

CONTENIDO DE ADN NUCLEAR EN
GALAXIAS PLATEI (STEINDACHNER, 1898)
(TELEOSTEI: OSMERIFORMES: GALAXIIDAE)

NUCLEAR DNA CONTENT IN
GALAXIAS PLATEI (STEINDACHNER, 1898)
(TELEOSTEI: OSMERIFORMES: GALAXIIDAE)

Pedro Jara-Seguel¹, Iván Valdebenito² & Claudio Palma-Rojas³

¹Escuela de Ciencias Ambientales, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Casilla 15-D, Temuco, Chile. pjara@uct.cl

²Escuela de Acuicultura, Centro de Genómica Nutricional Agroacuícola-CGNA, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Casilla 15-D, Temuco, Chile.

³Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, Casilla 599, La Serena, Chile.

RESUMEN

Galaxias platei, es un pez endémico de Chile y cubre una extensa área geográfica desde la zona centro-sur hasta gran parte de la Patagonia (38°S-54°S), incluyendo también parte de Argentina. En este trabajo se determinó el contenido somático de ADN nuclear (valor 2C) de *Galaxias platei* (Galaxiidae) mediante microdensitometría nuclear de eritrocitos sometidos a tinción de Feulgen. El valor 2C de *G. platei* es 1,88±0,16 pg y su valor C es equivalente a 0,94 pg (921,2 pMb). El valor C de *G. platei* está dentro del rango descrito para otras especies de Osmeriformes (valores entre 0,62 y 3,2 pg) y es menor al valor documentado previamente para *G. maculatus* (C = 1,105 pg). Estos datos contribuyen a incrementar los antecedentes genómicos disponibles para el género *Galaxias* los que, en conjunto con los resultados de análisis cromosómicos previos, podrían ser útiles para evaluar aquellas relaciones genéricas y específicas que han sido propuestas para la familia Galaxiidae.

PALABRAS CLAVES: Osmeriformes, Galaxiidae, *Galaxias platei*, valor 2C.

ABSTRACT

Galaxias platei is a Chilean endemic fish, with distribution in an extensive geographic area from the central-southern zone to the Chilean and Argentinean Patagonia. In this work, the somatic nuclear DNA content (2C-value) of *Galaxias platei* (Galaxiidae) was determined using Feulgen microdensitometry on erythrocyte nuclei. The 2C-value of *G. platei* was 1.88 ± 0.16 pg and its C-value is equivalent to 0.94 pg (921.2 Mbp). The C-value of *G. platei* was within the range recorded for others osmeriform species (values from 0.62 to 3.2 pg), and lower to the value previously described for *G. maculatus* (C = 1.105 pg). These data contribute to increase the genome antecedents so far available for the genus *Galaxias*, which together with previous chromosome analysis, may be utile to evaluate those generic and specific relationships proposed for the family Galaxiidae.

KEYWORDS: Osmeriformes, Galaxiidae, *Galaxias platei*, 2C-value.

INTRODUCCION

Galaxias platei (Steindachner, 1898) es un pez endémico de Chile y cubre una extensa área geográfica desde la zona centro-sur hasta gran parte de la Patagonia (38°S-54°S), incluyendo también parte de la zona sur de Argentina. Es una especie altamente adaptada para habitar en ambientes litorales y sublitorales de ríos y lagos con alta carga de sedimentos y baja luminosidad, destacando entre sus caracteres la presencia de una retina funcionalmente óptima en ambientes oscuros, protección de las branquias contra la abrasión, tolerancia a bajas concentraciones de oxígeno, baja tasa metabólica (Cussac *et al.* 2004) y el mayor tamaño corporal entre las especies que constituyen la familia (aprox. 350 mm) (Murillo & Ruiz 2002). Numerosos estudios ecológicos, biogeográficos, taxonómicos y de conservación que han incluido a *G. platei*, así como a otras especies de la familia, han sido documentados por McDowall (1971), Campos (1973, 1979, 1984a, 1984b, 1985), Glade (1988), Milano & Vigliano (1997), Campos *et al.* (1998), Murillo & Ruiz (2002), Barriga *et al.* (2002), Milano *et al.* (2002), Ferriz (2003), Cussac *et al.* (2004) y Habit *et al.* (2006). Adicionalmente, resultados de estudios genéticos están disponibles para algunas especies chilenas de Galaxiidae, entre los que destacan el número cromosómico y estructura del cariotipo de *Galaxias platei* (Campos 1972) y *G. maculatus* (Campos 1972, Merrilees 1975, Johnson *et al.* 1981), además de patrones de bandeo cromosómico en *Brachygalaxias bullocki* y *B. gothei* (Cuevas *et al.* 1999).

Dentro de los diferentes aspectos relacionados con la estructura del genoma, el contenido de ADN nuclear también es utilizado como carácter diagnóstico para establecer relaciones filogenéticas, taxonómicas y evolutivas entre especies (Carvalho *et al.* 1998, Hickey & Clements 2005), siendo un carácter complementario a los habituales análisis cromosómicos realizados en peces (Winkler *et al.* 2004, Muñoz *et al.* 2006). Adicionalmente, el conocimiento del contenido de ADN nuclear tiene aplicabilidad en otra amplia variedad de campos biológicos (i. e. ecología, biología celular y molecular, genómica estructural y funcional, fisiología, desarrollo, paleontología) (Bennett & Leitch 1997, Yi & Streelman 2005), estando positivamente correlacionado con parámetros

celulares, así como morfológicos, fisiológicos, reproductivos y embriológicos, lo que se conoce como efecto nucleotípico (Gregory 2000, 2002a, 2002b). Actualmente, dentro de los vertebrados los teleosteos cuentan con una de las mayores bases de datos sobre contenido de ADN nuclear (1.354 especies examinadas) (Gregory *et al.* 2007), lo que es adicional a los estudios existentes acerca del efecto nucleotípico (Gregory 2001). Para especies del orden Osmeriformes, antecedentes sobre contenido de ADN nuclear han sido documentados previamente para 10 especies (Gregory 2007), además de un reciente estudio realizado en una población chilena de *G. maculatus* (Jara-Seguel *et al.* 2008). No obstante, aquellas especies de la familia Galaxiidae que son endémicas de Chile aún no han sido examinadas.

En el presente trabajo se documenta por primera vez el contenido de ADN nuclear (valor 2C) de individuos de *G. platei* colectados desde una población natural que habita en la desembocadura del Lago Riñihue hacia el río San Pedro, Región de Los Ríos, Chile.

MATERIAL Y METODOS

Las mediciones del contenido de ADN nuclear (valor 2C) fueron realizadas por microdensitometría en núcleos de eritrocitos obtenidos de cinco especímenes adultos de *G. platei* (Fig. 1), utilizando el programa computacional Image Pro-Plus 4.0 (Media Cybernetics, Inc). Se confeccionaron frotis de sangre, los que fueron secados al aire, fijados en metanol-ácido acético glacial (3:1 v/v) a 4°C por 24 h y sometidos a tinción mediante la reacción de Feulgen (hidrólisis con HCl 5N por 60 min a temperatura ambiente, tinción con reactivo de Schiff's por 60 min, seguido de tres lavados de cinco min cada uno en agua sulfurosa). El programa computacional capturara imágenes en blanco y negro desde el microscopio óptico NIKON Eclipse 400 y analiza las diferentes estructuras visibles. La densidad óptica nuclear (DO) es calculada por el programa de acuerdo a la fórmula $OD = \log_{10} (1/T) = -\log_{10} T$; donde T = intensidad de luz transmitida / intensidad de luz incidente. De esa estimación el programa integra los valores de DO obtenidos de cada píxel y calcula la densidad óptica integrada ($DOI = \sum OD$). Para *G. platei*, valores de densidad

óptica integrada (DOI) de 199 núcleos individuales fueron determinados con el programa. Los valores de DOI fueron transformados a masa absoluta de ADN por comparación con frotis de eritrocitos de un estándar de valor 2C conocido, representado por especímenes de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*, 2C = 5,5 pg, 2n = 58 -62) (Hartley & Horne 1985). La trucha arcoiris es un estándar que habitualmente se ha utilizado para determinar el valor 2C en peces cuyos rangos fluctúan entre 1,04 pg y 238,0 pg, ya sea mediante citometría de flujo (Tiersch *et al.* 1989), o bien, a través del análisis microdensitométrico de células sometidas a tinción de Feulgen (Carvalho *et al.* 1998, Hickey & Clements 2005). Los eritrocitos del estándar fueron

incluidos en el mismo protocolo de fijación, tinción y determinación de DOI que las células de *G. platei*. Para estimar el valor 2C se utilizó la ecuación $CV_u = CV_s \times (DOI_u/DOI_s)$. En esa ecuación, CV_u = valor 2C de *G. platei*; CV_s = valor 2C del estándar; DOI_u = valor de DOI de *G. platei*; DOI_s = valor de DOI del estándar. El contenido de ADN del genoma haploide (valor C) fue estimado indirectamente como $2C/2$, donde 2C es el contenido de ADN somático y 2 es el número de juegos cromosómicos del genoma diploide de *G. platei* (2n = 30, n = 15) (Campos 1972). El valor C en picogramos (masa absoluta de ADN en pg) fue expresado en pares de megabases (pMb) utilizando la relación 1 pg = 980 pMb propuesta por Cavalier-Smith (1985).



FIGURA 1. Macho adulto de *Galaxias platei*. Barra = 3,0 cm.

FIGURE 1. Adult male of *Galaxias platei*. Bar = 3.0 cm.

RESULTADOS

El contenido somático de ADN nuclear (valor 2C) medido en eritrocitos de *G. platei* fue de $1,88 \pm 0,16$ pg (DOI promedio = $4,28 \pm 0,30$ unidades arbitrarias) y el coeficiente de variación fue de 8,5%. De acuerdo con estos resultados, el contenido haploide de ADN (valor C) de *G. platei* sería igual a 0,94 pg, lo que es equivalente a 921,2 pMb. El valor promedio de DOI en núcleos de eritrocitos del estándar trucha arcoiris fue de $12,53 \pm 1,2$ unidades arbitrarias (2C = 5,5 pg).

DISCUSION

El contenido de ADN nuclear varía ampliamente entre los diferentes grupos de peces que han sido estudiados. Las bases de datos más completas

(Gregory 2007, Gregory *et al.* 2007) muestran que el menor valor C ha sido descrito en *Fugu rubripes* (Tetraodontidae) con 0,4 pg (392 pMb), mientras que el mayor valor C está presente en *Protopterus aethiopicus* (Protopteridae) con 130 pg (127.400 pMb). Se ha estimado, revisando esas mismas bases de datos, que el valor C promedio para todos los grupos de peces analizados en conjunto es 20,6 pg y los teleosteos muestran un valor promedio de 1,2 pg. Dentro del orden Osmeriformes, el valor C promedio es de $1,42 + 0,96$ pg, donde el menor valor ha sido registrado en *Osmerus eperlanus* (Osmeridae) con 0,62 pg (607,6 pMb) y el mayor valor fue descrito en *Bathylagus pacificus* (Bathylagidae) con 3,2 pg (3.136 pMb) (Gregory 2007).

El valor C documentado en este estudio para *G. platei* está dentro del rango descrito para especies del orden Osmeriformes y es menor al valor

estimado previamente para *G. maculatus* ($n = 11$; $C = 1,105$ pg; $1.182,9$ pMb) (Jara-Seguel *et al.* 2008). De igual forma, el valor C de esas dos especies de *Galaxias* es menor al promedio estimado para Osmeriformes. No obstante, para algunas especies de los géneros *Hypomesus* y *Spirinchus*

(Osmeridae), considerados filogenéticamente los más cercanos a *Galaxias* y *Brachygalaxias* (López *et al.* 2004), sus valores C son 0,74 y 0,84 pg, respectivamente (Gregory 2007), siendo también los más próximos a los valores estimados para *G. platei* y *G. maculatus* (Tabla I).

TABLA I. Número cromosómico (2n), fórmula cariotípica diploide (FCD) y valor C (VC) para especies del orden Osmeriformes. pg = picogramos; m = metacéntrico, sm = submetacéntrico, st = subteloicéntrico, t = telocéntrico.

TABLE I. Chromosome number (2n), diploid karyotype formulae (FCD) and C-value (VC) for species of the order Osmeriformes. pg = picograms; m = metacentric, sm = submetacentric, st = subteloicentric, t = telocentric.

Familia/Especie	2n	FCD	VC (pg)	Referencia
Galaxiidae				
<i>Galaxias platei</i>	30	1m, 18sm, 11t	0,94	Campos (1972)
<i>G. maculatus</i>	22	8m, 12 sm, 2t	1,105	Presente trabajo Campos (1972) Jara-Seguel <i>et al.</i> (2008)
Osmeridae				
<i>Hypomesus pretiosus</i>	50 - 52		0,74	Gregory (2007)
<i>Osmerus eperlanus</i>	56	10m, 18st, 28st-t	0,62	Ocalewicz <i>et al.</i> (2007)
<i>O. mordax</i>			0,69	Gregory (2007)
<i>Spirinchus starki</i>	50		0,84	Gregory (2007)
<i>Thaleichthys pacificus</i>			0,68	Gregory (2007)
Bathylagidae				
<i>Argentina silus</i>	44		0,85	Gregory (2007)
<i>Bathylagus milleri</i>	60		3,15	Gregory (2007)
<i>B. pacificus</i>			3,20	Gregory (2007)
<i>B. wesethi</i>	36		1,75	Gregory (2007)
<i>Leuroglossus stilbus</i>	64		1,70	Gregory (2007)

Durante las últimas décadas han incrementado los antecedentes sobre contenido de ADN nuclear para los diferentes grupos de peces, los que han sido incluidos en grandes bases de datos electrónicas de fácil acceso (Gregory 2007). Esa disponibilidad de la información, ha favorecido el avance de aquellas investigaciones orientadas a estudiar comparativamente la evolución del tamaño genómico, así como su efecto sobre parámetros celulares y organismales (Gregory 2001, Gregory *et al.* 2007). Adicionalmente, esos avances han sido enriquecidos por estudios filogenéticos morfológicos y moleculares que han proveído también de una base interpretativa robusta para entender tendencias evolutivas en relación a la complejidad del genoma dentro de ese diverso grupo de vertebrados (Comber & Smith 2004, Hickey & Clements 2005, Yi & Streelman 2005, Rise *et al.* 2007). No obstante, para peces chilenos, los datos genómicos disponibles son incompletos y no

permiten realizar análisis biosistemáticos más incluyentes. Prueba de ello es que en un reciente trabajo, que da cuenta del estado de conocimiento de los peces dulceacuícolas chilenos (Habit *et al.* 2006), se ha enfatizado en la necesidad de realizar estudios filogenéticos en especies de galaxiidos nativos, uno de los grupos en que aún existen grandes vacíos. En base a esas sugerencias, proponemos que un mayor número de especies de Galaxiidae deberían ser incluidas en estudios sobre contenido de ADN nuclear. El valor C, en conjunto con los números cromosómicos y la estructura de los cariotipos a la fecha descritos para varias especies de Galaxiidae (i. e. *G. platei*, *G. maculatus*, *Brachygalaxias bullocki*, *B. gothei*,) (Campos 1972, Campos 1975, Merrilees 1975, Johnson *et al.* 1981, Cuevas *et al.* 1999), podrían constituir caracteres robustos para evaluar aquellas relaciones genéricas y específicas propuestas previamente dentro de la familia (Campos 1979, Johnson *et al.* 1981, Berra *et al.*

1995). En ese mismo contexto, los patrones de bandeo cromosómico C descritos para especies del género *Brachygalaxias* (Cuevas *et al.* 1999) han revelado importantes detalles sobre el contenido y distribución de la heterocromatina constitutiva dentro del genoma de estos peces, constituyendo un carácter que podría ser evaluado en conjunto con variaciones en el contenido de ADN nuclear. De tal forma que, una vez completada la base de datos genómicos para la familia Galaxiidae, se podría estudiar comparativamente el efecto nucleotípico en todas las especies, ya sea determinando dimensiones de células somáticas (i. e. diámetro de eritrocitos), o bien, evaluando la eficiencia en procesos fisiológicos (tasa metabólica, consumo de oxígeno, equilibrio salino, parámetros hematológicos) y reproductivos (ciclo meiótico y gametogénesis, duración del desarrollo embrionario y larval) (Gregory 2001, Gregory 2002b, Gallardo *et al.* 2004, Jaramillo 2005); muchos de ellos considerados caracteres fenotípicos de alto valor adaptativo para las especies que constituyen esta familia de peces nativos (Cussac *et al.* 2004). Finalmente, los datos aportados en el presente trabajo contribuyen a incrementar los antecedentes genómicos existentes para el género *Galaxias* y para la familia Galaxiidae, información que es adicional a los escasos datos de contenido de ADN nuclear registrados para otras familias de peces nativos que habitan en Chile (i. e. *Trichomycterus areolatus*, Trichomycteridae) (Colihueque & Corrales 2006). Desde esa perspectiva, la determinación del contenido de ADN nuclear constituye todavía un incipiente nivel de análisis biosistemático para la diversidad íctica de Chile, pudiendo existir en el futuro una sinergia metodológica con la genética molecular (i. e. secuenciación de genes nucleares) (Gregory 2005a, 2005b; Rise *et al.* 2007), siendo ambos enfoques un sustento filogenético para los niveles morfológicos que clásicamente se han evaluado en los tratados taxonómicos documentados para la fauna de peces que habitan en aguas continentales chilenas.

AGRADECIMIENTOS

Financiado por los proyectos DGIUCT 2005-4-02 y FONDEF A040411006.

BIBLIOGRAFIA

- BARRIGA J., M. BATTINI, P. MACCHI, D. MILANO & V. CUSSAC. 2002. Spatial and temporal distribution of landlocked *Galaxias maculatus* and *Galaxias platei* (Pisces: Galaxiidae) in a lake in the South American Andes. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 36: 345-359.
- BENNETT, M. & I. LEITCH. 1997. Nuclear DNA amounts in Angiosperms-583 new estimates. *Annals of Botany* 80: 169-196.
- BERRA, T., R. FELTES & V. RUIZ. 1995. *Brachygalaxias gothei* from south-central Chile, a synonym of *B. bullocki* (Osteichthyes: Galaxiidae). *Ichthyological Explorations of Freshwaters* 6(3): 227-234.
- CAMPOS, H. 1972. Karyology of three galaxiid fishes *Galaxias maculatus*, *G. platei*, and *Brachygalaxias bullocki*. *Copeia* 1972: 368-370.
- CAMPOS, H. 1973. Lista de peces de aguas continentales de Chile. *Noticiero Mensual del Museo Nacional de Historia Natural (Chile)* 17(198-199): 3-14.
- CAMPOS, H. 1979. Avances en el estudio sistemático de la familia Galaxiidae (Osteichthyes: Salmoniformes). *Archivos de Biología y Medicina Experimental* 12: 107-118.
- CAMPOS, H. 1984a. Macrozoobentos y fauna íctica de las aguas limnéticas de Chiloé y Aysén continentales (Chile). *Medio Ambiente* 7(1): 52-64.
- CAMPOS, H. 1984b. Gondwana and neotropical galaxiid fish biogeography. En: *Junk W. Publishers, The Hague*: 113-125.
- CAMPOS, H. 1985. Distribution of the fishes in the Andean rivers in the South of Chile. *Archives für Hydrobiologie* 12: 169-191.
- CARVALHO, M., C. OLIVEIRA, M. NAVARRETE, O. FROELICH & F. FORESTI. 2002. Nuclear DNA content determination in Characiformes fish (Teleostei, Ostariophysi) from the Neotropical region. *Genetic and Molecular Biology* 25(1): 49-55.
- CAVALIER-SMITH, T. 1985. Eukaryotic gene numbers, non-coding DNA, and genome size. In: (Ed. T. Cavalier-Smith), pp. 69-103. *The evolution of genome size*. J. Wiley & Sons, Chichester.
- COLIHUEQUE, N. & O. CORRALES. 2006. Caracterización cromosómica y contenido de ADN nuclear en *Trichomycterus areolatus* (Trichomycteridae, Siluriformes). *Biological Research* 39: 170.
- COMBER, S. & C. SMITH. 2004. Polyploidy in Fishes: patterns and process. *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 431-442.
- CUEVAS, C., H. CAMPOS & K. BUSSE. 1999. Cytotaxonomic studies on Chilean galaxiid fishes. The karyotypes, C-bands, Ag-NORs and hybrids of *Brachygalaxias gothei* and *B. bullocki* (Osteichthyes: Galaxiidae). *Cytologia* 64: 379-385.
- CUSSAC, V., S. ORTUBAY, G. IGLESIAS, D. MILANO, M. LATTUCA, J. BARRIGA, M. BATTINI & M. GROSS. 2004. The distribution of South American galaxiid fishes: the role of biological traits and post-glacial history. *Journal of Biogeography* 31: 103-121.

- FERRIZ, R. 2003. Alimentación de *Galaxias platei* (Pisces: Galaxiidae) en siete ambientes lénticos de la provincia de Chubut, Argentina. *Revista Museo Argentino de Ciencias Naturales* 5(1): 79-85.
- GALLARDO, M., J. BICKHAM, G. KAUSEL, N. KÖLER & R. HONEYCUTT. 2003. Gradual and quantum genome size shifts in the hystricognath rodents. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 163-169.
- GALLARDO, M., O. GARRIDO, R. BAHAMONDE & M. GONZÁLEZ. 2004. Gametogenesis and nucleotypic effects in the tetraploid red vizcacha rat, *Tympanoctomys barrerae* (Rodentia, Octodontidae). *Biological Research* 37: 767-775.
- GLADE, A. 1988. Libro rojo de los vertebrados terrestres de Chile. *Actas del Simposio: Estado de Conservación de los Vertebrados Terrestres de Chile*. CONAF, Santiago, pp. 67.
- GREGORY, R. 2000. Nucleotypic effects without nuclei: Genome size and erythrocyte size in mammals. *Genome* 43: 895-901.
- GREGORY, R. 2001. The bigger the C-value, the larger the cell: genome size and red blood cell size in Vertebrates. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 27(5): 830-843.
- GREGORY, R. 2002a. A bird's-eye view of the C-value enigma: genome size, cell size, and metabolic rate in the class Aves. *Evolution* 56: 121-130.
- GREGORY, R. 2002b. Genome size and developmental complexity. *Genetica* 115: 131-146.
- GREGORY, R. 2005a. The C-value enigma in plants and animals: A review of parallels and an appeal for partnership. *Annals of Botany* 95: 133-146.
- GREGORY, R. 2005b. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology* 54: 852-859.
- GREGORY, R. 2007. Animal genome size database, <http://www.genomesize.com>.
- GREGORY, R., J. NICOLS, H. TAMM, K. KULLMAN, I. LEITCH, B. MURRAY, D. KAPRAUN, J. GREIHUBER & M. BENNETT. 2007. Eukaryotic genome size databases. *Nucleic Acids Research* 35: 332-338.
- HABIT, E., B. DYER & I. VILA. 2006. Estado de conocimiento de los peces dulceacuicolas de Chile. *Gayana* 70(1): 100-113.
- HARTLEY, S. & M. HORNE. 1985. Cytogenetic techniques in fish genetics. *Journal of Fish Biology* 26: 575-582.
- HICKEY, A. & K. CLEMENTS. 2005. Genome size evolution in New Zealand triplefin fishes. *Journal of Heredity* 96(4): 356-362.
- HONEYCUTT, R., D. ROWE & M. GALLARDO. 2003. Molecular systematics of the South American caviomorph rodents: relationships among species and genera in the family Octodontidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26: 476-489.
- JARA-SEGUEL, P., I. VALDEBENITO, C. PALMA-ROJAS & C. REBOLLEDO. Nuclear DNA content in *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) (Teleostei: Osmeriformes: Galaxiidae). *Latin American Journal of Aquatic Research* 36(1): 87-91.
- JARAMILLO, N. 2005. Estudio hematológico básico del puye (*Galaxias maculatus*) (Jenyns, 1842) en estado postlarval y adulto. Tesis de Licenciado en Ciencias de la Acuicultura, Universidad Católica de Temuco, 86 pp.
- JOHNSON, C., G. WHITE & A. BICK. 1981. Cytotaxonomy of seven species of *Galaxias* (Pisces: Galaxiidae) in Tasmania. *Genetica* 56: 17-21.
- LÓPEZ, A., W. CHEN & G. ORTÍ. 2004. Esociform Phylogeny. *Copeia* 2004(3): 449-464.
- MCDOWALL, R. 1971. The galaxiid fishes of South America. *Zoological Journal of the Linnean Society* 50: 33-73.
- MERRILEES, M. 1975. Karyotype of *Galaxias maculatus* from New Zealand. *Copeia* 1975: 176-178.
- MILANO, D. & P. VIGLIANO. 1997. Nuevos registros de *Galaxias platei* Steindachner 1898 en lagos andino-patagónicos (Teleostei: Osmeriformes: Galaxiidae). *Geotrópica* 43: 109-111.
- MILANO, D., V. CUSSAC, P. MACCHI, D. RUZZANTE, M. ALONSO, P. VIGLIANO & M. DENEGRI. 2002. Predator associated morphology in *Galaxias platei* in Patagonian lakes. *Journal of Fish Biology* 61(1): 138-156.
- MUÑOZ, C., M. NIRCHIO, J. PÉREZ, E. RON, C. OLIVEIRA & I. FERREIRA. 2006. Cytogenetic characterization of the silverside fish *Odontesthes regia* (Humboldt, 1833) (Teleostei: Atheriniformes: Atherinopsidae) from Iquique, Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 41(1): 57-62.
- MURILLO, V. & V. RUIZ. 2002. El puye *Galaxias globiceps* Eigenmann 1927 (Osteichthyes: Galaxiidae): ¿Una especie en peligro de extinción? *Gayana* 66(2): 191-197.
- OCALEWICZ, K., P. HLIWA, K. KROL, M. RÁBODÁ, R. STABINSKI & P. RÁB. 2007. Karyotype and chromosomal characteristics of Ag-NOR sites and 5S rDNA in European smelt, *Osmerus eperlanus*. *Genetica* 131(1): 29-35.
- RISE, M., K. VON SCHALBURG, G. BROWN, M. MAWER, R. DEVLIN, N. KUIPERS, M. BUSBY, M. BEETZ-SARGENT, R. ALBERTO, A. GIBBS, P. HUNT, R. SHUKIN, J. ZEZNICK, C. NELSON, S. JONES, D. SMALLUS, S. JONES, J. SCHEIN, M. MARRA, Y. BUTTERFIELD, J. STOTT, S. NG, W. DAVIDSON & B. KOOP. 2007. Development and Application of a Salmonid EST Database and cDNA Microarray: Data Mining and Interspecific Hybridization Characteristics. *Genome Research* 3: 1-13.
- TIERSCH, T., R. CHANDER, S. WACHTEL & S. ELIAS. 1989. Reference standards for flow cytometry and application in comparative studies of nuclear DNA content. *Cytometry* 10: 706-710.
- WINKLER, F., D. GARCÍA-MELYS & C. PALMA-ROJAS. 2004. Karyotype of three South East Pacific flounder species of the family Paralichthyidae. *Aquaculture Research* 35: 1295-1298.
- YI, S. & T. STREELMAN. 2005. Genome size is negatively correlated with effective population size in ray-finned fish. *Trends in Genetics* 21(12): 643-646.

Recibido: 05.09.08
Aceptado: 18.10.08