

CA

**CITOGENÉTICA
ANIMAL**



DESCRIPCIÓN CARIOTÍPICA PARA UNA NUEVA ESPECIE DEL GÉNERO *Macaria* (Lepidoptera: Geometridae): UN APORTE PRELIMINAR DESDE LA LEPIDOPTEROLOGÍA

Figueredo H.S.¹, C. Fernández Díaz¹. ¹Programa de Investigación Entomología de Misiones (PrEM), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCEQyN), Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina.
hernangenetica@gmail.com

Hasta la actualidad la familia Geometridae cuenta con aproximadamente 358 especies reconocidas para Argentina. Este número muestra la necesidad de mayores estudios, principalmente en regiones con alta diversidad específica, como lo es la Ecorregión de la Selva Paranaense. El género *Macaria* Curtis, 1832 posee 170 especies descritas hasta el momento, aunque sin una revisión taxonómica en la región neotropical. En Argentina no existe registro de estudios citogenéticos en esta familia, posiblemente porque existen investigaciones centradas en lepidópteros de interés agronómico. Por todo esto, el objetivo del presente trabajo fue describir el cariotipo de una nueva especie para el género *Macaria* de la provincia de Misiones, denominada en el presente como *Macaria* sp., con el fin de establecer relaciones taxonómicas a futuro. Se extrajeron las gónadas de los ejemplares machos larvales (instar 5) colectados, y fueron sometidos a los protocolos para obtención de cromosomas de acuerdo a Lukhtanov y Dantchenko, con algunas modificaciones. Los ejemplares analizados presentaron un cariotipo meiótico de $n=31$. De los 31 bivalentes en MI se observó una serie descendente en tamaño que va desde macrobivalentes a microbivalentes, y algunas metafases presentaron asociaciones cromosómicas del tipo trivalente y multivalente. Sin embargo, esto denota una estructura simétrica de cariotipo, ajustándose así a la condición ancestral del Orden Lepidoptera. Las asociaciones cromosómicas podrían estar indicando algún tipo de fisión o fusión intracromosómica que serán estudiados a futuro.

EXPLORANDO EL ORIGEN DE VARIANTES DE CROMOSOMAS SEXUALES DE *Anastrepha fraterculus* sp. 1

Lanzavecchia S.¹, M.C. Giardini², M. Nieves³, F.H. Milla², M.E. Schapovaloff⁴, M.S. Frissolo⁵. ¹Instituto de Genética (IGEAF), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ²IGEAF, Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA- CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina., ³Centro de Investigación en Reproducción Humana y Experimental (CIRHE). ⁴INTA EEA Montecarlo, Misiones, Argentina. ⁵Programa Nacional de Control y Erradicación de Moscas de los Frutos (PROCEM), La Rioja, Argentina.
lanzavecchia.silvia@inta.gob.ar

Anastrepha fraterculus Wiedemann (Diptera: Tephritidae) es un insecto plaga de frutales de importancia económica en Argentina. Estudios previos mostraron polimorfismos para el tamaño y distribución de la heterocromatina en sus cromosomas sexuales. El objetivo de este trabajo fue analizar la distribución geográfica actual de estas variantes en nuestro país y explorar el origen de estos polimorfismos. Se analizaron metafases mitóticas de individuos silvestres de cinco zonas de producción frutícola y se detectaron dos variantes de cromosoma X (X1 y X2) y dos variantes de cromosoma Y (Y5 e Y6). X1 es un cromosoma submetacéntrico (SM) que posee dos bandas DAPI positivas en cada uno de sus telómeros, siendo la banda distal más prominente. X2, es un cromosoma SM con un satélite distal DAPI positivo. La variante Y5, es un cromosoma pequeño meta-submetacéntrico (60% de X1), con una región DAPI positiva en el brazo corto y un bloque intersticial prominente DAPI positivo en el brazo largo. Finalmente Y6, es SM de tamaño mediano (80% de X1) y muestra bandas positivas para DAPI en casi el 50% de su longitud. Los cromosomas X1 e Y5 se hallaron en alta proporción en las cinco poblaciones analizadas (82% y 78%, respectivamente; $n=335$), en comparación con el X2 y el Y6 (18% y 22% respectivamente; $n=335$), sólo presentes en tres de las poblaciones. Nuestros resultados confirman la coexistencia de las variantes de cromosomas sexuales en poblaciones silvestres de la plaga y permiten postular el posible origen de las variantes X2 e Y6 a partir de X1 e Y5, respectivamente.

ORGANIZACIÓN DEL ADN A LO LARGO DEL COMPLEJO SINAPTONÉMICO Y SU RELACIÓN CON LAS FRECUENCIAS DE RECOMBINACIÓN EN OVOCITOS DE POLLO

Pigozzi M.I.¹. ¹CONICET, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
mpigozzi@fmed.uba.ar

En la profase I los cromosomas se organizan en lazos de ADN sujetos a ejes proteicos que en el paquitene forman parte del complejo sinaptonémico (CS). Se ha propuesto que existe una interrelación entre el número de lazos, la longitud del CS y las frecuencias de recombinación. En este trabajo se analiza la covariación entre la densidad del ADN y la frecuencia de recombinación en el bivalente 1 del pollo (GGA1). Por un lado, se obtuvo la cantidad de pares de bases por unidad de longitud de CS combinando información del ensamblado genómico con datos de inmunomarcación e hibridación *in situ* fluorescente obtenidos a partir de imágenes de núcleos en paquitene. Por otro lado, se calcularon las frecuencias de recombinación en el mismo bivalente mediante el mapeo de focos de MLH1 - una proteína marcadora del *crossing over* en el paquitene. La comparación de ambos parámetros a lo largo del brazo corto de GGA1, indica que las regiones cromosómicas con tasas elevadas de recombinación ocupan una longitud de CS proporcionalmente más larga. Estos resultados son consistentes con la idea de que en la profase I el ADN forma lazos cuya longitud varía según la frecuencia de recombinación. Es decir que, a igual cantidad de contenido genómico, los cromosomas o regiones cromosómicas con mayores tasas de recombinación forman lazos de ADN más cortos y ejes meióticos/CS más largos.

RECIENTES HALLAZGOS EN LA CARIOLOGÍA DEL AULLADOR NEGRO *Alouatta pigra* (PRIMATES, PLATYRRINI)

Steinberg E.R.¹, L. Maladesky¹, M.J. Bressa², M.D. Mudry¹.
¹Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), EGE-FCEN-UBA, IEGEBA-CONICET, CABA, Argentina.
²Grupo de Citogenética de Insectos, EGE-FCEN-UBA, IEGEBA-CONICET, CABA, Argentina.
steinberg@ege.fcen.uba.ar

La cariólogía en primates en general y en los neotropicales en particular, tiene un valor diagnóstico taxonómico, a la vez que es crítica para su conservación tanto en la naturaleza como en cautiverio. El aullador negro es una especie de mono neotropical endémico del sur de México, Belice y Guatemala, categorizada en peligro de extinción por la IUCN. Estas consideraciones sumadas a los escasos estudios citogenéticos se tomaron en cuenta al analizar la composición genómica de 2 hembras de *Alouatta pigra* ($2n=58$, $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$) (Campeche, Península de Yucatán, México) mediante bandas cromosómicas fluorescentes secuenciales (DAPI para detectar zonas ricas en AT y cromomicina A3 para zonas ricas en GC). Se observaron bandas DAPI-/CMA3+ teloméricas (pares 1, 4, 5, 10-14, 16-20, 22, 28, X1), intersticiales (pares 1, 4-6, 10, 12-15, 19, 20, 22-24) y pericentroméricas (pares 2, 4-6, 10, 12-14, 18-20, 25, 27). Se evidenciaron bandas DAPI+/CMA3- teloméricas (pares 21 y 23) e intersticiales (1, 4-6, 12-15, 18-20, 23 y X1) y bandas DAPI+/CMA3+ intersticiales en el par 3. Los pares 7 y 9 y el 21p resultaron completamente DAPI-/CMA3+. El par 8 no mostró bandas fluorescentes. El patrón de bandas cromosómicas fluorescentes en *A. pigra* permitió identificar cromosomas y regiones particulares por su organización estructural según contenido, distribución y localización de secuencias de bases específicas que junto a datos previos en *A. guariba clamitans* y *A. caraya* permitieron establecer homeologías e interpretar posibles patrones de evolución cromosómica en monos aulladores.

RELACIÓN ENTRE ASPECTOS ESTRUCTURALES Y DINÁMICOS EN LA ARQUITECTURA DEL GENOMA DE *Sapajus cay*

Puntieri, F.¹, N. Andrioli², L. Fantini³, N. Gorla⁴, M. Nieves⁵.
¹DAAD. RG Development & Disease, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Alemania. ²EGE, IEGEBA, FCEyN, UBA, CABA, Buenos Aires, Argentina. ³Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Arturo Jauretche, Florencio Varela, Buenos Aires, Argentina, ⁴Laboratorio de Genética, Ambiente y Reproducción GenAR, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina. ⁵CONICET, Centro de Investigación en Reproducción Humana y Experimental (CIRHE)-CEMIC, CABA, Buenos Aires, Argentina.
 fi.puntieri@gmail.com

El conocimiento sobre la composición de la cromatina y su vinculación con la funcionalidad cromosómica en la estructura del genoma de primates neotropicales es aún limitado. En este trabajo exploramos la arquitectura del genoma de *Sapajus cay* (Cebidae, Platyrrhini) analizando la relación entre aspectos estructurales y de dinámica cromosómica. Se utilizaron preparaciones mitóticas de cinco individuos obtenidas a partir de cultivos primarios de linfocitos y fibroblastos. Se analizó el grado de conservación genómica con Zoo-FISH, y de estabilidad genómica mediante el número de intercambios de cromátidas hermanas (ICH) por cromosoma. Se confirmó la ruptura de la sintenia 3/21 y la conservación de las sintenias 10/16 y 14/15. Se obtuvo hibridación positiva para otros cinco cromosomas humanos en las regiones eucromáticas mayoritariamente adyacentes a heterocromatina de ocho pares cromosómicos, incluido el X. Aplicando un modelo lineal generalizado y un análisis de estabilidad se propone que la proporción de bandas inestables estarían concentradas en regiones conservadas del cariotipo y en los límites entre eucromatina y heterocromatina. La baja inestabilidad en *S. cay* podría deberse a la gran proporción de heterocromatina en su genoma ($\approx 13\%$) que induciría la compactación de la cromatina y la protección contra el daño endógeno. La estabilidad genómica localizada en dichas regiones se pone en evidencia a escala cromosómica, consistente con el cariotipo altamente conservado de esta especie, respecto del ancestro común más reciente de Platyrrhini.

ANÁLISIS SIMULTÁNEO DE FILIACIÓN, CONDICIONES GENÉTICAS Y CARACTERES CUALITATIVOS MEDIANTE TARGETED-NGS EN PERROS

Arizmendi A.¹, G. Rudd Garces¹, J.A. Crespi¹, L.H. Olivera¹, P. Peral García¹, G. Giovambattista¹. ¹Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET-CONICET-FCV-UNLP), LA Plata, Buenos Aires, Argentina.
 analiaarizmendi.mv@gmail.com

La secuenciación de nueva generación (NGS) es una herramienta eficaz para analizar filiación, detectar condiciones genéticas y estudiar caracteres cualitativos. El *targeted*-NGS tiene como objetivo lograr el “enriquecimiento dirigido” a las regiones del genoma de interés (reduce cobertura y aumenta profundidad), y reducir costos en comparación con la secuenciación del genoma completo (WGS). El propósito del trabajo fue evaluar esta tecnología como una alternativa a WGS. A partir de 95 muestras caninas (76 doberman y 19 caniches toy), generamos información genotípica de 387 marcadores utilizando la versión beta del kit AgriSeqTargeted GBS (Thermo Fisher, EE.UU.). Se calculó el poder de exclusión de 228 SNPs de parentesco con el software Cervus 3.0. El análisis de paternidad de los animales con pedigrí demostró una asignación correcta del 91% ($LOD < 4,26E+14$) y 100% ($LOD < 2,87E+15$) de las comparaciones de pares y tríos, respectivamente. Al considerar falsos padres se asignaron erróneamente solo el 1,7% de los pares. Se detectaron 3 marcadores polimórficos de enfermedad (degeneración progresiva de conos y bastones, enfermedad de von Willebrand tipo 1 y una mutación en *PDK4* asociada con cardiomiopatía dilatada) ya reportados en estas razas, las que fueron validados por pirosecuenciación con una concordancia de entre 94 y 100%. Los 12 marcadores de caracteres cualitativos polimórficos correspondientes a genes de color y tipo de pelaje, se compararon con los fenotipos. El uso de *Targeted*-NGS es una muy buena alternativa para la evaluación genética masiva de poblaciones animales.

ÓPTIMAS CONDICIONES PARA EL ANÁLISIS CARIOLÓGICO DE LA RAZA CRIOLLA DE CABALLO (*Equus ferus caballus*)

Estevez, D.Y.¹, E. Steinberg², E. Genero³, M.J. Bressa⁴:¹Grupo de Citogenética de Insectos FCEN, UBA, IIPPAS, FCA, UNLZ. ²Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE) EGE, FCEN, UBA, IEGEBA-CONICET, CABA, Argentina. ³IIPPAS, FCA, UNLZ, Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina. ⁴Grupo de Citogenética de Insectos, EGE-FCEN-UBA, IEGEBA-CONICET, CABA, Argentina.
daniela.y.estevez@gmail.com

Los estudios citogenéticos realizados en el género *Equus* permiten identificar mutaciones cromosómicas que pueden causar anomalías congénitas, pérdida embrionaria e infertilidad. Se realizaron 11 ensayos de cultivo con el fin de determinar los requerimientos y las condiciones óptimas del cultivo de linfocitos de sangre periférica para la obtención de metafases adecuadas para el análisis cariológico. Se evaluaron dos temperaturas de incubación (37,5 °C/38 °C), la suplementación del medio de cultivo RPMI 1640 (suero fetal bovino/plasma autólogo) y los tiempos y temperatura en solución hipotónica (KCl 56%; 30'/40' a 38 °C, 30'/40' a 37,5 °C). Se tomaron muestras de sangre con jeringas descartables heparinizadas de un ejemplar macho de caballo Criollo (*E. ferus caballus*; Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina). El número cromosómico somático es $2n=64$, XY. Del análisis comparativo de cada una de las variables, los índices mitóticos (IM) obtenidos fueron significativamente mayores a 38 °C y con plasma autólogo (IM=2,75% vs. IM=1,62%). No se evidenciaron diferencias en la calidad de las preparaciones cromosómicas con respecto a los tiempos y temperatura en solución hipotónica. Todas estas variables inciden en el crecimiento y proliferación de cultivo de linfocitos y, por ende, en la obtención de metafases para el análisis cariológico. El establecimiento de las condiciones óptimas del cultivo de linfocitos es un primer paso esencial para las investigaciones sobre la etiología de las anomalías cromosómicas en células somáticas de ejemplares de la raza Criolla.