

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura**

**Informe Final
Práctica Profesional Supervisada**

**Preparaciones Cromosómicas en Organismos Acuáticos (Cariotipo de
Thorichthys pasionis) en el Laboratorio de Acuicultura, División
Biológica de la Universidad de Juárez Autónoma de Tabasco, en
Villahermosa, Tabasco, México**



**Presentado por
Mario Abraham Hernández Sagastume**

**Para otorgarle el Título de
Técnico en Acuicultura**

Guatemala, Febrero de 2009

Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

Consejo Directivo

Presidente	M.Sc. Pedro Julio García Chacón
Coordinador Académico	M.Sc. Carlos Salvador Gordillo García
Secretario	M.Sc. Norma Gil de Castillo
Representante Docente	M.V. Salomón Medina Paz
Representante del Colegio de Médicos Veterinarios y Zootecnistas	M.Sc. Estrella de Lourdes Marroquín
Representante Estudiantil	T.A. Diana Crespo Mendoza
Representante Estudiantil	T.A. Manoel Cifuentes Marckword

Acto que Dedico

A Dios por ser mi creador y permitirme crecer espiritual e intelectualmente, por bendecirme y guiarme en mi vida.

A mis padres por ser ejemplo, al enseñarme conducirme y a sembrar principios morales y éticos, que se reflejan en mi conducta y actitud profesional.

A mis hermanos por su apoyo que me han demostrado permitiéndome seguir adelante ante cualquier adversidad.

A mi abuela mamá Tila por ser pilar en mi vida, y brindarme sabiduría.

A mis primos, tíos, sobrinos y padrinos por estar incentivándome a superarme cada día.

A mis amigos con los cuales nos hemos reído, aprendido y apoyado, por brindarme su amistad sabiendo que puedo contar con ellos siempre.

Agradecimientos

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser la casa de estudios superiores que me permite alcanzar mis metas profesionales y poderme desarrollar intelectualmente.

Al Centro de Estudios del Mar y Acuicultura, por brindarme el conocimiento necesario para la obtención de este título para poder servir a mi querida Guatemala.

A mis catedráticos que me instruyeron con sus conocimientos en la materia de estudio.

A la División Académica de Biología de la Universidad de Juárez Autónoma de Tabasco por permitirme realizar mi pasantía en el Laboratorio de Acuicultura y permitirme con ello iniciarme en las labores de trabajo e introducirme en el campo de la genética.

Al Dr. Lenin Arias, Dra. Jeane Rimber Indy, M.Sc. Ulises Hernández y demás personal del Laboratorio de Acuicultura, por instruirme durante mi estancia en ese lugar y apoyarme, reforzando mi conocimiento teórico y práctico.

Índice de Contenido

	Página
1. Introducción	1
2. Objetivos	2
2.1 General	2
2.2 Específicos	2
3. Aspectos Generales del Laboratorio de Acuicultura	3
3.1 Ubicación geográfica	3
3.2 Condiciones climáticas	4
3.3 Altitud	4
3.4 Extensión y espejo de agua	4
3.5 Objetivo de la producción	4
3.6 Croquis del Laboratorio de Acuicultura	5
4. Aspectos Administrativos del Laboratorio de Acuicultura	6
4.1 Evaluación del personal	6
4.2 Servicios profesionales externos	6
4.3 Organigrama del Laboratorio de Acuicultura	7
5. Características de la Fuente de Agua	8
5.1 Características de la fuente de agua	8
5.1.1 Río	8
5.1.2 Agua reposada o de tubería	8
5.2 Parámetros físico-químicos de calidad de agua	8
5.3 Filtros de las fuentes de agua	9
5.4 Uso posterior del agua	10
6. Preparaciones Citogenéticas en Peces	11
6.1 Principios básicos de la preparación de cromosomas en peces	12
6.2 Clasificación de los cromosomas	13

7. Biología de la Especie	14
7.1 Sistemática y taxonomía	14
7.2 Generalidades	15
7.3 Distribución geográfica	16
7.4 Importancia de la especie	17
8. Importancia del Estudio	17
9. Materiales y Método	18
9.1 Captura y selección de organismos	18
9.2 Inhibidor del ciclo celular	18
9.3 Hidratación	19
9.4 Fijación	20
9.5 Goteo	20
9.6 Tinción	21
9.7 Análisis cromosómico	21
10. Resultados	24
11. Discusión de Resultados	30
12. Conclusiones	33
13. Recomendaciones	34
14. Bibliografía	35
15. Anexo	38

Índice de Cuadros

		Página
Cuadro No. 1	Parámetros Físicoquímicos de calidad de agua del Laboratorio	9
Cuadro No. 2	Longitudes promedio en micras (μ) y relativas por par cromosómico, análisis del complemento cromosómico del cariotipo de gónada diploide ($2n = 48$) de <i>Thorichthys pasionis</i>	30

Índice de Figuras

		Página
Figura No.1	Mapa geográfico del Estado de Tabasco	3
Figura No.2	Croquis del Laboratorio de Acuacultura	5
Figura No.3	Organigrama del Laboratorio de Acuacultura	7
Figura No.4	Filtro biológico	10
Figura No.5	Filtros para hormona	11
Figura No.6	Clasificación de los cromosomas según Levan (1964)	13
Figura No.7	Ejemplares de <i>T. pasionis</i> macho y hembra	16
Figura No.8	Distribución geográfica de <i>T. pasionis</i>	16
Figura No.9	Identificación de <i>T. pasionis</i>	18
Figura No.10	Inyección de colchicina en <i>T. pasionis</i>	19
Figura No.11	Tejido gonadal y branquial en solución hipotónica	20
Figura No.12	Técnica de secado en flama	21
Figura No.13	Tinción de laminillas	21
Figura No.14	Medición de cromosomas	24
Figura No.15	Gráfica demostrando la frecuencia de número modal diploide $2n = 48$ en mitosis con un caso especial de triploidia.	25
Figura No.16	Gráfica demostrando la frecuencia de número modal haploide $n = 24$ en meiosis con casos especiales de	

	triploide, tetraploide, pentaploide y hexaploide.	26
Figura No.17	Dispersiones cromosómicas anormales provenientes del tejido gonadal de <i>T. pasionis</i> (A) Caso triploide $3n=72$. (B) Caso tetraploide $4n=96$. (C) Caso pentaploide $5n=120$. (D) Caso hexaploide $6n=144$.	27
Figura No.18	Cariotipo representativo de <i>T. pasionis</i> en diploide $2n=48$ cromosomas.	28
Figura No.19	Dispersiones cromosómicas haploide y diploide.	28
Figura No.20	Ideograma representativo del complemento cromosómico promedio de longitudes relativas por pares del cariotipo de <i>T. pasionis</i> .	29

Índice de Anexo

Anexo No. 1	<i>Thorichthys pasionis</i>
Anexo No. 2	Muestras en centrifugadora
Anexo No. 3	Tratamiento hipotónico en tejido gonadal y branquial
Anexo No. 4	Laminillas secándose
Anexo No. 5	Preparación de Inhibidor mitótico la Colchicina al 0.1%
Anexo No. 6	Preparación de Citrato de sodio al 1%
Anexo No. 7	Preparación Madre Giemsa
Anexo No. 8	Tabla de clasificación de cromosomas según Levan (1964) utilizando los parámetros i, d y r

1. Introducción

El Laboratorio de Acuicultura de la División de Ciencias Biológicas (DACBIOL) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) se dedica a la producción de peces como pejelagarto (*Atractosteus tropicus*), Tilapia de diferentes variedades y tenguayaca (*Petenia splendida*) para cultivos y ayudar a la población, siendo en el Área de Genética una de las más importantes pues es donde se lleva a cabo toda la investigación para el mejoramiento de las especies.

La abundancia de peces en el medio acuático, ha estado asociado aún medio de subsistencia en muchas culturas del mundo. Actualmente los cultivos de organismos acuáticos son la respuesta a la escasez. Sin embargo, los procedimientos de producción de alevines y larvas a mediana y gran escala han generado problemas de consanguinidad y pérdida de la variación genética con la consecuente pérdida en los volúmenes de producción, así como disminución de tallas y reproducción prematura.

Con los métodos modernos de mejoramiento genético en la acuicultura muchos de los problemas han sido compensados debido a la producción de peces monosexuales sin tratamientos hormonales, peces poliploides estériles, líneas clonales, hibridación, etc. Por lo que la investigación de cariotipos representativos y número de cromosomas de allí partiendo para la manipulación cromosómica se ha convertido en una herramienta indispensable para el campo acuícola.

En este documento se encontrará el procedimiento citogenético basado en (Arias, 2006), con el cual se pudo determinar el cariotipo representativo del cíclido *Thorichthys pasonis* el cual habita al sur de México y Guatemala, dando como resultado 48 cromosomas en condición diploide $2n=48$ de los cuales 6 son metacéntricos-submetacéntricos y 42 telocéntricos. En las dispersiones cromosómicas se pueden observar campos de triploidia hasta hexaploidia.

2. Objetivos

2.1 General:

Introducir al estudiante en el ejercicio de la carrera de Técnico en Acuicultura, en una práctica directa, en un espacio territorial e institucional.

2.2 Específicos:

- Proveer la oportunidad de participar en actividades reales propias del Manejo de los Recursos Hidrobiológicos del país.
- Retroalimentar el proceso de enseñanza-aprendizaje mediante la integración de los acontecimientos y experiencias teórico-prácticas adquiridas.
- Propiciar el desarrollo y ejercicio de los valores morales y éticos en el desempeño profesional.

3. Aspectos Generales del Laboratorio de Acuicultura

3.1 Ubicación geográfica

El Estado de Tabasco es una de las entidades federativas de la región sureste de la República Mexicana; se localiza entre los 17° 45' 00" y 18° 39' 07" de latitud norte y los 90° 50' 23' y 94° 07' 49" de longitud oeste. Limita al norte con el Golfo de México; al este, con el estado de Campeche y la República de Guatemala, y al oeste, con el estado de Veracruz, siendo el río Tonalá la frontera natural entre ambos estados. Hacia el sur limita con el estado de Chiapas y hacia el sureste con la República de Guatemala. (Cruz, 2005)

Villahermosa pertenece al Estado de Tabasco, se encuentra situada en el sureste de México entre los ríos Grijalva y Carrizal.

El Laboratorio de Acuicultura de la División (DACBIOL) se encuentra ubicado dentro de las instalaciones de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) en la Carretera Villahermosa-Cárdenas Km 0.5 S/N. Entronque a Bosques de Soloya del estado de Tabasco, México (Salvador, 2007).



Figura 1. Mapa geográfico del Estado de Tabasco

3.2 Condiciones climáticas:

El clima del lugar es tropical húmedo, la temperatura asciende de 12°C a 15°C en los meses más fríos: enero y diciembre, y hasta 42°C en el mes más caluroso, con un promedio anual de 26°C.

Las lluvias alcanzan uno de los promedios mas altos del mundo, con una precipitación fluvial de 3500 milímetros, la temporada abarca la mayor parte del año, de junio a marzo, solo la primavera es relativamente seca. (Contreras, 2001)

3.3 Altitud:

Villahermosa presenta una altura promedio de 10 metros sobre el nivel del mar. (Ramírez, 2007)

3.4 Extensión y espejo de agua:

El laboratorio de Acuicultura cuenta con un área de extensión territorial de 70,000 m², y maneja un volumen de 550.16 m³ de agua (Ramírez, 2007).

3.5 Objetivo de la producción:

El objetivo principal del Laboratorio de Acuicultura es fomentar y desarrollar tecnologías que mejoren la producción de alevines y organismos acuáticos para un mejor desarrollo y crecimiento sea para utilizarlos como reproductores, como para engorda y uso en la alimentación humana y animal, e inclusive para uso ornamental (Salvador, 2007).

Los servicios que ofrece este laboratorio son:

- Diseño de sistemas de recirculación
- Diseño de sistemas de filtración
- Reproducción de peces.
- Producción de alimento vivo.
- Prevención y control de Enfermedades
- Evaluación de proyectos acuícolas

- Selección de especies con potencial acuícola
- Mejoramiento genético
- Producción de alevines de tilapia, pejelagarto, pez blanco.
- Investigación.
- Extensión

3.6 Croquis del Laboratorio de Acuicultura:

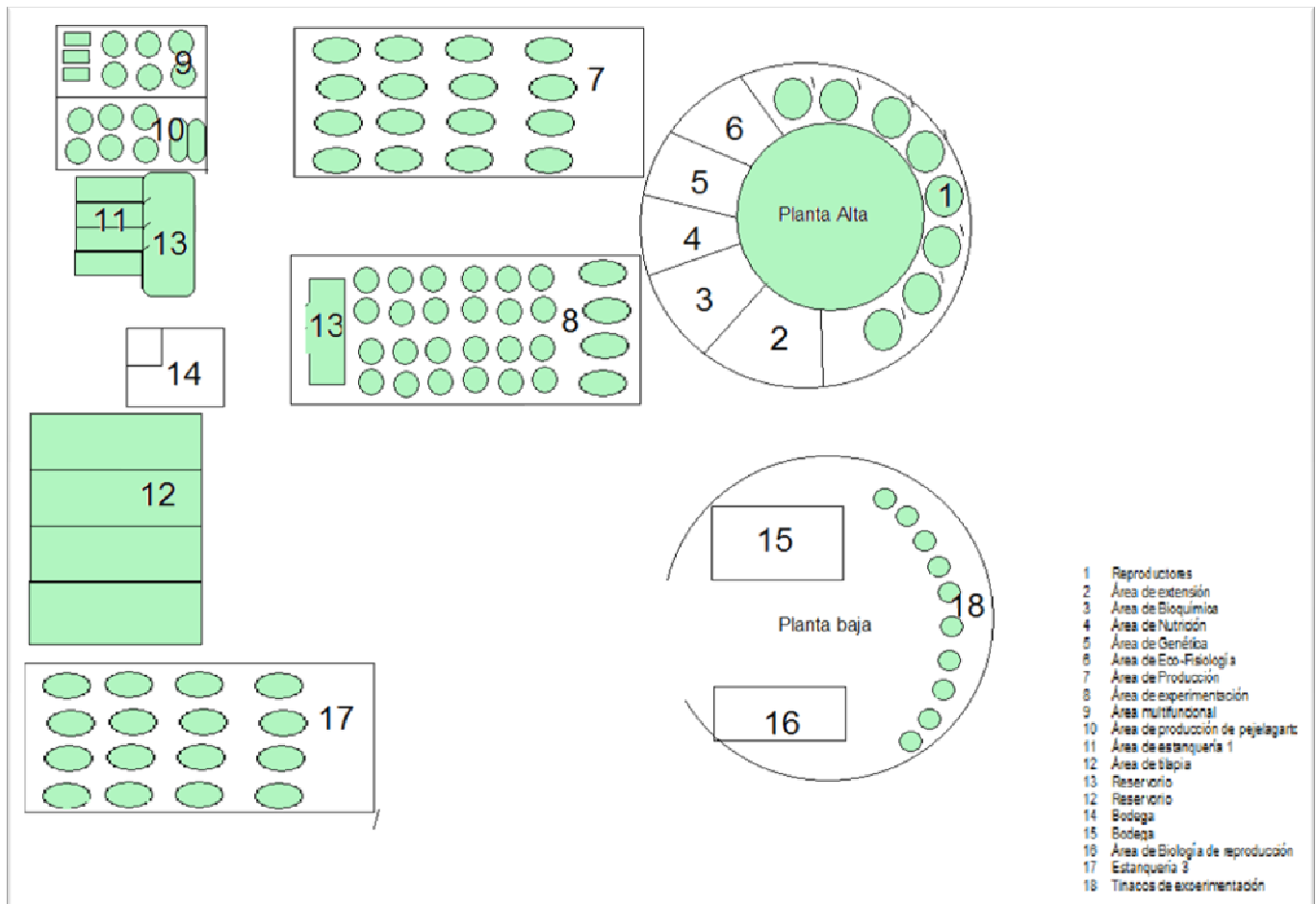


Figura No. 2 Croquis del Laboratorio de Acuicultura

4. Aspectos Administrativos del Laboratorio de Acuicultura

4.1 Evaluación de personal:

Todo el personal que trabaja en el Laboratorio de Acuicultura es altamente calificado pues los trabajadores son biólogos egresados de la DACBIOL. Así mismo los estudiantes de la división deben de realizar su trabajo de Servicio Social en donde muchos estudiantes optan por realizar su trabajo en el Laboratorio de acuicultura. El Laboratorio de Acuicultura también es utilizado por los tesisistas los cuales realizan sus experimentos.

Adicionalmente los que están a cargo del laboratorio son profesionales altamente calificados, son profesores investigadores los cuales siempre están en investigaciones innovadoras. Como es el caso de el Área de Nutrición y Bioquímica que buscan una alternativa para el uso de *Plecostomus* sp. Como alimento para tilapia. O en el Área de Genética realizando cariotipos de especies acuáticas.

4.2 Servicios Profesionales Externos:

El Laboratorio de Acuicultura a través de su programa de Extensión realiza monitoreos, y repoblamiento con alevines de tilapia y *Petenia splendida* en cuerpos de agua para ayudar a los pescadores de las comunidades, así mismo se realizan asesoramientos a pequeños y medianos productores.

Este laboratorio también abastece a la comunidad comercializadora de *A. tropicus*, *P. splendida*, *O. niloticus*, *O. mossambicus* y *C. urophthalmus*; esto debido a que no existen suficientes entidades privadas o estatales que puedan abastecer completamente el mercado, siendo este centro un pionero de la larvicultura de especies como el *A. tropicus* *P. splendida* *C. urophthalmus* en Latinoamérica.

4.3 Organigrama del Laboratorio de Acuicultura

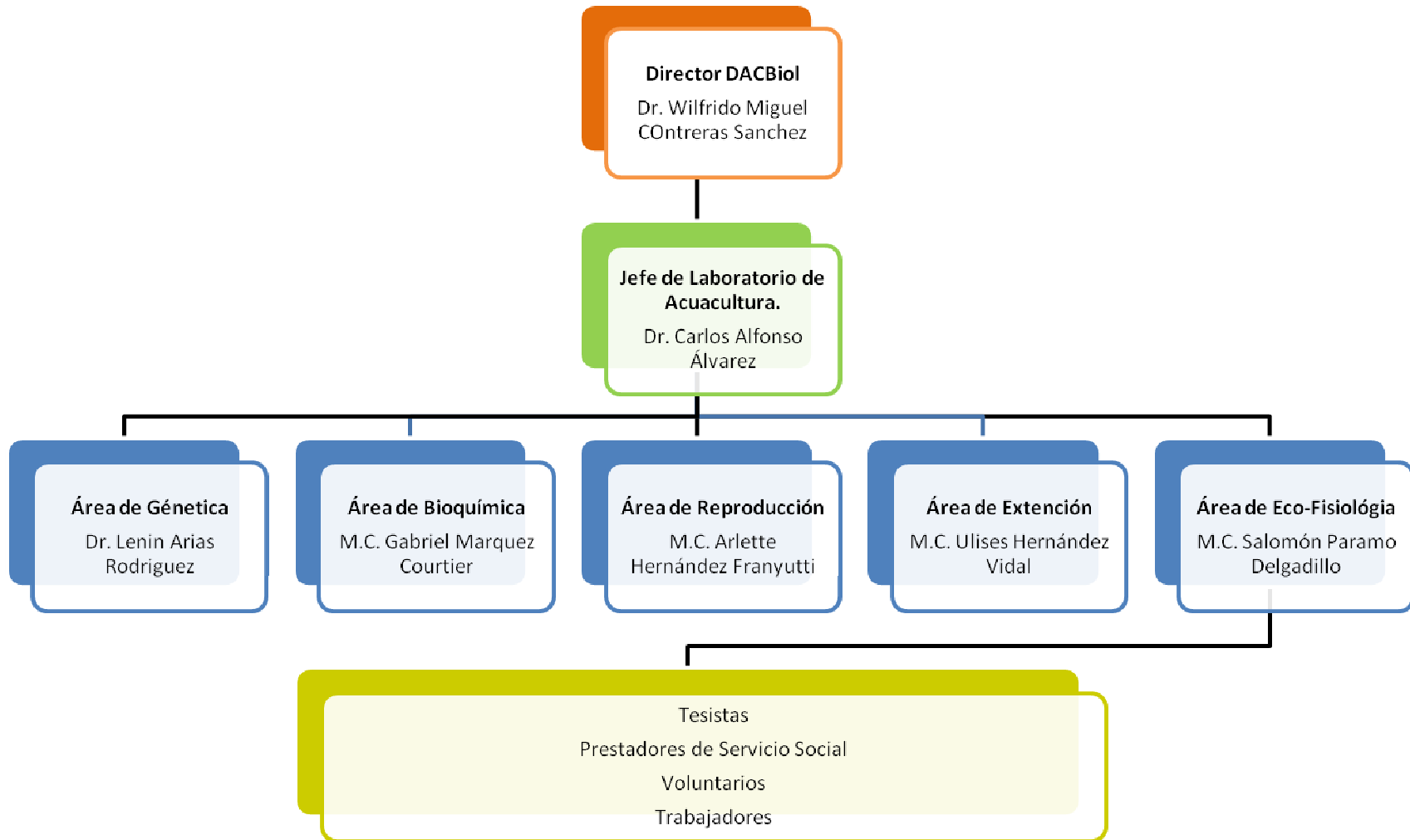


Figura No. 3 Organigrama del Laboratorio de Acuicultura

5. Características de la Fuente de Agua

5.1 Características de las fuentes de agua:

Son dos las fuentes de agua que posee este laboratorio, ya que debido a la diversidad de especies con las que trabaja y las diferentes funciones en los cubículos de histología, nutrición, genética; se necesitan aguas de diferentes características, siendo estas:

5.1.1 Rio: el rio Carrizal con una ancho de 153 m y un caudal de los mayores del país, es utilizado como fuente de agua en este Laboratorio, debido a la cercanía y necesidad de sus características ya que es indispensable para los organismos nativos.

Durante el periodo de lluvia, estas aguas tienden a entrar a las instalaciones con sedimentos y alta turbidez, generando en las larvas problemas de hongos y especialmente el de Ich, causada por el protozoo *Ichthyophthirius multifiliis*, suspendiéndose el uso de ella en casos extremos.

5.1.2 Agua reposada o de tubería: Esta fuente abastece generalmente a la zona de laboratorios y larvicultura de Pejelagarto *A. tropicus* el cual se maneja con agua reposada. Debido a la presencia de cloro que poseen estas aguas, es necesario que se coloque en un reservorio y se deje reposar por 24 a 48 hrs (Ramírez, 2007).

5.2 Parámetros Físico-Químicos de Calidad de Agua:

El Laboratorio de Acuicultura no cuenta con un registro diario de calidad del agua, aunque estos se hacen mensualmente, ya que la calidad del agua utilizada es aceptable y los recambios son diarios.

Únicamente en la elaboración de ensayos para tesis y experimentos se utiliza agua en ciclo cerrado, con parámetros controlados y se toman a diferentes horas del día muestras para la elaboración de parámetros físico-químicos.

Cuadro No.1 Parámetros Fisicoquímicos de calidad de agua del Laboratorio

Parámetro	Lectura
Color de Agua	Transparente
Olor	Fresco
Transparencia	>45 cm
Temperatura	27° C
pH	6.9
Oxígeno Disuelto	6 mg/l
Alcalinidad Total	0.7 mg/l
Dureza	135 mg/l
Fosfatos	7.15 mg/l

(Taracena, 2006 y Cruz 2005)

5.3 Filtros de las fuentes de agua:

El laboratorio posee tres filtros los cuales están integrados en las principales aéreas de larvicultura, siendo estas periférico, larvicultura experimental y larvicultura para comercialización de Pejelagarto *A. tropicus*, con el fin de eliminar desechos de entrada y salida del agua cuando esta deba ser recirculada.

El filtro biológico contiene secciones que permiten la recirculación del agua, en la primera sección se recibe el agua, pasando a la segunda en la que se sedimentaran las partículas mayores y más pesadas, en la tercera sección se introducen organismos filtradores como almejas o caracoles los cuales eliminaran el resto de partículas y plancton existente (Ramírez, 2007).

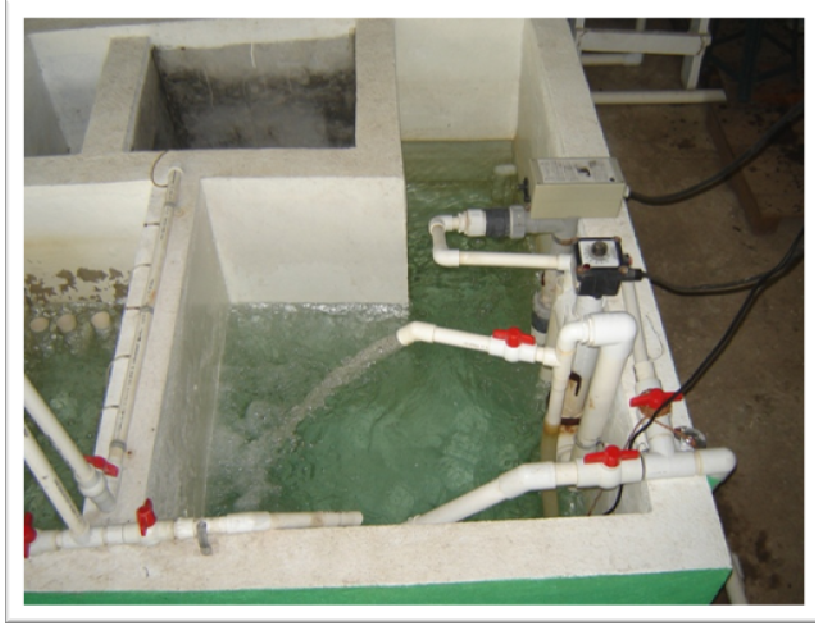


Figura No. 4 Filtro biológico

5.4 Uso posterior del agua:

El agua es desalojada al canal principal y este va a terminar de manera directa al humedal que se ubica por la parte posterior de la división. Por lo anterior se considera que existe un deterioro del ecosistema alrededor de acuario, dado que por naturaleza propia del desecho producido por el acuario que ha crecido en su capacidad de producción de manera importante en los últimos 5 años, en consecuencia cada vez se generan mayores volúmenes de aguas residuales que sin tratamiento alguno son arrojado hacia el área del humedal. Sin embargo las normas y criterios ecológicos no es necesario darle algún tipo de tratamiento a las aguas residuales provenientes del Laboratorio de Acuicultura de la DACBIOL de la UJAT, ya que las aguas de descarga no alteran ni contaminan considerablemente el área de descarga (Cruz, 2005).

Es únicamente la parte de larvicultura de tilapia *O. niloticus* en donde se lleva a cabo la eliminación de la hormona, pasando esta por filtros de carbono y plantas acuáticas los cuales desactivan la hormona, para luego unirse al resto de agua utilizada, Esta agua es drenada a la parte trasera del laboratorio, donde por gravedad se traslada hacia una laguna de sedimentación (Ramírez, 2007).



Figura No. 5 Filtros para hormona

6. Preparaciones Citogenéticas en Peces

La citogenética es la disciplina que trata sobre la estructura de los cromosomas así como las implicaciones genéticas derivadas de su estudio (Gill-Friebe, 1998).

Los estudios de citotaxonomía han ayudado a aclarar el estado taxonómico de varias especies de peces basándose en características cromosómicas como el número total de cromosomas, la proporción de brazos cromosómicos, posición del centrómero, forma y tamaño de los cromosomas (Denton, 1973, Levan *et al* 1964). Tales características han sido esenciales para establecer el cariotipo representativo de varias especies, por ejemplo: El de nuestra especie, *Homo sapiens* (Denton, 1973).

En la actualidad la citogenética ha logrado desarrollar y adaptar procedimientos que provienen de otras disciplinas como es el caso particular de las técnicas de biología molecular y entre ellas la hibridación “*in situ*” de ácidos nucleídos que han abierto un extenso campo de aplicaciones en la citogenética molecular actual (Hilli y Moritz, 1990). Las técnicas de bandeo de cromosomas siguen empleándose como una herramienta

completaría para la identificación de cromosomas homólogos al igual que para los cromosomas sexuales (Denton, 1973).

6.1 Principios Básicos de la Preparación de Cromosomas en Peces:

Antes de iniciar la aplicación de la técnica citogenética es necesario, conocer y discutir algunos aspectos básicos y generales del procedimiento a seguir ya que este permitirá, dependiendo del manejo que se haga la experiencia que se logre al respecto, obtener una buena cantidad de células detenidas en metafase con la calidad requerida para ser apropiadamente identificadas. Estas requerirán de una hidratación, fijación, tinción montaje adecuado, lo que nos facilitara observar dispersiones cromosómicas (Arias, 1998).

Los cromosomas de peces son vistos al microscopio con más facilidad durante la metafase de la mitosis, cuando ellos están solamente condensados y definidos (Thorard y Disney, 1990) y mejor aún cuando han sido sometidos a una técnica de tinción específica. (Kirpichnikov, 1981).

Las preparaciones cromosómicas de células mitóticas en división, se pueden obtener a partir de una variedad de tejidos durante diferentes fases de la vida del pez, también pueden ser obtenidas células meióticas a partir de las gónadas (Thorard y Disney, 1990).

Un procedimiento ampliamente extendido entre los citogenetistas para la determinación de pares cromosómicos es el desarrollado por (Levan *et al.* 1964) en el se describe un sistema de clasificación de los cromosomas basado en la posición del centrómero por lo que se clasifican en varias categorías con base en la posición de esta estructura y el tamaño que guardan los brazos cromosómicos atendiendo a la posición de este. En general los cromosomas se clasifican en tres categorías (Levan *et al.*, 1964).

6.2 Clasificación de los cromosomas

Los cromosomas metacéntricos (m) son aquellos cromosomas en los que el brazo largo (q) y el corto (p) tienen tamaño similar y por lo tanto el centrómero queda en la región central de ambos, mientras que los cromosomas submetacéntricos (sm) son aquellos que tienen un brazo ligeramente más corto (p) y un brazo más largo (q) quedando el centrómero en una posición submedia y los cromosomas acrocéntricos (a) son aquellos que presentan en algunas ocasiones el tamaño del brazo (q) muy corto de modo que en algunos casos este brazo puede llegar a no observarse, por lo que solo es posible ver el brazo largo (q) con el centrómero en posición terminal del cromosoma.

Conociendo el tipo de cromosoma del complemento diploide de una especie se puede establecer el cariotipo que se basa en ordenar los cromosomas de acuerdo con el tamaño y las características morfológicas que presentan.

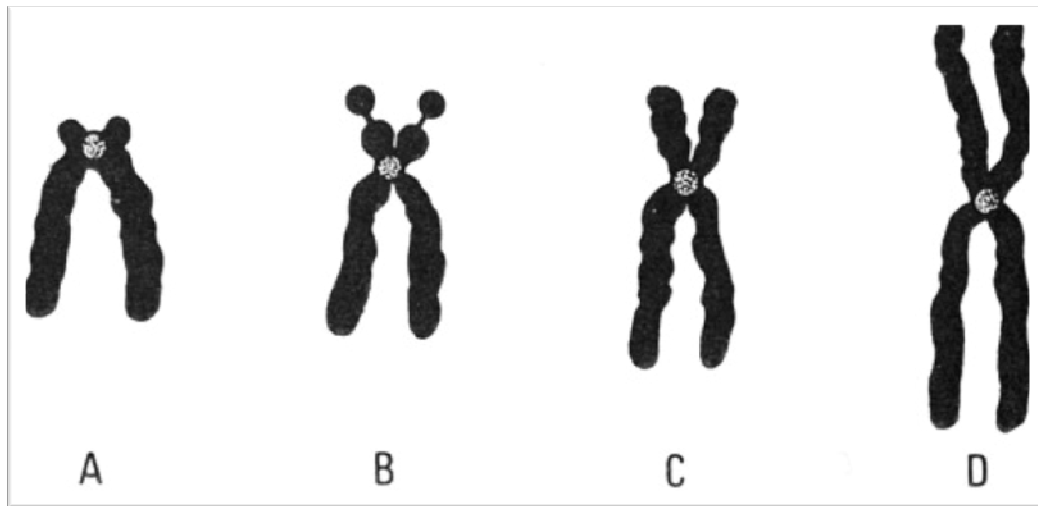


Figura No. 6 Clasificación de los cromosomas según Levan (1964), (A) Cromosoma telocéntrico, (B) cromosoma acrocéntrico, (C) cromosoma submetacéntrico y (D) cromosoma metacéntrico.

Los estudios de citogenética en peces han contribuido a la determinación taxonómica de ellos (Galétti Junior *et al.*, 2006), a la separación de poblaciones genéticas (Uribe-Alcocer *et al.*, 1990) y la identificación de problemas relacionados con los efectos

ocasionados por la contaminación sobre el genoma por ejemplo en la mojarra tenguayaca *Petenia splendida* (Arias-Rodríguez *et al.*, 2008). Este tipo de análisis cromosómico es muy interesante en el grupo de los peces ya que está integrado por un vasto número de especies que son de crucial importancia para el entendimiento y comprensión de los procesos evolutivos en los vertebrados y para su aprovechamiento racional (Galetti-Junior *et al.*, 2006).

Se han realizado un extenso número de estudios mediante análisis citogenéticos y los resultados obtenidos indican que algunos géneros y familias conservan patrones similares de número de cromosomas y morfología, por ejemplo en los cíclidos y carácidos americanos (Thompson, 1979).

También revelan que los contaminantes provocan un desequilibrio en el ambiente en el cual habitan las diversas especies de peces y que dañan y alteran los cromosomas de ellos. Este es el caso de varias industrias que vierten sus desechos entre los cuales puede encontrarse el mercurio, u otros desechos químicos, hacia los ríos alterando los ecosistemas acuáticos (Feldberg *et al.*, 2004).

7. Biología de la Especie

7.1 Taxonomía y Sistemática

La ubicación taxonómica de *T. pasionis* se encuentra de la siguiente manera:

- Reino: Animalia
- Filo: Chordata
- Clase: Actinopterygii
- Orden: Perciformes
- Familia: Cichlidae
- Género: *Thorichthys*
- Nombre científico: *Thorichthys pasionis* (Rivas, 1962)

7.2 Generalidades

Los peces de esta familia son de hábitos diurnos, de ambientes lenticos y con cuidado parental. El género *Thorichthys* se define por una combinación de rasgos: Cuerpo alto y muy comprimido, boca bastante pequeña, aleta caudal alunada, con los radios externos prolongados en forma de filamento; aletas pectorales largas y puntiagudas, tan largas como la cabeza; marca negra en el subopérculo.

El genero cuenta con 8 especies las cuales son:

- *Thorichthys meeki*.
- *Thorichthys affinnis*.
- *Thorichthys aureum*.
- *Thorichthys callolepis*
- *Thorichthys ellioti*.
- *Thorichthys helleri*.
- *Thorichthys socolofi*.
- *Thorichthys pasionis*.

Thorichthys pasionis (Rivas, 1862), tiende a agruparse en grandes concentraciones en las lagunas en las que habita, siempre esta asociado a *Thorichthys meeki* y otras especies del genero, así como otros cíclidos.

Thorichthys pasionis se puede diferenciar de y *T. affinis* en el número de espinas branquiales es mayor, menor número de radios anales y *pasionis* tiene tres manchas negras una en el opérculo otra en la base de la aleta dorsal y la otra en el pedúnculo caudal. Sin embargo son muy parecidas con *meeki* y *affinis* en el perfil frontal recto, morro alargado con prognatismo (la mandíbula inferior mayor) y carencia de marca negra en la aleta dorsal.

El dimorfismo sexual no es siempre evidente; las hembras muestran un amarillo poco intenso, las aletas más cortas y un perfil frontal más redondeado mientras el macho es

de amarillo mas intenso. Los machos de *Thorichthys pasionis* crecen hasta los quince centímetros, quedándose las hembras en doce cm.

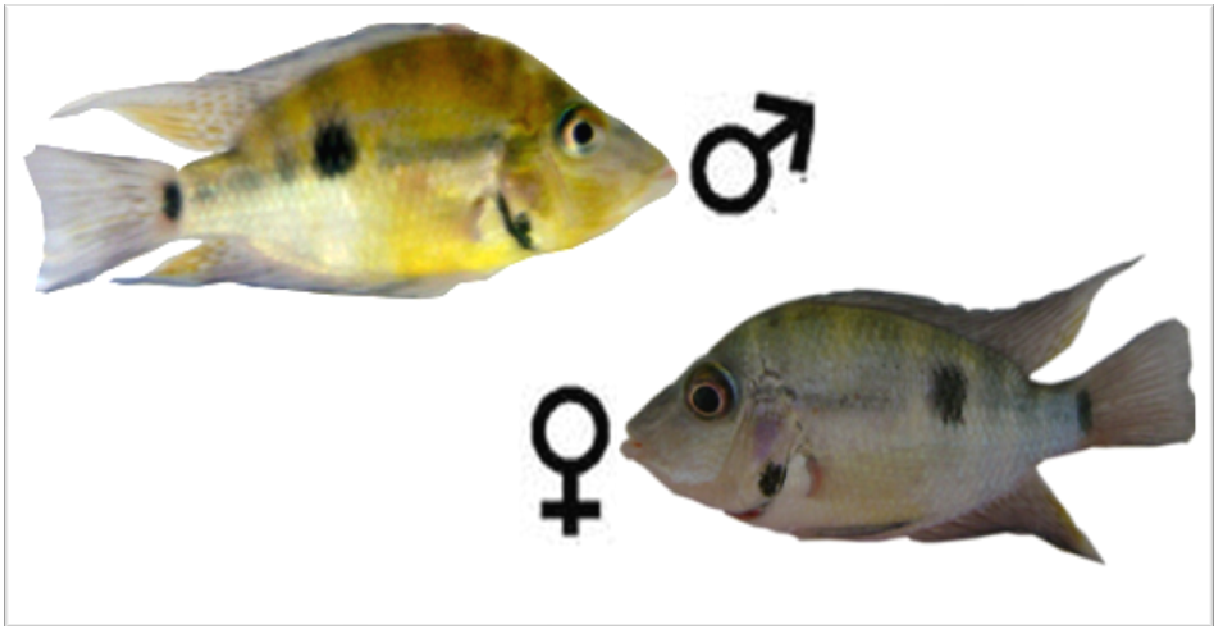


Figura No. 7 Ejemplares de *T. pasionis* macho y hembra

7.3 Distribución Geográfica

Los organismos de esta especie siempre andan en conjunto y habitan en ríos y lagos de la parte sur de México, Guatemala y Honduras.



Figura No. 8 Distribución geográfica de *T. pasionis*

7.4 Importancia de la especie

Esta especie es de alta importancia biológica pues sirve de alimento para el *Atractosteus tropicus*, aves, reptiles y otros; mientras que los alevines son principalmente capturados por *Astyanax aeneus*. Esta especie combina su colorido único y su apacible temperamento con una naturaleza resistente La cual es de importancia para la acuariofilia.

8. Importancia del Estudio

La citogenética, al igual que la taxonomía, aporta conocimientos para la clasificación de algunas especies de peces y realizar este tipo de estudio ha proporcionado elementos para la clasificación de algunos organismos e incluso identificar poblaciones genéticas dentro de una especie. En el caso particular del cíclido *Thorichthys pasionis* no existen estudios de genética, por lo que no hay evidencia del tipo y número de cromosomas de las poblaciones geográficas de esta especie. Por lo cual el desarrollo del estudio citogenético en la especie proporcionara el establecimiento del cariotipo del organismo, el conocimiento del número total de cromosomas que presenta esta especie.

Los resultados de este estudio permitirán establecer la posible presencia de poblaciones genéticas en la especie, lo que sería de importancia para el desarrollo de programas de conservación y aprovechamiento de la especie mediante el mejoramiento genético de líneas con mayor rendimiento para acuicultura. Este tipo de estudio es muy importante para conocer la gran diversidad de especies que existen y sobre todo tener un conocimiento más amplio de que los estudios de citogenética no solo contribuyen a la clasificación taxonómica, sino también para conocer los diferentes tipos de cromosomas que presentan e incluso detectar ciertas aberraciones cromosómicas que pudieran presentarse. Entre las especies nativas los cíclidos constituyen el grupo más diversificado y numeroso (Miller, 1992).

La información relativa a la citotaxonomía de los cíclidos neotropicales es escasa, destacando la recopilación realizada por (Gyldenholm y Scheel, 1971) y los trabajos de Thompson (1979), Salas y Boza (1991) y Uribe-Alcocer *et al.* (1992 y 1999). En dichos estudios se encontró con mayor frecuencia un número diploide de $2n=48$ cromosomas, manifestándose variaciones en la morfología cromosómica por tratarse de diferentes especies.

9. Materiales y Método

9.1 Captura y selección de organismos

Se tomaron 15 organismos capturados de la Laguna de la las Ilusiones, Villahermosa, Tabasco, México, Con una red agallera. Los organismos fueron identificados y sexados.

El procedimiento Citogenético empleado se baso principalmente en Arias-Rodriguez, L *et al.* (2006).



Figura No. 9 Identificación de *T. pasionis*

9.2 Inhibidor del ciclo celular

Los organismos fueron inyectados en la base de la aleta dorsal y en el área intraperitoneal con una solución de colchicina al 0.1% usando 28microlitos/por gramo

por 6 horas. La colchicina es un inhibidor del ciclo celular la cual hace que se detenga el ciclo celular en metafase evita que los cromosomas viajen a los polos.

Los organismos fueron sacrificados por hipotermia, luego se extrajeron los tejidos branquiales, y gonadales.



Figura No. 10 Inyección de colchicina en *T. pasionis*

9.3 Hidratación

La hiperhidratación se realizó con una solución hipotónica de citrato de sodio al 1%, la cual se aplicó tan pronto como los tejidos fueron extraídos del pez, el tiempo de exposición fue de 2 horas. La finalidad de la hidratación es separar a las células.



Figura No. 11 Tejido gonadal y branquial en solución hipotónica

9.4 Fijación

En esta fase se aplica fijador en una proporción de 1:1 de la solución hipotónica y fijador por 24 horas. El objetivo del fijador es matar rápidamente las células y preservar su contenido. Luego se centrifuga la muestra a 3000 rpm por 15 minutos a 4 grados centígrados se cambio fijador para evitar la degradación de la célula, se volvió a centrifugar hasta 4 veces siempre cambiando el fijador.

9.5 Goteo

El goteo consistió en tomar la muestra y a un altura de 1.70 metros dejar caer gotas de esta sobre una laminilla fría para crear un shock térmico y mecánico. Luego la laminilla fue secada por la técnica de flama.



Figura No. 12 Técnica de se secado en flama

9.6 Tinción

Las laminillas fueron teñidas por una solución de Giemsa 10% más un buffer pH7. Luego se dejaron secar 24 horas.

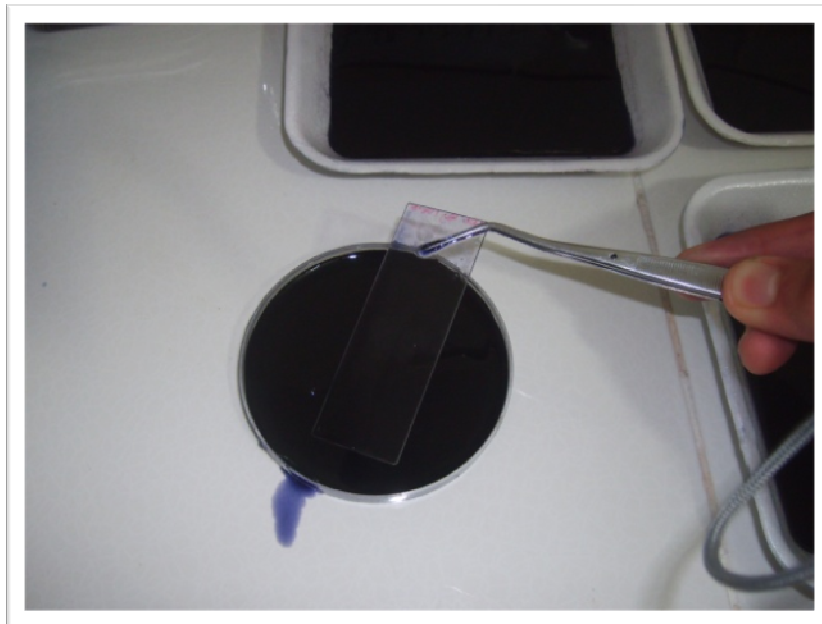


Figura No. 13 Tinción de laminillas

9.7 Análisis cromosómico

Las laminillas fueron observadas en un microscopio Zeiss a 100X, los campos cromosómicos mas dispersos se seleccionaron y se fotografiaron.

Se escogieron las ampliaciones fotográficas mejor logradas con el propósito de elaborar los cariotipos. Los cromosomas de cada una de las ampliaciones fotográficas se recortaron y acomodaron por parejas de homólogos y se ordenaron de acuerdo a su tamaño y disposición del centrómero.

La medición de los cromosomas se realizo utilizando una regla graduada en mm y un compás de dos puntas. Se tomó la medida de longitud total de brazos de los cromosomas y se expreso en mm.

Con los datos que se generaron a partir de la medición de los cromosomas se efectuaron los cálculos estadísticos de los principales parámetros citogenéticos establecidos por Levan (1964) y comentados a continuación:

- a) Factor de Corrección: el factor de corrección del complemento cromosómico y de cada uno de los pares cromosómicos que los constituyen en donde:

FC = $100 / \sum z_i$ Longitud del complemento mm.

z_i = Valor absoluto promedio de la longitud de cada par cromosómico.

- b) Proporción de Brazos: Utilizando las medidas promedio de cada par cromosómico de cada uno de los cariotipos ordenados principalmente la longitud de los brazos p y q.

$$r = \frac{q}{p}$$

Donde:

r = Proporción

q = Longitud promedio del brazo largo de cada par cromosómico.

p = Longitud promedio del brazo corto de cada par cromosómico.

c) Índice Centromérico: Es la longitud que tiene el brazo corto e relación con la longitud total del cromosoma en porcentajes.

$$i = 100 * \frac{p}{p + q}$$

Donde:

i = Índice Centromérico

100 = factor porcentual

p+q = sumatoria de la longitud promedio total de cromosoma

p = longitud promedio del brazo corto de cada par cromosómico.

d) Diferencia entre brazos: Diferencia de las longitudes promedio entre los brazos de un cromosoma.

$$d = \frac{r - 1}{r + 1} * 10$$

Donde:

d = Diferencia

10 = unidades arbitrarias, de las cuales esta constituido un cromosoma

r = proporción de brazos

1 = número de cromosoma

Los resultados obtenidos mediante la utilización de las fórmulas anteriores se tabularon. Se determinó la posición del centrómero en cada cromosoma y se procedió a asignar a cada par un grupo cromosómico de acuerdo con la clasificación de Levan (1964) ver Anexo 8, efectuándose con base en la posición del centrómero. Se elaboro el ideograma según la posición del centrómero, forma y tamaño de cromosomas.



Figura No. 14 Medición de cromosomas

10. Resultados

Se contabilizaron 105 campos mitóticos de los cuales 79.35 % corresponde a una moda de $2n=48$ cromosomas (Figura No. 15), mientras en 305 campos cromosómicos en meiosis, el 54.6 % correspondió a una moda de $1n=24$ cromosomas (Figura No. 16).

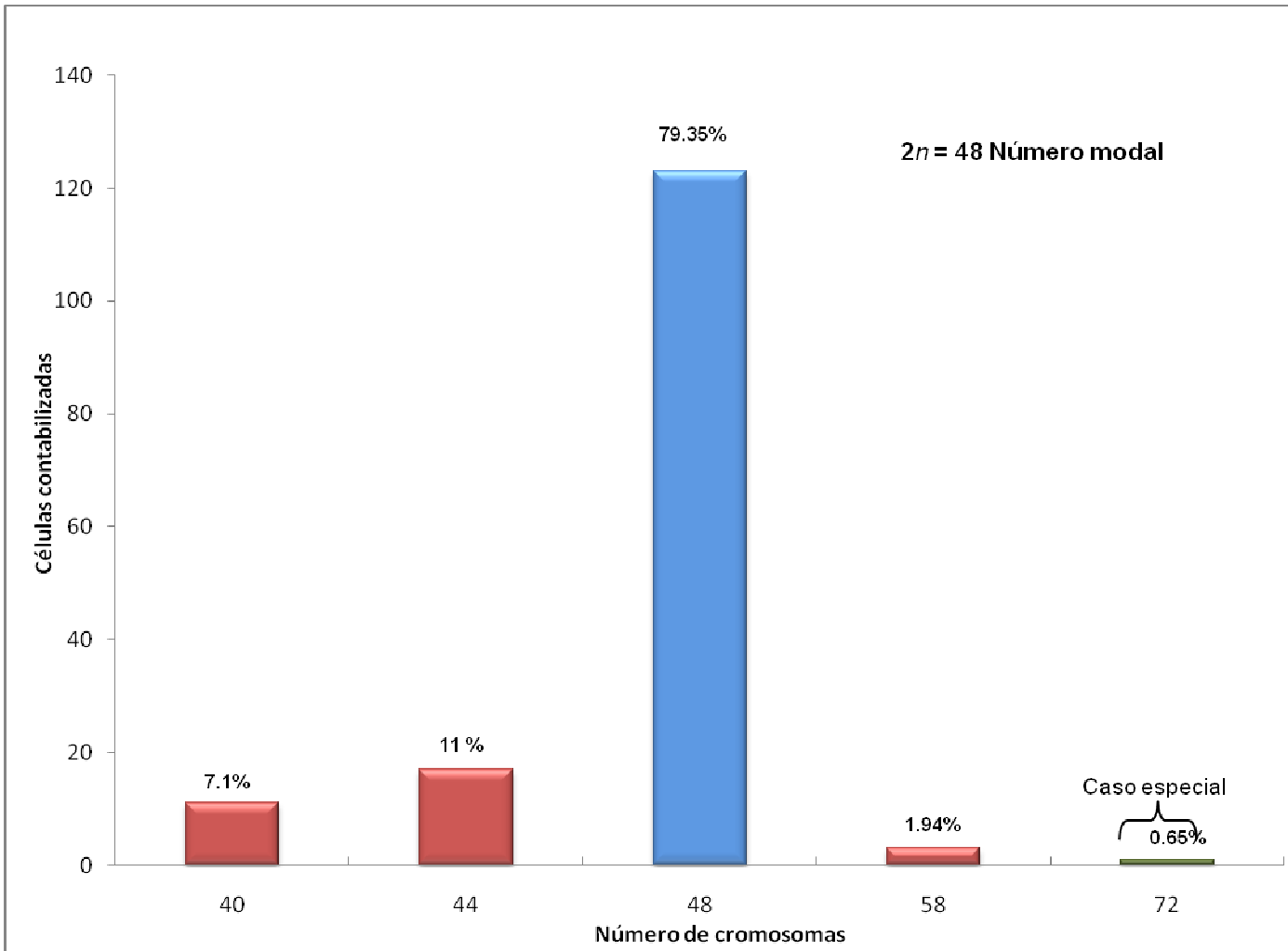


Figura No. 15 Gráfica demostrando la frecuencia de número modal diploide $2n = 48$ en mitosis con un caso especial de triploidia.

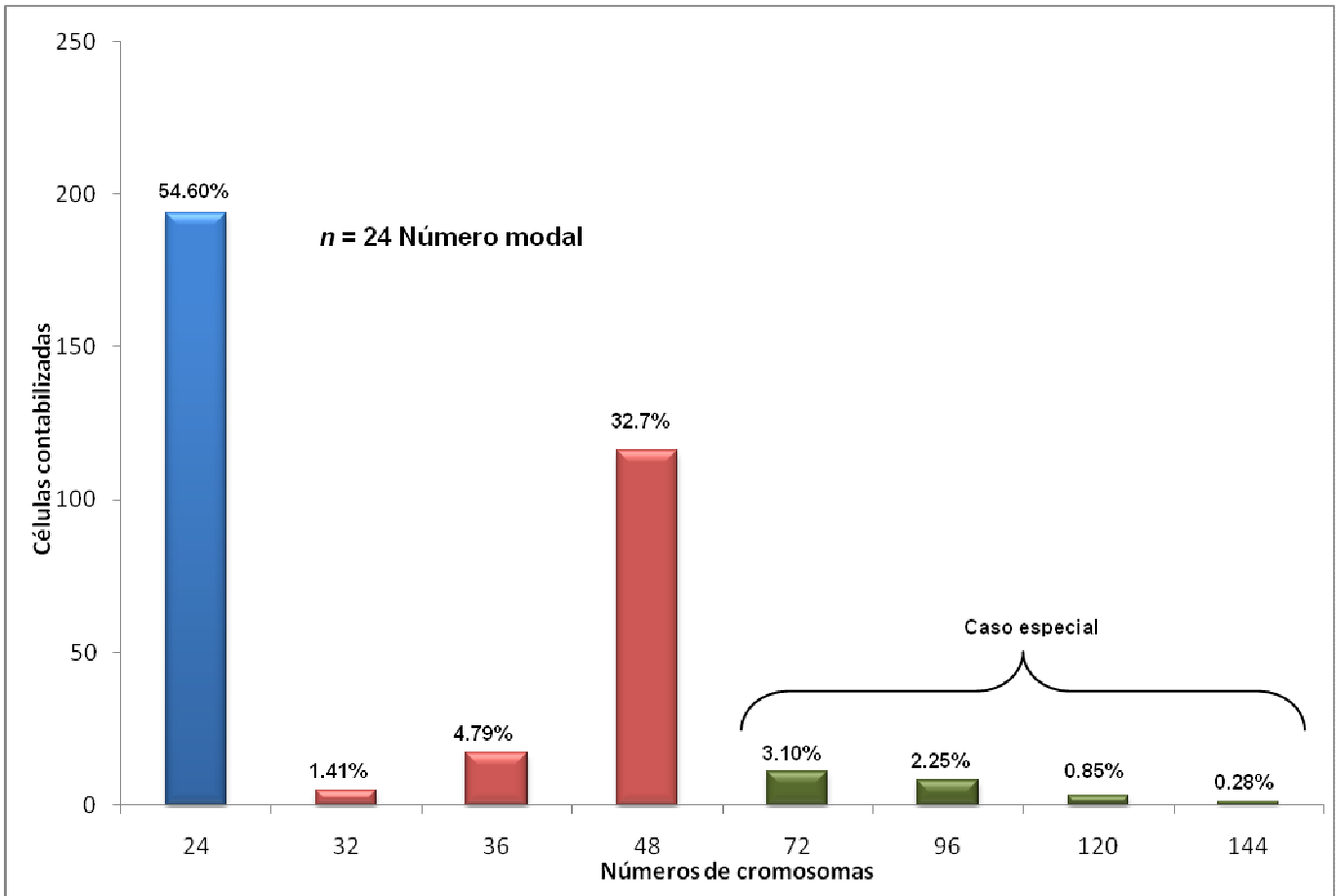


Figura No. 16 Gráfica demostrando la frecuencia de número modal haploide $n = 24$ en meiosis con casos especiales de triploide, tetraploide, pentaploide y hexaploide.

En los conteos previos de las células meióticas, se identificaron campos anormales de triploides, tetraploides, pentaploides y hexaploides de cromosomas (Figura No. 17).

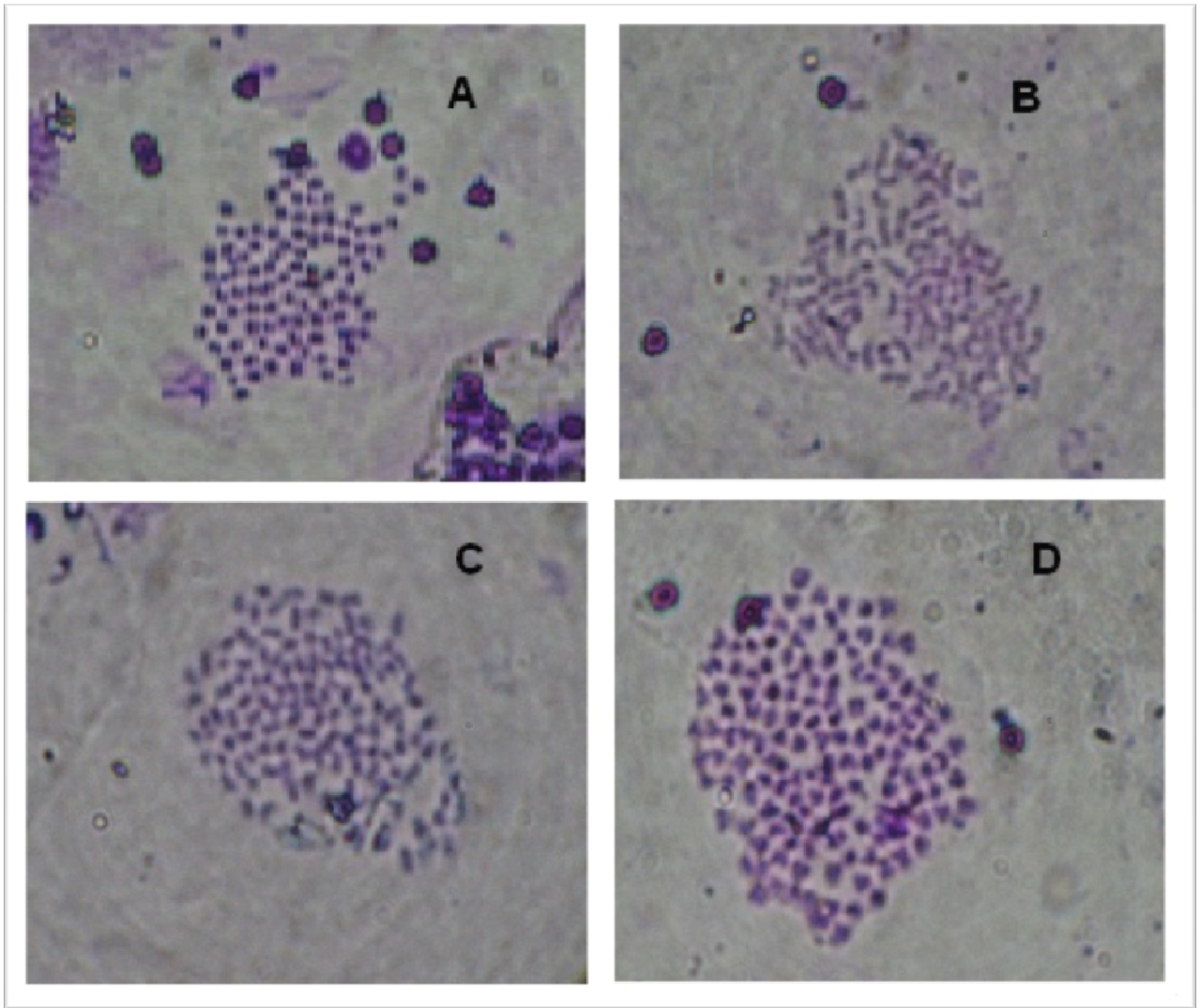


Figura No. 17 Dispersiones cromosómicas anormales provenientes del tejido gonadal de *T. pasionis* (A) Caso triploide $3n=72$. (B) Caso tetraploide $4n=96$. (C) Caso pentaploide $5n=120$. (D) Caso hexaploide $6n=144$.

En las dispersiones cromosómicas seleccionadas para establecer el cariotipo, se identificaron tres pares como cromosomas metacéntricos-submetacéntricos (msm) y 21 pares como telocéntrico (Figura No. 18). No fue posible identificar diferencias heteromórficas que correspondan a cromosomas sexuales.



Figura No. 18 Cariotipo representativo de *T. pasionis* en diploide $2n=48$ cromosomas.

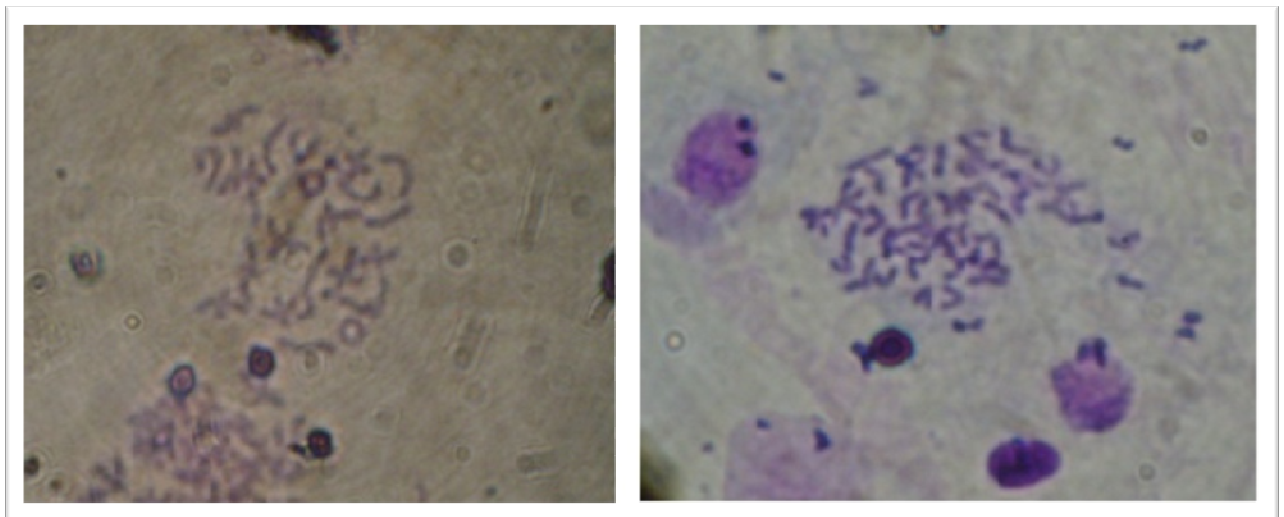


Figura No. 19 Dispersiones cromosómicas haploide y diploide.

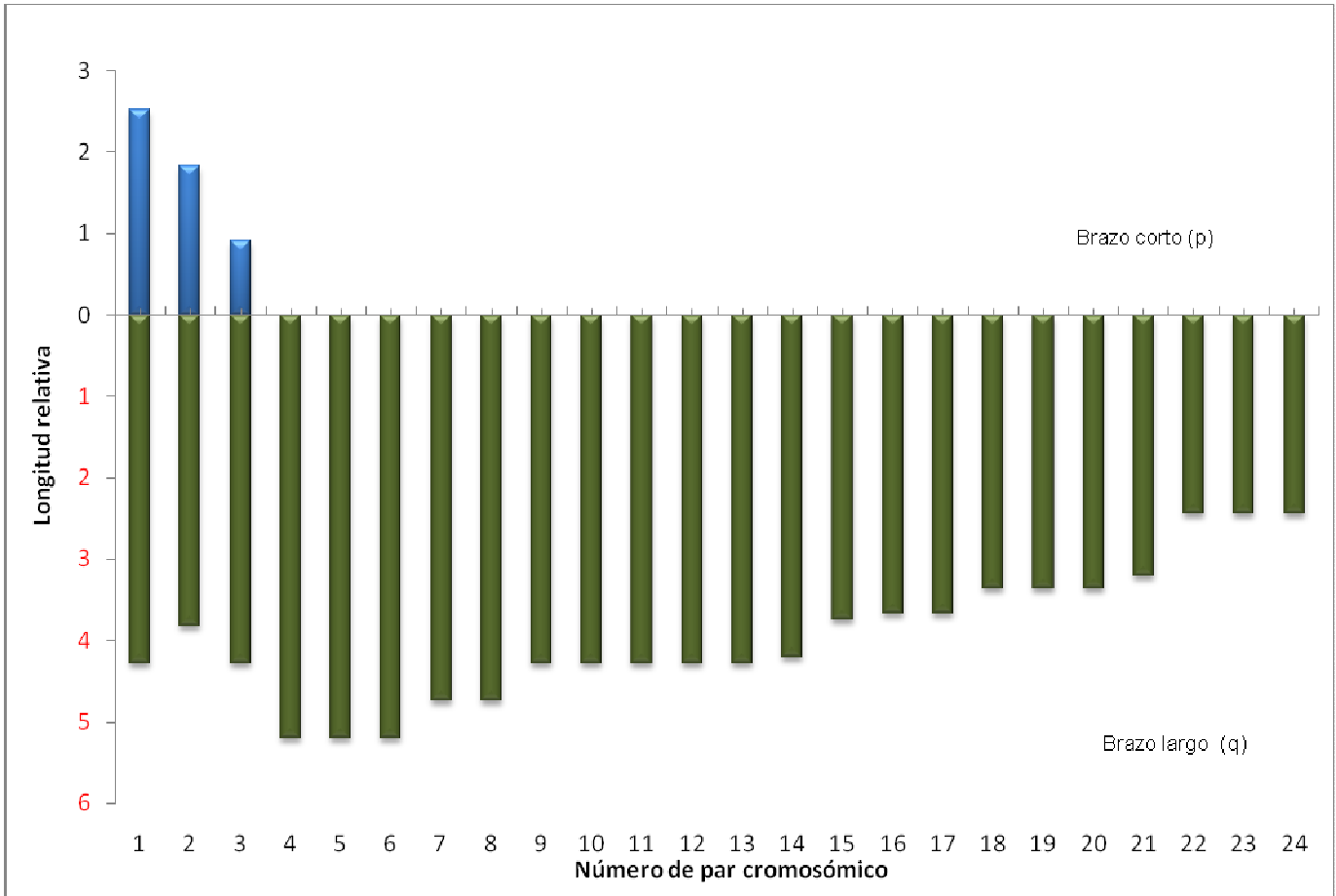


Figura No. 20 Ideograma representativo del complemento cromosómico promedio de longitudes relativas por pares del cariotipo de *T. pasionis*.

Cuadro 2. Longitudes promedio en micras (μ) y relativas por par cromosómico, análisis del complemento cromosómico del cariotipo de gónada diploide ($2n = 48$) de *Thorichthys pasionis*

Numero de par cromosómico	Longitud relativa de p \pm D.E	Longitud relativa de q \pm D.E	Longitud relativa p+q	Proporción de brazos r = q/p	Índice Centromérico i = 100*(p/(p+q))	Diferencia entre brazo d = ((r-1)*10)/(r+1)	Clasificación
1	2.52 \pm 0.84	4.28 \pm 0.90	6.80	1.70	37.08	2.58	msm
2	1.83 \pm 0.00	3.82 \pm 0.88	5.65	2.08	32.43	3.51	msm
3	0.92 \pm 0.54	4.28 \pm 0.82	5.19	4.67	17.65	6.47	msm
4		5.19 \pm 0.82	5.19				t
5		5.19 \pm 0.82	5.19				t
6		5.19 \pm 0.82	5.19				t
7		4.74 \pm 1.03	4.74				t
8		4.74 \pm 1.03	4.74				t
9		4.28 \pm 0.82	4.28				t
10		4.28 \pm 0.82	4.28				t
11		4.28 \pm 0.82	4.28				t
12		4.28 \pm 0.82	4.28				t
13		4.28 \pm 0.82	4.28				t
14		4.20 \pm 0.77	4.20				t
15		3.74 \pm 0.98	3.74				t
16		3.67 \pm 0.93	3.67				t
17		3.67 \pm 0.93	3.67				t
18		3.36 \pm 0.82	3.36				t
19		3.36 \pm 0.82	3.36				t
20		3.36 \pm 0.82	3.36				t
21		3.21 \pm 0.83	3.21				t
22		2.44 \pm 0.82	2.44				t
23		2.44 \pm 0.82	2.44				t
24		2.44 \pm 0.82	2.44				t

D.E = desviación estándar, p = brazo corto, q = brazo largo, t = cromosoma telocéntrico, msm = cromosomas metacéntrico – submetacéntrico

11. Discusión de Resultados

El cariotipo de *T. pasionis*, está formado por 6 cromosomas metacéntricos-submetacéntricos (birrámeos), 42 cromosomas telocéntricos (unirrámeos) y con número fundamental de 54 brazos cromosómicos.

La comparación de los resultados de Thompson (1979) con los de *T. passionis* la ubica como una especie citogenéticamente muy cercana a los miembros del género *Cichlasoma* de Günther (1867).

En aproximadamente 100 estudios citogenéticos realizados en alrededor de 200 especies de cíclidos neotropicales, los resultados muestran como número modal diploide 48 elementos cromosómicos (Thompson, 1979).

La presencia de 48 cromosomas en condición diploide es un carácter citotaxonomico común en la gran mayoría de los cíclidos de América, hecho que coincide con los resultados del número modal en meiosis ($1n=24$) y mitosis ($2n=48$) en *T. passionis*. (Figura 15 y 16). Dicho número, se considera ancestral en los cíclidos americanos por lo que se distingue como un grupo de peces con evolución cariotípica conservada (Thompson, 1979; Arias *et al.* 2006).

Los cromosomas monorrámeos se observan con frecuencia en los cariotipos de los cíclidos centroamericanos y estos muestran en muchos casos la presencia de brazos pequeños que se ubican por encima del centrómero.

Las dificultades de medición, hicieron de la estructura un problema técnico para clasificar los cromosomas (Levan *et al.* 1964). No obstante, tal dificultad se elimina cuando se clasifican en una categoría intermedia tal y a como fue utilizada por Thompson (1979).

En *T. passionis* se adoptó la clasificación de categorías intermedias (msm y t) considerando la morfología, tamaño de los cromosomas (Figura No. 18), los efectos de la colchicina sobre la constricción de los cromosomas, la acción de los fijadores, el tamaño de los cromosomas al momento de ser fijados (estadio de división celular) y el criterio subjetivo para la clasificación. Tales parámetros, han sido documentados como fuente importante de variación que afecta las comparaciones (Arias *et al.* 2006).

Por otro lado, en la década de los 60's, se introdujeron en Mesoamérica varias especies de cíclidos del género *Oreochromis* ($2n=44$), algunos de los cuales, pudieron escapar del cautiverio y ahora están interactuando con las especies nativas. La posibilidad de entrecruzamiento fue discutida por Martínez-Palacios y Ross (1994), pero no hay evidencias que avalen dicho fenómeno, aunque existe el reporte de hibridación entre *C. monoculus* y *C. temensis* especies nativas del amazonas (Alves *et al.* 2004). Lo cual pudo producir los casos anormales de triploidia a hexaploide, otra razón podría ser la contaminación de la Laguna de las Ilusiones de donde fueron extraídos los organismos, la cual tiene presencia de metales pesados y fluorocarbonados.

Llegando a las siguientes conclusiones:

1. El número modal de cromosomas en *T. pasionis* haploide $1n=24$ cromosomas y en condición diploide $2n=48$ cromosomas.
2. La formula cromosómica del cariotipo representativo de *T. pasionis* $1n=3msm+21t$.
3. No fue posible identificar diferencias heteromórficas en los cariotipos de hembras y machos que correspondan a cromosomas sexuales.
4. Se encontraron variaciones en el número de cromosomas de las células meióticas desde triploide hasta hexaploide.

Con lo cual se recomienda

- Realizar estudios citogenéticos en otras especies de organismos acuáticos.
- Hacer poliploidia en organismos acuáticos para evaluar la tasa de crecimiento.
- Determinar a que se deben las condiciones de triploidia a hexaploidia en *T. pasionis*.
- Hacer el cariotipo de *T. pasionis* pero extraída de un lugar no contaminado y evaluar la diferenciación entre las poblaciones.

12. Conclusiones

1. Se integró el conocimiento teórico durante la práctica realizada en el laboratorio, permitiendo con ello un mayor desarrollo humano y profesional, al integrar conocimiento y experiencias teórico-practico adquiridas.
2. Se desarrollo la práctica profesional poniendo en práctica los principios morales y éticos.
3. Se tuvo la oportunidad de demostrar la capacidad como profesional al afrontar problemas relacionados con la producción acuícola habiéndolos superado exitosamente.
4. Se ampliaron los conocimientos prácticos y teóricos por medio de experiencias dentro de un contexto diferente a la acuicultura realizada en Guatemala.

13. Recomendaciones

1. Realizar prácticas en instituciones de investigación para poner al estudiante más en contacto en actividades relacionadas con los recursos hidrobiológicos.
2. En el Estado de Tabasco, de México, son muchos los años de investigación y fase experimental por lo que ha cursado, lo cual le ha permitido hasta ahora ser uno de los pioneros en su producción bajo efectos controlados y hacerlo con gran eficiencia, Guatemala, debe adaptar su tecnología y mejorarla.
3. Fomentar la participación en el área de genética aplicada en organismos acuáticos para que los estudiantes se empiecen a familiarizar con las nuevas técnicas de producción.
4. Inculcar los valores éticos y morales en los estudiantes del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura.

14. Bibliografía

1. Alves, M; Rebelo, J; Feldberg, E. 2004. Karyological evidence for interspecific hybridization between *Cichla monoculus* and *C. temensis* (Perciformes, Cichlidae) in the Amazon. *Hereditas journal* 141: 252-257.
2. Arias, L. 1998. Variación morfológica y estudio citogenético en la mojarra pinta *Heros (Nandopsis) managuensis*. Tesis Lic. Biólogo. Tabasco, MX, UJAT. P. 116.
3. Arias, L; Páramo, S. 2006. Caracterización citogenética del pez tropical de agua dulce *Parachromis managuensis* (Pisces: Cichlidae). *Revista de Biología Tropical* 54: 35-42.
4. Arias, L; Ibarra, L; Páramo, S. 2008. Los cromosomas mitóticos y meióticos de la mojarra *Petenia splendida* (Pisces: Cichlidae). *Revista de biología tropical* 52: 1-16.
5. Contreras, W. 2001. Principales aspectos de la biología y pesquería del Pejelagarto *Atractosteus tropicus* en el estado de Tabasco. México, UJAT. p. 7-16.
6. Cruz, E. 2005. Tratamiento del agua residual proveniente del laboratorio de acuicultura a través de un sistema natural de depuración. Tesis M. Ing. y Protección Ambiental. Tabasco, MX, UJAT. p. 46-59.
7. Denton, T. 1973. Fish chromosome methodology. Illinois, Charles C. Thomas Publisher. p. 166

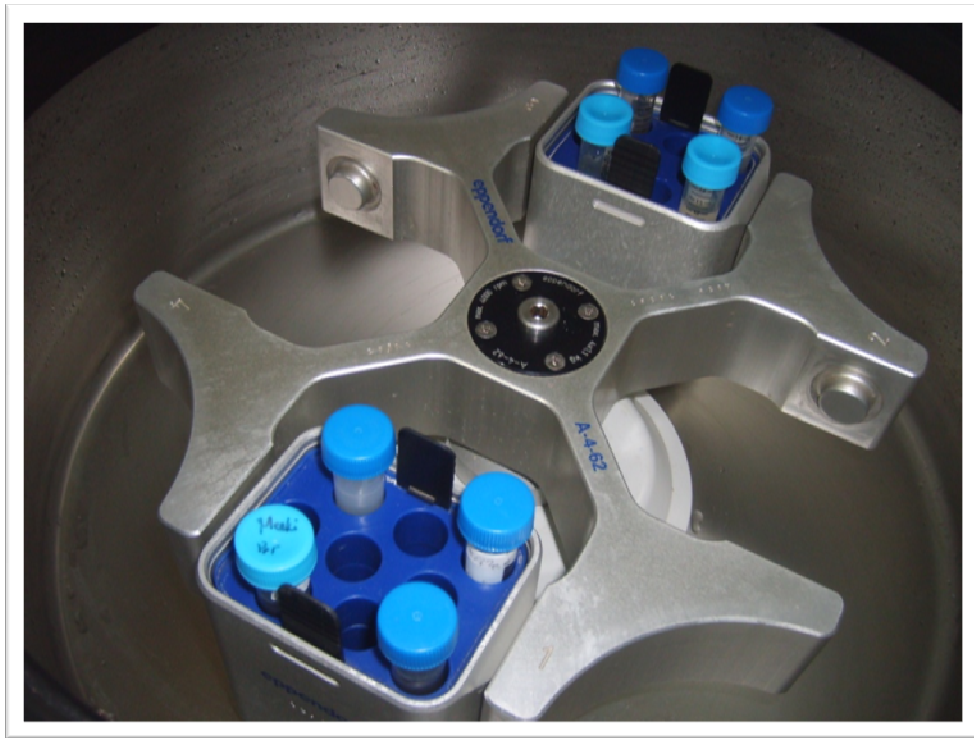
8. Feldberg, E; Porto, JIR; Alves-Brinn, MN; Mendoca, MNC; Enzaquem. 2004. B chromosomes in amazonian cichlid species. *Cytogenetic Genome* 106: 195-198.
9. Galetti-Junior, P; Molina, W; Alfonso, P; Teixeira-Aguilar, C. 2006. Assessing genetic diversity of brazilian reef fishes by chromosomal and markers. *Genética* 126: 161-177
10. Gill, B; Friebe, B. 1998. Plant cytogenetics at the dawn of the 21st century. *Current Opinion in Plant Biology* 1: 109-115.
11. Gyldenholm, A; Scheel, J. 1971. Chromosome numbers of fishes. *Journal of Fish Biology* 3: 479-486.
12. Hillis, M; Moritz, C. 1990. *Molecular systematics*. Sunderland, MA, Sinauer Associates. p. 203.
13. Kirpichnicov, V. 1981. *Genetic bases of fish selection*. New York, USA. 410 p.
14. Levan, A; Fredga, K; Sandberg, AA. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas Journal* 52 :201-220.
15. Miller, R. 1992. Pisces in aquatic biota of México, Central America and the West Indies. *In* Hurlbert, SH; Villalobos-Figueroa, eds. California, US. p. 486-501.
16. Ramírez, A. 2007. Manejo de cultivo larvario de pejelagarto *Atractosteus tropicus* en el laboratorio de Acuicultura de la División Biológica de la Universidad de Juárez Autónoma de Tabasco. Seminario TA. Guatemala, USAC. p. 3-10.

17. Salas, E; Boza, J. 1991. Citotaxonomía comparativa de tres especies de *Cichlasoma* (Pisces: Cichlidae) nativas de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 39: 219-224.
18. Salvador, P. 2007. Metodología de Producción mas Limpia (P+L), en eco eficiencia energética para el laboratorio de Acuicultura de la División Académica de Ciencias Biológicas. Tesis Lic. Ing. Ambiental. Tabasco, MX, UJAT. p. 2-11.
19. Taracena, C. 2006. Aplicación de la metodología de Producción más Limpia para el reuso del agua en el Área Multifuncional del laboratorio de Acuicultura de la DACBIOL. Tesis Lic. Ing. Ambiental. Tabasco, MX, UJAT. p 35-56.
20. Thompson, K. 1979. Cytotaxonomy of 41 species of Neotropical cichlidae. *Copeia* 4: 679- 69.
21. Thorgard, G; Disney, J. 1990. Chromosomes preparation and analysis. *In* Schreck, CB; Moyle, PB. eds. *Methods for fish biology*. Estados Unidos, AFS. p. 45-60.
22. Uribe-Alcocer, M; Náder, L; Valdés, N. 1992. Karyotypes of two cichlid fishes from México, *Cichlasoma ellioti* and *Cichlasoma trimaculatum*. *Japanese Journal of Ichthyology* 39: 174-177.
23. Uribe-Alcocer, M; Téllez, V; Díaz, JP. 1999. Chromosomes of *Cichlasoma istlanum* (Perciformes: Cichlidae) and karyotype comparison of two presumed subspecies. *Revista de Biología Tropical* 47:1051-1059.

15. Anexo



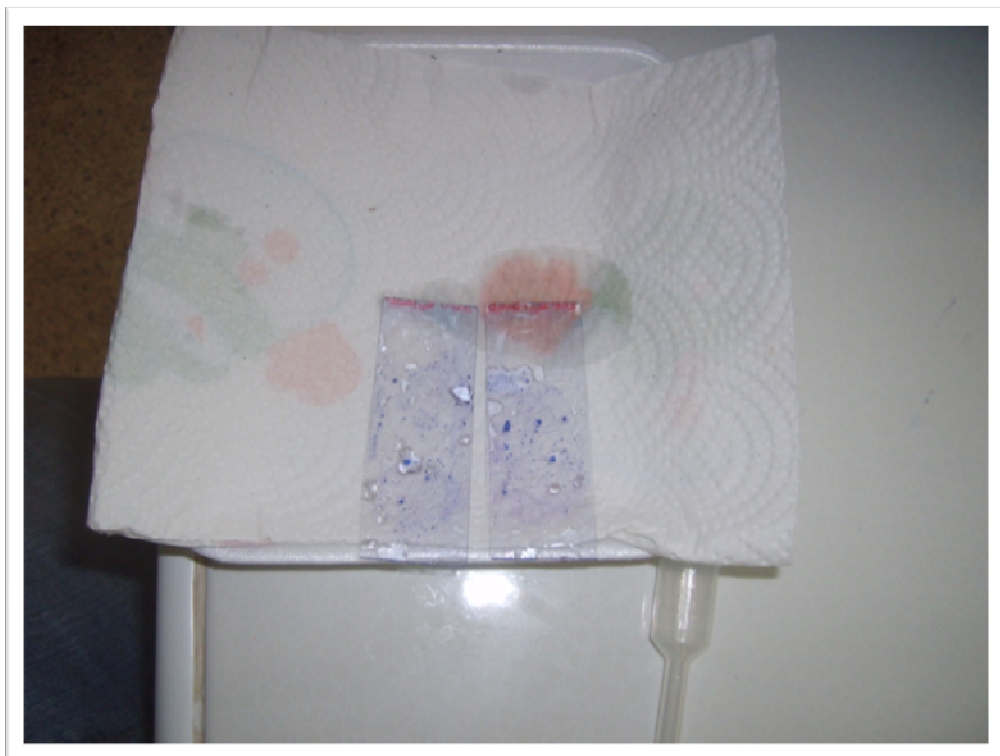
Anexo No. 1 *Thorichthys pasionis*



Anexo No. 2 Muestras en centrifugadora



Anexo No. 3 Tratamiento hipotónico en tejido gonadal y branquial



Anexo No. 4 Laminillas secándose.

Reactivo	Cantidad
Citrato de sodio	0.1 gramos
Colchicina	0.1 gramos
Agua destilada	99.98 ml

Se diluye el citrato de sodio en el agua destilada, luego esa solución de citrato de sodio es utilizada para disolver la colchicina, mantener a -15°C .

Anexo No. 5 Preparación de Inhibidor mitótico la Colchicina al 0.1%

Reactivo	Cantidad
Citrato de sodio	1 gramos
Agua destilada	99 ml

Disolver el citrato de sodio en el agua destilada agita.

Anexo No. 6 Preparación de Citrato de sodio al 1%

Reactivo	Cantidad
Giemsa en polvo	1 gramos
Glicerina	66 ml
Metanol	66 ml
Fosfato de potasio monobásico	0.3315 gramos
Fosfato de sodio dibásico	0.128 gramos
Agua destilada	49.54 ml

Se mezcla la Giemsa con la glicerina y se debe de agitar por 24 horas con un agitador magnético a 60°C . Dejar enfriar a temperatura ambiente y se agrega el metanol absoluto; se homogeniza la mezcla se deja enfriar. Agregar los fosfatos y el agua destilada agitar y guardar a -4°C en un frasco ámbar.

Anexo No. 7 Preparación Madre Giemsa

d	i	r	Termino	Posición centrómero	Clasificación
0	50	1	m	Punto terminal	Medio céntrico
0.0-5.0	50-25	1.0-3.0	msm	Región Media submedia	Metacéntrico-submetacéntrico
5.0-10.0	25-0	3.0-1000	stt	Región subterminal-terminal	Subtelocéntrico-telocéntrico
10	0	1000000	t	Punto terminal	Terminal

Donde:

d = diferencia de brazos

i = Índice Centromérico

r = Proporción de brazos

Anexo No. 8 Tabla de clasificación de cromosomas según Levan (1964) utilizando los parámetros i, d y r