

WHAT DO NEOTROPICAL PRIMATES TELL US UNDER THE LOOK OF CYTOGENETICS?



¿QUÉ NOS DICEN LOS PRIMATES NEOTROPICALES BAJO LA MIRADA DE LA CITOGÉNÉTICA?

Steinberg E.R.¹, Bressa M.J.², Mudry M.D.¹

ABSTRACT

Cytogenetics studies in Neotropical Primates (Primates: Platyrrhini) have shown that these mammals comprise a heterogeneous group at the chromosomal level. The remarkable variety of karyotypes described provides significant evidence on the possible role of chromosomal rearrangements in their evolution. In the Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), the line of research on the evolutionary divergence process in Platyrrhini considering different aspects of the organization of the genome has been established and developed uninterruptedly for more than 30 years. Among the advances made in recent years is the quantification of the genome size in six species of caí monkeys (*Cebus* sp.) and two species of howler monkeys (*Alouatta* sp.) and the description of the composition of base pairs in the constitutive heterochromatin regions in the genera *Cebus* and *Ateles*. The first descriptions were made of the karyotype and meiotic behavior in early prophase I of two species of howler monkeys, *Alouatta caraya* and *A. guariba clamitans*. In this last species, the first pentavalent-type sexual system $X_1X_2X_3Y_1Y_2$ was identified in a primate species. The organization of euchromatin was characterized in terms of the content and distribution of AT and GC nucleotide bases in three species of howlers and in two species of caí monkeys. These, among other investigations, allowed contributing in an original way to the knowledge about speciation at different levels, as well as about the architecture and dynamics of the genome of these primates.

Key words: Neotropical Primates, cytogenetics and taxonomy, chromosome evolution, sex chromosomes.

RESUMEN


Los estudios de citogenética en Primates Neotropicales (Primates: Platyrrhini) han demostrado que estos mamíferos comprenden un grupo heterogéneo a nivel cromosómico. La notable variedad de cariotipos descritos provee evidencia significativa sobre el posible papel de los reordenamientos cromosómicos en su evolución. En el Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), la línea de investigación sobre el proceso de divergencia evolutiva en Platyrrhini considerando distintos aspectos de la organización del genoma se ha establecido y desarrollado de manera ininterrumpida desde hace más de 30 años. Entre los avances realizados en los últimos años se encuentra la cuantificación del tamaño del genoma en seis especies de monos caí (*Cebus* sp.) y dos especies de monos aulladores (*Alouatta* sp.) y la descripción de la composición de pares de bases en las regiones de heterocromatina constitutiva en los géneros *Cebus* y *Ateles*. Se concretaron las primeras descripciones del cariotipo y comportamiento meiótico en profase I temprana de dos especies de monos aulladores, *Alouatta caraya* y *A. guariba clamitans*. En esta última especie se identificó el primer sistema sexual de tipo pentavalente $X_1X_2X_3Y_1Y_2$ en una especie de primate. Se caracterizó la organización de la eucromatina en términos del contenido y distribución de bases nucleotídicas AT y GC en tres especies de aulladores y en dos especies de monos caí. Estas investigaciones, entre otras, permitieron contribuir de forma original al conocimiento sobre la especiación en distintos niveles, así como sobre la arquitectura y dinámica del genoma de estos primates.

Palabras clave: Primates Neotropicales, citogenética y taxonomía, evolución cromosómica, cromosomas sexuales.

¹ Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA), Departamento de Ecología, Genética y Evolución (DEGE), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN), Universidad de Buenos Aires (UBA), CONICET, Ciudad Universitaria, Intendente Güiraldes 2160, 1428EGA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina.

² Grupo de Citogenética de Insectos, Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA), Departamento de Ecología, Genética y Evolución (DEGE), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN), Universidad de Buenos Aires (UBA), CONICET, Ciudad Universitaria, Intendente Güiraldes 2160, 1428EGA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina.

Corresponding author:
Dra. Eliana Ruth Steinberg
steinberg@ege.fcen.uba.ar

 ORCID 0000-0001-9848-8638

Cite this article as:

Steinberg E.R., Bressa M.J., Mudry M.D. 2022. WHAT DO NEOTROPICAL PRIMATES TELL US UNDER THE LOOK OF CYTOGENETICS?. Journal of Basic and Applied Genetics XXXIII (1): 97-105.

Received: 01/24/2022

Revised version received: 03/08/2022

Accepted: 03/15/2022

General Editor: Elsa Camadro

DOI: 10.35407/bag.2022.33.01.09

ISSN online version: 1852-6233

Available online at
www.sag.org.ar/jbag

Teniendo en consideración las distintas revisiones taxonómicas podemos hoy decir que los primates comprenden dos grandes grupos: Strepsirrhini y Haplorrhini. Los Haplorrhini reúnen a los Primates del Viejo Mundo (Catarrhini) y a los del Nuevo Mundo (Platyrrhini o Ceboidea) (Rowe y Myers, 2017). Múltiples son las fuentes de conocimiento para abordar la caracterización de un grupo de mamíferos tan amplio y complejo. En particular, en lo que a caracterización genética se refiere, durante los últimos 20 años diversos autores han “diseccionado” el genoma de los Platyrrhini a través de enfoques metodológicos diversos y, a la vez, con niveles de análisis diferentes y complementarios. Los estudios de citogenética en Platyrrhini han demostrado, en las últimas décadas, que estos mamíferos comprenden un grupo heterogéneo a nivel cromosómico (Stanyon *et al.*, 2008, 2012; de Oliveira *et al.*, 2012). La especiación en este grupo pareciera haberse desarrollado bajo muy diversos procesos que involucraron reordenamientos cromosómicos estructurales, mayoritariamente fusiones, fisiones, inversiones y translocaciones, variaciones importantes en las regiones heterocromáticas y la llamativa presencia de sistemas sexuales múltiples (Seuáñez *et al.*, 1986, 2005; Armada *et al.*, 1987; Matayoshi *et al.*, 1987; Ponsá *et al.*, 1995; Mudry *et al.*, 2001; Steinberg *et al.*, 2008; de Oliveira *et al.*, 2012). La notable variedad de cariotipos descritos provee evidencia significativa sobre el posible papel de los reordenamientos cromosómicos en los cambios evolutivos experimentados por los primates hasta llegar a las formas actuales.

En el Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), la línea de investigación sobre el proceso de divergencia evolutiva de especies de Platyrrhini, considerando distintos aspectos de la organización del genoma, se ha establecido y desarrollado de manera ininterrumpida desde hace más de 30 años. Los estudios en primates se desarrollaron dentro de un marco teórico taxonómico-evolutivo, aplicando metodologías de análisis clásicas de la citogenética, que aportaron al esclarecimiento de la compleja sistemática de los primates de distribución marginal sur con representantes de dos familias de Ceboidea: Atelidae (*Alouatta* y *Ateles*) y Cebidae (*Cebus*, *Saimiri* y *Aotus*). Para concretar los estudios genético-evolutivos se relacionaron los datos de variabilidad genética con características geográficas regionales, disponibilidad y uso de recursos, demografía, estudios parasitológicos de tipo relación parásito-hospedador y particularidades sociales y comportamentales, entre otros aspectos de las especies referidas procedentes principalmente de las provincias argentinas de Corrientes, Chaco y Misiones (Giudice, 1997; Ascunce, 2002; Martínez *et al.*, 2002; Bruno *et al.*, 2005; Ascunce *et al.*, 2007; Arístide *et al.*, 2013; Nieves *et al.*, 2021). La citogenética clásica tomó valor diagnóstico y por ello se determinó el cariotipo

que permitió identificar cromosomas marcadores en distintas especies, así como también diferentes reordenamientos involucrados en el proceso evolutivo en diversos géneros (Mudry, 1982, 1990; Mudry de Pargament *et al.*, 1984, 1985; Mudry *et al.*, 1990, 1992, 2001, 2007, 2015; Nieves y Mudry, 2016). Asimismo, se avanzó en el conocimiento de los reordenamientos cromosómicos de valor evolutivo mediante la aplicación de la hibridación *in situ* fluorescente o FISH (por su sigla en inglés *Fluorescence in situ Hybridization*) y sus variantes con el fin de identificar con mayor precisión las homeologías interespecíficas, investigar la relación entre las proporciones de eucromatina y heterocromatina y las diferencias cariotípicas intraespecíficas, y analizar el grado de diferenciación molecular, en especial a nivel de los cromosomas sexuales (Mudry y Nieves, 2010; Steinberg *et al.*, 2014a; Nieves *et al.*, 2018).

Así desde el GIBE podemos considerar que se contribuyó de forma original al conocimiento sobre la especiación en distintos niveles, arquitectura y dinámica del genoma, y en diferentes modelos biológicos, con especial énfasis en aquellos procesos ocurridos en el linaje de los primates. A continuación, se describirán los hallazgos más relevantes de los últimos 12 años de investigación ininterrumpida desde la última revisión de nuestros aportes publicada en esta misma revista (Mudry y Nieves, 2010), siempre dentro del marco de “Evidencia Total” (Kluge, 1989), i.e. analizando la mayor cantidad de tipos de evidencia posible para lograr importantes avances en el conocimiento y aportar contribuciones novedosas a la sistemática de una especie y/o género.

¿CON QUÉ CONTRIBUIMOS AL MÁS AMPLIO CONOCIMIENTO DE LA HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA?

Un componente que aporta variabilidad a los genomas es la heterocromatina constitutiva, dependiendo su biología tanto de las secuencias de ADN repetitivas que la caracterizan como de las proteínas que se unen específicamente a ella. La mayoría de estas regiones contienen una alta densidad de secuencias de ADN satélite y elementos transponibles, que se encuentra sólo en niveles bajos o no se encuentra en absoluto en la eucromatina (Trojer y Reinberg, 2007; Sumner, 2008). En la heterocromatina constitutiva, dentro del genoma de una especie o dentro de un mismo cromosoma, puede haber diferentes tipos de ADN. Además, la longitud puede variar desde 2 pares de bases (pb) hasta unidades repetitivas de cientos y miles de pb. Asimismo, puede variar entre distintas especies, entre los cromosomas de una misma especie y entre distintas regiones de un mismo cromosoma (Sumner, 2008).

Por ello, la caracterización de la heterocromatina

constitutiva en función del contenido, localización, distribución y composición de secuencias de bases específicas es un aspecto que contribuye a la caracterización del cariotipo de cada especie. Si bien sus características estructurales y funcionales no se conocen profundamente, se ha visto que su presencia afecta la replicación del ADN y modula la estructura cromosómica, la expresión génica, la recombinación, la sinapsis y la segregación de los cromosomas, así como la organización y evolución del genoma. A su vez, se ha postulado que las diferencias en el contenido y la distribución de la heterocromatina entre especies relacionadas estarían involucradas en la evolución cariotípica y la diferenciación genética (Redi *et al.*, 2001; Grewal y Jia, 2007; Hughes y Hawley, 2009).

El estudio de la distribución y composición de la heterocromatina constitutiva en nuestro equipo de trabajo se remonta a la década de 1980 cuando empezamos a trabajar en citogenética clásica de primates (Mudry, 1982; Mudry de Pargament *et al.*, 1985; Mudry de Pargament y Labal de Vinuesa, 1988). Distintas experiencias con otros grupos biológicos ampliaron el espectro de nuestros intereses en la comprensión de la heterocromatina constitutiva como moduladora del genoma (Mudry, 1990; Ponsà *et al.*, 1995; García *et al.*, 1995; Nieves *et al.*, 2005; Garcia-Cruz *et al.*, 2009, 2011). La aplicación de diversas metodologías de tinción cromosómica diferencial puso en evidencia muy tempranamente las diferentes topologías, polimorfismos y variantes que se podían encontrar tanto en invertebrados como en vertebrados y, en particular, en el cariotipo de los primates. Con el advenimiento y el avance de la citogenética molecular se obtuvieron sondas específicas de heterocromatina de *Cebus* que permitieron analizar las homeologías interespecíficas, comparando con el ser humano y con distintas especies de primates; dado que no se observó la hibridación de esta sonda de heterocromatina en ninguna otra especie de primates, se demostró que la composición de la heterocromatina constitutiva de *Cebus* es específica de este género (Nieves *et al.*, 2011).

Considerando la diversidad cariológica referida anteriormente, cabía esperar cierta diversidad en otras variables nucleares asociadas, entre las cuales elegimos estudiar el tamaño del genoma. Desde que Thomas (1971) formuló la paradoja del valor C (tamaño vs. complejidad del genoma), se han realizado numerosos estudios sobre el tamaño del genoma de los vertebrados y su correlato con determinados parámetros fenotípicos. El contenido de ADN nuclear es una constante específica de especie considerada un parámetro citológico en el análisis e interpretación de los procesos evolutivos (Cavalier-Smith, 1982; Pellicciari *et al.*, 1982; Redi *et al.*, 2005). Como variable cuantitativa, el tamaño del genoma muestra un amplio rango de variabilidad entre los diferentes grupos de organismos vivos, si bien no se

distribuye aleatoriamente dentro ni entre los grupos. A pesar de que los genomas de los Platyrrhini muestran una gran diversidad cariotípica, numérica, estructural y/o heterocromática, la variación del contenido de ADN entre las especies es menor que la observada en otros vertebrados. Sin embargo, al mismo tiempo se ha sugerido que la especiación en Platyrrhini habría ocurrido acompañada de alteraciones o cambios cuantitativos en el genoma (Pellicciari *et al.*, 1982; Ronchetti *et al.*, 1993; Morand y Ricklefs, 2005; Redi *et al.*, 2005). Asimismo, en primates se ha descrito una correlación positiva entre el contenido de ADN nuclear y la presencia de secuencias repetidas evidenciadas como heterocromatina constitutiva. Dentro de los primates, en Platyrrhini en particular, se ha observado la mayor proporción de heterocromatina constitutiva de localización extracentromérica. Entre los platirrininos existen géneros, como por ejemplo *Cebus* (= *Sapajus*), en los que se observa un alto contenido de secuencias altamente repetidas en el genoma, característica distintiva que nos llevó a plantear la existencia de variabilidad en su tamaño genómico asociado a esta particularidad (Nieves y Mudry, 2016; Nieves *et al.*, 2018). El género *Alouatta*, por el contrario, muestra la menor proporción de secuencias mediana y altamente repetidas a nivel extracentromérico, detectable por bandas C, descrita hasta hoy en Platyrrhini (Mudry *et al.* 1984, 1990, 1992, 2015). En este contexto, podría proponerse que los cambios en tamaño del genoma estarían relacionados no sólo con modificaciones en distintas regiones de la cromatina sino también con la posible interacción entre ellas. Ante esta premisa se cuantificó el tamaño del genoma en las especies de monos capuchinos *Cebus olivaceus*, *C. albifrons*, *C. cay*, *C. nigrinus*, *C. xanthosternus* y *C. libidinosus*, y de monos aulladores *Alouatta caraya* y *A. guariba clamitans*. Cabe destacar que estos estudios nos permitieron describir por primera vez el tamaño del genoma de las especies de ambos géneros que habitan en la Argentina, *C. cay*, *C. nigrinus*, *A. caraya* y *A. guariba clamitans* (Fantini, 2015). La variabilidad en el tamaño del genoma no fue estadísticamente significativa entre las especies de *Cebus* analizadas, si bien fue factible dar fundamento a la hipótesis de su posible relación con la proporción de heterocromatina constitutiva detectada por distintas metodologías citogenéticas. Asimismo, nos permitió afirmar que en las especies de *Alouatta* los cariotipos presentan una muy baja proporción de heterocromatina constitutiva extracentromérica y similar en todas ellas, contrario a lo que ocurre en *Cebus*. En los monos aulladores analizados no se observó una relación entre las diferencias de tamaño del genoma y la proporción de heterocromatina constitutiva.

Para identificar y determinar la localización cromosómica de las posibles diferencias en el tamaño del genoma en especies de *Cebus*, se consideró que las diferencias cuantitativas interespecíficas se deberían

a la distribución y posición extracentromérica del ADN satélite. Con este marco teórico se realizó la comparación de tres especies de *Cebus* elegidas específicamente por ser una de ellas, *C. olivaceus*, la de mayor tamaño de genoma y mayor proporción de heterocromatina constitutiva y las otras dos, *C. nigrinus* y *C. xanthosternos*, las de menor tamaño de genoma y menor proporción de heterocromatina. Del análisis comparativo entre *C. nigrinus* y *C. olivaceus* se hallaron diferencias cuantitativas en el tamaño del genoma sólo atribuibles al cromosoma sexual Y, dado que *C. nigrinus* mostró regiones de ganancia relativa de ADN que no se evidenciaron en el cromosoma Y de *C. olivaceus*. Del análisis comparativo entre *C. nigrinus* y *C. xanthosternos*, no se observaron estas diferencias cuantitativas en el cromosoma Y de *C. nigrinus*, posiblemente debido a la mayor cercanía filogenética entre estas dos especies que entre *C. nigrinus* y *C. olivaceus* (Nieves *et al.*, 2018). Estos hallazgos juntamente con los antecedentes disponibles en la literatura permitieron proponer como hipótesis que las secuencias repetidas modularían el genoma en estos mamíferos, constituyendo un campo de la investigación genética que aún presenta mucho por delante para seguir trabajando.

En los últimos años, profundizamos el estudio de la heterocromatina constitutiva en función de los patrones de distribución y composición de secuencias de bases específicas, siempre tomando especies de monos neotropicales como material del análisis citogenético. Estas investigaciones abarcaron el análisis del contenido y composición nucleotídica mediante patrones de tinción secuencial con los fluorocromos DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) para detectar zonas ricas en pares de bases A-T, y CMA₃ (cromomicina A₃) para zonas ricas en pares de bases G-C. Se observaron diferencias entre los géneros *Cebus* y *Ateles* respecto de la composición de pares de bases en las regiones de heterocromatina constitutiva, evidenciadas por bandas C. En las especies *C. cay*, *C. nigrinus*, *C. xanthosternos*, *C. apella*, *C. olivaceus*, *C. libidinosus* y *C. albifrons*, los bloques de heterocromatina C-positiva resultaron ser CMA₃-positivos, demostrando que en el género *Cebus* la heterocromatina constitutiva está enriquecida en pares de bases G-C. Sin embargo, en *Ateles* las regiones de heterocromatina constitutiva resultaron ser DAPI-positivas, presentando entonces una composición nucleotídica rica en pares de bases A-T (Nieves *et al.*, 2018).

Por otro lado, se llevó a cabo un intenso trabajo analizando el material cariológico disponible en el GIBE para la caracterización cuantitativa de la distribución de heterocromatina en dos especies de *Cebus* cuya distribución geográfica llega al extremo norte de nuestro país, *C. cay* y *C. nigrinus*. A su vez se realizó un análisis comparativo cariológico con material de archivo procedente de distintos centros y museos gracias a diferentes intercambios de pasantías de investigadores

y convenios. Para ello, en el marco del Proyecto Primates, el material biológico (cultivos en monocapa de distintas líneas celulares establecidas tales como Gep2 y CHO, linfocitos de sangre periférica y extensiones de células espermatogénicas, entre otras) de ejemplares de Ceboidea de diferentes Zoológicos y Centros de Cría de la Argentina, fueron procesados con distintos abordajes citogenéticos, citogenético-moleculares y moleculares propiamente dichos (Steinberg *et al.*, 2014b; Nieves y Mudry, 2016). En distintos materiales se evaluó la variabilidad en los patrones de bandas C y la frecuencia de sus polimorfismos (Nieves y Mudry, 2016). A partir de este estudio se observó un patrón de bandas C especie-específico y se identificaron tres morfotipos en los patrones de distribución de la heterocromatina constitutiva, dos correspondientes a *C. cay* y uno a *C. nigrinus*. En *C. cay* los morfotipos estaban relacionados con el origen geográfico de los ejemplares, uno presente en los ejemplares de Paraguay y el otro en los ejemplares de la provincia de Salta (Argentina), Bolivia y Perú. A su vez, se observó una variabilidad significativa en el tamaño del genoma en los ejemplares de *C. cay*, en concordancia con los análisis genético-moleculares y morfométricos realizados en forma paralela (Aristide *et al.*, 2013). Un estudio posterior, incorporando datos moleculares de la región control del ADN mitocondrial de estas especies, mostró tres morfotipos para *C. cay*, identificando dos grupos genéticamente divergentes en esta especie y distinguiendo los linajes correspondientes al noroeste y al noreste de la Argentina (Nieves *et al.*, 2021). Todas estas evidencias apoyan el marco teórico en el que nos propusimos trabajar que es el de “Evidencia Total” que implica la aplicación de un enfoque holístico, incorporando distintas fuentes de evidencias, para tratar de esclarecer cómo se mantiene la diversidad y la variabilidad en estas especies de primates.

¿QUÉ NOS ENSEÑÓ HASTA HOY EL ESTUDIO DE LA MEIOSIS MASCULINA?

Durante los últimos 20 años debemos reconocer una etapa en la que se realizó un intensivo estudio citogenético y citogenético-molecular en especies de monos aulladores del género *Alouatta*. En esa etapa se contó con las colaboraciones de grupos de investigación internacionales que permitieron avanzar en las caracterizaciones cariotípicas de especies poco estudiadas de este género. La colaboración de la Dra. Liliana Cortés-Ortiz (Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA) y el Dr. Domingo Canales Espinosa (Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, México) ilustran más adelante estos destacados avances. En *Alouatta* se había descrito la presencia

de sistemas cromosómicos de determinación sexual múltiple, mediante estudios meióticos, originados por translocaciones Y-autosomas: de tipo trivalente X_1X_2Y en machos de *A. belzebul* (Armada *et al.*, 1987) y *A. palliata* (Solari y Rahn, 2005), de tipo cuadrivalente $X_1X_2Y_1Y_2$ en *A. seniculus stramineus* (Lima y Seuánez, 1991), *A. caraya* (Rahn *et al.*, 1996; Mudry *et al.*, 1998) y *A. pigra* (Steinberg *et al.*, 2008), y de tipo pentavalente $X_1X_2X_3Y_1Y_2$ en *A. guariba clamitans* (Steinberg *et al.*, 2017). Del trabajo conjunto con el equipo mexicano se logró la primera descripción del cariotipo del mono aullador negro *A. pigra*, caracterizando un número diploide $2n=58$, con un sistema sexual en machos $X_1X_2Y_1Y_2$ (Steinberg *et al.*, 2008). Posteriormente, gracias a una colaboración con la Dra. Vanessa Fortes (Laboratorio de Primatología de la Universidad Federal de Santa María, RS, Brasil), se concretó la caracterización genética del mono aullador marrón *A. guariba clamitans*, que llega en su distribución a la Argentina. El muestreo de esta especie se efectuó en Brasil dado que las poblaciones en Argentina fueron diezgadas por la epidemia de Fiebre Amarilla de 2008, dificultando o incluso impidiendo el acceso a ejemplares en este país. Como resultado de este trabajo colaborativo se logró la primera caracterización mitótica y meiótica de un sistema de determinación sexual masculino de tipo pentavalente $X_1X_2X_3Y_1Y_2$ en una especie de primate (Steinberg *et al.*, 2017).

La realización de estudios comparativos analizando los cariotipos de las especies de aulladores nos permitió proponer hipótesis sobre el posible origen de los sistemas sexuales múltiples en las especies sudamericanas (*A. caraya*, *A. guariba*, *A. sara*, *A. belzebul*, *A. macconelli*, *A. seniculus*, *A. arctoidea*) y mesoamericanas (*A. pigra* y *A. palliata*), así como determinar los autosomas involucrados en los reordenamientos que habrían dado origen a los multivalentes sexuales en los aulladores de ambos orígenes americanos (Steinberg *et al.*, 2014a). En las especies sudamericanas, el autosoma involucrado en los sistemas sexuales múltiples posee homeología con los cromosomas humanos 3 y 15, por lo que esta sintenia 3/15 está asociada a los sistemas sexuales en estas especies. El estudio de conservación genómica mediante FISH evidenció que la sintenia 3/15 no estaría conservada en las especies mesoamericanas *A. pigra* y *A. palliata*, sino que el par autosómico que dio origen a los sistemas sexuales en estas dos especies posee homeología con el cromosoma humano 7. Este trabajo, junto a un estudio más exhaustivo de las homeologías cromosómicas interespecíficas, nos permitió proponer que los autosomas involucrados en las translocaciones que darían origen a los multivalentes sexuales en las especies sudamericanas y mesoamericanas serían distintos. Del análisis de los datos obtenidos, se postuló un origen independiente para los sistemas sexuales múltiples de estos dos grupos que involucraría dos translocaciones Y-autosoma diferentes. Estos hallazgos brindaron

información original sobre la cariología de Ceboidea. En el marco conceptual de “Evidencia Total”, el análisis combinado de variables moleculares y cromosómicas resolvió las relaciones de parentesco entre las especies de aulladores de ambos orígenes americanos, demostrando su utilidad en el esclarecimiento de controversias que relacionan la taxonomía y la evolución de los primates ceboideos (Steinberg *et al.*, 2014a).

Otro aporte original al conocimiento resultante de estos estudios comparativos se refiere al estudio meiótico del comportamiento y la dinámica cromosómica en profase I temprana de los sistemas sexuales múltiples en dos especies de monos aulladores, *A. caraya* ($2n=52$, $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$, hembra/macho) y *A. guariba clamitans* ($2n=46$, $X_1X_1X_2X_2X_3X_3$, hembra/ $2n=45$, $X_1X_2X_3Y_1Y_2$, macho). Del análisis de espermatocitos en los monos aulladores, se observó que los multivalentes sexuales están completamente sinapsados en la profase meiótica I, incluso antes de que los bivalentes autosómicos lo estén; por ello, los cromosomas sexuales muestran un comportamiento meiótico diferencial. En *A. guariba clamitans* se observó al pentavalente sexual totalmente extendido en 70% de los espermatocitos en paquitene temprana, mientras que en *A. caraya* se observó al cuadrivalente sexual extendido en sólo 20% de los espermatocitos (Steinberg *et al.*, 2018a). El cuadrivalente sexual de *A. caraya* muestra un plegamiento sobre sí mismo mucho mayor que el pentavalente de *A. guariba clamitans* (Figura 1A, B). Este patrón estructural podría estar relacionado con el número y localización de los quiasmas, o el número de cromosomas involucrados en el multivalente. En *Cebus cay* ($2n=54$, XY, macho) se observó una sinapsis incompleta del bivalente correspondiente al par autosómico 11 (que posee una banda de heterocromatina extracentromérica que ocupa 70% de la longitud del brazo q) aún después de la sinapsis total del par sexual XY; este par autosómico resultó ser el último del complemento cromosómico en sinapsar. Estas diferencias entre las dos especies de monos aulladores y el mono caí *C. cay* podrían explicarse por la escasa heterocromatina constitutiva que posee el cariotipo de los aulladores en comparación con la del mono caí. Considerando que se ha propuesto que la heterocromatina constitutiva tiene un papel importante en el emparejamiento de cromosomas homólogos en la meiosis y algunos efectos negativos en el emparejamiento meiótico y entrecruzamiento (Sumner, 2008), la heterocromatina podría retrasar la sinapsis en *C. cay* (García-Cruz *et al.*, 2009, 2011). El estudio del comportamiento meiótico en primates no humanos resulta muy valioso para el avance del conocimiento acerca de las características conservadas a nivel evolutivo interespecífico en primates en general, así como para todo lo referente al manejo y mantenimiento de la biodiversidad en los ambientes que son propios de su distribución geográfica natural. Otro aspecto que

no se puede evitar comentar como faceta de aplicación futura es que, dada la íntima relación evolutiva existente, los conocimientos obtenidos con el desarrollo de trabajos en estos primates tendrán un impacto sobre el conocimiento científico actual y contribuirán a una mejor comprensión del proceso meiótico en humanos. Los resultados obtenidos de las actividades de investigación, junto con los estudios de dinámica meiótica, contribuyen a una mejor comprensión de la compleja evolución de los cromosomas sexuales. La integración de estos conocimientos junto a los logros producto de la aplicación de nuevos abordajes experimentales permite expandir el campo de investigación poco explorado en nuestro país, así como ampliar el conocimiento del proceso meiótico en células eucariontes y aportar información para caracterizar una parte de la variabilidad generada por este proceso de división de las células germinales en mamíferos.

¿QUÉ NUEVOS HALLAZGOS OBTUVIMOS ACERCA DE LA COMPOSICIÓN NUCLEOTÍDICA?

El estudio de la dinámica del genoma, principalmente en especies de los géneros *Alouatta* y *Cebus*, ha permitido avanzar notablemente en los últimos años sobre el conocimiento de la estructura básica del genoma de estos platirinos, tanto a nivel mitótico como meiótico. Los estudios de composición nucleotídica como aporte de genética citomolecular al más amplio conocimiento de los primates americanos recurren a la aplicación de fluorocromos para analizar contenido, tipificación y distribución de secuencias de pares de bases. De esta manera, el estudio integrando la citogenética clásica y la citogenética molecular brinda nueva información sobre la reorganización de la arquitectura cromosómica y la restructuración cariotípica en las especies de *Cebus* y *Alouatta*, y el papel potencial que podría jugar en la dinámica de los genomas. De la caracterización detallada de la organización de los cromosomas en términos del contenido, distribución y localización de bases nucleotídicas específicas mediante bandas secuenciales fluorescentes (DAPI-CMA₃) en tres especies de aulladores (*Alouatta caraya*, *A. guariba clamitans* y *A. pigra*) y en dos especies de monos caí (*Cebus cay* y *C. nigritus*, Figura 1C, D, E) se observó la presencia de bandas cromosómicas ricas en pares de bases G-C y A-T, de diversa localización, telomérica, pericentromérica e intersticial, en cada una de estas especies. Además, se demostró la colocalización de estas bandas fluorescentes con regiones heterocromáticas y regiones organizadoras nucleolares. Estos hallazgos fueron recientemente difundidos en distintos eventos científicos nacionales e internacionales (Steinberg *et al.*, 2018b, 2019, 2020a, 2020b; Nieves *et al.*, 2019). Para los

monos caí se propuso la existencia de un patrón general específico para el género con respecto al contenido, distribución y localización de las bases nucleotídicas en los cariotipos de estas especies, mostrando un alto grado de conservación genómica. En los monos aulladores se observó una distribución diferencial de secuencias enriquecidas en G-C (DAPI-negativas/CMA₃-positivas) y en A-T (DAPI-positivas/CMA₃-negativas). El cariotipo del mono aullador negro, *A. pigra*, presentó un mayor número de bandas teloméricas enriquecidas en G-C, mientras que el cariotipo del mono aullador marrón, *A. guariba clamitans*, presentó una proporción mayor de estas bandas en posición pericentromérica. En tanto el cariotipo del mono aullador negro y dorado, *A. caraya*, presentó la mayor proporción de bandas enriquecidas en A-T en posición intersticial. Todos estos resultados nos permiten inferir la posible existencia de patrones de bandas cromosómicas específicos de cada especie. Las diferencias observadas en los patrones de bandas fluorescentes podrían deberse a los reordenamientos cromosómicos ocurridos en los linajes de estas especies de aulladores y a una posterior diversificación en la composición nucleotídica.

Como hemos mencionado en este trabajo, en los últimos años se estudiaron especies de ceboideos en estado silvestre, en cautiverio y en semicautiverio, contrastando la hipótesis de evolución cromosómica como mecanismo explicativo más probable del proceso especiogénico de las formas actuales de Primates Neotropicales. En esta misma línea de pensamiento, en el GIBE se fueron implementando y aplicando nuevos abordajes metodológicos citogenético-moleculares (e.g., *FISH*) para confirmar el estatus de especie relacionando vida silvestre y cautiverio, junto a otros estudios cromosómicos (e.g., hibridación genómica comparativa (*HGC* o *CGH*, por sus siglas en inglés *Comparative Genomic Hybridization*) orientados a mejorar el conocimiento genético de cada especie caracterizando la plasticidad genómica. En los años más recientes, los trabajos de investigación se centraron en caracterizar la arquitectura genómica somática y de determinación sexual en Ceboidea, tomando la evolución cromosómica como potencial modelo de estudio a nivel de mecanismos involucrados en el proceso especiogénico. Las investigaciones aquí planteadas permitieron mejorar el conocimiento científico actual de la arquitectura cromosómica y la dinámica del genoma en Primates Neotropicales y dilucidar el papel putativo de los cambios cromosómicos (i.e. reordenamientos cromosómicos, diferencias en el número, localización y distribución de secuencias de ADN repetitivas) en el proceso de especiación de este grupo.

De este modo, los estudios citogenético-moleculares ampliaron el espectro de posibles aplicaciones destinadas a profundizar las ya conocidas caracterizaciones de citogenética clásica. (En el caso de los primates, donde

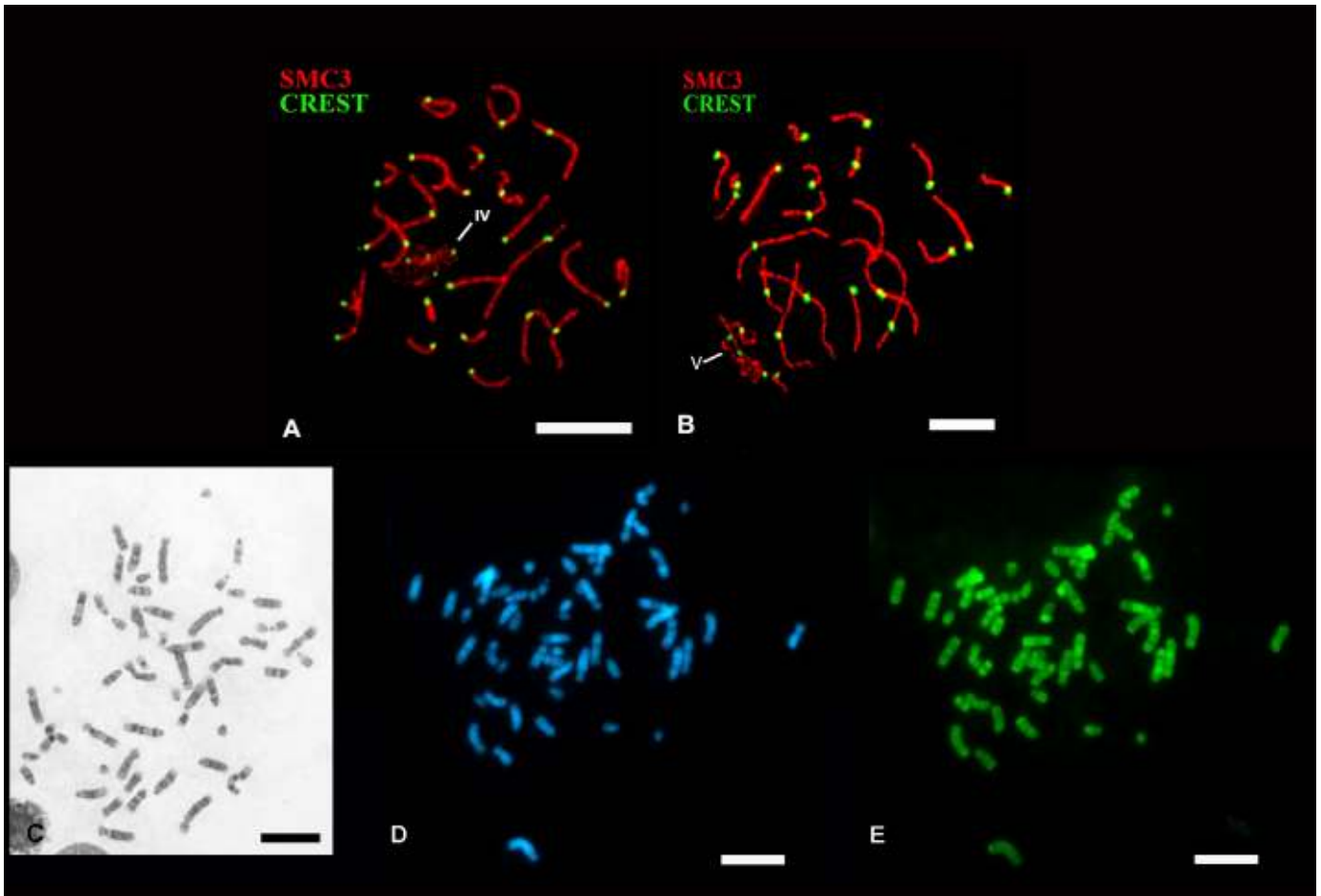


Figura 1. A, B: Inmunodetección en espermatocitos en paquitene tardío en *Alouatta caraya* (A) y *A. guariba clamitans* (B). Rojo: ejes del complejo sinaptonémico (SMC3). Verde: centrómeros (CREST). IV=cuadrivalente, V= pentavalente. Barra= 5 μ m. C, D, E: Patrones de bandas cromosómicas en preparaciones mitóticas de *Cebus nigritus*. C. Bandas G en blanco y negro. D. DAPI (4',6'-diamidino-2-fenilindole) en azul. E. CMA₃ (cromomicina A₃) en verde. Barra= 10 μ m.

aún queda mucho camino por recorrer, sigue siendo todo un desafío continuar con las investigaciones sobre el genoma y sus particularidades y con los estudios comparativos a nivel de ambos sexos y de su descendencia, accediendo día a día a nuevos ejemplares ya sea en sus lugares de origen como a ejemplares de exhibición.

AGRADECIMIENTOS

Todos estos hallazgos no hubieran sido posibles sin la colaboración desinteresada de los veterinarios de los distintos zoológicos, centros de exhibición o cría de primates, en el orden nacional e internacional, y el fundamental aporte de los colegas ecólogos que trabajaron en las distintas campañas de captura en estado silvestre, tanto en nuestras selvas como en las del extranjero. Para concretar estos hallazgos se dispuso de los subsidios otorgados por MDM/MJB-CONICET/UBACyT, MJB/ERS-CONICET y ERS-PICT, así como convenios de colaboración internacional.

BIBLIOGRAFÍA

- Aristide L., Soto I.M., Mudry M.D., Nieves, M. (2013) Intra and Interspecific Variation in Cranial Morphology on the Southernmost Distributed *Cebus* (Platyrrhini, Primates) Species. *J. Mamm. Evol.* 1-7.
- Armada J.L.A., Barroso C.M.L., Lima M.M.C., Muñiz J.A.P.C., Seuáñez H. (1987) Chromosome Studies in *Alouatta belzebul*. *Am. J. Primatol.* 13: 283-96.
- Ascunce M.S. (2002) Variabilidad nucleotípica en el ADN mitocondrial de *Alouatta caraya* del NE de Argentina. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Ascunce M.S., Hasson E., Mulligan C.J., Mudry M.D. (2007) Mitochondrial sequence diversity of the southernmost extant New World monkey, *Alouatta caraya*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 43 (1): 202-15.
- Bruno G., Giudice A.M., Nieves M., Mudry M.D. (2005) Rehabilitación y Reproducción de *Alouatta caraya* Fuera de su Área de Distribución Natural. *Neotrop. Primates* 13 (3): 21-22.
- Cavalier-Smith T. (1982) Skeletal DNA and the evolution of genome size. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 11: 273-302.
- de Oliveira E.H.C., Neusser M., Müller S. (2012) Chromosome Evolution in New World Monkeys (Platyrrhini). *Cytogenet. Genome Res.* 137 (2-4): 259-72.

- Fantini L. (2015) Evolución cromosómica y divergencia de especies en *Cebus* y *Ateles* (Primates: Platyrrhini) desde un enfoque citogenético molecular. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- García M., Borrell A., Mudry M.D., Egozcue J., Ponsa M. (1995) Prometaphase karyotype and restriction enzyme banding in squirrel monkeys, *Saimiri boliviensis boliviensis* (Primates: Platyrrhini). *J. Mammal.* 76 (2): 497-503.
- García-Cruz R., Robles P., Steinberg E.R., Camats N., Briño M.A., García-Caldés M., Mudry M.D. (2009) Pairing and recombination features during meiosis in *Cebus paraguayanus* (Primates: Platyrrhini). *BMC Genetics* 10: 25.
- García-Cruz R., Pacheco S., Briño M.A., Steinberg E.R., Mudry M.D., Ruiz-Herrera A., García-Caldés M. (2011) A Comparative Study of the Recombination Pattern in Three Species of Platyrrhini Monkeys (Primates). *Chromosoma* 120 (5): 521-30.
- Giudice A.M. (1997) Comportamiento Social en Aulladores: El caso de la Emigración de una hembra subadulta de *Alouatta caraya*. *Neotrop. Primates* 5 (2): 39-43.
- Grewal S.I.S., Jia S. (2007) Heterochromatin Revisited. *Nat. Rev. Genet.* 8 (1): 35-46.
- Hughes S.E., Hawley R.S. (2009) Heterochromatin: A Rapidly Evolving Species Barrier. *PLOS Biology* 7 (10): e1000233.
- Kluge A.G. (1989) A Concern for Evidence and a Phylogenetic Hypothesis of relationships Among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Syst. Zool.* 38: 7-25.
- Lima M.M.C., Seuánez H. (1991) Chromosome studies in the red Howler Monkey, *Alouatta seniculus stramineus* (Platyrrhini, Primates): description of an $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$ sex chromosome system and karyological comparisons with other subspecies. *Cytogenet. Cell Genet.* 57 (2-3): 151-56.
- Martínez R.A., Giudice A.M., Szapkievich V., Ascunce M.S., Nieves M., Zunino G.E., Mudry M.D. (2002) Parameters modeling speciation processes in *Cebus apella* (Primates: Platyrrhini) from Argentina. *Mastozool. Neotrop.* 9 (2): 171-86.
- Matayoshi T., Seuánez H.N., Nasazzi N. (1987) Heterochromatic variation in *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini) of different geographic regions. *Cytogenet. Cell Genet.* 44: 158-62.
- Morand S., Ricklefs R.E. (2005) Genome size is not related to life-history traits in primates. *Genome* 48 (2): 273-78.
- Mudry de Pargament M.D., Colillas O.J., Brioux de Salum S. (1984) The *Aotus* from Northern Argentina. *Primates* 25 (4): 530-37.
- Mudry de Pargament M.D., Labal de Vinuesa M.L., Brioux de Salum S. (1985) Quantitative estimation of heteromorphism in C-bands of *Cebus apella*. *J. Hum. Evol.* 14 (8): 693-98.
- Mudry de Pargament M.D., Labal de Vinuesa M.L. (1988) Variabilidad en bandas C de dos poblaciones de *Cebus apella*. *Mendeliana* 8 (2): 79-86.
- Mudry M.D. (1982) Estudio citogenético en Cebidos Argentinos, su proyección en Taxonomía y Evolución. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Mudry M.D. (1990) Cytogenetic variability within and across populations of *Cebus apella* in Argentina. *Folia Primatol.* 54 (3-4): 206-16.
- Mudry M.D., Labal de Vinuesa M.L., Colillas O.J., Brioux de Salum S. (1984) Banding patterns of *Alouatta caraya*. *Rev. Bras. Genet.* 7 (2): 373-79.
- Mudry M.D., Slavutsky I., Labal de Vinuesa M. (1990) Chromosome comparison among five species of platyrrhini (*Alouatta caraya*, *Aotus azarae*, *Callithrix jacchus*, *Cebus apella*, and *Saimiri sciureus*). *Primates* 31 (3): 415-20.
- Mudry M.D., Zunino G.E., Slavutsky I., Delprat A. (1992) Cariotipo, Fenotipo y características poblacionales del mono aullador negro (*Alouatta caraya*) de la Argentina. *Bol. Primatol. Lat.* 3 (1): 1-10.
- Mudry M.D., Rahn M.I., Gorostiaga M., Hick A., Merani M.S., Solari A.J. (1998) Revised Karyotype of *Alouatta caraya* (Primates: Platyrrhini) Based on Synaptonemal Complex and Banding Analyses. *Hereditas* 128 (1): 9-16.
- Mudry M.D., Rahn M.I., Solari A.J. (2001) Meiosis and chromosome painting of sex chromosome systems in Ceboidea. *Am. J. Primatol.* 54 (2): 65-78.
- Mudry M.D., Nieves M., Bolzán A.D. (2007) Chromosomal localization of the telomeric (TTAGGG)_n sequence in eight species of New World Primates (Neotropical Primates, Platyrrhini). *Cytogenet. Genome Res.* 119 (3-4): 221-24.
- Mudry M.D., Nieves M. (2010) Primates sin frontera: una visión desde la citogenética evolutiva. *BAG. J. Basic Appl. Genet.* 21 (2): 2-12.
- Mudry M.D., Nieves M., Steinberg E.R. (2015) Cytogenetics of Howler Monkeys. En Kowalewski M.M. et al. (Eds.) *Howler Monkeys, Developments in Primatology: Progress and Prospects*. Springer New York, NY, pp. 85-105.
- Nieves M., Mühlmann M., Mudry M.D. (2005) Heterochromatin and chromosome evolution: a FISH probe of *Cebus apella paraguayanus* (Primate: Platyrrhini) developed by chromosome microdissection. *Genet. Mol. Res.* 4 (4): 675-83.
- Nieves M., de Oliveira E.H.C., Amaral P.J.S., Nagamachi C.Y., Pieczarka J.C., Mühlmann M.C., Mudry M.D. (2011) Analysis of the heterochromatin of *Cebus* (Primates, Platyrrhini) by micro-FISH and banding pattern comparisons. *J. Genet.* 90 (1): 111-17.
- Nieves M., Mudry M.D. (2016) Diversity of *Cebus* species from the southern distribution of the genus. En Ruiz-García, M., Shostell, J.M. (Eds.) *Phylogeny, Molecular Population Genetics, Evolutionary Biology and Conservation of the Neotropical Primates*. Nova Science Publishers, New York, pp. 115-34.
- Nieves M., Fantini L., Mudry M.D. (2018) What do we know about the heterochromatin of capuchin monkeys (*Cebus*: Platyrrhini)? *Biol. J. Linn. Soc.* 123 (1): 113-24.
- Nieves M., Fourastié F., Steinberg E.R., Bressa M.J., Mudry M.D. (2019) Composición y estructura cromatínica del mono capuchino *Sapajus nigritus* (Cebidae, Platyrrhini). *BAG. J. Basic Appl. Genet.* 30 (1): 81.
- Nieves M., Remis M.I., Sesarini C., Hassel D.L., Argüelles C.F., Mudry M.D. (2021). Assessment of Genetic Variability in Captive Capuchin Monkeys (Primates: Cebidae). *Sci. Rep.* 11 (1): 7306.
- Pellicciari C., Formenti D., Redi C.A., Manfredi Romanini M.G. (1982) DNA content variability in primates. *J. Hum. Evol.* 11 (2): 131-41.
- Ponsà M., García M., Borell A., García F., Egozcue J., Gorostiaga M.A., Delprat A., Mudry M. (1995) Heterochromatin and Cytogenetic Polymorphisms in *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini). *Am. J. Primatol.* 37 (4): 325-31.
- Rahn M.I., Mudry M.D., Merani M.S., Solari A.J. (1996) Meiotic behavior of the $X_1X_2Y_1Y_2$ quadrivalent of the Primate *Alouatta caraya*. *Chromosome Res.* 4 (1-7): 350-56.
- Redi C.A., Garagna S., Zacharias H., Zuccotti M., Capanna E. (2001) The other chromatin. *Chromosoma* 110 (3): 136-47.
- Redi C.A., Zacharias H., Merani S., Oliveira-Miranda M., Aguilera M., Zuccotti M., Garagna S., Capanna E. (2005) Genome Sizes in Afrotheria, Xenarthra, Euarchontoglires, and Laurasiatheria. *J. Hered.* 96 (5): 485-93.
- Ronchetti E., Crovella S., Rumpler Y., Pellicciari C., Manfredi Romanini M.G. (1993) Genome size and qualitative and quantitative characteristics of C-heterochromatic DNA in *Eulemur* species and in a viable hybrid. *Cytogenet. Cell Genet.* 63 (1): 1-5.
- Rowe N., Myers M. (2017) All The World's Primates. En Agustín Fuentes et al. (Eds.) *The International Encyclopedia of Primatology*. John Wiley & Sons, Ltd., New Jersey, USA, pp 1-4.
- Seuánez H.N., Armada J.L., Freitas L., Rocha E Silva R., Pissinatti A., Coimbra-Filho A. (1986) Intraspecific Chromosome Variation

- in *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini): The Chromosomes of the Yellow Breasted Capuchin *Cebus apella xanthosternus* Wied, 1820. *Am. J. Primatol.* 10 (3): 237-47.
- Suárez H.N., Bonvicino C.R., Moreira M.A.M. (2005) The primates of the Neotropics: genomes and chromosomes. *Cytogenet. Genome Res.* 108 (1-3): 38-46.
- Solari A.J., Rahn M.I. (2005) Fine Structure and Meiotic Behaviour of the Male Multiple Sex Chromosomes in the Genus *Alouatta*. *Cytogenet. Genome Res.* 108 (1-3): 262-67.
- Stanyon R., Rocchi M., Capozzi O., Roberto R., Misceo D., Ventura M., Cardone M.F., Bigoni F., Archidiacono N. (2008) Primate chromosome evolution: ancestral karyotypes, marker order and neocentromeres. *Chromosome Res.* 16 (1): 17-39.
- Stanyon R., Archidiacono N., Rocchi M. (2012) Comparative Primate Molecular Cytogenetics: Revealing Ancestral Genomes, Marker Order, and Evolutionary New Centromeres. En Hirari H. *et al.* (Eds) *Post-Genome Biology of Primates*. *Primate Monographs*. Springer Tokyo, pp. 193-216.
- Steinberg E.R., Cortés-Ortiz L., Nieves M., Bolzán A.D., García-Orduña F., Hermida-Lagunes J., Canales-Espinosa D., Mudry M.D. (2008) The karyotype of *Alouatta pigra* (Primates: Platyrrhini): mitotic and meiotic analyses. *Cytogenet. Genome Res.* 122 (2): 103-9.
- Steinberg E.R., Nieves M., Mudry M.D. (2014a) Multiple sex chromosome systems in howler monkeys (Platyrrhini, *Alouatta*). *Comp. Cytogenet.* 8 (1): 43-69.
- Steinberg E.R., Nieves M., Fantini L., Mudry M.D. (2014b) Primates Karyological Diagnosis and Management Programs Applications. *J. Med. Primatol.* 43 (6): 455-67.
- Steinberg E.R., Fortes V.B., Rossi L.F., Murer L., Lovato M., Merani M.S., Mudry M.D. (2017) Cytogenetic Characterization of Brown Howler Monkeys, *Alouatta guariba clamitans* (Atelidae, Platyrrhini): Meiotic Confirmation of an $X_1X_2X_3X_4/X_1X_2X_3Y_2$ Sex Chromosome System. *Cytogenet. Genome Res.* 151 (3): 131-40.
- Steinberg E.R., Bressa M.J., Mudry M.D. (2018a) Comparative study of multiple and simple sex chromosome systems in Neotropical Primates. En *International Congress of Genetics*. Foz do Iguaçu, PR, Brasil: International Genetics Federation (IGF), setiembre 2018.
- Steinberg E.R., Bressa M.J., Mudry M.D. (2018b) Chromatin Nucleotide Content, Distribution, and Location In Ceboidea (Primates). En *International Congress of Genetics*. Foz do Iguaçu, PR, Brasil: International Genetics Federation (IGF); setiembre 2018.
- Steinberg E.R., Maladesky L., Nieves M., Bressa M.J., Mudry M.D. (2019) Tinciones cromosómicas diferenciales en la caracterización del genoma del aullador marrón *Alouatta guariba clamitans* (Primates, Atelidae). *BAG. J. Basic Appl. Genet.* 30 (1): 81.
- Steinberg E.R., Maladesky L., Bressa M.J., Mudry M.D. (2020a) Recientes hallazgos en la cariólogía del aullador negro *Alouatta pigra* (Primates, Platyrrhini). *BAG. J. Basic Appl. Genet.* 31 (1): 54.
- Steinberg E.R., Maladesky L., Fortes V.B., Cortes-Ortiz L., Canales-Espinosa D., Bressa M.J., Mudry M.D. (2020b) Dinámica del genoma en aulladores: patrones diferenciales de distribución de bases GC/AT en especies mesoamericanas y sudamericanas. En *VIII Simposio de Primates Mesoamericanos*. Modalidad Virtual. Panamá; noviembre 2020; p 38. <https://docplayer.es/220495755-Memoria-viii-simposio-de-primates-mesoamericanos-al-30-de-noviembre-del-2020.html>
- Sumner A.T. (2008) *Chromosomes: Organization and Function*. John Wiley & Sons.
- Thomas C.A. (1971) The genetic organization of chromosomes. *Ann. Rev. Genet.* 5: 237-56.
- Trojer P., Reinberg D. (2007) Facultative Heterochromatin: Is There a Distinctive Molecular Signature? *Mol. Cell* 28 (1): 1-13.