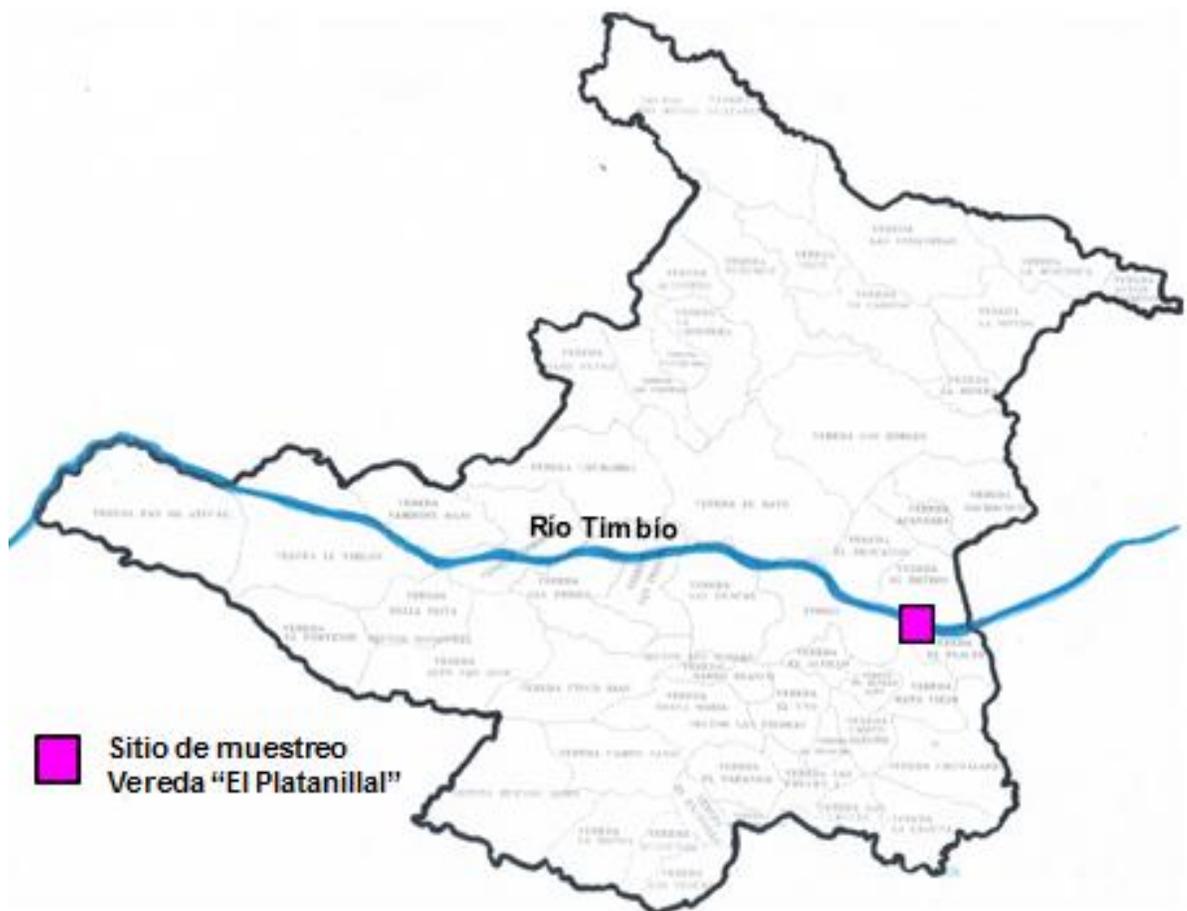
La subcuenca del río Timbío, es una área geográfica que comprende territorios del Municipio de Timbío, Sotará y Tambo. El río Timbío nace en el cerro las “Estrellas, cordillera central, a 2.200 m.s.n.m, jurisdicción del municipio de Sotará”, laderas del volcán Sotará. Desde su nacimiento hasta su desembocadura hace un recorrido de oriente a occidente, sus afluentes son: la quebrada el Obispo, río Sucio, río Jejenes, río Guabas, quebrada San Pedro y río Las Piedras. El río Timbío, en su curso, se une con el río Quilcacé, dando origen al río Patía, (Lemus, 1990).

De todo el sistema hídrico del municipio, el río Timbío es el más amenazado por problemas de contaminación, consecuencia del vertimiento de las aguas negras, residuos sólidos y líquidos provenientes de los más de ocho mil habitantes del sector urbano, del matadero municipal, de la explotación inadecuada del material de arrastre de su cauce, de las agua mieles generadas en el proceso de beneficio del café y de la deforestación intensa en todos los sectores de la cuenca, entre otros, (Lemus, 1990). En este sitio se capturó a la especie *Astroblepus grixalvii*, en la zona ubicada en la vereda El Platanillal, municipio de Sotará.



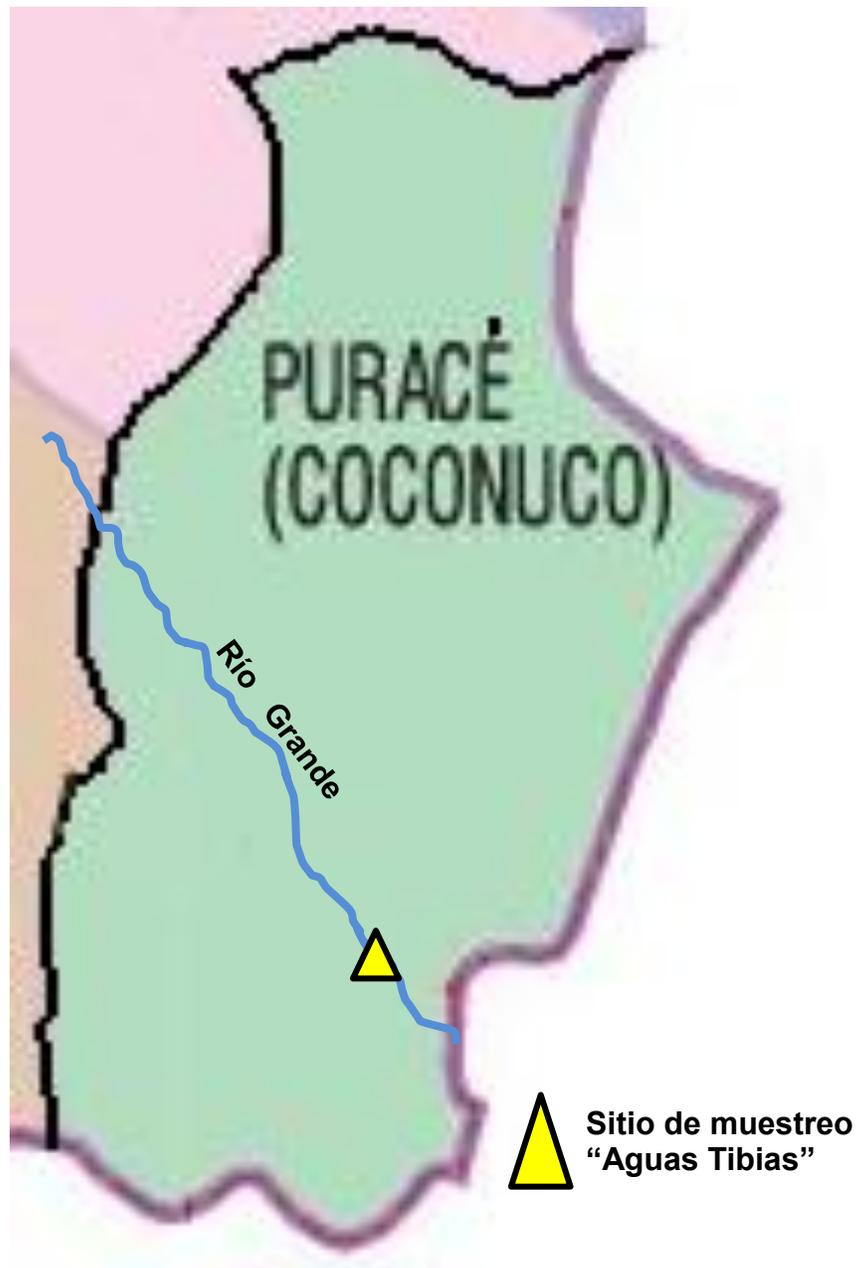
Adaptado del mapa Hidrográfico del departamento del Cauca, Instituto Geográfico Agustín Codazzi.

Figura 4. Sitios de Muestreo para la captura de los peces de las especies *Astroblepus grixalvii* y *Astroblepus chapmani*.



Adaptado del mapa Hidrográfico del municipio de Timbío, Instituto Geográfico Agustín Codazzi.

Figura 6. Municipio de Timbío, Sitio de Muestreo Río Timbío, Vereda el Platanillal



Adaptado del mapa Hidrográfico del municipio de Puracé, Instituto Geográfico Agustín Codazzi.

Figura 7. Municipio de Puracé, Sitio de Muestreo Río Grande, Corregimiento Coconuco.

6.2 MATERIALES Y EQUIPOS

6.2.1 Equipos:

Planta eléctrica (YAMAHA), para pesca
Chinchorro con ojo de malla de 0.5", 1" y 2" cm
Colador para pesca eléctrica
Equipo de colorimetría marca Hach.
Termómetro Fisherbrand 14-97
Balanza Analítica Precisión marca A & D, modelo GR-202
Equipo de disección
Calibrador alta precisión tipo val con 1/20 mm de aproximación.
Autoclave Modelo 900-D Chamberland standart de FRODIAP
Centrifuga Sorvall T 6000B.
Plancha de calentamiento (Thermo scientific model No HPA2245M).
Refrigerador Lab-Line. Instruments Inc.
Microscopio óptico (NIKON YS2).
Objetivo 100x con número de aumento 1000X
Microscopio óptico NIKON con montaje de cámara conectada a computador, objetivos 100X y lente de aumento 1.6, 2,6
Computador con software "LEICA QWIN".
Computador con sistema asistido para elaboración de cariotipos.

6.2.2 Materiales:

Guantes
Gasa
Placas porta y cubre objetos (FISHER BRAND 24 X50-1 ESMERILADO)
Papel craf
Chupones de Caucho (FISHERSCIENTIFIC No 13-678-9B).
Jeringas desechables de 3ml y 5ml (RYMCO)
Cajas de petri (Falcon).
Mechero.
Papel absorbente.
Tubos para cultivo (Falcon).
Alambre de cobre.
Pipetas pasteur (CORNING 709513-5X).
Papel aluminio.
Anzuelos calibre 9 y 10
Galandras
Atarrayas con ojo de malla de 0.5", 1" y 2" cms
Vara de pescar
Nailon para un kilo de peso.

6.2.3 Insumos

Agua estéril.
Sal marina al 2%.
Metanol (Baker analyzed 907001).
Ácido Acético (Codex 302002).
Cloruro de Potasio (0.45%).
Tripsina 0.0125% (Sigma TO64J).
Medio Completo RPMI 1640 (sigma 8758).
Suero Fetal Bovino al 10% (Sigma).
Solución carnoy (3m: 1ac)
Levadura al 10%.
Giemsa 2%.

6.3. METODOS DE CAPTURA

La captura de los peces se realizó mediante pesca artesanal, utilizando galandras que consiste en varios anzuelos (número 9 y 10), atarrayas (ojo de malla de 0.5", 1" y 2"cms) y chinchorros (ojo de malla de 0.5", 1" y 2"cm), en donde los ríos y quebradas no presentaban corrientes fuertes, facilitando el uso de estos instrumentos.



Figura 8. (a) Atarrayas

(b) Anzuelos

Otro método utilizado fue la pesca eléctrica, con ayuda de un equipo portátil y una planta eléctrica que suministra corriente eléctrica que fluctúa entre 120 a 650 voltios. Este sistema fue usado para la captura de los peces de la especie *A. grixalvii*, con un voltaje promedio de 90 voltios; dando buenos resultados para el sitio No 1, río Timbío, debido a que la pesca de los ejemplares se realizó en época de baja pluviosidad. En tiempo alta pluviosidad se dificultó utilizar esta clase de equipos, debido al aumento del caudal.

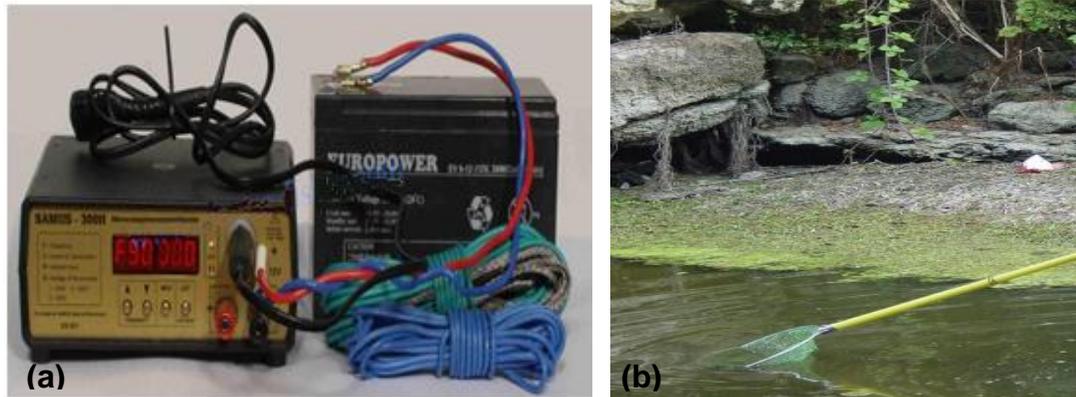


Figura 9. Equipo de Pesca eléctrica. (a) Planta eléctrica. (b) Colador para pesca eléctrica.

6. 4. ESPECIES OBJETO DE ESTUDIO

Se estudiaron las especies *Astroblepus chapmani* y *Astroblepus grivalvii*. El estudio se basó en la citogenética y biometría y fotografía de cada uno de los especímenes capturados, forma del cuerpo, el tipo y forma de distribución de aletas, presencia o ausencia de escamas o placas óseas, disposición o forma de la boca.

Se realizó en cada sitio de muestreo el análisis físico-químico hídrico, con la utilización de equipo de laboratorio Hach. Los parámetros determinados fueron: pH, oxígeno disuelto (OD), conductividad eléctrica, alcalinidad, temperatura. Los equipos utilizados para las mediciones son: conductímetro (Hach) y equipo de colorimetría Hach.

6.5. CITOGENÉTICA

Se realizó el análisis citogenético de las especies de *Astroblepus chapmani* y *Astroblepus grivalvii*, utilizando los métodos estandarizados de obtención de extendidos metafísicos, los cuales han sido implementados y mejorados en los laboratorios de Toxicología y Citogenética de la Universidad del Cauca, siguiendo y adaptando el protocolo diseñado en investigaciones ya realizadas por el investigador Silvio Carvajal, S. en trabajo publicado en el año 2000.

6.5.1. Obtención de Extendidos Cromosómicos (metafases): para los estudios cariológicos, se recolectaron ejemplares vivos en su hábitat natural, utilizando métodos de captura tradicionales (atarrayas, chinchorros, vara de pesca) y pesca eléctrica, evitando su contaminación y maltrato; posteriormente, los peces fueron trasladados vivos al laboratorio para iniciar la obtención de extendidos mitóticos, para lo cual se utilizó las técnicas de “Tratamiento del pez y riñón”.

Para la obtención de las metafases cromosómicas, se utilizaron doce (12) ejemplares por especie, entre hembras y machos, de cada sitio, seis (6) para la estandarización de la técnica y seis (6) para el análisis cromosómico de la especie.

Los peces se mantuvieron vivos en un acuario acondicionado con aireador, filtro de agua, termostato, piedras y bomba de agua, imitando a su hábitat, para ello se utilizó agua del sitio de captura, suplementada con sal marina al 2%, que actuó como tranquilizante y protección para el cuerpo del pez a posibles enfermedades producidas por hongos, ya que el pez puede sufrir heridas, producto de la manipulación al momento de la captura, posteriormente se llevaron al laboratorio.

En el laboratorio los ejemplares se pesaron y se realizó la respectiva biometría e inicio del proceso de cultivo de tejidos, utilizando las técnicas de “tratamiento del pez y riñón”, previa estandarización, para cada una de las especies a investigar, (Carvajal, 2000).

6.5.1.1. Técnica cultivo de Riñón: para este protocolo no se aplicó levadura, y dio buenos resultados para las especies *Astroblepus grixalvii* del río Gualimbío Sitio No 1 y *Astroblepus chapmani* del río Grande, sitio No 3, en la obtención de sus cromosomas y metafases (anexo 1, 2 y 3).

Para el tratamiento del riñón, se realizaron los siguientes pasos:

- a) Sacrificio y disección del pez.
- b) Extracción del riñón.
- c) Maceración del riñón en 4ml de tripsina al 0.0125 % (SIGMA TO64J), mezclado con medio simple (RPMI 1640, SIGMA 8758), menos de dos minutos para la especie *A. grixalvii* y dos minutos y medio para la especie *A. chapmani*.
- d) Se adicionaron 5 ml de medio completo RPMI 1640 (SIGMA 8758) suplementado con suero fetal bovino (SIGMA) al 10 %, para frenar la acción de la Tripsina, posteriormente se incubó a temperatura ambiente, durante dos horas.
- e) Se agregó colcemid, para peces pequeños 0.1ml y 0,2 ml para peces grandes, a una concentración del 0,013%, se sometió a incubación durante una hora y media (1:30) para *A. grixalvii* y dos horas (2:00) para *A. chapmani*.
- f) Se centrifugó durante 10 minutos a 1200 rpm, y se retiró el sobrenadante, con pipeta pasteur.
- g) Se adicionaron 6 ml de solución hipotónica (KCl al 0,45 %) y se dejó en reposo durante 40 minutos para la especie *A. grixalvii* y 50 minutos para *A. chapmani*, a temperatura ambiente del sitio de experimentación (20 °C).
- h) Se prefijó con 1 ml de solución carnoy; (3 metanol Baker analized 9070-01 y 1 de ácido acético codex 302002), recién preparado y en refrigeración, se

centrifugó y retiró el sobrenadante, este tipo de fijador mejoró la calidad de los cromosomas a la hora de hacer las prefijaciones.

- i) Se adicionaron nuevamente 4 ml de carnoy y se dejó en reposo durante 20 minutos, se centrifugó y se retiró el sobrenadante.
- j) Se adicionaron 4 ml de carnoy, se refrigeró en la nevera durante 24 horas.
- k) Después de este tiempo, se realizaron dos centrifugaciones más, con adición del fijador.
- l) El precipitado se goteó a una altura de 70 cm en placas. Antes del goteo las placas se limpiaron con ácido acético y carnoy, se colocaron al congelador, para formar una capa de escarcha, para mejorar el deslizamiento de los extendidos mitóticos en las placas, evitando así posibles daños de los cromosomas en el proceso de goteo.
- m) Se realizó el secado de las placas a 36 °C en la plancha para placas .
- n) Dos días después se colorearon las placas con giemsa al 10 %, durante 10 minutos, se secaron en la plancha para placas y fueron observadas al microscopio óptico. Las placas con buenos resultados se fijaron con xilol y se sellaron con entellan y cubre-objetos.
- o) Lectura y conteo de cromosomas en las metafases. Las mejores metafases en tinción y morfología de cromosomas se les realizó registro fotográfico con objetivos de 100X x 1.25, con filtro en verde a 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. Se llevó un control del conteo de metafases y el número cromosómico en una planilla de registro (anexo 7).

6.5.1.2. Técnica de Tratamiento del Pez: este protocolo dio buen resultado para la especie *Astroblepus grixalvii* del río Timbío, vereda el Platanillal (Sotará), Sitio No 2, (anexo 1, 2 y 3).

La diferencia con el anterior protocolo fue la aplicación de la levadura en el pez vivo, al diez por ciento (10%), 0.1ml por ocho gramos de peso (8 gr), utilizándose levadura activa y diluida en agua destilada, se inyectó con una jeringa de insulina en el pedúnculo caudal, manteniendo los ejemplares por doce horas (12h).

12 horas después se inyectó colcemid, con una concentración del 0.013%, en peces pequeños 0.1ml y en peces grandes 0.2 ml, en el pedúnculo caudal. A las dos horas (2h) se sacrificaron los peces y se extrajo el riñón en condiciones de esterilidad e higiene, y se depositó en una caja de petry, siguiendo con los demás pasos del protocolo para tratamiento del riñón, como adición de la tripsina al 0,0125% y medio completo.

6.6. ANÁLISIS CROMOSÓMICO

Se realizó la lectura, conteo y fotografía de las metafases bien conformadas (cromosomas) con el microscopio óptico Nikon, con montaje de cámara conectada al computador para operar con el software "LEICA QWIN", compatible con el sistema Microsoft Windows; identificándose de esta forma el número cromosómico correspondiente al número más frecuente, que se presentó en las células como número modal (M).

Las fotografías se procesaron con el programa Dev-cpp; además se realizó un procedimiento manual, para lo cual se recortaron los cromosomas de las fotografías y se montaron los cariotipos teniendo en cuenta el número, el tamaño y la forma según la posición del centrómero, con el programa Paint brush de Microsoft Windows y Photo Shot para Microsoft Windows®.

6.6.1. Identificación del Número Cromosómico: el número cromosómico de cada especie, se determinó realizando el conteo de los cromosomas, correspondientes a sesenta (60) metafase de machos y sesenta metafases de hembras. Se tomó como número cromosómico diploide ($2n$), el correspondiente al registrado en la mayoría de las metafases analizadas (número modal).

6.6.2. Clasificación de los cromosomas y Montaje de los Cariotipos: se seleccionaron seis de las mejores metafases, por sexo y especie, con cromosomas completos, de buena apariencia, y con el número cromosómico diploide, previamente establecido.

Se procedió a fotografiar cada una de las metafases seleccionadas, con el microscopio óptico Nikon, con montaje de cámara digital de conexión a computador, el cual posee el software "LEICA QWIN", compatible con el sistema Microsoft Windows®. El software en mención, captura las imágenes y las almacena automáticamente, las que luego fueron utilizadas para el montaje de los cariotipos.

Para determinar el montaje de los cariotipos se seleccionaron seis de las mejores fotografías de metafases, por cada sexo, especie y cada uno de los sitios de captura.

Se analizó cada imagen seleccionada, por sexo, especie y sitio de captura, con la ayuda de un sistema asistido para elaboración de cariotipos, el cual procesa las imágenes, por el color o contraste, otorgando un color específico para cada cromosoma (López *et al.*, 2007). El sistema asistido Dev-cpp tiene varias fases que permitieron realizar ajustes en la imagen de la metafase, con lo cual se determinó el tamaño, clasificación de los cromosomas y los respectivos cariotipos de las especies en estudio.

El sistema asistido tiene las siguientes fases:

Primera fase: permite separar los cromosomas que están muy cerca entre sí o a objetos que no pertenecen a los cromosomas, (Figura 10).

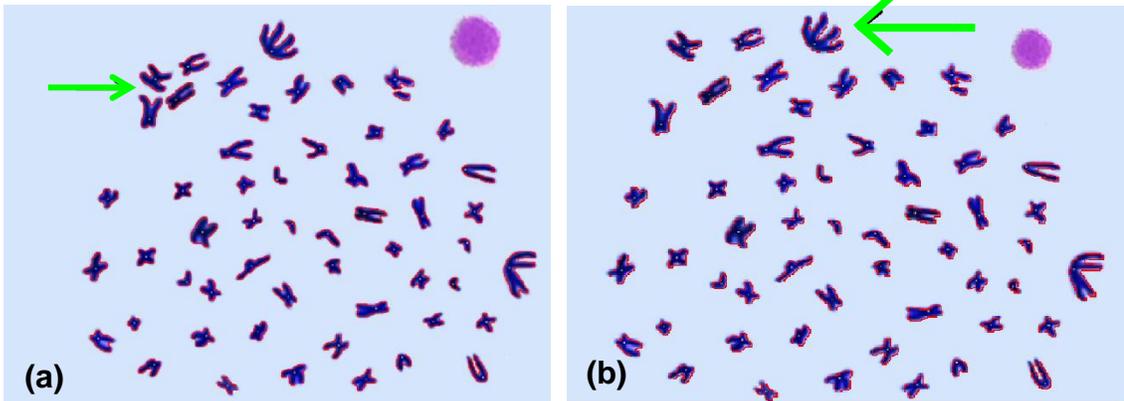


Figura 10. Separación de Cromosomas. (a) Cromosomas juntos. (b) Cromosomas separados.

Segunda fase: permite unir fragmentos de cromosomas, que el sistema no alcance a detectar como cromosomas completos, (Figura 11).

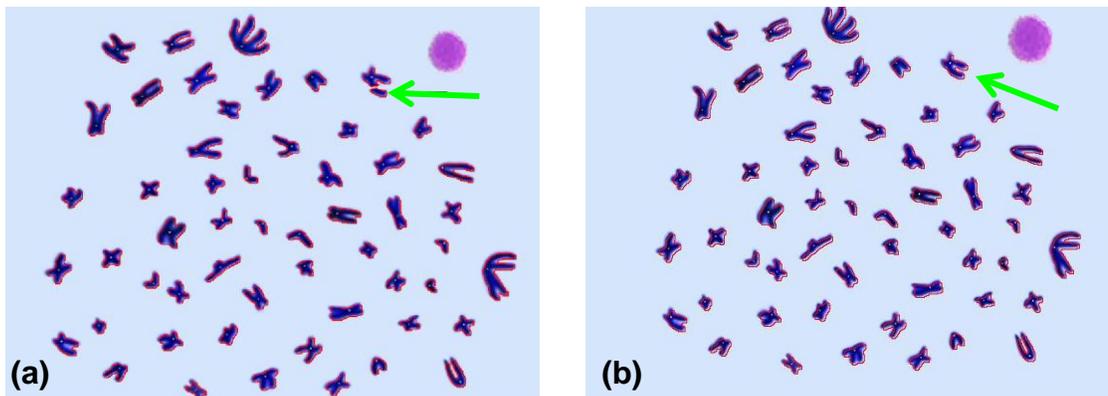


Figura 11. Unión de Fragmentos de cromosomas. (a) Cromosoma fraccionado. (b) Cromosoma arreglado

Tercera fase: permite eliminar objetos no deseados como basuras o manchas de tinción, burbujas de agua o aire y así evitar que el sistema los procese, generando error al analizar un objeto no deseado, el cual altere el resultado, (Figura 12).

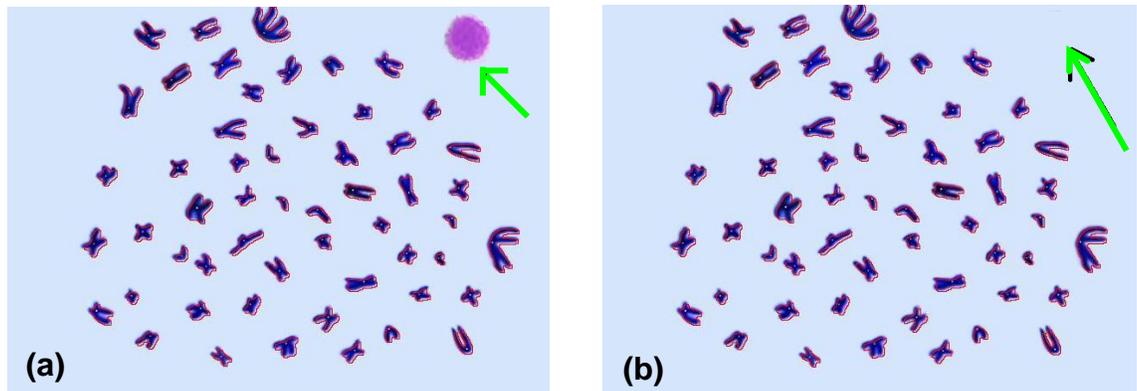


Figura 12. Eliminación de objetos indeseados. (a) Cuerpos extraños en los cromosomas (b) Eliminación de cuerpos extraños.

Cuarta fase: deja observar cada cromosoma en color diferente, para confirmar que no hay unión entre cromosomas, que el sistema podría analizar como si fuese uno, y se altere el resultado en la obtención del cariotipo, (Figura 13).

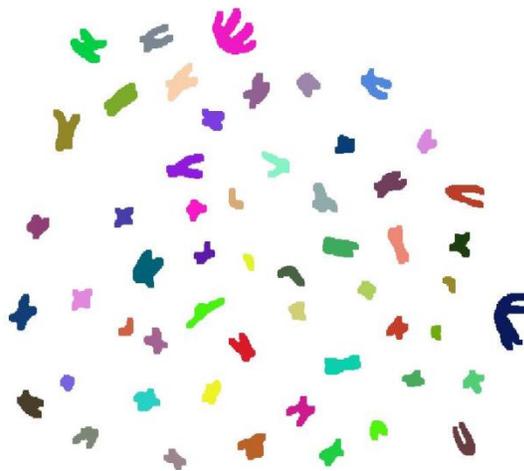


Figura 13. Diferenciación de los Cromosomas en colores.

Quinta fase: permite rotar automáticamente los cromosomas según el ángulo de inclinación, para ubicar cada cromosoma en forma vertical y ubicar el centrómero lo más acertadamente (Figura 14).

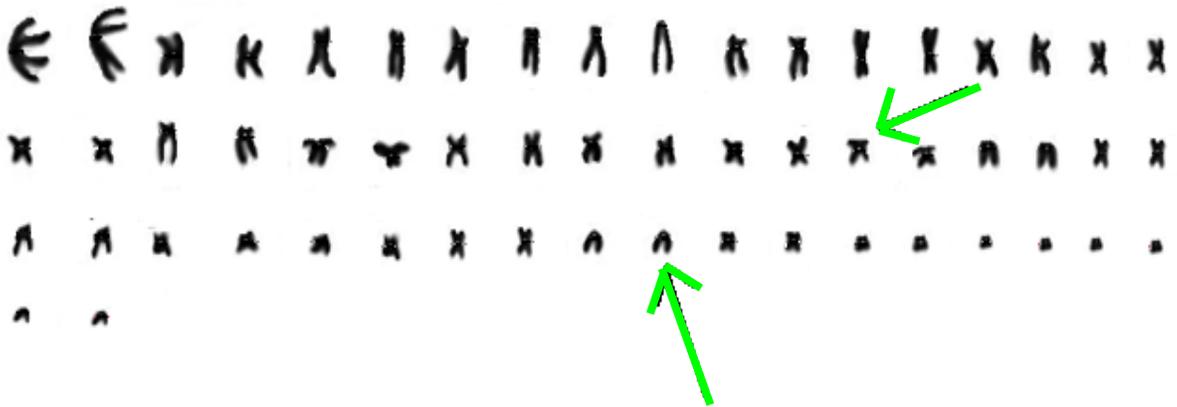


Figura 14. Rotación de los cromosomas en ángulos

Sexta fase: permite ubicar el centrómero a cada cromosoma manualmente con la ayuda del ratón, (Figura 15).

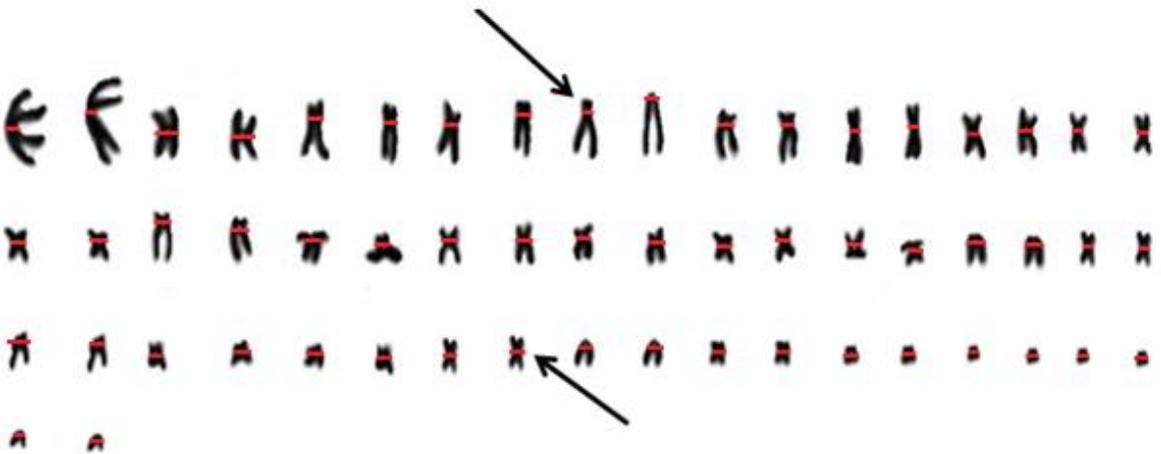


Figura 15. Ubicación del centrómero en los cromosomas.

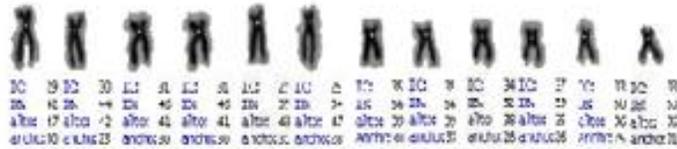
Séptima fase: muestra los cromosomas clasificados de acuerdo a los rangos pre-establecidos de la clasificación de Levan *et al.*, 1964 (Figura 16).

CARIOTIPO

Cromosomas metacéntricos



Cromosomas submetacéntricos



Cromosomas acrocéntricos



Cromosomas telocéntricos



DATOS

- Número Total de Cromosomas 54
- Cromosomas metacéntricos 34
- Cromosomas Submetacéntricos 12
- Cromosomas Acrocéntricos 6
- Cromosomas Telocéntricos 2

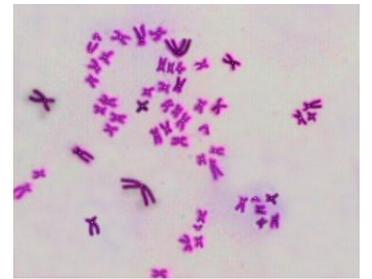


Figura 16. Clasificación de los cromosomas.

6.6.3. Cariotipo manual: para un mejor análisis de las imágenes y montaje de los cariotipos, se realizaron los cariotipos manualmente, para lo cual se utilizaron las mejores metafases, se editaron en un plotter con el uso de hojas de medio pliego.

Cada metafase seleccionada por sexo, especie y sitio de captura, se imprimió y se numeró cada uno de los cromosomas por cada metafase impresa, para llevar un patrón de control.

Posteriormente se realizó la medición manual del brazo corto y del brazo largo de cada uno de los cromosomas de las metafases seleccionadas; para la medición se utilizó un trozo de alambre de cobre No.14, el cual replicó las cromátidas dándole la forma real, debido a su gran flexibilidad.

Con el uso de un calibrador (Vernier Caliper) se tomó la medida de cada cromátida replicada en alambre de cobre, lo mismo para el brazo corto y largo, con las medidas se calculó el índice centromérico, clasificación propuesta por Levan, 1964, citada por Carvajal 2000. Este procedimiento se repitió para todos los cromosomas de las especies estudiadas, ver tabla No.1.

Tabla 1. Clasificación de los cromosomas según índice centromérico (IC) e índice braquial (IB).

Clasificación	IB = (p/q)	I.C= p/p+q	
Metacéntrico	1 < 1,7	0.5 > 0.37	
Submetacéntrico	1,7 < 3,0	0.37 > 0.25	
Subtelocéntrico	3,0 < 7,0	0.25 > 0.125	≤0.25 Subtelocéntricos
Telocéntrico	≥ 7,0	≤ 0.125	

Levan *et al.*, 1964 citado por Saavedra y Pinzón, 2008.

Con base en la tabla anterior, se clasificaron los cromosomas como metacéntricos, submetacéntricos, subtelocéntrico y telocéntricos. Se procedió a realizar el montaje del cariotipo, formando parejas cromosómicas de acuerdo a la morfología y el tamaño.

6.6.4. Determinación del Ideograma: con los datos obtenidos se promediaron las longitudes totales relativas (%) de cada una de las parejas de cromosomas de cada metafase, teniendo en cuenta que sean de la misma forma y con el tamaño más próximo posible. Se tomó como referencia el par cromosómico más grande del cariotipo, al cual se le asignó un valor del 100%. Utilizando la escala del programa PowerPoint, este valor se comparó con el resto de cromosomas asignándoles un valor de acuerdo a su porcentaje promedio y se ordenaron en forma descendente, según su longitud, en cada una de sus clasificaciones Levan *et al.*, 1964, tabla 2.

Se elaboró una representación gráfica de cada par cromosómico teniendo en cuenta el tamaño promedio relativo (%), la forma (posición del centrómero) y número correspondiente a cada pareja, según posición en el orden decreciente de tamaño, que corresponden a los ideogramas (Carvajal, 2000).

6.6.5. Análisis de los resultados cromosómicos: con base en la clasificación y tamaño relativo de los cromosomas, se procedió a comparar los sexos de cada especie de las cuencas (Cauca y Patía), para identificar semejanzas, diferencias y posibles mecanismos de evolución cromosómica, estableciéndose el cariotipo específico para las especies en estudio, también se tuvo en cuenta la asimetría cromosómica.

7. RESULTADOS

7.1. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

En la tabla 2 se presentan los valores de los parámetros físico químico del agua de los tres sitios de captura; para lo anterior se promediaron los datos de seis jornadas de muestreo. Los datos se presentan como su promedio \pm desviación estándar.

Tabla 2. Valores promedio de los Parámetros físico-químicos hídricos de los sitios de muestreo, los datos se reportan como promedio \pm desviación estándar (ds).

Especie	Zona de Estudio	Parámetro Promedio			
		pH	O ₂ .D. mg.l ⁻¹	% O.D.	T °C
<i>Astroblepus grixalvii</i>	1 Río Gualimbó (Cuenca Cauca)	6,71 $\pm 0,14$ ds	6,21 $\pm 0,11$ ds	68 $\pm 1,67$ ds	19,16 $\pm 0,81$ ds
	2 Río Timbío (Cuenca Patía)	6,8 $\pm 0,12$ ds	6,66 \pm 0,19 ds	70 $\pm 3,28$ ds	17,5 $\pm 1,04$ ds
<i>Astroblepus chapmani</i>	3 Río Grande (Cuenca Cauca)	6,81 $\pm 0,07$ ds	7,0 $\pm 0,14$ ds	61 $\pm 1,74$ ds	14,16 $\pm 0,75$ ds

(Promedio del análisis de 6 jornadas de muestreo)

Los sitios de muestreo presentan un pH estable, que tiende a neutro, con una ligera acidez. En lo que respecta al oxígeno disuelto y porcentaje de saturación de oxígeno, se establece que están en óptimas condiciones (aceptable 5 – 8 y 60 – 80 %), (Roldan, 1992), para el desarrollo de la flora y plancton acuático. Los suelos en las zonas de muestreo son de origen volcánico, por lo cual tienden a ser ácidos, influenciando también el pH del agua por el fenómeno de filtración y capilaridad, esta acidez se debe posiblemente a la presencia de sulfuros y trazas de azufre.

La temperatura del río Grande en Coconuco, corresponde a un piso térmico frío. Los ríos Gualimbó y Timbío, presentan una temperatura similar, correspondiente a un piso térmico templado, (Méndez *et al.*, 2006).

Uno de los factores que puede incidir en los parámetros fisicoquímicos es la radiación solar, que es considerada la fuente primaria para la vida sobre la tierra, la cual determina en estos ecosistemas, la cantidad de luz, que afecta la temperatura del agua, provocando ciclos de productividad en estas zonas, (Roldan, 1992). Además del buen flujo continuo de agua, permitiendo un constante recambio, facilitando la oxigenación del medio acuático y dándose el desarrollo de la vida acuática.

7.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES

En la tabla 3 se mencionan algunas de las características biométricas de las especies, y en la tabla 4 la presencia o ausencia de algunas características morfológicas.

7.2.1. *Astroblepus grixalvii*: tolera una carga eléctrica hasta de 100 voltios, lo cual facilitó su captura, los machos, en estado adulto, presentan un hemipene en la región ventral entre las aletas pélvicas, las hembras no presentan modificaciones en esta aleta. Este dimorfismo sexual también se ha observado en el *A. Ubidai* y *A. chapmani*, (Figura 17), (Ortega, 2005).

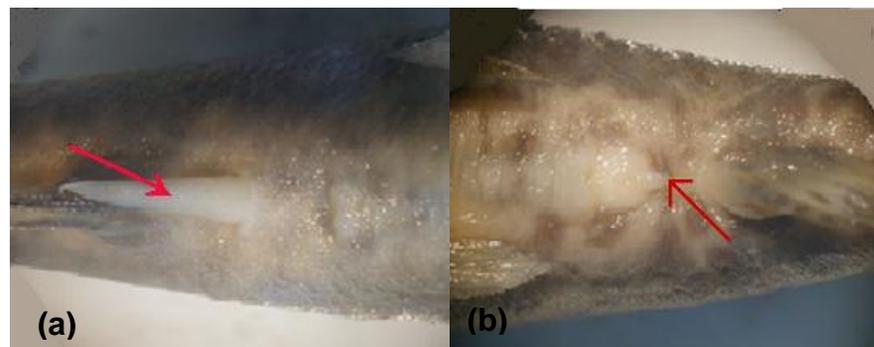


Figura 17. Hemipene en el género *Astroblepus*. (a) Hemipene del macho *A. grixalvii*. (b) Órgano femenino de la hembra *A.*

Con respecto a su comportamiento, los ejemplares capturados se encontraron en fondo rocoso, formado por guijarros o gravas con corrientes moderadas, vegetación de macrófitas, con pendientes entre los 20 y 30 grados de inclinación, la profundidad del río no superó los 1,20 m.

La mejor hora para la captura de los ejemplares está entre las seis de la tarde (6 pm) y las seis de la mañana (6 am) y el arte de pesca más efectivo fue mediante el uso de anzuelo y carnada; por lo cual se puede inferir que sus hábitos son nocturnos y carnívoros.

Con respecto a su tamaño, el total de peces que correspondió a 21 capturados por cuenca, tienen una longitud total que varía entre 2 cm hasta los 18 cm y peso de

1gr a 58 gr, para el análisis cromosómico se seleccionaron peces sexualmente maduros y de buen tamaño, es decir los de mayor longitud y peso (anexo 5 y 6).

7.2.2. *Astroblepus chapmani*: pueden soportar una carga eléctrica hasta de 90 voltios, por lo que se debe ser cuidadoso en su captura. Presentan un dimorfismo sexual igual a la especie *A. grixalvii*.

Con respecto a su comportamiento, los ejemplares capturados se encontraron en el fondo, con abundancia de rocas, con corrientes moderadas, con pendientes, la profundidad del río, no superó los 80 cm, su captura se realizó con costalilla, ello debido al poco caudal presentado en la estación de baja pluviosidad y facilidad de pesca.

Con lo que respecta a su tamaño, los peces capturados midieron entre 0,5 cm hasta los 12 cm de largo, con un peso entre 0,5 y los 17 gr. Para el análisis cromosómico se utilizaron peces sexualmente maduros, es decir los de mayor longitud y peso (anexo 6).

La captura se realizó desde la mañana (6 Am), hasta el mediodía (12 Am). Son de hábito diurno y tienen como hábitat aguas limpias y frías. Se pueden utilizar como bioindicadores, debido a que no toleran aguas con algún grado de contaminación.

En general, la especie *A. grixalvii* presenta mayor tamaño y la prolongación de la aleta dorsal hasta la aleta caudal, la cual está ausente en *A. chapmani*.

Tabla 3. Biometría *A. chapmani* y *A. grixalvii*

Datos	<i>A. chapmani</i>	<i>A. grixalvii</i>
Longitud total máxima (cm)	12,0	18,0
Longitud total mínima (cm)	0,5	2,0
Peso máximo (gr)	6,40	58,10
Peso mínimo (gr)	0,35	2

Tabla 4. Características morfológicas de *A. chapmani* y *A. grixalvii*

Datos	<i>A. chapmani</i>	<i>A. grixalvii</i>	Características morfológicas (n ^o)
Hemipene en machos	Si	Si	1
Opérculo (cubierta de las agallas)	Si	Si	2
Línea lateral	Si	Si	2
Aleta dorsal	Si	Si	1
Aleta adiposa	No	Si	1
Pedúnculo caudal	Si	Si	2
Aleta caudal	Si	Si	1
Aleta anal	Si	Si	1
Aleta pélvicas	Si	Si	2
Aletas pectorales	Si	Si	2
Prolongación de aleta dorsal hasta la caudal	No	Si	1

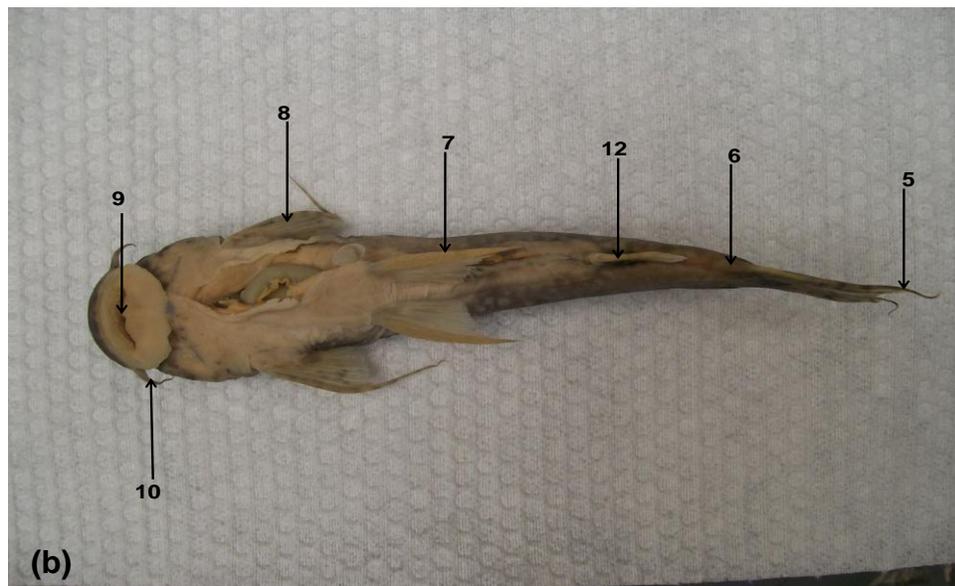
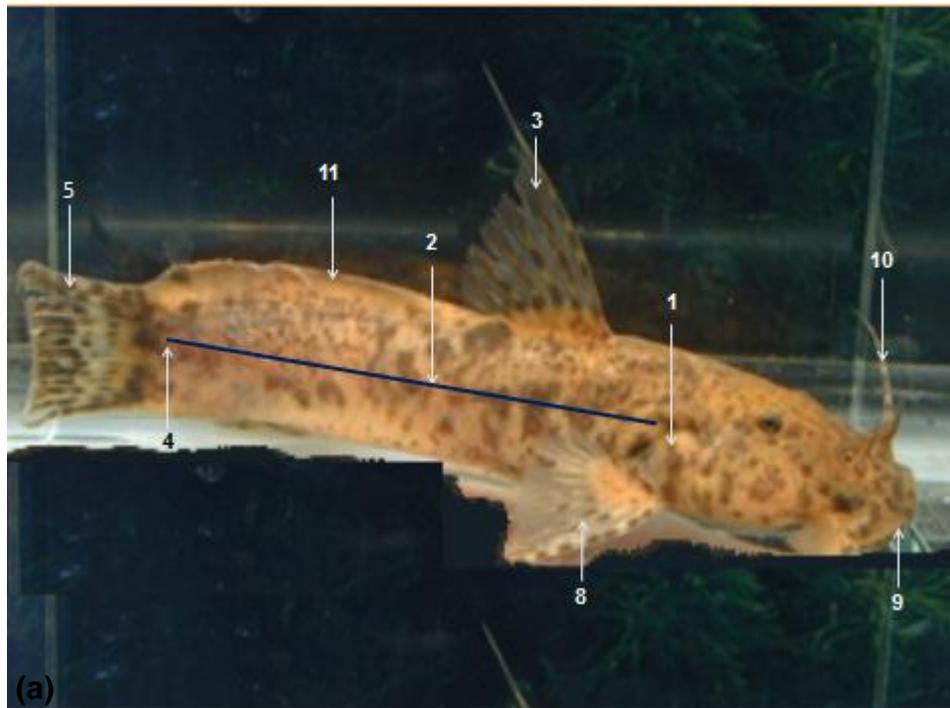


Figura 18. Características morfológicas *A. grixalvii*. (a) vista dorsal, (b) vista ventral. 1. Opérculo (cubierta de las agallas), 2. Línea lateral, 3. Aleta dorsal, 4. Pedúnculo caudal, 5. Aleta caudal, 6. Aleta anal, 7. Aletas pélvicas (pares), 8. Aletas pectorales (pareadas), 9. Boca, 10. Barbicelos, 11. Aleta adiposa, 12. Hemipene.

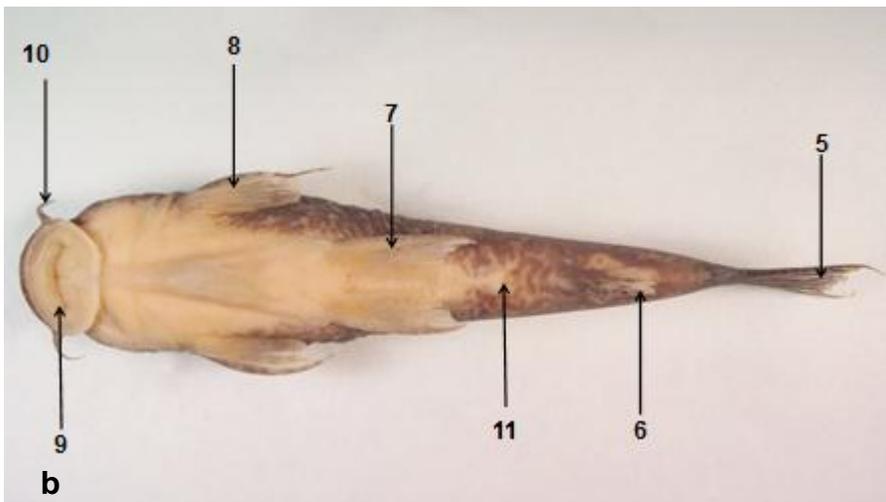
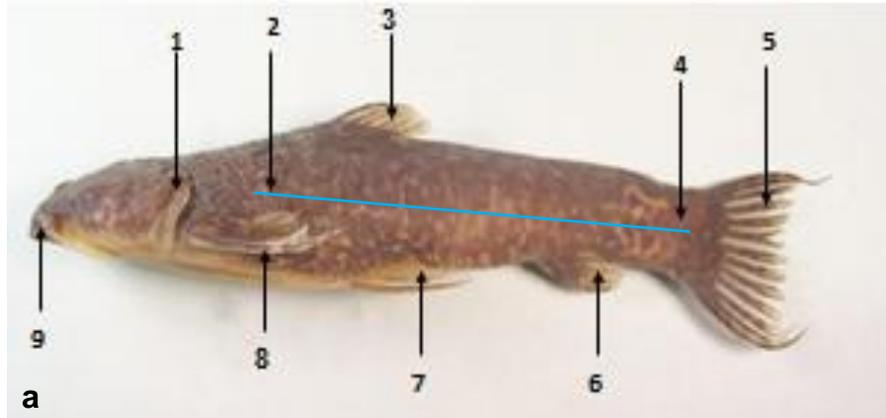


Figura 19. Características morfológicas *A. chapmani*. (a) Vista lateral. (b). Vista ventral. 1. Opérculo (cubierta de las agallas), 2. Línea lateral, 3. Aleta dorsal, 4. Pedúnculo caudal, 5. Aleta caudal, 6. Aleta anal, 7. Aletas pélvicas (pares), 8. Aletas pectorales (pareadas), 9. Boca, 10. Barbicelos, 11. Hemipene.

Tabla 5. Peso promedio (gr) de machos y hembras de *A. grixalvii*, de la Cuenca Alta de los ríos Patía y Cauca.

SEXO	PESO (gr) CUENCA						Sig.
	RIO PATIA			RIO CAUCA			
	Media	Desv típica	N	Media	Desv típica	N	
MACHO	17,76	±5,10	13	33,74	±13,95	9	<0,025**
HEMBRA	16,72	±4,42	8	32,40	±10,40	12	
TOTAL	17,36	±4,77	21	32,97	±11,74	21	42
Sig.	0,639*			0,803*			

*Significancia estadística entre machos y hembras de la especie *A. grixalvii*, determinada mediante prueba t

**Significancia estadística entre las Cuencas de los ríos Cauca y Patía, determinada mediante prueba t.

En la tabla 5, se observa el peso promedio en gramos (gr) de la especie *A. grixalvii* para hembras y machos de las Cuencas Altas de los ríos Patía y Cauca, según la prueba t con una significancia de 0,639, no hay diferencia significativa en el peso promedio entre los géneros de una misma cuenca, pero si se identificó diferencia estadísticamente significativa con respecto del peso promedio de machos y hembras de las dos cuencas, entre el peso promedio total de *A. grixalvii* del río Patía respecto del peso promedio del *A. grixalvii* del río Cauca. En promedio los peces *A. grixalvii* del río Cauca doblan en peso a los peces *A. grixalvii* del río Patía (anexo 11).

Tabla 6. Longitud promedio en (cm) de machos y hembras de *A. grixalvii*, de la Cuenca Alta de los ríos Patía y Cauca.

SEXO	LONGITUD (cm) CUENCA						Sig.
	RIO PATIA			RIO CAUCA			
	Media	Desv típica	N	Media	Desv típica	N	
MACHO	12,24	±1,71	13	14,86	±2,24	9	0,856**
HEMBRA	11,88	±1,42	8	14,99	±2,39	12	
TOTAL	12,10	± 1,58	21	14,93	±2,27	21	42
Sig.	0,626*			0,903*			

*Significancia estadística entre machos y hembras de la especie *A. grixalvii*, determinada mediante prueba t

**Significancia estadística entre las cuencas de los ríos Cauca y Patía, determinada mediante prueba t.

En la tabla 6 se reportan las longitudes promedio (cm) de machos y hembras de la especie *A. grivalvii*, de la parte Alta de las Cuencas de los ríos Cauca y Patía, mostrando que según la prueba t, no existe diferencia significativa entre géneros ni entre las dos cuencas; se puede concluir que los ejemplares estudiados son muy semejantes.

Tabla 7. Peso promedio en (gr) de machos y hembras de *A. Chapmani*, de la Cuenca Alta del río Cauca.

SEXO	PESO (gr)		
	RIO CAUCA		
	Media	Desv típica	N
MACHO	12,59	±2,77	9
HEMBRA	11,78	±2,55	10
Sig.	0,515		

Tabla 8. Longitud promedio en (cm) de machos y hembras de *A. Chapmani*, de la Cuenca alta del río Cauca.

SEXO	LONGITUD (cm)		
	RIO CAUCA		
	Media	Desv típica	N
MACHO	6,71	±1,42	9
HEMBRA	6,64	±1,30	10
Sig.	0,905		

En las tablas 6 y 7 se presentan los pesos y longitudes promedio para hembras y machos de la especie *A. chapmani*, de la parte Alta de la Cuenca del río Cauca.

Según la prueba t no hay diferencia significativa de peso y longitud de los sexos de los peces estudiados. No se comparó esta especie con la Cuenca del río Patía, debido a que no se encontraron ejemplares en los sitios de muestreo.

7.3. NÚMERO CROMOSÓMICO

En la tabla 9 se reporta el número cromosómico diploide (2n) identificado para cada especie, correspondiente al número modal de las metafases (anexo 8, 9 y 10).

Tabla 9. Número Cromosómico de las especies en estudio, relacionado con el sexo y metafases analizadas.

Especie	Sitio Captura	Sexo	No. Cromosómico	Número de Metafases (%)
<i>Astroblepus grixalvii</i>	Cauca (río Gualimbío) Sitio No 1	Macho	54	34 (28,33)
		Hembra	54	40(33,33)
	Patía (río Timbío) Sitio No 2	Macho	54	35 (29,16)
		Hembra	54	39 (32,50)
<i>Astroblepus chapmani</i>	Cauca (río Grande) Sitio No 3	Macho	56	32(26,66)
		Hembra	56	37(30,83)

Se evidencia que no hay diferencia cromosómica numérica, entre las especies *A. grixalvii* de las dos cuencas; ni tampoco entre hembras y machos. El número diploide identificado es $2n = 54$. El porcentaje más alto de metafases analizadas corresponde a la especie del río Gualimbío con un valor al 33,33 por ciento, con un total de metafases de 40 observadas para peces hembras y para machos del mismo sitio de estudio corresponde a un valor del 28,33 por ciento, para un total de 34 metafases.

Para *A. chapmani* de la cuenca del río Cauca, el número diploide identificado fue $2n = 56$, tampoco se evidencia diferencias entre machos y hembras.

Aunque la proporción de metafases que tienen el número modal de cromosomas, es relativamente alto, entre el 32 y 42 %, se presenta un buen porcentaje de metafases que tuvieron un número cromosómico menor al número modal, posiblemente debido al proceso de goteo en las placas, el cual puede implicar la pérdida de cromosomas.

7.4. CLASIFICACION DE LOS CROMOSOMAS

De acuerdo a la clasificación cromosómica de Levan (1964), se identificaron los cromosomas por sexo, especie y sitio de captura.

Tabla 10. Clasificación de los Cromosomas, según la posición del centrómero.

Especie	Sitio Captura	Sexo	M	Sm	Sub-t	T	No Fundamental
<i>Astroblepus grixalvii</i>	Cauca	Macho	28	12	8	6	102
		Hembra	28	12	8	6	102
	Patía	Macho	34	12	6	2	106
		Hembra	34	12	6	2	106
<i>Astroblepus chapmani</i>	Cauca	Macho	42	10	2	2	110
		Hembra	42	10	2	2	110

En la tabla 10, se observa similitud en la clasificación de los cromosomas, según posición del centrómero, entre los sexos de peces de la misma especie.

7.5. CARIOTIPOS E IDEOGRAMAS

En las figuras 17, 18, 19 y 20 se presentan los cariotipos e ideogramas de machos y hembras de la especie *Astroblepus grixalvii* (barbudo), de la Cuenca Cauca. Se observa que no existen diferencias en el número, ni en el tipo de cromosomas entre los sexos. Se evidencia que los cromosomas presentan una longitud decreciente en el cariotipo al interior de cada clasificación (metacéntricos y submetacéntricos), por lo cual se pueden considerar que son de tamaño fundamental (F), (Saavedra *et al.*, 2008).

El par 1, de machos y hembras de la especie *A. grixalvii* de la Cuenca del río Cauca, presenta una longitud mayor, superando en un 34% al par cromosómico que le sigue en tamaño (par 15), con una longitud de 66%. Se puede sugerir que los cromosomas del par uno son de clase L (Largos), que son característico de algunas especie de la familia de los Siluridos y Bryconidos (Saavedra *et al.*, 2008); (Parada *et al.* 2003). (Ver Figuras 20, 21, 22, 23).

En las figuras 24, 25, 26 y 27 se presentan los cariotipos e ideograma, con las respectivas metafases de la especie *Astroblepus grixalvii* (barbudo), cuenca alta del Patía (río Timbío). Se observa que no hay diferencia en el número cromosómico, ni en su clasificación cromosómica, entre los sexos. El tamaño relativo del par cromosómico 1, que es el de mayor tamaño (100%), supera en un 20 % al par cromosómico que le sigue, que corresponden al par cromosómico número 2, (figura 26).

En las hembras y machos de las especies *A. grixalvii* y *A. chapmani*, se observó un par cromosómico metacéntrico de gran tamaño, distintivamente grande con respecto a los demás del complemento.

En las figuras, 28, 29, 30 y 31 se reportan los cariotipos e ideogramas, de hembras y machos de las especies *Astroblepus chapmani*, de la Cuenca alta del río Cauca (río Grande). El tamaño relativo del par 1 (100%), los de mayor tamaño, superan en un 34 % al par cromosómico que le sigue, que corresponden al par de cromosomas número 2.



Figura 20. Cariotipo de la especie *Astroblepus grixalvii* hembra, Cuenca Alta del río Cauca.

Número Cromosómico $2n = 54$, Fórmula cromosómica 28 M; 12 Sm; 8 Sub-t y 6 T.

M = Metacentricos

Sub-t = Subtelcentricos

Sm = SubMetacentricos

T = Telocentricos.

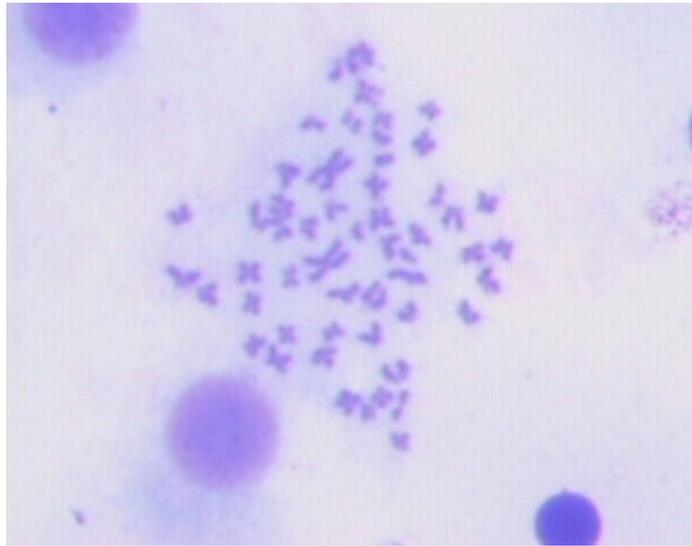


Figura 21. Cariotipo de la especie *Astrolepus grixalvii* macho, Cuenca Alta del río Cauca.
 Número Cromosómico $2n = 54$, Fórmula cromosómica 28 M; 12 Sm; 8 Sub-t y 6 T.

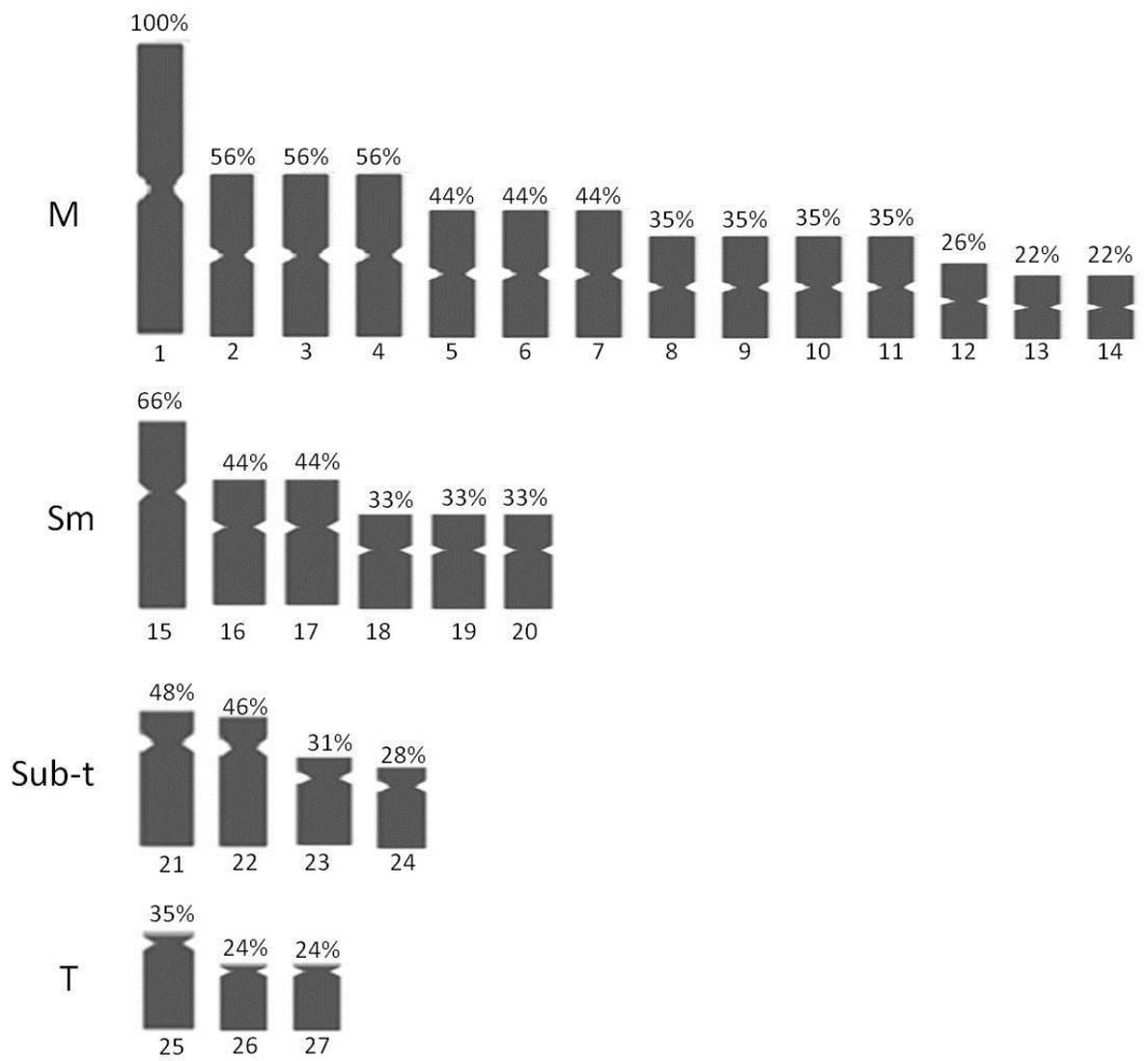


Figura 22. Ideograma de la especie *Astrolepus grixalvii* hembra, Cuenca Alta del río Cauca.

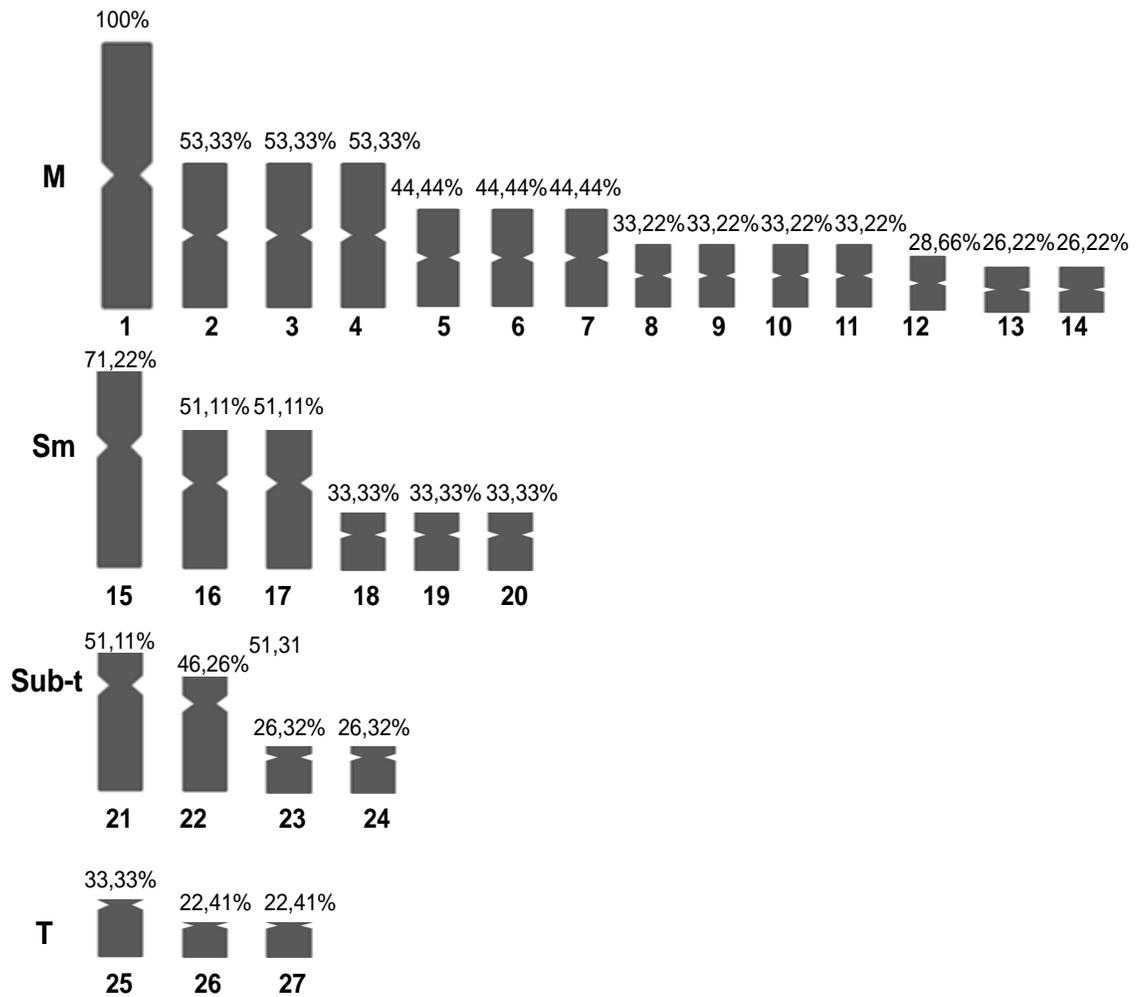


Figura 23. Ideograma de la especie *Astroblepus grixalvii* macho, Cuenca Alta del río Cauca.

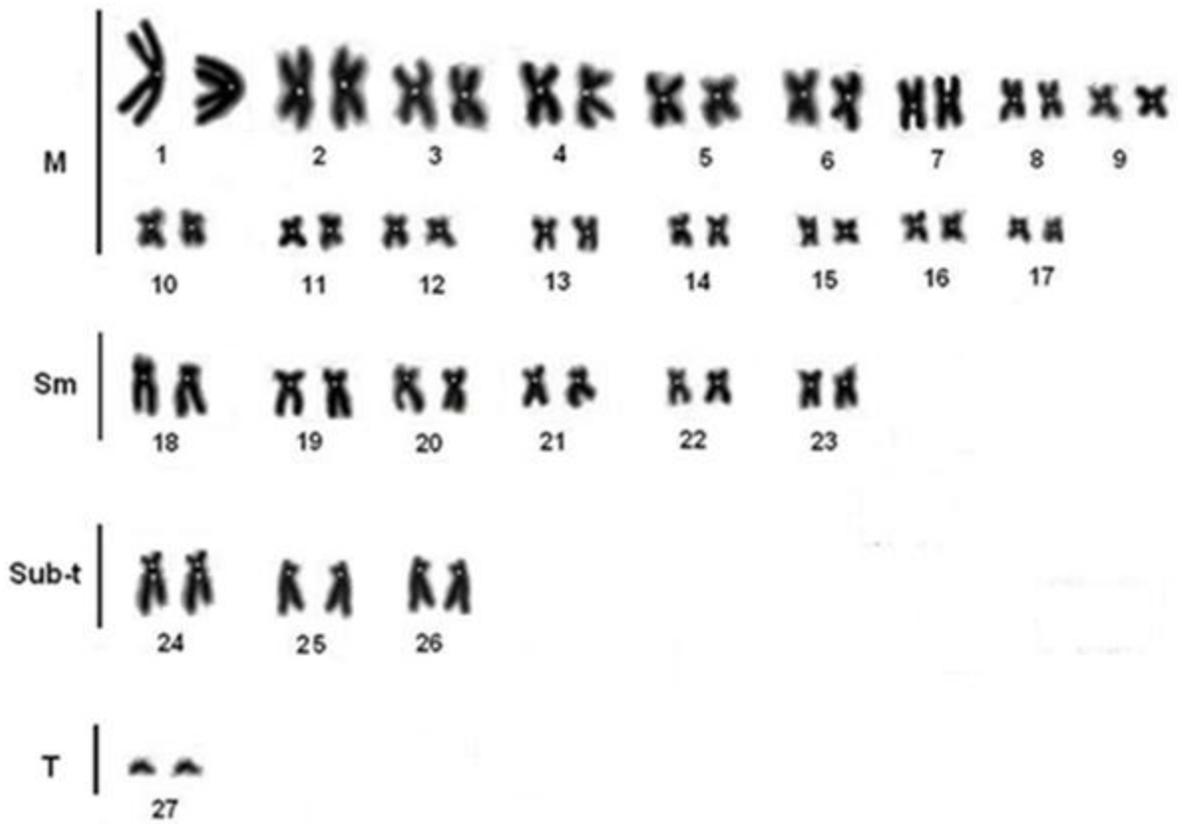
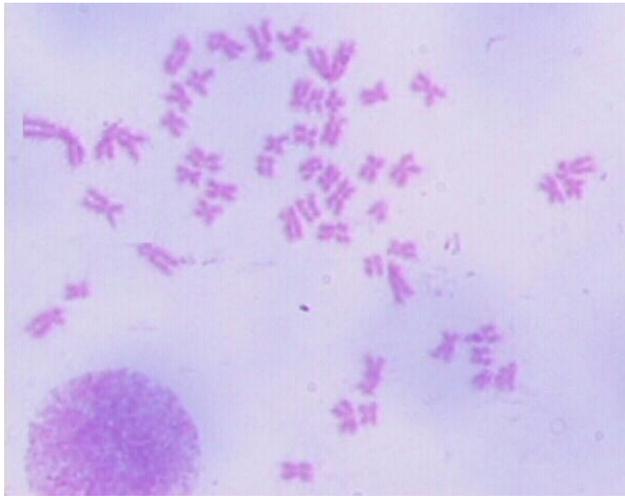


Figura 24. Cariotipo de la especie *Astroblepus grixalvii* hembra, Cuenca Alta del río Patía.

Número Cromosómico $2n = 54$, Fórmula cromosómica $34 M; 12 Sm; 6 Sub-t$ y $2 T$.

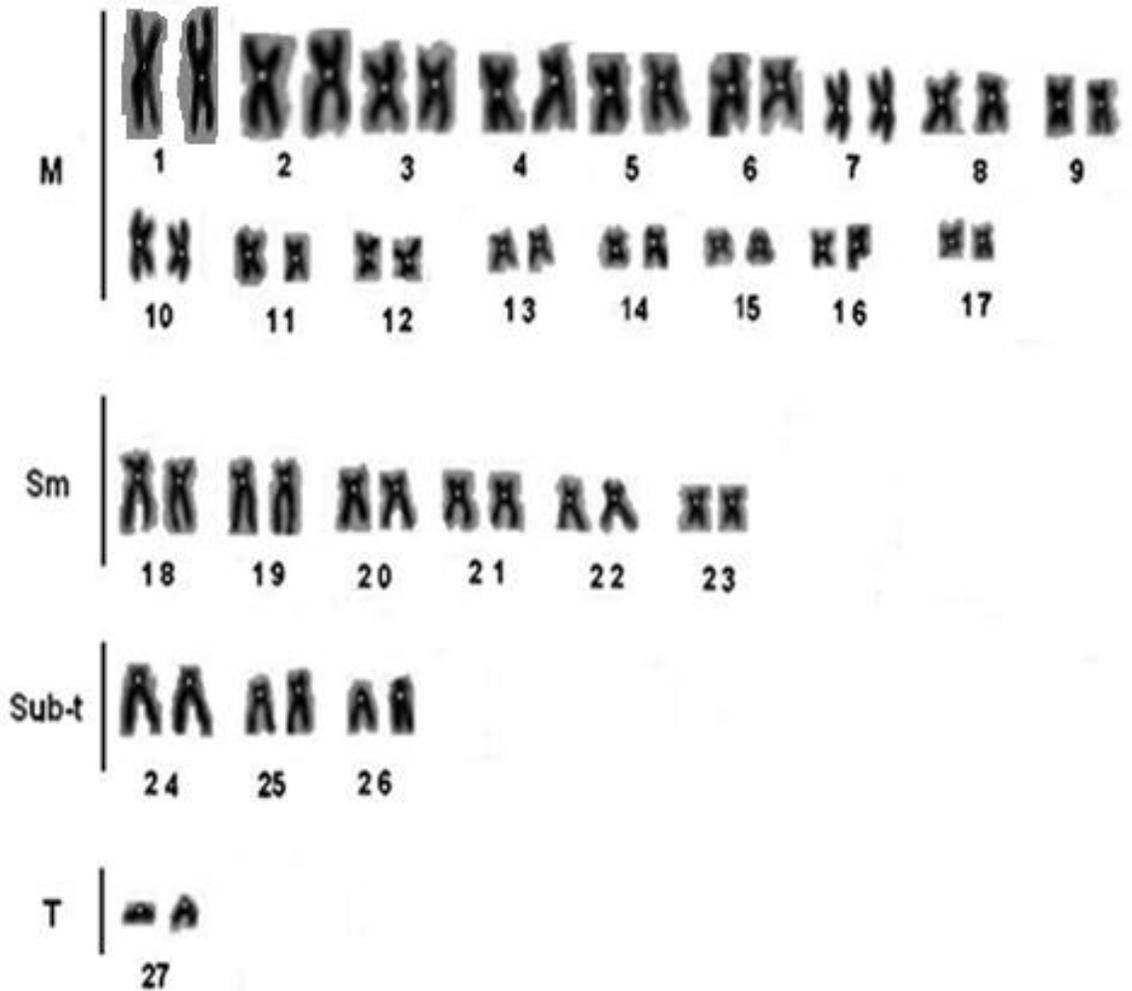
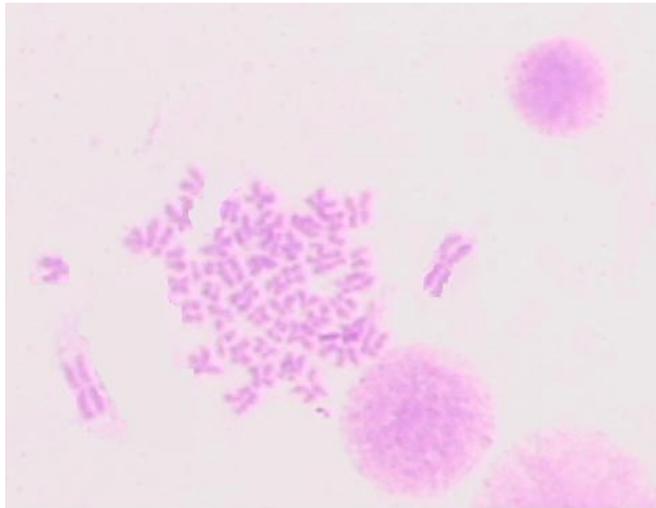


Figura 25. Cariotipo de la especie *Astrobleps grixalvii* macho, Cuenca Alta del río Patía. Número Cromosómico $2n = 54$, Fórmula cromosómica $34 M; 12 Sm; 6 Sub-t$ y $2 T$.

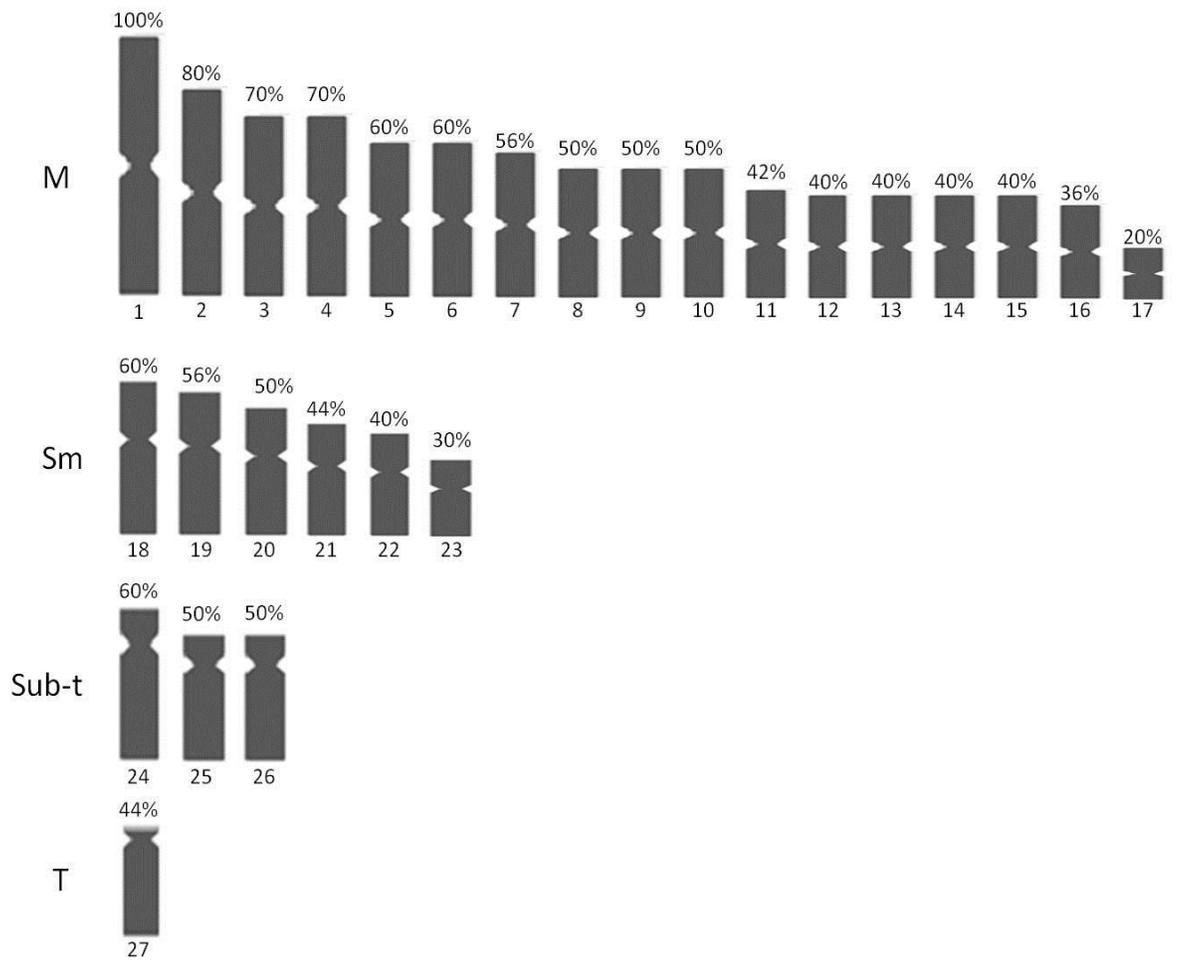


Figura 26. Ideograma de la Especie *Astroblepus grixalvii* hembra, Cuenca Alta del río Patía.

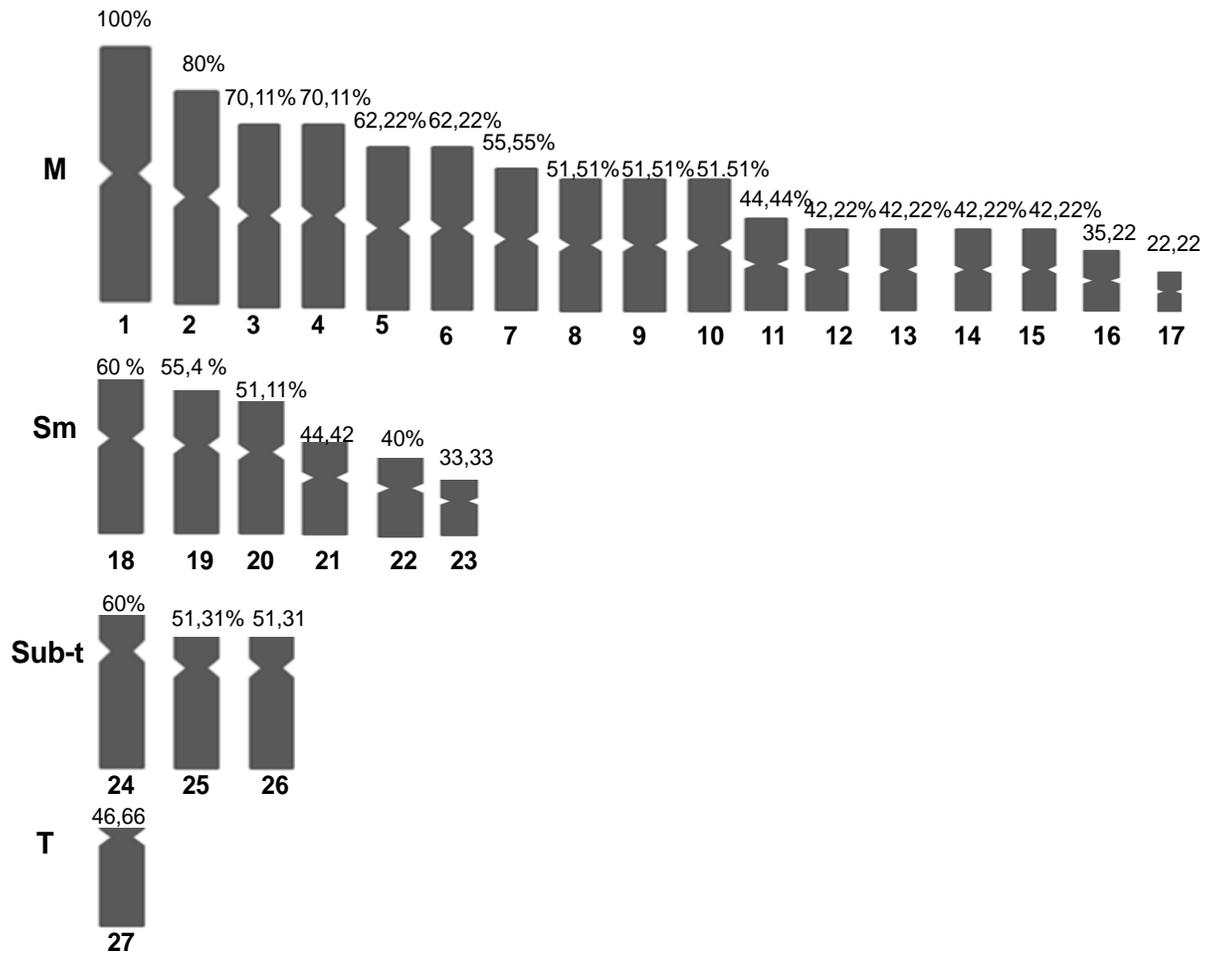


Figura 27. Ideograma de la Especie *Astroblepus grixalvii* macho, Cuenca Alta del río Patía.

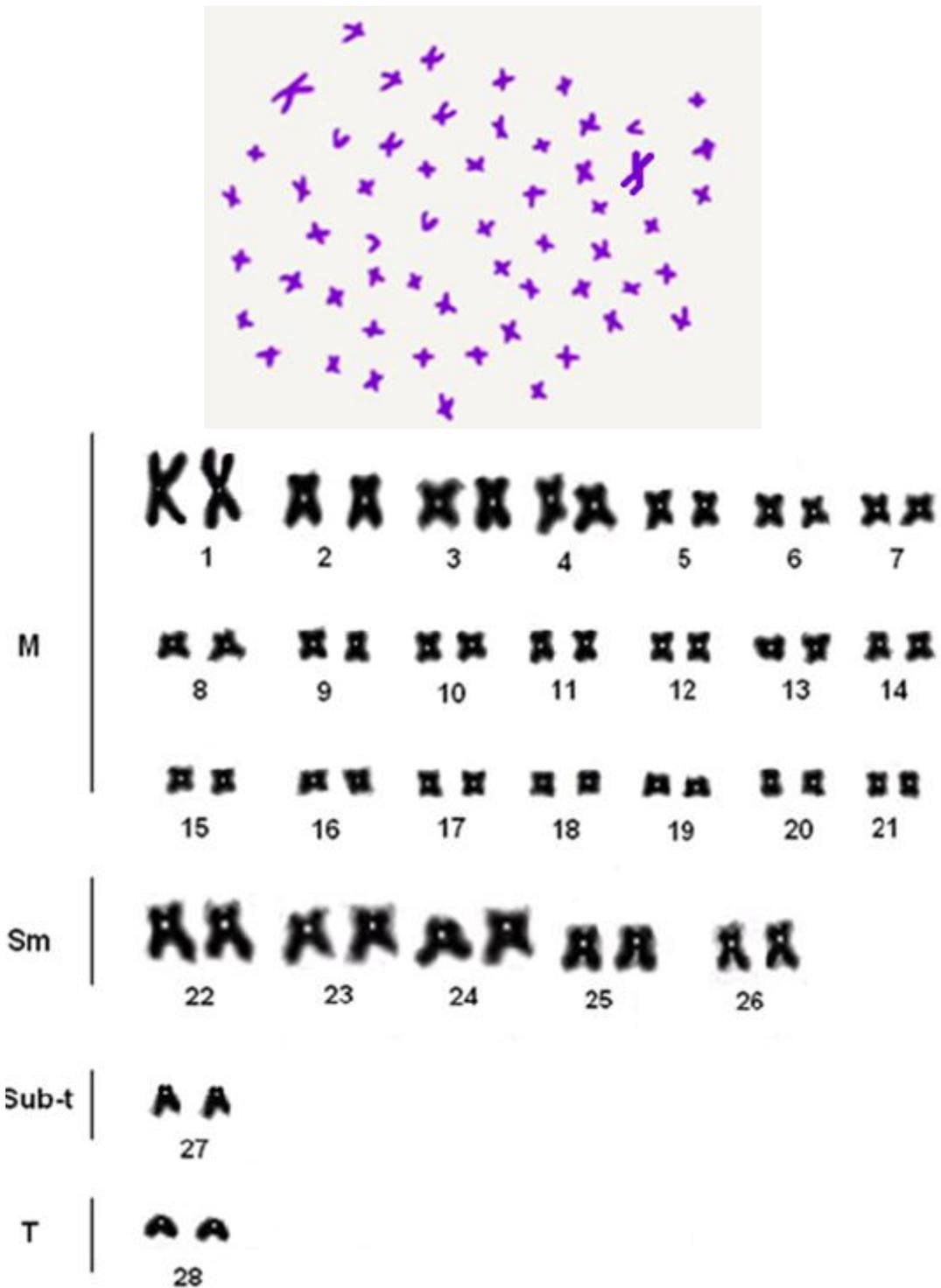


Figura 28. Cariotipo de la especie *Astrolepus chapmani* hembra, Cuenca Alta de río Cauca. Número Cromosómico $2n = 56$, Fórmula cromosómica $42 M; 10 Sm; 2 Sub-t$ y $2 T$.

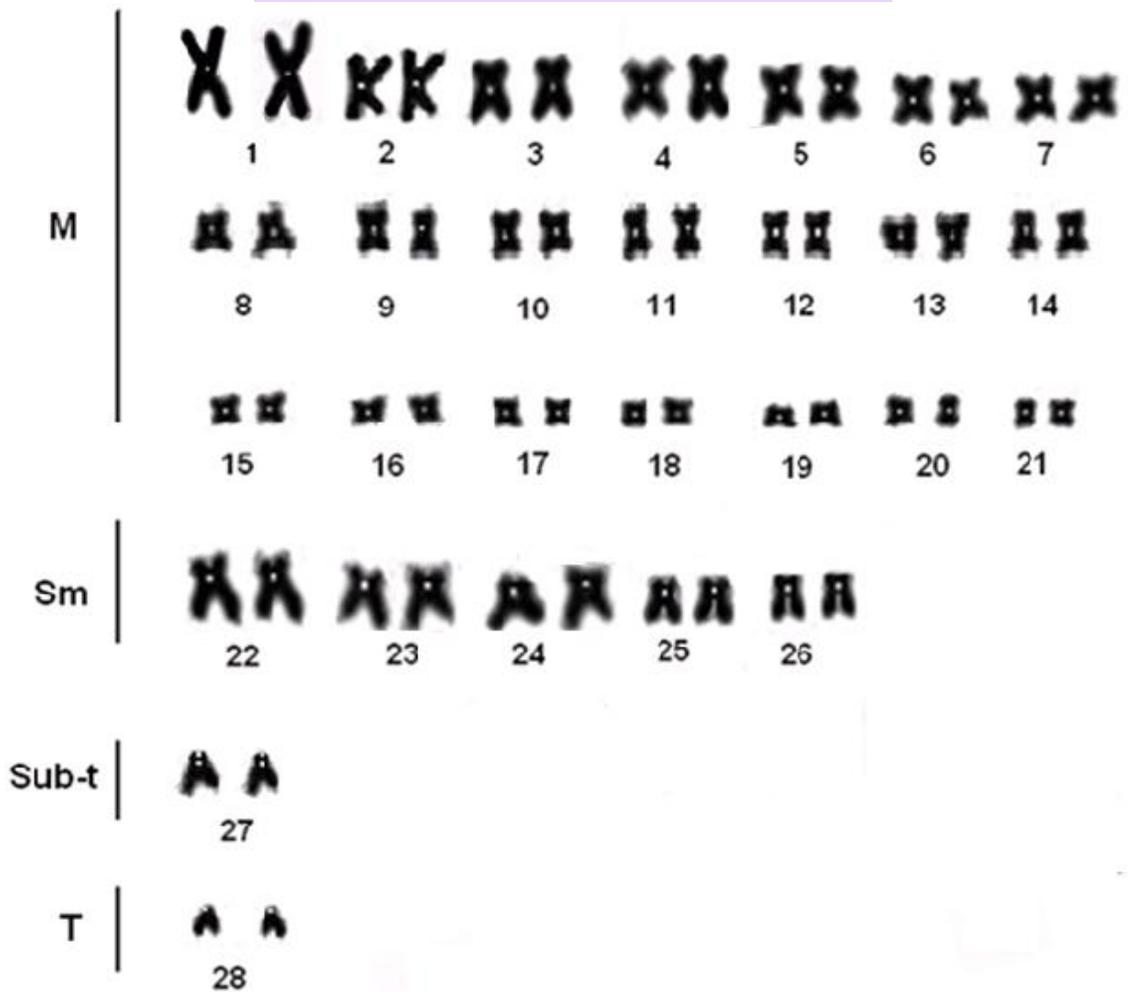
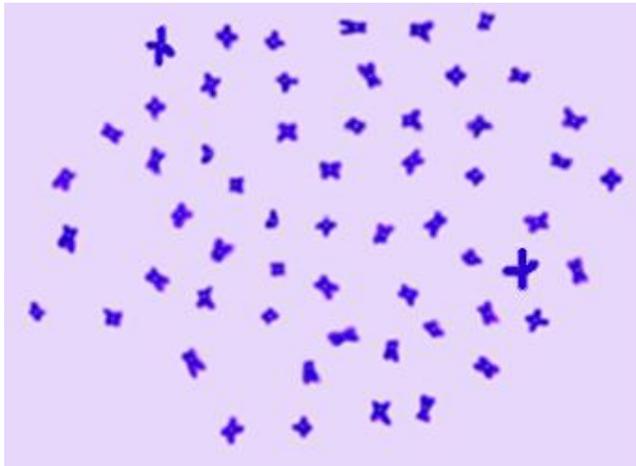


Figura 29. Cariotipo de la especie *Astrolepus chapmani* macho, de la Cuenca Alta del río Cauca
 Número Cromosómico $2n = 56$, Fórmula cromosómica $42 M; 10 Sm; 2 Sub-t$ y $2 T$.

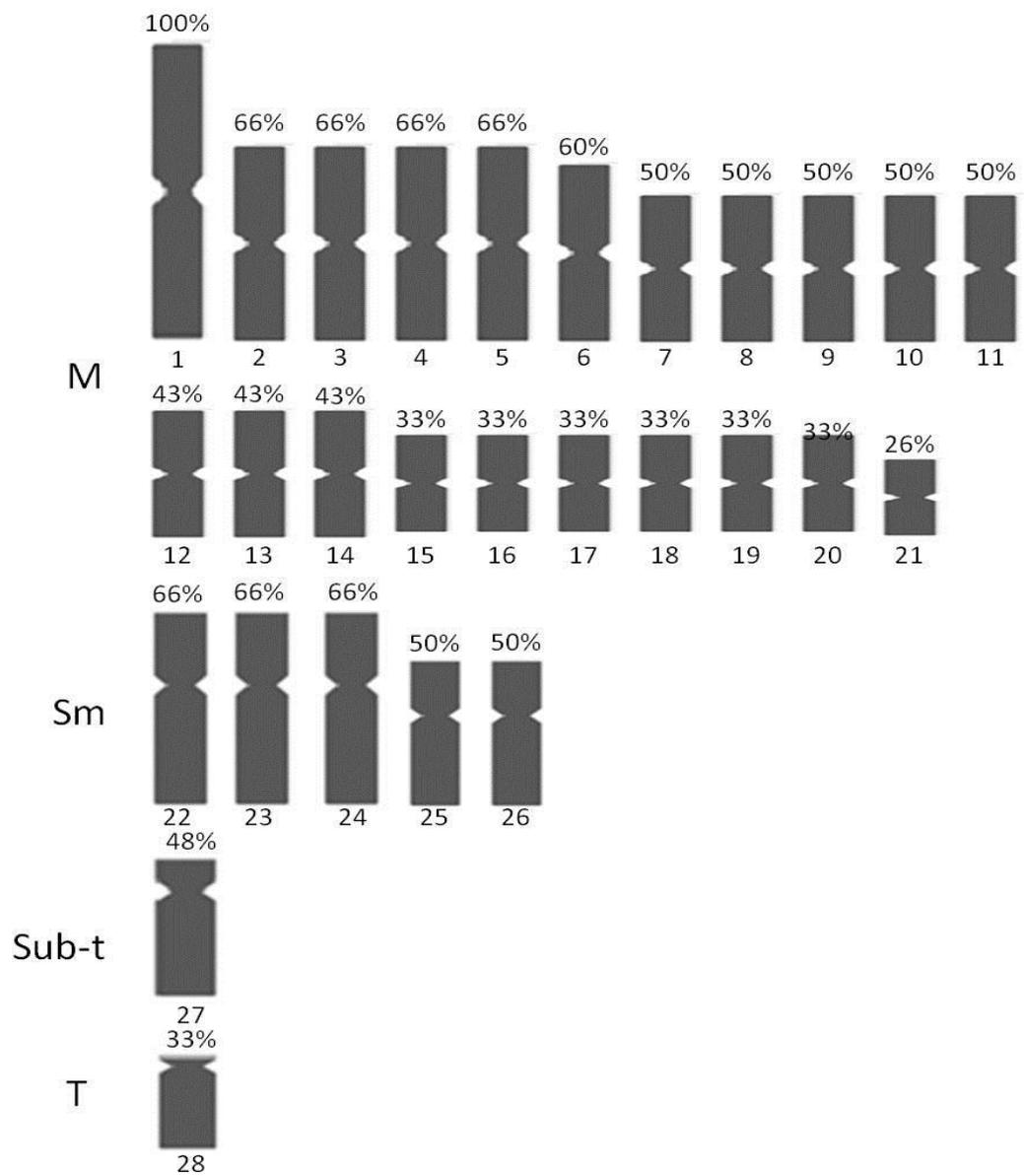


Figura 30. Ideograma de la especie *Astroblepus chapmani* hembra, de la Cuenca Alta del río Cauca.

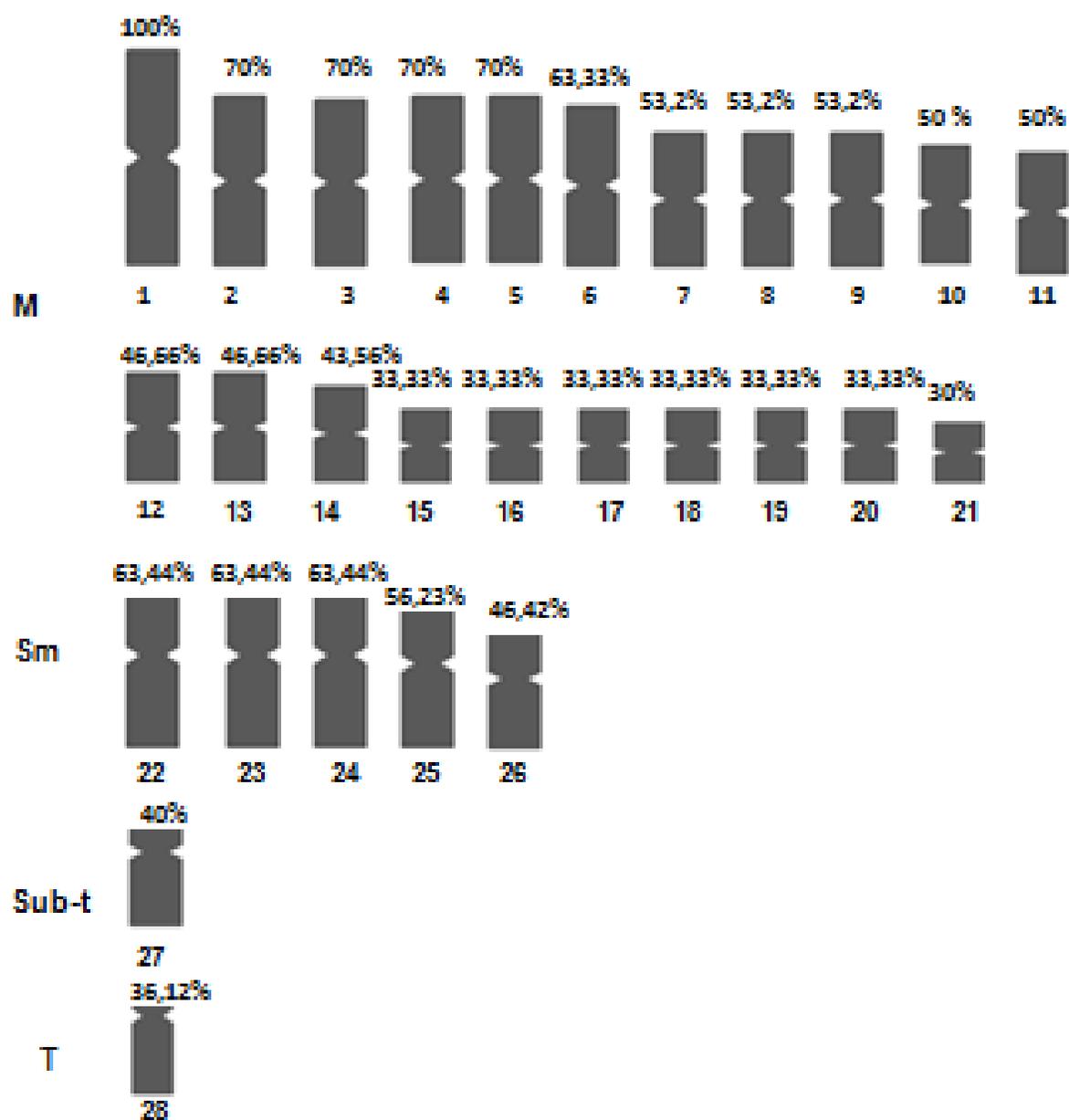


Figura 31. Ideograma de la especie *Astroblepus chapmani* macho, de la Cuenca Alta del río Cauca.

7.5.1. Asimetría Cromosómica: En la tabla 11 se reportan los valores de hembras y machos de asimetría cromosómica (A1= Intracromosómica; A2= intercromosómica) y sus respectivos promedios, para las especies *A. grixalvii*, Cuenca Alta de los ríos Cauca y Patía y *A. chapmani* de la Cuenca Cauca.

Tabla 11. Valores de Asimetría A1 y A2, para machos y hembras de *A. grixalvii* y *A. chapmani* de las Cuencas altas de los ríos Cauca y Patía.

Especie	Sitio Captura	Sexo	A1	Promedio A1	A2	Promedio A2
<i>Astroblepus grixalvii</i>	Cuenca Cauca (Río Gualimbío)	Hembra	0.68	0,67	0,016	0,017
		Macho	0,66		0,017	
	Cuenca Patía (Río Timbío)	Hembra	0,65	0,64	0,013	0,014
		Macho	0,64		0,014	
<i>Astroblepus chapmani</i>	Cuenca Cauca (Río Grande)	Hembra	0,62	0.62	0,011	0,011
		Macho	0,62		0.011	

El valor de la asimetría intracromosómica (A1) de la Cuenca del río Cauca, supera aproximadamente en un 5 % a la asimetría del río Patía. La asimetría intercromosómica (A2) de la cuenca del río Cauca supera en un 21% a la del río Patía.

Se observa una gran semejanza en los valores de asimetría (A1 y A2), entre los sexos de las especies *A. grixalvii* de las dos cuencas.

Los valores calculados de asimetría para la especie *A. grixalvii* (A1 y A2), son mayores para los peces de la Cuenca del río Cauca, que los peces de la Cuenca del río Patía, no fue posible determinar si esta diferencia es estadísticamente significativa, puesto que se dispone de un solo dato por cuenca.

En la tabla 12 se reportan los diferentes números cromosómicos y su clasificación, por diferentes autores, para el orden Siluriformes y el género *Astroblepus*, pero a nivel de las especies en estudio, no se reportan estudios específicos de instituciones nacionales o internacionales.

Tabla 12. Comparativa de estudios cromosómicos para algunos peces del orden Siluriformes y el género *Astroblepus*. Tomado de Swarca et al., 2007.

Espece	Número Cromosómico	Cariotipo	Autor
<i>Astroblepus grivalvii</i>	2n=54 ♀ ♂	34m+12sm+6a+2t	Presente estudio Cuenca Patía, Rio Timbío
	2n=54 ♀ ♂	28m+12sm+8a+6t	Presente estudio Cuenca Cauca, Rio Gualimbío
<i>Astroblepus chapmani</i>	2n=56 ♀ ♂	42m+10sm+2a+2t	Presente estudio Cuenca Cauca, Rio Grande Coconuco
<i>Bergiaria westermanni</i>	2n= 56 ♀ ♂	42m,sm+14st	Dias y Foresti, 1993
<i>Pseudopimelodus bufonius</i>	2n=54 ♀ ♂	18m+22sm+6st+8a	Souza et al. 2003
<i>Pseudopimelodus mangurus</i>	2n=54 ♀ ♂	16m+26sm+12st+10a	Martinez et al. 2004
<i>Pseudopimelodus zungaru</i>	2n=54 ♀ ♂	30m+14sm+10a	Garcia 2005
<i>Megalonema platinum</i>	2n=54 ♀ ♂	14m+18sm+12st+10a	Sanchez and Fenocchio 2005
<i>Pimelodus cristata</i>	2n=56 ♀ ♂	36m/sm+ 20st/a	Faria et al. 2000
<i>Pimelodus meeki</i>	2n=56 ♀ ♂	30m+12sm+4st	Vidotto et al. 2004
<i>Genidens barbuis</i>	2n=56 ♀ ♂	24m+16sm+10acr+3tel	Oliveira et al. 2008
<i>Cetopsorhamdia iberingi</i>	2n=58 ♀ ♂	22m+16sm+10st+10a	Fenocchio et al. 2003
<i>Rhamdia branneri</i>	2n=58 ♀ ♂	36m+14sm+4st+4a	Abucarma et al. 2000
<i>Rhamdia hilarii</i>	2n=58 ♀ ♂	26m+16sm+8st+8a	Fenocchio 1993
<i>Pimelodella sp</i>	2n=46 ♀ ♂	28sm+10sm+8 ^a	Días and Foresti 1993
<i>Pariolus.cf.longicaudus</i>	2n=52 ♀ ♂	22m+16sm+4st+10a	García et al 2004
<i>Pariolus bollandi</i>	2n=42 ♀ ♂	22m+10sm+4st+6a	Roman et al 2002 b
<i>Iheringichthys labrosus</i>	2n=56 ♀ ♂	26m+14sm+12st+4a	Dias y Foresti, 1990
<i>I. labrosus</i>	2n=56 ♀ ♂	42m,sm+42st,a	García el al.,1990
<i>I.labrosus</i>	2n=56 ♀ ♂	32m+8sm+6st+10a	Carvalho el al.,2004;
<i>Pimelodus .sp</i>	2n=56 ♀ ♂	40m/sm+16st/a	Días y Foresti, 1993
<i>Pimelodus. sp</i>	2n=56 ♀ ♂	32m+12sm+6st+6a	García y Moreira, 2005

8. DISCUSIÓN

Con este trabajo de investigación se pretendió dar una aproximación al cariotipo de las especies *Astroblepus grivalvii* y *Astroblepus chapmani*, de las cuencas Altas de los ríos Cauca y Patía, ampliando el conocimiento de la citogenética de estas especies, teniendo en cuenta que no se han registrado reportes cromosómicos sobre esta clase de peces, ni de su género.

Quince familias de peces neotropicales conforman el orden Siluriformes, dentro de las cuales se encuentran Diplomystidae, Cetopsidae, Aspredinidae, Nematogenyidae, Trichomycteridae, Callichthyidae, Scoloplacidae, Astroblepidae, Loricariidae, Pimelodidae, Heptapteridae, Auchenipteridae, Pseudopimelodidae, Ariidae y Doradidae (Reis et al. 2003, citado por Swarca et al., 2007); dentro de las cuales se han realizado estudios citogenéticos para algunas de estas familias.

Entre las familias del orden siluriformes, se han identificado el mismo número cromosómico diploide ($2n$), para algunas especies, así la familia Pimelodidae, con número $2n=56$ en *Pimelodus maculatus* (Toledo y Ferrari, 1976, citado por Swarca et al., 2007). En la familia Heptapteridae con rango cromosómico $2n=42$ en *Pariolius bollandi* (Roman et al., 2002) a $2n=58$ en *Rhamdia hilarii* (Fenocchio et al., 2000). La familia Pseudopimelodidae presenta un número cromosómico de $2n=54$, como en *Pseudopimelodus bufonius* (Souza et al., 2003, citado por Swarca et al., 2007) y la familia Loricariidae, cuyo número cromosómico diploide basal se considera en $2n = 54$, además presenta un rango de variación de $2n=36$ en *Rineloricaria latirostris*, a $2n = 96$ en una especie de *Upsilonodus* (*Hemipsilichthys*).

Para Colombia se reporta la fórmula cromosómica del *Pimelodus clarias* (nicuro), con un número cromosómico de $2n = 56$, con las siguientes clases de cromosomas para hembras y machos: 7 metacéntricos, 12 submetacéntricos y 9 acrocéntricos y para el *Pimelodus grosskoffi* (capaz), con número cromosómico $2n = 56$, con las siguientes clases de cromosomas para ambos sexos: 7 metacéntricos, 13 submetacéntricos y 8 acrocéntricos (Alzate et al., 1991).

En el presente estudio, para la Cuenca alta de los ríos Cauca y Patía, se establece para la especie *Astroblepus grivalvii*, un número cromosómico de $2n=54$, tanto para hembras como para machos, sin embargo, las especies de las dos cuencas se diferencian en el tipo de cromosomas.

Se debe tener en cuenta que no se halló reporte alguno sobre los estudios citogenéticos de la familia astroblepidae y sus géneros; sin embargo, en el estudio de la especie *A. grivalvii*, para las cuencas de los ríos Cauca y Patía se presentó un número cromosómico que se encuentra dentro del rango presentado y reportado para las familias pertenecientes al orden siluriformes. Tomando como

base las referencias bibliográficas del orden siluriformes, al cual pertenecen las especies en estudio, el *A. grixalvii* de la Cuenca Patía, presenta un número cromosómico $2n = 54$ y fórmula cromosómica $(34m + 12sm + 6st + 2t)$ y *A. grixalvii* de la Cuenca del Cauca, con un número cromosómico $2n = 54$ y fórmula cromosómica $(28m + 12sm + 8st + 6t)$, siendo familiar en algunas especies de la familia Pimelodidae, como el *Pimelodus fur* con un número $2n = 54$ $(32m + 8sm + 6sub-t + 8a)$, (García y Moreira Filho, 2005; citado por Swarca *et al.*, 2007); la familia Pseudopimelodidae como el *Pseudopimelodus bufonius* con $2n = 54$ $(18m + 22sm + 6sub-t + 8a)$, (Souza *et al.*, 2003; citado por Swarca *et al.*, 2007), *P. mangurus* con $2n = 54$ $(6m + 26sm + 12sub-t + 10a)$, (Martinez *et al.*, 2004; citado por Swarca *et al.*, 2007), *P. zungaru* con $2n = 54$ $(30m + 14sm + 10a)$, (García, 2005; citado por Swarca *et al.*, 2007), *Lophiosilurus alexandri* con $2n = 54$ $(54m/sm/sub-t/a)$, (Marquez *et al.*, 2002; citado por Swarca *et al.*, 2007) y *Microglanis gravelloi* con $2n = 54$ $(22m + 20sm + 12sub-t)$, (Vissotto *et al.*, 1999).

En lo que respecta al número fundamental (NF) calculado para la especie *A. grixalvii* de la Cuenca río Cauca, fue de 102 y para la especie *A. grixalvii* de la Cuenca del río Patía se calculó en 106. Como resultado, el *A. grixalvii* perteneciente a la Cuenca del Patía tiene posiblemente mayor asimetría cromosómica.

El número fundamental para el *A. chapmani*, es de 110, demostrando diferenciación cromosómica con respecto a la especie *A. grixalvii* de las dos cuencas.

Para la especie *Astroblepus grixalvii* de las cuencas altas de los ríos Cauca y Patía, se observó una variación con respecto a su número fundamental (NF); así para el *A. grixalvii* del río Cauca, el NF es de 102 y para *A. grixalvii* del río Patía su NF es de 106. Existe una diferencia de 4 con respecto a su número fundamental, es posible que se de este cambio genético a re-arreglos por inversiones pericéntricas como fisiones, fusiones y traslocaciones. Estas inversiones involucran en la evolución cromosómica, así un cromosoma telocéntrico por inversión pericéntrica se puede transformar en un cromosoma metacéntrico o submetacéntrico, incrementando el número de brazos y por lo tanto el número fundamental (Stansfiel, 1992). Por otro lado, un cromosoma metacéntrico o submetacéntrico, por inversión pericéntrica se puede transformar en un cromosoma acrocéntrico o en telocéntrico, disminuyendo el número de brazos y por lo tanto el número fundamental e incrementando la asimetría (Romero, 1986)

En la Cuenca Alta del río Cauca (río Gualimbío), para la especie *A. grixalvii*, tanto machos como hembras presentaron un número cromosómico con $2n = 54$, se identificaron 28 cromosomas metacéntricos; 12 Submetacéntricos, 8 subtlococéntricos y 6 telocéntricos $(28M + 12Sm + 8sub-t + 6T)$.

Para la especie *A. grixalvii*, Cuenca Alta del río Patía (río Timbío), se determinó un número cromosómico con $2n = 54$, se identificaron 34 cromosomas metacéntricos, 12 submetacéntricos, 6 subtelocéntricos y 2 telocéntricos (34 M + 12 Sm + 6Sub-t + 2T). En la especie *A. grixalvii* de las dos cuencas no se identificó diferencia numérica cromosómica.

Se observan diferencias en la clasificación de los cromosomas, al comparar la especie *A. grixalvii* de las dos cuencas (Cauca y Patía). La especie *A. grixalvii* de la Cuenca del Patía tiene 6 cromosomas metacéntricos de más, respecto al *A. grixalvii* de la Cuenca Cauca, pero tiene 2 cromosomas subtelocéntricos y 4 telocéntricos menos (Cariotipos e ideogramas en las figuras 20-27), hay una igualdad en el número de cromosomas submetacéntricos (12 y 12 respectivamente), esta diferencia en la clasificación de los cromosomas, posiblemente se debe a las inversiones pericéntricas que cambian la forma del cromosoma y el orden de los genes, constituyéndose en una barrera reproductiva entre las especies de las dos cuencas, que se hibridan, el híbrido resultante sería heterocigoto para tales cambios en la estructura cromosómica y tendrían problemas para el apareamiento cromosómico (sinapsis), en el proceso meiótico de la formación de gametos, dando origen a gametos des-balanceados cromosómicamente e inviábiles, causando la esterilidad del híbrido. Es decir, las inversiones pericéntricas son un mecanismo de evolución cromosómica importante en el proceso de especiación cuántica. Se han reportado ejemplos de especiación cromosómica así: el cromosoma 17 del hombre es acrocéntrico, mientras que el correspondiente del chimpancé es metacéntrico. Otros cromosomas (4, 5, 12 y 17), se diferencian en el hombre y el chimpancé por inversiones pericéntricas, (Ayala *et al.*, 1984).

En la especie *A. grixalvii* de las dos cuencas, no fue posible identificar diferencias cromosómicas entre los sexos, es decir, determinar heterocromosomas, por tamaño o forma. Es posible que existan pero que la diferencia sea respecto al contenido de heterocromatina, que mediante la tinción aplicada (tinción directa), nos es posible detectar. Se puede afirmar que las especies de *A. grixalvii* en estudio, están emparentadas, solo varían en la clasificación de sus cromosomas entre los sitios de muestreo.

Los cambios cromosómicos estructurales (inversiones y traslocaciones) y numéricos (fusiones y fisiones), están implicados en la evolución cromosómica, son importantes en el proceso de especiación cuántica, o también llamada saltacional, proceso por el cual una población diverge rápidamente originando una subespecie, que se halla reproductivamente aislada de la población original, fenómeno que puede darse en la Cuenca Alta de los ríos Cauca y Patía, con la especie de *A. grixalvii*. Como una consecuencia se puede presentar mecanismos

de aislamiento en la dinámica reproductiva de las poblaciones de *A. grivalvii* y su aislamiento geográfico que no permite el intercambio genético de la especie.

La especie *A. chapmani* de la Cuenca Alta del río Cauca (río Grande), presenta un número fundamental de 110, y no se comparó con la de la Cuenca del Patía, debido a que no se encontraron ejemplares en sus afluentes, como los ríos Timbío, Guachicono, Obispo, Guabas, Galindes y Paispamba

La especie *A. chapmani*, perteneciente al mismo género *Astroblepus*, familia *astroblepidae*, presentó un número cromosómico con $2n = 56$, con una fórmula cromosómica de $42M + 10Sm + 2Sub-t + 2T$. Debido a la falta de información bibliográfica de esta especie en particular, la comparación citogenética se realizó con base a algunas especies de la familia *Pimelodidae* como el *Bergaria westermanni* con $2n = 56$ ($42M, Sm + 14 sub-t$), (Días y Foresti, 1993; citado por Swarca et al., 2007), *Lheringichthys labrosus* con $2n = 56$ ($26m + 14 sm + 12 sub-t + 4a$) (Días y Foresti, 1999; citado por Swarca et al., 2007), *L. labrosus* con $2n = 56$ ($32m + 8sm + 6sub-t + 10t$) (Carvalho et al., 2004), *Pimelodus sp* con $2n = 56$ ($40m/sm + 16sub-t/a$) (Días y Foresti, 1993; citado por Swarca et al., 2007) y *el P. sp* con $2n = 56$ ($32m + 12sm + 6sub-t + 6t$) (García y Moreira, 2005, citado por Swarca et al., 2007).

Las asimetrías intracromosómica e intercromosómica (A1 e A2), son mayores para los cariotipos de los peces (machos y hembras) de la especie *A. grivalvii* de la cuenca del río Cauca, respecto de los peces de la Cuenca del río Patía.

En consecuencia, se considera que los cromosomas del *A. grivalvii* de la Cuenca del río Patía tienen una mayor simetría cromosómica que *A. grivalvii* del río Cauca. Esto coincide con los tipos de cromosomas identificados para esta especie: *A. grivalvii* de la cuenca del río Patía tiene 34 cromosomas metacéntricos y *A. grivalvii* de la cuenca del río Cauca tiene 28 cromosomas metacéntricos. El número de cromosomas submetacéntricos es igual para *A. grivalvii* de las dos cuencas (12 submetacéntricos) y el número de cromosomas acrocéntricos y telocéntricos es menor para la especie *A. grivalvii* del río Patía respecto al *A. grivalvii* del río Cauca. En general, una especie es más simétrica cromosómicamente cuando más cromosomas metacéntricos tiene y menos acrocéntricos y telocéntricos tenga, respecto de otra especie.

En estudios realizados para plantas se ha establecido que a una menor asimetría intracromosómica (A1) o mayor simetría, corresponde una mayor evolución de la especie respecto de otras especies del mismo género, con A1 (asimetría intracromosómica) mayor, (Ferrer et al., 2009). No obstante, tal afirmación no se puede extrapolar para peces, porque son especies muy diferentes.

Para la especie *A. chapmani* los valores calculados de la asimetría intracromosómica (A1) para hembras y machos fue de 0,62 y 0,62, y los valores la

asimetría intercromosómica (A2) de 0.011 y 0.011, y no se comparó con la otra cuenca del río Patía, por falta de ejemplares.

En la clasificación cromosómica se debe tener en cuenta el tamaño "Fundamental" (F) o "Largos" (L), dependiente de su longitud relativa. Los de clase F son cromosomas de longitud decreciente, siendo este tipo de cromosomas el de mayor frecuencia. Los de clase L duplican en tamaño al resto de cromosomas F, de acuerdo con lo anterior, en el cariotipo de las especies *Astroblepus grixalvii* de las cuencas de los ríos Cauca y Patía y *Astroblepus chapmani* de la Cuenca Cauca, se observa, que los cromosomas presentan una longitud decreciente, pero al interior de cada clasificación (M – SM – Sub t – T) (Figuras 28-31), se establece que son de tamaño fundamental (F), al observar el par 1 presenta una longitud superior respecto de los demás cromosomas, son del tipo L, metacéntricos y el par 27 presenta una longitud de casi la cuarta parte con respecto a los de su clasificación, lo mismo sucede para el *A. chapmani*, sugiriendo que sean F (cortos); según Chen 1971, estos se originan mediante la fusión céntrica de dos cromosomas de un solo brazo (Telocéntricos), para formar un cromosoma de dos.

Por otra parte en los ideogramas se realizó la representación gráfica de los cariotipos (Figuras 22, 23, 26, 27, 30 y 31), donde se demuestra la ubicación del centrómero (I.C.) en relación con el tamaño relativo (%) de cada par cromosómico (Saavedra, 2008). La similitud que existe entre los cromosomas deja observar en general el tamaño decreciente al interior de cada clasificación cromosómica (Carvajal, 2008); esto se observa en el tamaño relativo del par uno, que es mayor respecto a los demás cromosomas de las especies estudiadas.

El estudio biométrico reveló que la especie *A. grixalvii* de la Cuenca Alta del Cauca, tanto en hembras como machos es de mayor longitud que los de la Cuenca Patía, sin embargo esta diferencia no es significativa, lo que se corrobora aplicando la prueba t. En lo que respecta al peso la especie *A. grixalvii* de la cuenca Alta del Cauca supera el doble a la del río Patía, estadísticamente esta diferencia es significativa, posiblemente esto se debe a la cantidad de nutrientes que presenta el río Gualimbío afluente de la Cuenca Cauca, produciendo la proliferación de organismos y peces que sirven de alimento al *A. grixalvii*.

Para la especie *A. chapmani* de la Cuenca Alta del río Cauca, el estudio determinó que no existe diferencia entre el promedio de longitud y peso de los dos sexos.

Por otro lado la morfología de la familia Astroblepidae, además de presentar piel sin escamas y diversas coloraciones, presenta dimorfismo sexual entre machos y hembras, siendo característico en los machos la presencia de un hemipene, tal como fue observado en *A. grixalvii* y *A. chapmani*, en el presente estudio y en el *A. Ubidiai* por Ortega, 2005.

En lo que respecta al *A. chapmani* de la Cuenca Alta del río Patía, no se ubicó esta especie, a pesar de que se muestrearon varios afluentes, como los ríos Timbío, Paispamba, Guabas, Guachicono, Perodines y las Piedras, esto debido posiblemente a que se ha diezmado su población, las posibles causas son: la destrucción de su hábitat natural por parte del hombre, con la introducción de especies comerciales, como es el caso de la trucha arcoíris, la cual se considera su principal depredador, además de la contaminación de su medio ambiente y la deforestación de los bosques nativos. Al ser reducidas la población de estas especies se afecta gravemente su viabilidad y como resultado se puede dar el aislamiento geográfico, alterando la variabilidad genética de la especie, es decir su capacidad reproductiva, dándose una posible endogamia. Por otra parte por problemas de orden público, no se muestrearon todos los sitios a más de 2000 metros sobre el nivel del mar.

En cuanto a la calidad del agua de las cuencas en estudio, está influenciada por las características edáficas, topográficas y altitudinales de las zonas de captura de los ejemplares. Estas zonas se caracterizan por ubicarse en regiones montañosas con medianas a fuertes pendientes, suelos de ligera a mediana acidez, además de los procesos antrópicos derivados de explotaciones Agropecuarias como es el caso de la deforestación, ganadería, cultivos de café, caña y otros, y en el caso de río Grande Coconuco, donde el turismo ha alterado su cauce y parte de flora y fauna tanto acuática como terrestre. Con base en lo anterior se puede inferir que las condiciones óptimas para la vida acuática son efecto del movimiento y caudal del agua, que facilita la oxigenación del medio acuático permitiendo el desarrollo de la vida acuática; lo cual se evidencia en la tendencia ligeramente acida a básica, con un pH entre 6.0 a 7.1, correspondiendo a ecosistemas de baja alcalinidad como bicarbonatos y por ende de baja productividad; por otra parte, los valores de O₂D y su porcentaje de saturación, al igual que el pH, oscilan entre los rangos que permiten la existencia y supervivencia de la biota acuática (Roldan, 1992).

Los hábitats, en donde se localizaron los peces, a simple vista no presentan problemas de contaminación de desechos orgánicos. Para confirmar esto es importante realizar un análisis físico-químico hídrico de mayor profundidad, aunque en el presente estudio se realizó una aproximación de la calidad del agua de estos sistemas.

CONCLUSIONES

Las técnicas de cultivo de riñón y tratamiento del pez, son métodos efectivos para obtener extendidos mitóticos de especies ícticas, que servirán, en un futuro para estudios citogenéticos de otras clase de vertebrados e invertebrados, especialmente de hábitats acuáticos.

Las técnica de cultivo de riñón y tratamiento del pez, requieren ser estandarizadas en particular para cada clase de peces.

En peces de tamaño pequeño, la técnica de cultivo de riñón es la más fácil de aplicar, debido a que no se aplica levadura, por lo cual el pez no se estresa y así se obtiene un riñón de buena calidad para los extendidos mitóticos, obteniéndose buenas metafases de la especie en estudio, como fue en el caso del *Astroblepus chapmani*.

La especie *Astroblepus grixalvii* revela un número cromosómico diploide de $2n=54$ y dos fórmulas cariológicas para las dos cuencas; Para *Astroblepus grixalvii* del río Cauca la Fórmula cariológica es: $28M+12Sm+8sub-t+ 6T$ y para *Astroblepus grixalvii* de la cuenca del rio Patía su fórmula cariológica es de: $34M+12Sm+6 Sub-t+2T$.

La especie *Astroblepus chapmani* presenta un cariotipo con un número diploide de cromosomas $2n=56$, con una formula cromosómica de $42M+10Sm+2Sub-t+2T$.

La especie *Astroblepus grixalvii* de la cuenca del río Patía, se puede considerar con mayor simetría cromosómica, que la especie de la cuenca del río Cauca, por presentar un mayor número de cromosomas metacéntricos en su cariotipo y un número fundamental mayor que las especies de la cuenca del río Cauca.

En las especies *A. grixalvii* y *A. chapmani*, de las dos cuencas, parte alta de los ríos Cauca y Patía, las hembras y machos presentan un par cromosómico metacéntrico de gran tamaño, con respectos a los demás cromosomas.

En las especies *A. grixalvii* y *A. chapmani* de las dos cuencas, parte alta de los río Cauca y Patía, no se logró identificar cromosomas sexuales (heterocromosomas), sin embargo es posible que existan y que las técnicas utilizadas no hayan permitido su identificación.

El cautiverio y el acondicionamiento de esta clase de peces en acuarios, no afectó las pruebas citogenéticas, siempre que semeje a su hábitat natural.

En lo que respecta a la calidad del agua donde habitan los peces estudiados, sus condiciones físico-químicas son aceptables para el normal desarrollo de la biota acuática,

Se puede considerar a la especie *Astroblepus chapmani* como un pez bio-indicador de la buena calidad del agua debido a que esta clase de organismos solo residen en ambientes limpios y sin problemas de contaminación, por lo cual se puede considerar como un pez estenotópico.

RECOMENDACIONES

La realización de este tipo de trabajos permitirá a futuro consolidar una base de datos de las características genéticas de las especies ícticas y a su vez constituirse como base para el establecimiento del inventario genético íctico del país.

Además del reconocimiento, descripción, clasificación y evaluación del potencial piscícola de la especies ícticas nativas del país, este tipo de trabajos permite la consolidación de los estudios biológicos y mayor comprensión de los procesos de establecimiento y evolución de la fauna íctica a nivel local, regional y del continente.

Las dificultades evidenciadas en la realización del presente estudio permiten considerar y sugerir la continua evaluación y estandarización de técnicas y protocolos que permitan facilitar el desarrollo de futuros estudios.

La comunidad académica y los entes gubernamentales deben propender por ampliar este tipo de investigaciones a todas las especies ícticas y no solo a aquellas sobre las cuales recae un interés comercial.

Se debe elaborar y ejecutar un plan de manejo ambiental adecuado para nuestro departamento en lo que respecta a las cuencas hidrográficas y así lograr la conservación de la flora y fauna, como también de sus ecosistemas.

Por la falta de interés comercial de las dos especies en estudio , se recomienda que esta clase de peces sean estudiados con mayor profundidad, no solamente de la parte taxonómica, sino también de la parte citogenética y molecular, con el fin de ampliar en conocimiento de esta clase de peces y realizar a futuro, junto con los estudios ecológicos, implementando programas de caracterización citogenética de las diferentes poblaciones, tanto a nivel nacional como del continente, lo cual permitiría realizar programas de repoblamiento, sin afectar el acervo genético de las especies.

Con esta clase de trabajos de investigación se pretende dar un mejor manejo a las especies endémicas del departamento del Cauca y que no existe hasta el momento un manejo ambiental adecuado.

En próximos trabajos de citogenética a nivel de peces, para extracción de ADN el procedimiento se debe complementar con marcadores moleculares, lo cual garantiza la calidad de estas investigaciones.

Lo anteriormente expuesto sugiere realizar estudios moleculares (Marcadores moleculares y pruebas de ADN) que permitan determinar o confirmar procesos de

especiación, además de determinar procesos migratorios, que determinen grupos activamente reproductivos y su distribución sobre las cuencas.

En nuestro país se debe construir un banco genético sobre las especies acuáticas, para así evitar su contrabando y negocio ilegal.

BIBLIOGRFÍA

ABUCARMA M. and **MARTINS** I.C. Caracterização cromossômica de duas espécies da família Pimelodidae (Pisces, Siluriformes). In: Proceedings of VI Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada a Peixes Neotropicais, São Carlos SP 2000. Pág 73.

ÁLZATE, Carlos Y, **HURTADO** Gustavo. Estudio Cromosómico de dos Especies Ícticas que Habitan en parte alta del río Cauca. Trabajo de Grado. Universidad del Cauca. Popayán 1991.

ANDREATA A, Foresti F, **DE ALMEIDA** Toledo, **OIIVEIRA** 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 1983. Vol 63. Pág 215-220.

AYALA Francisco y **KIGER** John. Genética Moderna. Fondo Educativo Interamericano S.A. Barcelona 1984.

ARREGUÍN E. Julio y **URIBE** A. Manuel, **TORRES** P. Alejandro y **CASTRO** P. Arturo. Los cromosomas de *dormitator latifrons*. (PISCES: GOBIIDAE), Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Cont. No. 230 del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. México 1988. Pág 8-10.

BOLAÑOS L, *et al.*, 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.

BURBANO, M. Consuelo. Manual de Fundamentos y Genética de acuicultura tropical en Colombia. Segunda edición. Instituto nacional de pesca y acuicultura "INPA". Bogotá, Agosto de 2000.

BURBANO, M. Consuelo. Citogenética aplicada a peces Neotropicales. Segunda edición. Instituto nacional de pesca y acuicultura "INPA". Bogotá diciembre de 2001.

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.

CARVAJAL, Silvio M. Análisis Cromosómico de Especies Ícticas. Conferencia presentada en el quinto congreso Colombiano de Genética. Universidad del Cauca. Popayán 2000.

CARVALHO R.A, GIULIANO-CAETANO L, DIAS A.L. Cytogenetic Analysis of A- and B- Chromosomes of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) from the Tibagi River, Paraná, Brazil. *Cytologia* 2004. 69(4): pág 381-385.

CROSETTI D; SOLA L; BRUNNER P; CATAUDELLA S. Cytogenetical Characterization of *Oreocromis niloticus*, *O. mossambicus* and Their Hybrid. Argentina 1985.

DAHL, George. Los Peces del Norte de Colombia. Bogotá, D. E. Colombia 1971.

DIAS A.L. and FORESTI F. Algumas considerações a respeito do cariótipo de *Iheringichthys labrosus* (Siluriformes, Pimelodidae) do rio Mogi-Guaçu. In: Proceedings of III Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada em Peixes Neotropicais., Botucatu, SP 1990. Pág 32.

DIAS A.L. and FORESTI F. Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). *Rev. Bras. Genet* 1993 V 16: p 585-600.

FARIA A.A., BRITO J.G. and VENERE P.C. Citogenética de Pimelodidae: Caracterização cromossômica de *Pimelodus blochii*, *Pimelodella cristata* e *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes) do médio Araguaia. In: Proceedings of VIII Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes, Manaus, AM. 2000. Pág 92.

FENOCCHIO A.S., BERTOLLO L.A.C., TAKAHASHI C.S. and CAMACHO J.P. Considerations on B-Chromosome origin and distribution in fish populations of the genus *Rhamdia* (Siluriformes, Pimelodidae). *Folia Biologica* 2000. V 48: pág 105-109.

FENOCCHIO A.S, BERTOLLO L.A.C, TAKAHASHI C.S., DIAS A.L. and SWARCA A.C. Cytogenetic Studies and Correlated Considerations on *Rhamdiinae* Relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). *Cytologia* 2003 a. 68(4): pág 363-368.

FENOCCHIO A.S. Cromossomos supranumerários no gênero *Rhamdia* (Pisces). Caracterização cromossômica e considerações sobre a evolução cariotípica nos Siluroidei. PhD Thesis. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo 1993.

FERRER Hernán, ALCORCES Nilda, MENDEZ Jesús. Asimetrías Cariotípicas Observadas en dos especies de *Gossypium* L. Curitiba Venezuela 2009.

GALLEGO A. Fernando. Mejoramiento genético en acuicultura. Fundamentos de acuicultura tropical. Segunda edición. Instituto nacional de pesca y acuicultura "INPA". Bogotá diciembre de 2001.

GARCIA J.B.F, **DIAS** A.L, **FENOCCHIO** AS.F. Caracterização cromossômica de *Pariolius* cf. *longicaudus* (Pisces, Pimelodidae) do Rio Tibagi (PR). In: Proceedings of X Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes 2004. Natal RN. Pág 144.

GARCIA C. Contribuição aos estudos citogenéticos em algumas espécies de 5 famílias de Siluriformes do rio São Francisco. Master Thesis. Universidade Federal de São Carlos 2005.

GARCIA C. and MOREIRA Filho O. Cytogenetical analyses in three fish species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) from Rio São Francisco: Considerations about the karyotypical evolution in the genus. *Neotropical Ichthyology* 2005. V 2. Pág 285-289.

GARCIA R.M.G, **SACHETE** S. and **MARTINS** Santos. I.C. Aspectos citogenéticos de *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) do rio Paraná, Região de Porto Rico, PR. In: Proceedings of III Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada em Peixes Neotropicais., Botucatu 1990. Pág 32.

HERRÁEZ Ángel. Citogenética Básica. Universidad de Alcalá. España 2002

INSTITUTO Geográfico Agustín Codazzi. Popayán 2010.

KARDONG Kenneth. Anatomía Comparada, Función, Evolución de Vertebrados. Segunda Edición. Segunda Edición. McGraw-Hill. México 2000.

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

LEVAN, A, K. **FREDGA** and A. Sanaber. Nomenclature for centromeric position on Chromosomal Hereditas. 1964.

LOPEZ Diana. **VÁSQUEZ**, Gonzalo. **RUIZ**, Tatiana, **OLIVERA**, Marta Caracterización citogenética del pez neotropical *Brycon henni* (Pisces: Characidae). *Revista de Biología Tropical* Volumen 56 (4), Pág 1619-1628. Universidad de Antioquia, 2008.

LOPEZ, 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.

MALDONADO Javier et al. Peces de los Andes de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá 2005.

MARQUES M.B., GARCIA C. and MOREIRA FILHO O. Estudos Citogenéticos de duas espécies de Siluriformes endêmicas do rio São Francisco. In: Proceedings of IX Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes, Maringá PR 2002. Pág 89.

MARTINEZ E.R, OLIVEIRA C. and FORESTI F. Cytogenetic Analyses of *Pseudopimelodus mangurus* (Teleostei: Siluriformes: Pseudopimelodidae). *Cytologia*, 2004. Pág 419-424.

MÉNDEZ Natalia, **GOMEZ** Nancy, **IGLESIAS** Pablo. El Cauca Características Geográficas. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá 2006.

MOLINA Julia, **MOLERO** Tamara, **HERNANDEZ** Ldwing, **ACOSTA** Delida, **HERNANDEZ** Jim y **VILLAMEDIANA** Patricia. Cariotipo del Bagre guatero *Hexanematchthys herbergii* (Ariidae: Siluriformes) del estrecho del lago Maracaibo, Venezuela. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas. Volumen 38 Numero 3. Maracaibo Venezuela 2004. Pág. 163-174.

MOLINA F y URIBE M. Estudio citogenético en el bagre marino (*Arius felis*), con organismos colectados en la Laguna de Términos, Campeche. Universidad Autónoma. México 1988.

NICHOLAS, F. W. Introducción a la Genética Veterinaria. Primera edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España 1996.

NIRCCHIO, Mauro et al. Cytogenetic Characterization of Hybrids Offspring Between *Colossoma macropomun* (Curvier, 1818) and *Piaractus brachypomus* (Curvier, 1817) From Caicará del Orinoco, Venezuela. *Caryologia*. Vol 56.No 4 (2003); pág 405-411.

ODUM, E. P. Fundamentos de Ecología. Tercera Edición. Interamericana 1971. Pág. 288 - 302.

OLIVEIRA Claudio, **NIRCHIO M, MONTEIRO E, FORESTI F.** Cytogenetic analysis of three sea catfish species (Teleostei, Siluriformes, Ariidae) with the first report of Ag-NOR in this fish family. 2008.

ORTEGA Armando, **USMA** José, **BONILLA** Paula y **SANTOS** Natalia. Peces de la Cuenca Alta del río Cauca, Colombia. Revista Biota Colombiana 2006. Volumen 7, Numero1.

ORTEGA LARA Armando. Aspectos Bio-Ecológicos del “pez negro” *Astroblepus grixalvii*. Proyecto de Pesca Continental, Regional Sur-Occidental. Popayán Cauca 2007.

_____. Peces de la cuenca del río Patía, Vertiente del Pacífico Colombiano. Revista Biota Colombiana, Volumen 7, Numero 002, año 2006.

ORTIZ Humberto y **PRIETO** Luz 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.

PARADA G. Y ARIAS C. Caracterización cariotípica del Yamú (*Brycon siebenthalae*). Revista Orinoquia. ISSN- 0121 – 3709, Volumen 7, Numero 1-2. Editorial Unillanos 2003. Pág 102.

REIS R.E., Kullander S.O. and **FERRARIS** JR C.J., 2003 — Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Edipucrs Porto Alegre 2003. Pág 729.

ROLDAN Pérez G. Fundamentos de Limnología Neotropical. Editorial Universidad de Antioquia. Primera edición. Medellín 1992.

ROMAN M.P, **MOREIRA** F. and **MARGARIDO** V.P. Análise Citogenética em *Pariolius bollandi* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) do Rio Iguazu. In: Proceedings of IX Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes, Maringá PR, 2002b. Pag 75.

ROMERO ZARCO, Carlos. Números Cromosómicos de Plantas Occidentales. Departamento de Botánica, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla. Sevilla 1986.

RUPPERT, Eduard, **BARNES**, Robert. Zoología de los Invertebrados. Sexta edición. Editorial McGraw-Hill. México, 1995.

SAAVEDRA Diana y **PINZÓN** David. Análisis Cariológico de la especie *Brycon meeki* (Piscis. Characidae), en la Quebrada de las Tallas, afluente del río Patía, municipio del Patía (Cauca). Trabajo de Pregrado Universidad del Cauca. Popayán 2008.

SALISBURY, Frank, **JESEN**, Willian. Botánica. Segunda edición. Editorial McGraw-Hill. México. 1988.

SANCHEZ S y **FENOCCHIO A.S.** Estudios Citogenéticos en Peces de la Familia Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) de la Cuenca del Río Paraná, Argentina. PhD Thesis Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 2005.

SÁNCHEZ et al., Caracterización Cromosómica del Híbrido e *Oreochromis niloticus* (Tilapia nilótica) y *Oreochromis mossambicus* (Tilapia negra). Universidad de Antioquia. Medellín 1983.

SMITH, Robert. L, **SMITH**, Thomas M. Ecología. Cuarta Edición. Editorial Pearson Educación. Madrid 2001.

SOUZA L., **GIULIANO** Caetano and **SHIBATTA O.** Citogenética de *Pseudopimelodus bufonius* (Siluriformes, Pseudopimelodidae). 49º Congresso Nacional de Genética, Águas de Lindóia. São Paulo, Brazil 2003.

STANSFIEL, William D. Genética. Tercera Edición. McGRAW-HILL Interamericana, México 1992. Pág 1, 29, 222-264.

SOUZA L., Giuliano-Caetano L. and **SHIBATTA O.** Citogenética de *Pseudopimelodus bufonius* (Siluriformes, Pseudopimelodidae). 49º Congresso Nacional de Genética, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil 2003.

SWARCA Ana C, et al. Revisión Citogenética Actualizada para las especies de la Familia Pseudopimelodidae, Pimelodidae y Heptapteridae (Peces, Siluriformes). Sugerencia para la clasificación Citotaxonómica. Universidade Estadual de Londrina. Paraná 2007.

TOBAR José. Caracterización Bioecológica de la especie íctica *Astroblepus chapmani* (Siluriformes, Astroblepidae) en río Grande, municipio de Puracé-Coconuco, departamento del Cauca. Trabajo de Maestría. Universidad Del Cauca. Popayán 2006.

TOLEDO V. and **FERRARI I.** 1976b. Estudos citogenéticos de três espécies do gênero *Pimelodus* (Pisces, Pimelodidae). Científica 1976. V 4. Pág 101-106.

URAN A. Determinación de número cromosómico y estudio Cariológico en *Prochilodus reticulatus magdalenae*_(Bocachico). Universidad de Antioquia. 1988.

VALENCIA César Román. Sistemática de las Especies Colombianas de Bryconamericus. (Characiformes, Characidae). Revista Dalia – Asociación Colombiana de Ictiología, Número 3. Editorial Unibiblos. Bogotá 2002.

VASQUEZ et al. Identificación del número cromosómico del *Pseudopimelodus boffonius*, Universidad del Cauca. 1988. Revizar la especie.

VIDOTTO A.P., **SWARCA** A.C., **FENOCCHIO** A.S. and **DIAS** A.L. Cytogenetic studies in three *Pimelodella meeki* populations (Pisces, Pimelodidae) from Tibagi River Basin (Brazil). *Journal of Heredity* 2004. 95(6): pág 517-520.

VILLEGAS Jaime Bernal. Genética Clínica simplificada 1. Opérculo (cubierta de las agallas), 2. Línea lateral, 3. Aleta dorsal, 4. Pedúnculo caudal, 5. Aleta caudal, 6. Aleta anal, 7. Aletas pélvicas (pares), 8. Aletas pectorales (pareadas), 9. Boca, 10. Barbicelos, 11. Ausente prolongación desde aleta dorsal hasta la caudal, 12. Hemipene.

a. Segunda edición. Editorial Pregon. Santafé de Bogotá 1992.

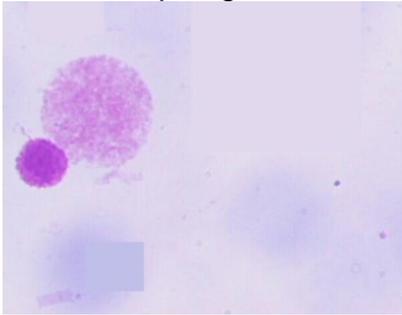
Compendio tesis y otros trabajos de grado, edición Instituto Colombiano de Normas Técnicas Colombiana "ICONTEC", Bogotá D.C. 2011. Pág 129.

Instituto Geográfico Agustín Codazzi, IGAC, base cartográfica.

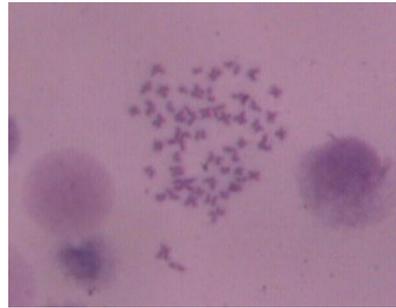
ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de Metafases Cultivo de Riñón en proceso de estandarización, Sitio No 1 río Gualimbío, Protocolo Tratamiento del pez, sin levadura.

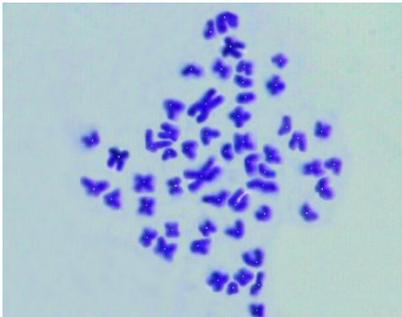
a.- Metafase 30 min/KCl 0.45%
Astroblepus grixalvii



b. Metafase 35 min/KCl 0.45
Astroblepus grixalvii



c.- **Metafase** 40 min/KCl 0.45%
Astroblepus grixalvii



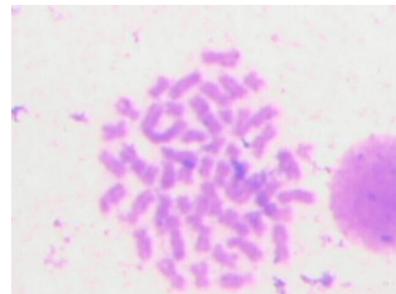
d. Metafase 40 min/KCl 0.45
Astroblepus grixalvii



e.- Metafase 45 min/KCl 0.45%
Astroblepus grixalvii

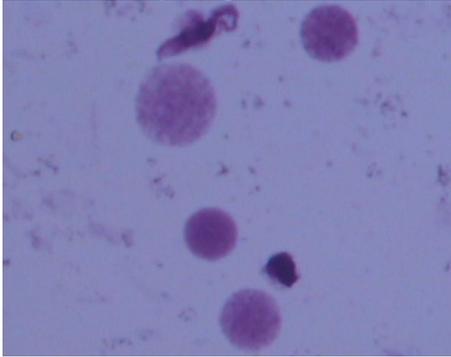


f. Metafase 50 min/KCl 0.45%
Astroblepus grixalvii

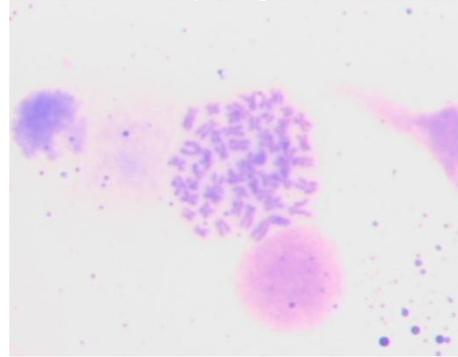


Anexo 2. Fotografías de Metafases Cultivo de Riñón en proceso de estandarización, Sitio No 2 río Timbío, Protocolo Riñón, con levadura.

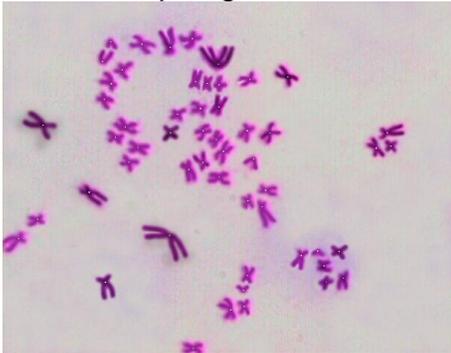
a.- Metafase 30 min/KCl 0.45%
Astroblepus grixalvii



b. Metafase 35 min/KCl 0.45
Astroblepus grixalvii



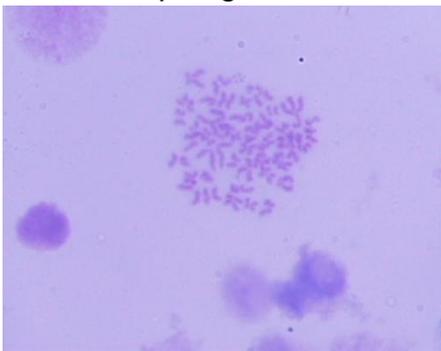
c.- Metafase 40 min/KCl 0.45%
Astroblepus grixalvii



d. Metafase 40 min/KCl 0.45
Astroblepus grixalvii



e.- Metafase 45 min/KCl 0.45%
Astroblepus grixalvii

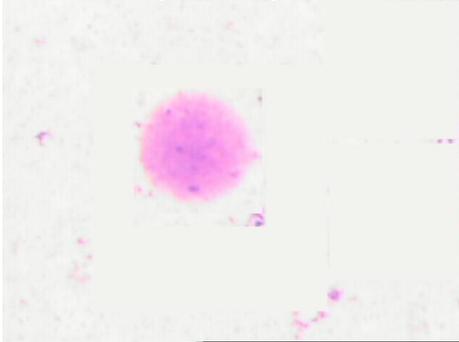


f. Metafase 50 min/KCl 0.45%
Astroblepus grixalvii

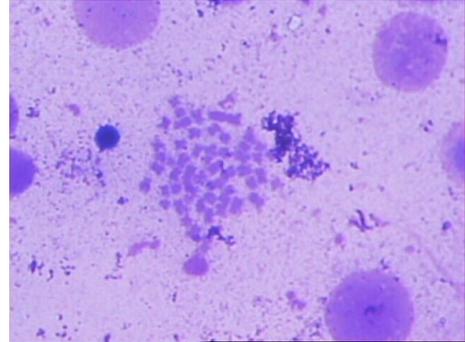


Anexo 3. Fotografías de Metafases Cultivo de Riñón en proceso de estandarización, Sitio No 3 río Grande Coconuco, Protocolo Riñón, sin levadura.

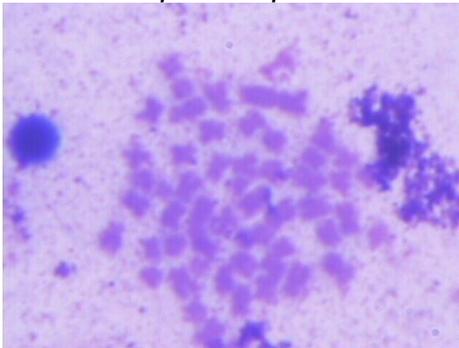
a.- Metafase 35 min/KCl 0.45%
Astroblepus chapmani



b. Metafase 35 min/KCl 0.45
Astroblepus chapmani



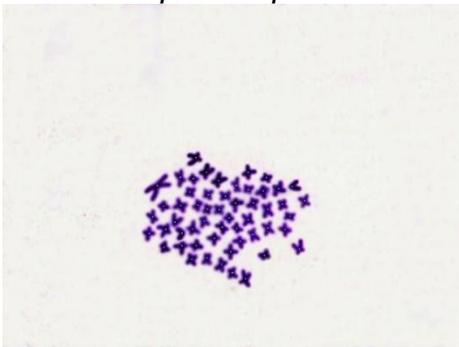
c.- Metafase 40 min/KCl 0.45%
Astroblepus chapmani



d. Metafase 40 min/KCl 0.45
Astroblepus chapmani



e.- Metafase 45 min/KCl 0.45%
Astroblepus chapmani



f. Metafase 50 min/KCl 0.45%
Astroblepus chapmani



Anexo 4. Biometría *Astroblepus grivalvii*, Río Patía.

Biometría del <i>Astroblepus grivalvii</i>, sitio No 1, Zona Timbío, Vereda El Platanillal				
	Fecha	Sexo	Wt/gr	Lt/cm
1	07/07/2006	macho	12,63	11
2	07/07/2006	macho	11,4	10,6
3	08/08/2008	macho	24,43	16
4	08/08/2008	macho	15,45	12
5	08/08/2008	macho	18,54	13
6	08/08/2008	macho	12,81	11,3
7	08/08/2008	macho	13,02	11
8	07/07/2006	macho	12,89	11
9	07/07/2006	macho	11,4	10
10	08/08/2008	macho	25	14,1
11	08/08/2008	macho	17,45	12,2
12	08/08/2008	macho	18,5	13
13	20/08/2006	macho	24,43	14
14	20/08/2006	hembra	18	13
15	20/08/2006	hembra	12,81	11
16	07/07/2006	hembra	14,45	11,3
17	07/07/2008	hembra	11,69	10,5
18	08/08/2008	hembra	20,02	13,5
19	07/07/2006	hembra	13,22	11,2
20	07/07/2006	hembra	11,8	10,5
21	20/08/2006	hembra	23,8	14,1

Anexo 5. Biometría *Astroblepus grivalvii*, Río Cauca

La Tetilla vereda "Las Mercedes" Sitio No 2, río Gualimbío, Corregimiento Santa Rosa, Vereda las Mercedes				
	Fecha	Sexo	Wt/gr	Lt/cm
1	01/10/2006	macho	16,25	11,3
2	01/10/2006	macho	38,45	16
3	29/10/2006	macho	36,26	15
4	13/11/2006	macho	36,94	15
5	13/11/2006	macho	58,1	18,5
6	13/11/2006	macho	43,49	16
7	02/02/2007	macho	18,26	13
8	02/02/2007	macho	17,52	12,5
9	09/03/2007	macho	38,46	16,5
10	01/10/2006	hembra	38,16	17,6
11	17/10/2006	hembra	27,3	14
12	17/10/2006	hembra	37,43	16
13	17/10/2006	hembra	45,38	18
14	17/10/2006	hembra	45,3	17,8
15	29/10/2006	hembra	38,32	16,44
16	13/11/2006	hembra	43,27	17,05
17	13/11/2006	hembra	28,05	13,54
18	02/02/2007	hembra	26,5	13
19	09/03/2007	hembra	12,45	11,5
20	27/03/2007	hembra	24,21	13
21	27/03/2007	hembra	22,47	12

Anexo 6. Biometría *Astroblepus chapmani*, Río Grande Coconuco

Biometría del <i>Astroblepus chapmani</i>, Sitio No 3 Río Grande Coconuco					
	Fecha	Sexo	Wt/gr	Lt/cm	
1	07/10/2007	macho	15,28	8,5	
2	07/10/2007	macho	15	8,23	
3	07/10/2007	macho	12,4	6,13	
4	07/10/2007	macho	10,34	5,7	
5	07/10/2007	macho	9,22	5,2	
6	07/10/2007	macho	8,13	4,7	
7	07/10/2007	macho	15,66	7,8	
8	07/10/2007	macho	14,17	8	
9	07/10/2007	macho	13,19	6,2	
10	07/10/2007	hembra	16,79	9	
11	07/10/2007	hembra	14	8,3	
12	07/10/2007	hembra	12	6,2	
13	07/10/2007	hembra	11	6	
14	07/10/2007	hembra	14,5	8	
15	07/10/2007	hembra	11,12	6,22	
16	07/10/2007	hembra	10,21	6	
17	07/10/2007	hembra	9,13	5,5	
18	07/10/2007	hembra	9	5,1	
19	07/10/2007	hembra	10,11	6,1	

Anexo 7. Planilla para el Conteo de metafases y número cromosómico.

Sitio de Muestreo: _____ Sitio de muestreo _____

Fecha Muestreo: _____ Fecha de Muestreo _____

Fecha Experimento: _____ Fecha de Experimento _____

Especie: _____ Sexo: _____ Especie: _____ Sexo: _____

Código Placa:			Código Placa:		
# Metafases	# 2n	Observaciones y Coordenadas	# Metafases	# 2n	Observaciones y Coordenadas
1			1		
2			2		
3			3		
4			4		
5			5		
6			6		
7			7		
8			8		
9			9		
10			10		
11			11		
12			12		
13			13		
14			14		
15			15		
16			16		
17			17		
18			18		
19			19		
20			20		
22			22		
23			23		
24			24		
25			25		
26			26		
27			27		
28			28		
29			29		
30			30		
# Cromosómico Estadístico:			# Cromosómico Estadístico:		

Anexo 8. Número de Metafases y conteo cromosómico de la especie *Astroblepus grixalvii* Sitio No 1 Timbío, Hembras y machos.

Macho		Hembra	
No. Cromosómico	No. Metafases	No. Cromosómico	No. Metafases
40	0	40	0
41	0	41	1
42	0	42	1
43	0	43	1
44	1	44	0
45	1	45	0
46	1	46	1
47	1	47	1
48	2	48	1
49	2	49	1
50	2	50	4
51	3	51	2
52	8	52	6
53	3	53	2
54	35	54	39
55	2	55	0
56	2	56	2
57	0	57	0
58	2	58	0
59	0	59	0
60	0	60	0
Total	60	TOTAL	60

Anexo 9. Número de metafases y conteo cromosómico de la especie *Astroblepus grixalvii* Sitio No 2 Gualimbó hembras y machos.

Macho		Hembra	
No. Cromosómico	No. Metafases	No. Cromosómico	No. Metafases
40	0	40	0
41	0	41	1
42	0	42	1
43	0	43	1
44	1	44	1
45	1	45	1
46	1	46	2
47	1	47	1
48	2	48	2
49	1	49	2
50	4	50	2
51	2	51	1
52	4	52	4
53	1	53	4
54	34	54	31
55	1	55	0
56	3	56	4
57	0	57	1
58	2	58	1
59	0	59	0
60	2	60	1
Total	60	TOTAL	60

Anexo 10. Número de metafases y conteo cromosómico de la especie *Astroblepus Chapmani*, Sitio No 3 Rio Grande Hembras y machos.

Macho		Hembra	
No. Cromosómico	No. Metafases	No. Cromosómico	No. Metafases
40	0	40	0
41	0	41	0
42	0	42	0
43	0	43	0
44	0	44	0
45	0	45	0
46	0	46	4
47	1	47	1
48	2	48	1
49	1	49	2
50	4	50	3
51	2	51	0
52	5	52	6
53	4	53	2
54	4	54	6
55	0	55	0
56	32	56	34
57	4	57	0
58	1	58	0
59	0	59	0
60	0	60	1
Total	60	TOTAL	60

Anexo 11. Prueba de estudent para las especies *A. grivalvii*, Cuenca Cauca y Patía.

Wt/gr Sitio No 1	Wt/gr sitio No 2	
12,63	16,25	
11,4	38,45	
24,43	36,26	
15,45	36,94	
18,54	58,1	
12,81	43,49	
13,02	18,26	
12,89	17,52	
11,4	38,46	
25	38,16	
17,45	27,3	
18,5	37,43	
24,43	45,38	
18	45,3	
12,81	38,32	
14,45	43,27	
11,69	28,05	
20,02	26,5	
13,22	12,45	
11,8	24,21	
23,8	22,47	
Promedio	16,37	32,98
Desviación estándar	4,77	11,74
Media geométrica	15,76	30,73

Prueba T

	Variable 1	Variable 2
Media	16,36857143	32,97952381
Varianza	22,76563286	137,8718648
Observaciones	21	21
Varianza agrupada	80,31874881	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	40	
Estadístico t	-6,005936215	
P(T<=t) una cola	2,31824E-07	
Valor crítico de t (una cola)	1,683851014	
P(T<=t) dos colas	4,63648E-07	
Valor crítico de t (dos colas)	2,02107537	

Con 40 grados de libertad (gl) y 0,025 e igual a 2,0211 y por ser este valor calculado de 6,0059 mayor (>) que el tabulado, hay diferencia significativa entre las dos especies de *A. grimaldii* de las dos cuencas, siendo las mismas especies en lo que respecta al peso, mas no hay diferencia significativa en lo respecta a longitud. Posiblemente esta diferencia se debe a la gran cantidad de nutrientes que puede haber en el rio Gualimbío afluente de la Cuenca Cauca.