

CARACTERIZACIÓN CITOGENÉTICA DE *HAEMULON FLAVOLINEATUM* Desmarest, 1823 (PISCES: HAEMULIDAE) DE LA ISLA DE MARGARITA, VENEZUELA.

ERNESTO RON & MAURO NIRCHIO

Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, Universidad de Oriente, Boca de Río, Isla de Margarita, Venezuela.

eron@ne.udo.edu.ve

RESUMEN: Se realizó la caracterización citogenética de *Haemulon flavolineatum* mediante las técnicas de tinción convencional con Giemsa, tinción argéntica y bandas C. El cariotipo de esta especie estuvo caracterizado por 48 cromosomas acrocéntricos y un Número Fundamental (NF) de 48. La especie posee un solo par de cromosomas portador de Regiones Organizadoras del Nucleolo (RONs) en posición intersticial. La heterocromatina constitutiva (Bandas C) se localizó en posición centromérica en todos los cromosomas. El cariotipo descrito concuerda con la configuración citogenética observada en todas las especies del género *Haemulon*, hasta ahora estudiadas y refuerza la opinión según la cual existe una marcada estabilidad en la macroestructura cromosómica en la subfamilia Haemulinae.

Palabras clave: Bandas C, Cariotipo, Haemulidae, RONs.

ABSTRACT: A cytogenetic analysis by conventional Giemsa staining, silver staining, and C-banding was carried out on *Haemulon flavolineatum* specimens collected on Margarita Island, Venezuela. The karyotype of this species was characterized by the presence of 48 acrocentric chromosomes and a fundamental number (FN) of 48 chromosomal arms. The species has only one pair of chromosomes bearing nucleolus organizer regions (NORs), which are positioned interstitially. The constitutive heterochromatin regions (C-bands) were located near the centromere in all chromosomes. The described karyotype is in agreement with the cytogenetic configuration observed in all the species of the genus *Haemulon* studied, and reinforces the premise that there exists a distinctive stability in the chromosomal macrostructure of the subfamily Haemulinae.

Key words, C-bands, karyotype, Haemulidae, NORs, Venezuela

INTRODUCCIÓN

La familia Haemulidae pertenece al Orden Perciformes y está integrada principalmente por peces marinos, algunos de aguas estuarinas y muy pocos de agua dulce, habitando las aguas someras de las zonas tropicales y subtropicales. Está representada por aproximadamente 150 especies en el mundo (NELSON, 1994; FROESE & PAULY, 2003), y se subdivide en dos subfamilias (JOHNSON, 1980; citado por NELSON, 1994): a) Subfamilia Plectorhynchinae, con tres (3) géneros, ninguno representado en Venezuela, y b) Subfamilia Haemulinae, con catorce (14) géneros, de los cuales once (11) son endémicos de América y seis (6) se encuentran representados en las aguas venezolanas por 21 especies, los cuales son: *Anisotremus*, *Conodon*, *Genyatremus*, *Haemulon*, *Orthopristis* y *Pomadasys* (MAGO, 1970; CERVIGÓN, 1993)

Aunque existen numerosos estudios sobre diversos aspectos biológicos en las especies de esta familia, la información citogenética es escasa y se limita a algunos

datos obtenidos en *Haemulon sciurus* (REGAN *et al.*, 1978), *H. aurolineatum* (DURAN *et al.*, 1990), *Orthopristis ruber* (Brum, 1996), *H. parrai*, *H. striatum*, *H. plumieri* (LIMA & MOLINA, 2004), *Pomadasys corvaeniformes*, *Anisotremus virginicus*, *A. surinamensis*, *A. moricandi* (ACCIOLY & MOLINA, 2004), que representan mucho menos del 10 % del total de miembros de esta importante familia de peces.

Con la finalidad de ampliar y complementar la información citogenética en los Haemulinae, en este trabajo se describe el cariotipo, la localización de las regiones organizadoras del nucleolo (RONs) y el patrón de distribución de heterocromatina constitutiva (Bandas C) de *Haemulon flavolineatum*.

MATERIALES Y METODOS

Fueron analizados 10 ejemplares (5 machos y 5 hembras). Todos los ejemplares fueron capturados en las cercanías de la Laguna de la Restinga, Isla de Margarita, Venezuela (10° 59' 7" Lat. N; 64° 07' 58" Long. W) y se

encuentran depositados en la colección ictiológica de la Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar de la Universidad de Oriente.

Para la obtención de las suspensiones celulares, se empleó la técnica descrita por FORESTI *et al.* (1993). La determinación del número diploide, fórmula del cariotipo y el número de brazos cromosómicos (NF) se realizó en las preparaciones teñidas durante 10 minutos con colorante de Giemsa al 10% diluido en buffer fosfato (pH 6,88). La detección de las regiones organizadoras del nucleolo (RONs) se realizó empleando la técnica de impregnación con nitrato de plata (HOWELL & BLACK, 1980) y la distribución de heterocromatina constitutiva (Bandas C) mediante el método de SUMNER (1972). Para cada individuo se realizó el recuento de 10 células metafásicas a los fines de totalizar 100 células para la especie. Las figuras mitóticas fueron fotografiadas utilizando una cámara digital Nikon y las imágenes procesadas digitalmente con el programa ADOBE PHOTOSHOP V.7.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los especímenes analizados presentaron un cariotipo conformado por 48 elementos acrocéntricos y NF= 48 (Fig. 1A). No fue posible identificar con exactitud los pares homólogos, debido a que las diferencias de longitud en la disposición seriada entre los pares adyacentes son muy pequeñas. De igual manera, tampoco fue posible detectar cromosomas heteromórficos que pudiesen indicar la existencia de dimorfismo sexual cromosómico.

Los resultados del presente estudio coinciden con los encontrados por otros autores (REGAN *et al.* 1978; DURÁN *et al.*, 1990; BRUM, 1996; ACCIOLY & MOLINA, 2004; LIMA & MOLINA, 2004), para otros miembros de la familia Haemulidae (Tabla 1), e indican una manifiesta estabilidad cromosómica dentro de esta familia.

Con base en los datos presentados por KLINKHERDT *et al.* (1995) se ha encontrado que el 32% (211 de 660 especies) de las especies de Perciformes marinos a las que se les ha determinado el cariotipo presenta 48 cromosomas acrocéntricos (ROSSI *et al.* 1997), revelando que ese es el complemento predominante en el grupo y por lo tanto ha sido propuesto como la condición plesiomórfica (GOLD, 1979; DOUCETTE & FITZSIMONS, 1988; FERGUSON &

ALLENDORF, 1991; BRUM, 1996). Tal constancia cariotípica en los peces marinos con relación a las especies dulceacuícolas en las que se presenta gran diversidad cariotípica, ha sido explicada como resultado de la ausencia de barreras físicas en el ambiente marino (BRUM & GALETTI, 1997; GALETTI *et al.* 2000).

En consecuencia, la homogeneidad en el cariotipo y número fundamental en los Haemulinae, conduce a suponer que en el grupo aún no se han producido divergencias genéticas a nivel del número y tipo de cromosomas durante el proceso de especiación, idea que se ve sustentada por estudios electroforéticos en los que fueron empleados marcadores proteínicos para establecer diferencias genéticas en *Anisotremus surinamensis*, *Orthopristis ruber* y en seis especies del género *Haemulon* (*H. steindachneri*, *H. bonariense*, *H. flavolineatum*, *H. aurolineatum*, *H. chrysargyreum* y *H. plumieri*) encontrándose que si bien los marcadores empleados revelaron una estrecha afinidad entre las especies del género *Haemulon*, sí resultaron ser útiles para diferenciar los géneros (CEQUEA & PÉREZ, 1971).

Las metafases sometidas a impregnación argéntica, demostraron la existencia de regiones organizadoras de nucleolo (RONs) en un solo par de cromosomas en posición intersticial (Fig. 1B), lo cual coincide con lo encontrado en otras especies de esta familia (Tabla 1) (LIMA & MOLINA, 2004; ACCIOLY & MOLINA, 2004). La presencia de un solo par de cromosomas portadores de RONs representa la condición primitiva en la mayoría de las especies de vertebrados (HSU *et al.*, 1975; SCHMIDT, 1978), y es también la característica más extendida en la mayoría de los teleósteos (VITTURI *et al.*, 1995).

En los Haemulinae, la existencia de cromosomas crípticos (acrocéntricos con pequeña variación en el tamaño entre sí), no permite realizar comparaciones para establecer si se han producido modificaciones evolutivas en la ubicación de estas regiones entre las diferentes especies de las que se posee información (LIMA & MOLINA, 2004). Sin embargo, la aplicación de otras técnicas de bandeado, empleando hibridización in situ (FISH), serán necesarias para confirmar estos resultados, ya que la tinción argéntica solo revela la ubicación de las RONs que estuvieron activas durante la transcripción en la interfase previa

y por lo tanto, cabe la posibilidad de que existan otras RONS que no fueron detectadas.

La técnica de bandeo C, ha demostrado mucha utilidad en los estudios citogenéticos de peces, permitiendo la identificación de las regiones formadas por ADN altamente repetitivo, que generalmente no contiene genes mendelianos y no son transcritas,

sino que se replican tardíamente en la fase S, denominadas regiones de heterocromatina constitutiva (SUMNER, 1990). El patrón de distribución de la heterocromatina demostró la existencia de bloques banda-C positivo en posición centromérica (Fig. 1C) en todos los cromosomas de *Haemulon flavolineatum*, lo cual difiere de lo encontrado en *Haemulon parrai*, *H. striatum* y *H. plumieri* en los

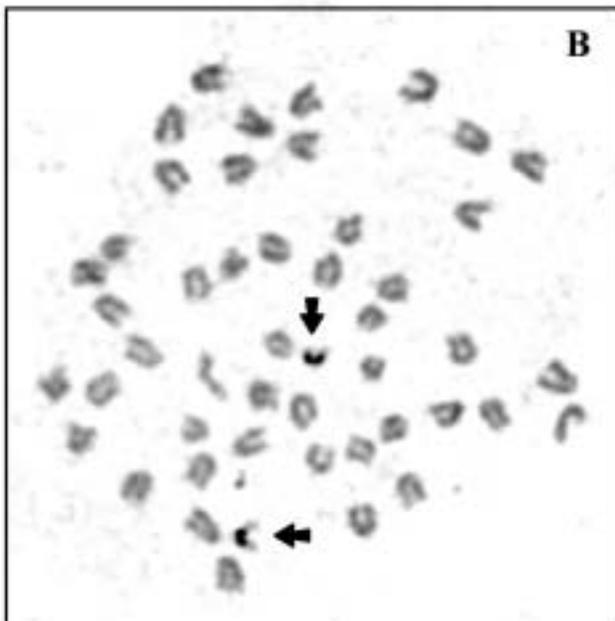
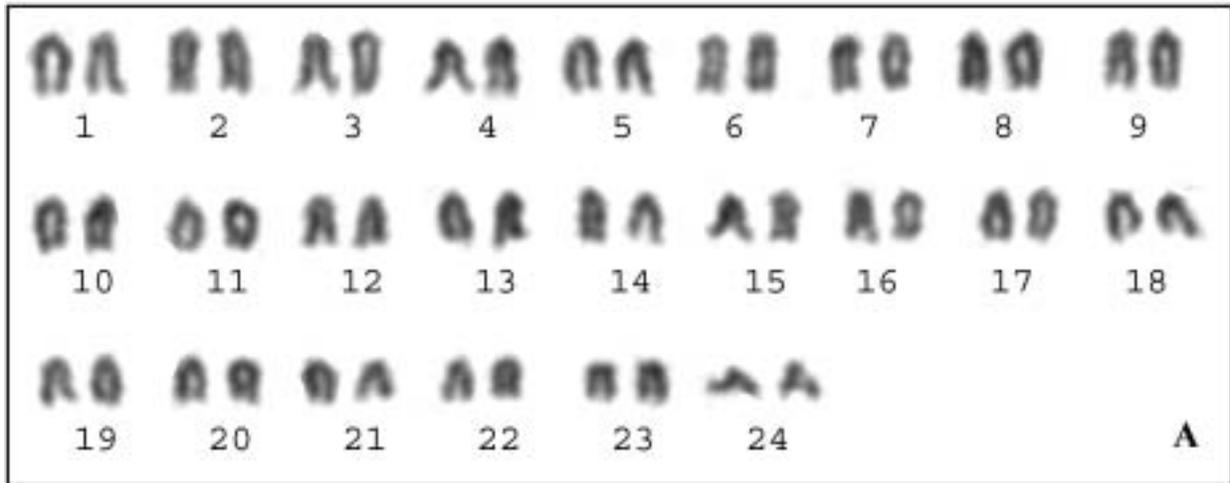


Figura 1. Cromosomas de *Haemulon flavolineatum*. A) Cariotipo estándar. B) Metafase mitótica mostrando los cromosomas portadores de las regiones organizadoras del nucleolo. C) Metafase mitótica mostrando la distribución de las regiones de heterocromatina constitutiva.

Tabla 1. Número diploide (2N), Número de brazos cromosómicos (NF), Fórmula del cariotipo, Número y posición de las regiones organizadoras de nucleolo (RON's) y patrones de distribución de heterocromatina constitutiva (Bandas C) en diferentes especies de la familia Haemulidae.

Especie (Lugar)	2N	NF	Fórmula Cariotipo	RON's	Bandas C	Autores
<i>Haemulon sciurus</i> (USA)	46 6 48	48	2sm /st, 44a 6 48a	---	---	REGAN <i>et al.</i> 1978
<i>Haemulon aurolineatum</i> (Yucatán, México)	48	48	48a	---	---	DURÁN <i>et al.</i> 1990
<i>Orthopristis ruber</i> (Río de Janeiro, Brasil)	48	50	2sm, 36st, 10a	---	C & T	BRUM, 1996
<i>Orthopristis ruber</i> (Litoral fluminense, Brasil)	48	48	48a	---	---	BRUM, 1996
<i>Haemulon parra</i> (Nordeste, Brasil)	48	48	48a	1 par (I)	P & T	LIMA & MOLINA, 2004
<i>Haemulon striatum</i> (Nordeste, Brasil)	48	48	48a	1 par (I)	P & T	LIMA & MOLINA, 2004
<i>Haemulon plumieri</i> (Nordeste, Brasil)	48	48	48a	1 par (I)	P & T	LIMA & MOLINA, 2004
<i>Pomadasys corvaeniformes</i> (Nordeste, Brasil)	48	48	48a	1 par (I)	C & P	ACCIOLY & MOLINA, 2004
<i>Anisotremus virginicus</i> (Nordeste, Brasil)	48	48	48a	1 par (I)	---	ACCIOLY & MOLINA, 2004
<i>Anisotremus surinamensis</i> (Nordeste, Brasil)	48	48	48a	1 par (I)	---	ACCIOLY & MOLINA, 2004
<i>Anisotremus moricandi</i> (Nordeste, Brasil)	48	48	48a	1 par (I)	---	ACCIOLY & MOLINA, 2004
<i>Haemulon flavolineatum</i> (Margarita, Venezuela)	48	48	48a	1 par (I)	C	ESTE TRABAJO

Tipos de cromosomas: sm=Submetacéntrico; st=Subtelocéntrico; a=acrocéntrico;
Posiciones en el cromosoma: C= Centromérica; T= Telomérica; P= Pericentromérica; I= Intersticial

que la heterocromatina se encuentra distribuida a nivel pericentromérico y telomérico (LIMA & MOLINA, 2004).

En un estudio realizado en 25 especies de teleósteos marinos, se indicó que 11 fueron banda-C

positiva en la región centromérica de todos los cromosomas, encontrándose, además, la presencia de bloques en la región telomérica en cinco de ellas (BRUM, 1996). Estas diferencias, conducen a suponer que la identificación de patrones diferenciales de heterocromatina (bandas-C) podrían constituir

importantes marcadores cromosómicos para estudios entre poblaciones y/o especies de la subfamilia Haemulinae.

REFERENCIAS

- ACCIOLO, I. V. & W. F. MOLINA. (2004). Contribuição à citogenética dos gêneros *Pomadasys* e *Anisotremus* (Haemulidae, Perciformes). *Anais X simposio de citogenética e genética de peixes*. Universidad Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil. 1: 113
- BRUM, M. J. 1996. Cytogenetic studies of Brazilian marine fish. *Brazil. J. Genetics* 19 (3):421-427.
- _____, & P. M. GALETTI. 1997. Teleostei ground plan karyotype. *Journal Comp. Biol.* 2(2): 91-102.
- CEQUEA, H. & J. PÉREZ. 1971. Variaciones intra e interespecíficas de la hemoglobina y proteínas del plasma en algunas especies del genero *Haemulon*. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente* 10 (2):79-85.
- CERVIGÓN, F. 1993. *Los Peces Marinos de Venezuela*. Volumen II. Fundación Científica Los Roques. Caracas, Venezuela. 499 pp.
- DOUCETTE, A. J. & J. M. FITZSIMONS. 1988. Karyology of elopiform and clupeiform fishes. *Copeia*, 1: 124-130.
- DURAN, A., C. E. GARCÍA & A. LAGUARDA. 1990. The karyotype and "G" bands of *Haemulon aurolineatum* Cuvier 1830 (Pisces : Haemulidae). *Ann. Inst. Cienc. Mar. Limnol. Univ. Nac. Auton. México*. 17 (2):299-307.
- FERGUSON, M. M. & F. W. ALLENDORF. 1991. Evolution of the fish genome. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*. Chapter 2. Elsevier Science Publisher. Amsterdam, Netherland 1: 25-42.
- FORESTI, F., C. OLIVEIRA, P. M. GALETTI JR. & L. F. ALMEIDA-TOLEDO. (1993). Synaptonemal complex analysis in spermatocytes of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Genome* 36: 1124-1128.
- FROESE, R. & D. PAULY. (ED.) 2003. *Fishbase*. WWW.Fishbase.org (Visitado en Mayo de 2005).
- GALETTI, P. M. , C. T. AGUILAR & W. F. MOLINA. 2000. An overview of marine fish cytogenetics. *Hydrobiologia*. 420: 55-62.
- GOLD, J. R. 1979. Cytogenetics. In: Hoar, W.S.; Randall, D. J.; Brett, J. R., eds, *Fish Physiology*, Academic Press, New York, USA. v.3, pp. 353-405
- HOWELL, W. M. & D. A. BLACK, 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36: 1014-1015.
- HSU T.C., S. PATAK & T. R. CHEN. 1975. The possibility of latent centromeres and a proposed nomenclature system for total chromosome and whole arm translocations. *Cytogen. Cell. Gen.* 15: 41-49.
- KLINHKHARDT, M., M., TESCHE & H., GREVEN, (1995). *Database of fish chromosomes*. Magdeburg: Westarp - Wiss. Germany, 237 pp.
- LIMA, L. C. B. & W. F. MOLINA. 2004. Homeostase cariotípica em três espécies do gênero *Haemulon* (Haemulidae, Perciformes) do litoral Potiguar. *Anais X Simposio de Citogenética e Genética de Peixes*. Universidad Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil. 1: 113
- MAGO, F. 1970. *Lista de los peces de Venezuela*. Ministerio de Agricultura y Cría, Oficina Nacional de Pesca. Caracas Venezuela, 283 pp.
- NELSON, J. 1994. *Fishes of the World*. Third Edition John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. 600 pp.
- REGAN, J. D., M. M. SIGEL, W. H. LEE, K. A. LLAMAS, & A. R. BEASLEY. 1978. Chromosomal alterations in marine fish cells in vitro. *Can. J. Genet. Cytol.* 10: 448-453.
- ROSSI, A. R., E. GORNUNG & D. CROSETTI. 1997. Cytogenetic analysis of *Liza ramada* (Pisces: Perciformes) by different staining techniques and fluorescent *in situ* hybridization. *Heredity* 79:83-87.
- SCHMIDT, M. 1978. Chromosome banding in Amphibia. II. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in Ranidae, Microhylidae and Racophoridae. *Chromosoma* 68: 131-148.

SUMNER, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. *Experimental Cell Research* 75: 304-306.

_____, 1990. *Chromosome banding*. Ed. Unwin Hyman, London, U.K. 434pp.

VITTURI, R., E. CATALANO, M. S. COLOMBA, L. MONTAGNINO, & L. PELLERITO, 1995. Karyotype analysis of *Aphanius fasciatus* (Pisces, Cyprinodontiformes) Ag-NORs and C-band polymorphism in four populations from Sicily. *Biologisches Zentralblatt* 114:392-402.

RECIBIDO: julio 2005

ACEPTADO: septiembre 2005