

Resultats de l'aplicació de tècniques d'obtenció de cromosomes prometafàsics en les espècies Cebus apella, Cercopithecus petaurista i Erythrocebus patas.

I. Clemente¹, A. Genescà¹, M. Ponsà^{2,3}, M. Garcia^{1,3}.

(1) Dep. Biologia. Fac. Medicina. (2) Dep. Biologia Cel·lular. Fac. Ciències. (3) Institut de Biologia Fonamental "V.Villar Palasí". Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra. Barcelona.

Abstract.

Results of the application of chromosome prometaphasic techniques in the species Cebus apella, Cercopithecus petaurista and Erythrocebus patas.

Most of the published Primate chromosome studies have been performed using the classical techniques for obtaining metaphase chromosomes. During the last few years, however, many different techniques have been described for obtaining chromosomes in the early stages of metaphase, which allow for a more highly detailed resolution.

Presented here is the application of the techniques of Viegas-Pequignot and Dutrillaux (1978) and Antich and Gean (personal communication), to the study of three different primate species: C. apella, C. petaurista and E. patas. By the application of G and C banding techniques to these prometaphasic chromosomes a more exact and precise information may be obtained. We compare our results with those published in the literature.

Introducció

La majoria dels estudis cariològics publicats en Primats s'han realitzat amb les tècniques clàssiques d'obtenció de cromosomes metafàsics i l'aplicació posterior de tècniques específiques per tenyir diferencialment determinades zones del cromosoma. Darrerament, s'han descrit diferents tècniques per l'obtenció de cromosomes en estadis previs al de metafase. D'aquesta manera s'incrementa el poder de resolució conseguint així una informació més ampla i precisa que permet caracteritzar amb més exactitud cadascun dels cromosomes del cariotip d'una espècie.

Material i Mètodes

L'estudi citogenètic s'ha realitzat amb limfòcits obtinguts de mostres de sang perifèrica de les següents espècies de Primats:

- Cebus apella (CAP): dues femelles i un mascle procedents del Parc Zoològic Municipal de Barcelona.
- Cercopithecus petaurista (CPE): un mascle procedent del Parc Zoològic de

Madrid.

- Erythrocebus patas (EPA): 4 femelles i un mascle procedents del Parc Zoològic de Madrid.

Les tècniques de cultiu emprades són: Tècnica clàssica de cultiu de limfòcits; Tècnica de Viegas-Pequignot i Dutrillaux (1978) i Tècnica d'Antich i Gean (comunicació personal).

Hem aplicat la metodologia de bandes G (adaptació de Gallimore i Richardson (1973)) i bandes C (adaptació de Sumner (1972)).

Resultats i Discussió

Per a cada espècie s'han elaborat unes composicions realitzades amb cromosomes amb bandes G i C que pertanyen a diferents cultius del mateix individu, on a cada parell d'homòlegs un element correspon a l'estadi de metafase i l'altre al de prometafase (veure figures 1, 2 i 3). Aquestes composicions ens permeten comparar la resolució cromosòmica aconseguida en cada estadi (nombre de bandes en cada estadi). De la informació que s'ha obtingut d'aquestes composicions s'ha realitzat una taula que recull el nombre de bandes comptabilitzat en cada parell cromosòmic en ambdós estadis i el nombre total de bandes per cariotip haploide (veure taula I). Es pot observar que mentre en alguns parells gairebé es pot duplicar el nombre de bandes en d'altres no s'aprecia canvi, malgrat la sensible diferència de tamany entre els cromosomes dels dos estadis.



Fig 1. Composició de bandes G de CAP. De cada parell l'element de la esquerra es prometafàsic i el de la dreta es metafàsic.

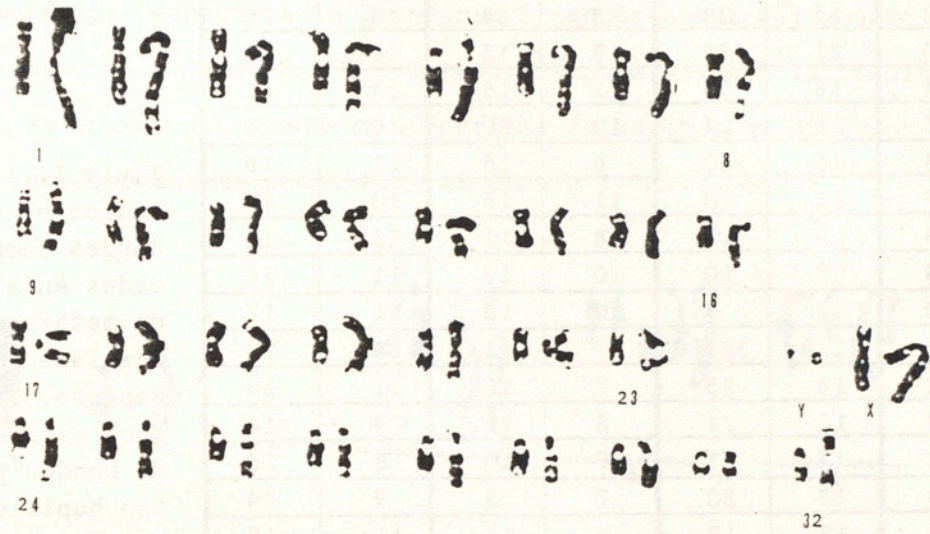


Fig.2. Composició de bandes G de CPE. De cada parell, l'element de la esquerra és metafàsic i el de la dreta és prometafàsic.

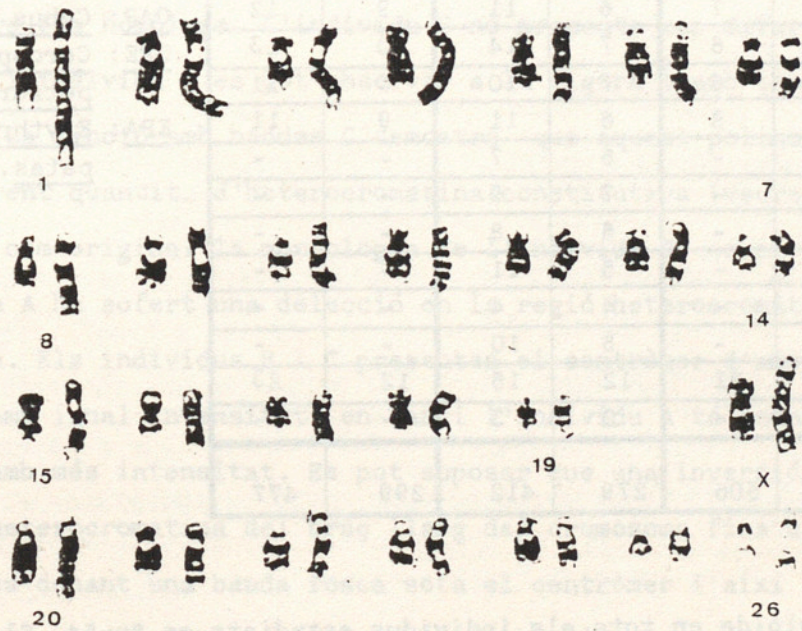


Fig.3. Composició de abndes G de EPA. De cada parell, l'element de la esquerra és metafàsic i el de la dreta és prometafàsic.

n ^o cs	CAP		CPE		EPA	
	M	PM	M	PM	M	PM
1	16	31	15	26	18	29
2	14	28	18	24	18	30
3	21	30	15	15	11	26
4	18	39	11	16	14	21
5	16	24	12	20	13	18
6	15	20	9	16	11	19
7	11	20	11	15	10	17
8	9	13	8	11	13	19
9	5	10	10	13	11	18
10	7	8	10	13	11	17
11	21/9	32/16	7	11	13	20
12	14	25	7	11	11	16
13	13	24	6	11	9	14
14	13	17	7	10	8	15
15	13	20	7	9	9	24
16	13	17	5	12	11	15
17	12	19	8	11	9	17
18	13	17	10	10	11	15
19	11	16	9	10	8	9
20	9	14	7	14	13	22
21	7	9	8	11	10	15
22	8	9	6	10	11	11
23	7	7	6	11	9	12
24	6	6	7	14	10	13
25	5	6	7	10	6	11
26	5	8	6	11	9	11
27	-	-	6	7	-	-
28	-	-	7	9	-	-
29	-	-	6	8	-	-
30	-	-	5	11	-	-
31	-	-	4	4	-	-
32	-	-	5	10	-	-
X	14	21	12	15	12	23
Y	-	-	2	3	-	-
NTH	325	506	279	412	299	477

Taula I.

Indica el nombre de bandes comptabilitzades en el estadi de metafase i prometafase per a cada espècie. També indica el nombre total de bandes per cariotip haploide.

cs: cromosoma

M: metafase

PM: prometafase

NTH: nombre total de bandes per cariotip haploide.

CAP: Cebus apella

CPE: Cercopithecus
petaurista

EPA: Erythrocebus
patas.

Cebus apella

El nombre diploide en tots els individus estudiats es $2n=54$. El cariotip ha estat confeccionat segons el model de Egozcue y Vilarasau de Egozcue (1967): 10 parells de no acrocèntrics; 16 parells d'acrocentrics i el parell sexual. Tots els cromosomes es poden identificar pels seus patrons de bandes G.

El parell nº 6 varia segons l'individu. En l'individu A s'observa un clar dimorfisme respecte a la grandària d'ambdós homòlegs; aquest és molt més atenuat en els individus B i C (veure figura 4). Amb la tinció de bandes C es confirma que aquest dimorfisme és degut a la diferent quantitat d'heterocromatina constitutiva. Garcia i col., 1983).



Fig. 4 Dimorfisme en el parell 6 de CAP



Fig. 5. S'observa el parell 11 de tres individus amb bandes C.

En el parell nº 11, s'ha trobat un clar polimorfisme en els tres individus estudiats: L'individu A presenta un homòleg de grandària netament inferior a l'altre. L'individu B mostra una lleugera diferència de grandària entre els homòlegs. L'individu C no presenta cap diferència significativa (l'individu A es pot observar a la figura 1 amb tractament de bandes G). La tinció amb bandes C demostra que aquest polimorfisme es deu a la diferent quantitat d'heterocromatina constitutiva (veure figura 5). Si suposem com original la morfologia de l'individu B, es pot pensar que l'individu A ha sofert una delecció en la regió heterocromàtica d'un dels homòlegs. Els individus B i C presenten el centròmer d'ambdós homòlegs tenyit amb igual intensitat; en canvi l'individu A té sempre un centròmer tenyit amb més intensitat. Es pot suposar que una inversió hauria traslladat heterocromatina del braç llarg del cromosoma fins a la regió centromèrica donant una banda fosca sota el centròmer i així la banda dels braços llargs dels dos homòlegs quedaria de igual grandària.

Cercopithecus petaurista

El nombre diploide del exemplar estudiat és $2n=66$. S'ha confeccionat el cariotip d'acord amb Caballín i col. (1980) com segueix: 16 parells de submetacèntrics, 7 de metacèntrics, 9 d'acrocèntrics i el parell sexual. La figura 6 presenta una composició de bandes C; de cada parell, l'element

de la esquerra es metafàsic i el de la dreta es prometafàsic. En aquesta figura es pot observar que mentre en els cromosomes metafàsics el centròmer apareix tenyit, en la majoria dels prometafàsics s'observa que són dos bandes pericentromèriques deixant el centròmer sense tenyir (hi ha un desdoblement de bandes C).

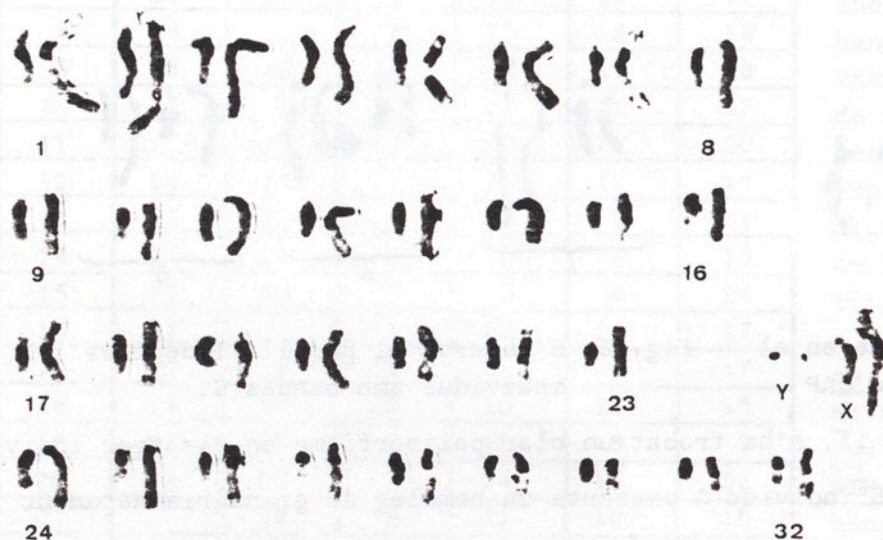


Figura 6

Erythrocebus patas.

El nombre diploide dels 5 exemplars estudiats és $2n=54$. El cariotip s'ha confeccionat segons Ponsà (1980): 14 parells de submetacèntrics; 5 parells de metacèntrics; 7 parells d'acrocèntrics i el parell sexual. Tots els cromosomes es poden identificar pels seus patrons de bandes G.

El parell nº 10 presenta un dimorfisme en l'individu B (veure figura 7). Considerem que aquest dimorfisme té el seu origen en una inversió pericèntrica tal com s'indica a la figura 7. Cal remarcar que sols en el estadi de prometafase és possible determinar amb precisió els punts de trencament.



Figura 7

Donada la seva llargada, els cromosomes prometafàsics presenten certes dificultats pel seu estudi. D'una banda la seva identificació morfològica degut al empaquetament més laxa de la cromatina. D'altre l'obtenció de bones extensions (el nombre de sobreposicions és més elevat). En la tècnica de Viegas-Pequignot i Dutrillaux creiem que poden ésser degudes en part, a que aquesta tècnica no utilitza colcemid per aturar la divisió cel.lular. El colcemid actua destruint les fibres del fus acromàtic (aturant la divisió cel.lular i facilitant la acció posterior de l'hipotònic separant els cromosomes) i també accentua l'obertura longitudinal entre les dues cromàtides i clarifica la morfologia cromosòmica al produir la contracció d'aquests. (Sharma i Sharma, 1965).

Tot i així, l'increment de resolució obtingut permet l'estudi més precís de les característiques observades en metafase així com determinar noves característiques no visualitzables en aquest estadi. Aquest factor pot ésser molt important en la localització dels punts de trencament de reorganitzacions cromosòmiques i per tant en estudis d'evolució cromosòmica.

Bibliografia

CABALLÍN, M.R., R. MIRÓ, M. PONSÀ, F. FLORIT, C. MASSA and J. EGOZCUE. Banding patterns of the chromosomes of Cercopithecus petaurista (Schreber 1775): comparison with other primate species. *Folia Primatol.* 1980.

EGOZCUE, J. and VILARASAU de EGOZCUE: Chromosome evolution in Cebidae; in STARK, SCHNEIDER and KUHN neue Ergebnisse der Primatologie (Fischer, Stuttgart 1967).

GALLIMORE, P.M. and C.R. RICHARDSON. An improved banding technique exemplified in the karyotype analysis of two strains of rat. *Chromosoma* 41, 259-263. (1973).

GARCIA, M., R. MIRÓ, A. ESTOP, M. PONSÀ and J. EGOZCUE. Constitutive heterochromatin polymorphism in Lagothrix lagothricha cana, Cebus apella and Cebus capucinus. *American Journal of Primatology* 4: 117-126 (1983).

PONSÀ, M. Citogenètica a la Família Cercopithecidae. Tesi Doctoral, 1980.

SHARMA, A.K. SHARMA, A. Chromosome theory and practice. Butterworths, London, p. 10. 1965.

VIEGAS-PEQUIGNOT, E., DUTRILLAUX, B. Une méthode pour obtenir des prophases et des prométaphases. *Ann. Génét.*, 21, 2, 122-125. (1978).

Aquest treball ha estat realitzat gràcies a un ajut a la recerca concedit per la CIRIT