

Variabilidad cromosómica en *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae) de Argentina

Chromosome variability in *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae) from Argentina

ALICIA I. MASARINNI, M. ALICIA BARROS, MARCELO O. ORTELLS y OSVALDO
A. REIG

GIBE, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Pabellón 2, Ciudad Universitaria Núñez, 1428 Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

En la especie *Ctenomys talarum*, que comprende las subespecies *C. t. talarum* y *C. t. recessus*, se encontraron dos tipos de polimorfismos y un politipismo cromosómico. El primer polimorfismo, representado en ambas subespecies, incluye variaciones en el número de brazos (NF), encontrándose pérdida/ganancia de brazos cortos tanto heterocromáticos como eucromáticos. El segundo tipo de polimorfismo, hallado sólo en poblaciones de *C. t. recessus*, involucra una variación en el número diploide dada por la presencia de uno ó dos pequeños cromosomas telocéntricos supernumerarios. El politipismo se caracteriza por diferencias interpopulacionales en los patrones de distribución de la heterocromatina, y no coincide con la distinción a nivel subespecífico. En *C. t. talarum* están representados tres patrones, los cuales muestran bandas C en la región centromérica, en bloques de brazos cortos completos o en un patrón mixto, mientras que en *C. t. recessus* ellas sólo se observan en la región centromérica.

Palabras clave: polimorfismo cromosómico, politipismo, *Ctenomys*.

ABSTRACT

In *C. talarum*, which comprises the subspecies *C. t. talarum* and *C. t. recessus*, two types of polymorphisms and one polytypism were found. The first polymorphism, present in both subspecies, includes arm number (FN) variations showing gain/loss of short heterochromatic and euchromatic arms. A second polymorphism, found only in *C. t. recessus*, involves diploid number variations, given by the presence of one or two small supernumerary telocentric chromosomes. The polytypism, characterized by differences between populations in patterns of heterochromatin distribution, is not coincident at a subspecific level. Three C banding patterns were found in *C. t. talarum*: at the centromeric regions, at whole short arms, or as a mixed pattern. However, *C. t. recessus* showed C-bands only at the centromeric regions.

Key words: Chromosomic polymorphism, polytypism, *Ctenomys*.

INTRODUCCION

El género *Ctenomys* es un ejemplo típico de una cladogénesis intragenérica explosiva, que condujo a la diversificación en 56 especies vivientes en un corto período durante el Pleistoceno (Reig et al. 1990). Esta intensa cladogénesis está asociada a una amplia diferenciación cromosómica. La gran variación cariotípica interespecífica de *Ctenomys* abarca números diploides en un rango que va desde $2n=10$ a $2n=70$ (Cook et al. 1990, Freitas y Lessa 1984).

Asimismo, en este género se observa una gran variabilidad de la heterocromatina constitutiva (Vidal-Rioja 1985, Cook 1990, Ortells 1990, Massarini et al. 1991), la cual ha sido clasificada por Reig et al. (1992) en

seis tipos: ausente, céntrica, bloques pericentroméricos, bloques de brazo completo, intersticial y telomérica.

En este trabajo se analiza la variación del patrón de distribución de la heterocromatina y del número diploide en seis poblaciones de *Ctenomys talarum*. En esta especie se reconocen dos subespecies: *C. t. talarum* y *C. t. recessus*. La primera de ellas tiene una distribución que se extiende, en la región costera de la Provincia de Buenos Aires, desde Magdalena (localidad típica) hasta Santa Clara del Mar, incluyendo una población aislada en Saladillo, en el Noroeste de la Provincia de Buenos Aires. La segunda subespecie, *C. t. recessus*, se distribuye en la región costera de la Provincia de Buenos Aires, desde el Río Quequén Salado hasta

Bahía Blanca (Contreras & Reig 1965). Recientemente, se ha registrado la presencia de una población de esta última subespecie en Necochea, extendiéndose así

el límite Noreste de su distribución (Busch et al., comunicación personal 1990).

MATERIALES Y METODOS

Se realizó el análisis citogenético en 19 ejemplares de *C. talarum* provenientes de seis localidades (Fig. 1 y Tabla 1). Las pieles y los cráneos fueron depositados en el Museo Municipal de Ciencias Naturales "Lorenzo Scaglia" de Mar del Plata, Argentina. Los cromosomas metafásicos de médula ósea se obtuvieron de animales previamente inyectados con levadura (Lee & Elder 1980), siguiendo la técnica de Ford y Hammerton (1956), adaptada por Barros y Patton (1985). Los patrones de bandeo C y G se obtuvieron de acuerdo a las técnicas de Seabright (1971) y Hsu (1974) respectivamente. Los cromosomas se han ordenado en tres grupos, donde A incluye a los autosomas bibraceados, B a los autosomas telocéntricos y el tercer grupo lo forma el par sexual.

RESULTADOS

Ctenomys talarum talarum

Se encontraron diferencias en los patrones de distribución de la heterocromatina entre las tres poblaciones estudiadas de *C. t. talarum*. En los especímenes provenientes de Magdalena ($2n=48$, $NF=78-80$), la heterocromatina se detectó como bloques

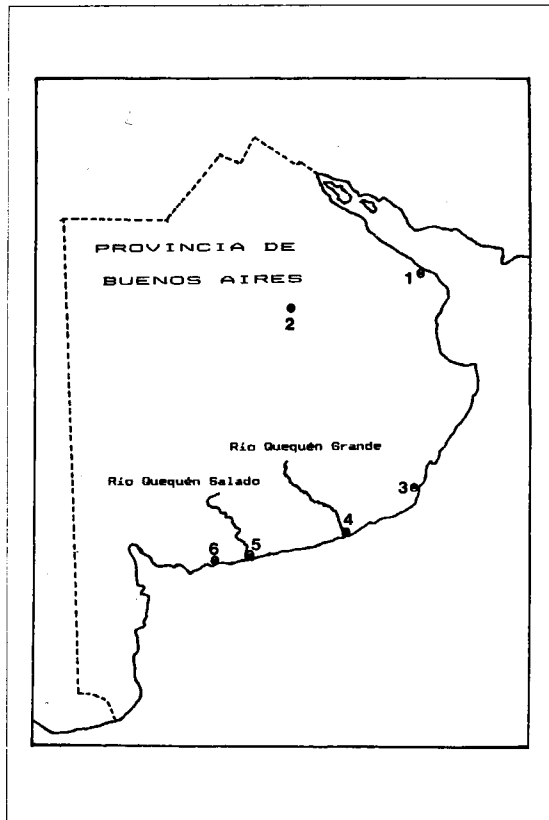


Fig. 1. Mapa de las localidades estudiadas. 1. Magdalena, 2. Saladillo, 3. Santa Clara, 4. Necochea, 5. Quequén Salado, 6. Monte Hermoso.

Map of studied localities. 1. Magdalena, 2. Saladillo, 3. Santa Clara, 4. Necochea, 5. Quequén Salado, 6. Monte Hermoso.

TABLA 1

Localidades estudiadas, número diploide ($2n$), número fundamental (NF), número muestral (N) y pares cromosómicos polimórficos.

Studied localities, diploid number ($2n$), fundamental number (NF), sample number (N) and polymorphic chromosome pairs.

Subespecie	Localidad	$2n$	NF	N	Pares polim.
<i>C.t.talarum</i>	Magdalena	48	78-80	7	A1 y A%
	Santa Clara	48	80	6	-
	Saladillo	48	81-82	10	A3
<i>C.t.recessus</i>	Necochea	49-50	73-74	2	A1, A2, A3, A4, A5
	M. Hermoso	48	74	1	A1, A2 y A5
	Q. Salado	50	80	1	A1

de brazo completo en 15 pares de autosomas y como bloques heterocromáticos pericentroméricos en 6 pares de autosomas, el X y el Y (Fig. 2a). En los ejemplares de Santa Clara del Mar ($2n=48$, $NF=80$), se observaron bandas C positivas restringidas a la región centromérica (Fig. 2b). Los ejem-

plares de la población de Saladillo ($2n=48$, $NF=81-82$), presentaron 10 pares autosómicos con bandas C céntricas, 10 pares de autosomas con bloques heterocromáticos pericentroméricos conspicuos, más una banda de heterocromatina telomérica en el brazo corto. Dentro de este último grupo

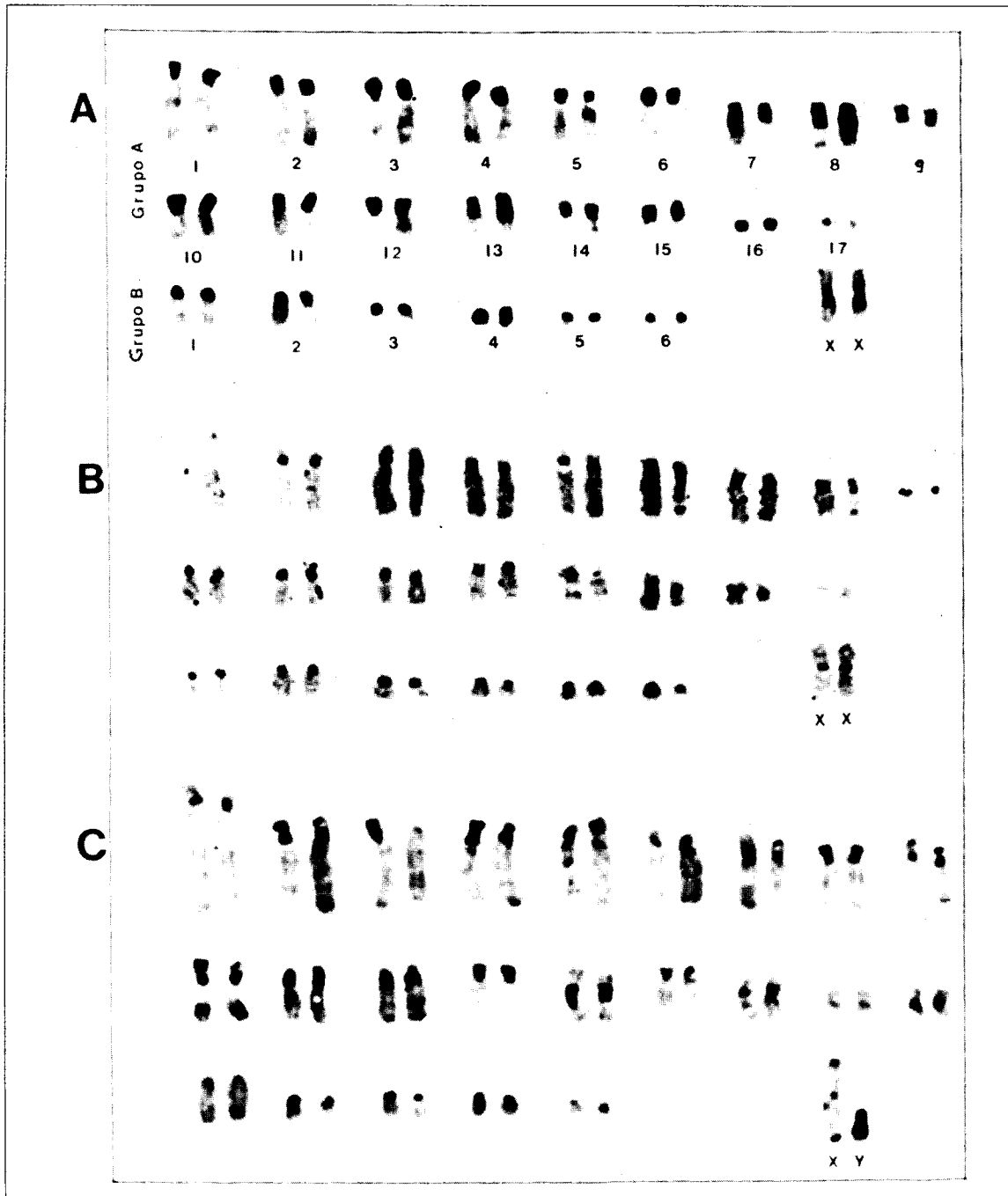


Fig. 2. Patrones de bandas C de *Ctenomys talarum recessus* A. Magdalena, B. Santa Clara, C. Saladillo. Patterns of C bands of *Ctenomys talarum recessus* A. Magdalena, B. Santa Clara, C. Saladillo.

de cromosomas, los pares A2 y A4 presentaron además una extensión heterocromática en la región proximal del brazo largo. En un individuo, el par A3 presentó una deleción completa del brazo corto de uno de los homólogos. En los pares A12 y A14, la región proximal del brazo largo resultó heterocromática, mientras el par A13 es el único que presentó el brazo largo completamente heterocromático y el par A10 muestra bandas intersticiales y teloméricas en el brazo largo. El X presentó heterocromatina en las regiones teloméricas y centromérica y el Y fue completamente heterocromático (Fig. 2c).

En las tres poblaciones el número diploide ($2n$) se mantiene constante ($2n=48$), mientras el número fundamental (NF) fue variable (Tabla I). La variación del NF en la población de Magdalena se debió a la deleción de los brazos pares A1 y A5. La diferencia en el NF entre la población de Saladillo y las dos restantes, se debió a la presencia de brazos cortos en el par A15

del cariotipo de Saladillo. Este par corresponde al B2 de las otras poblaciones. Esta diferencia puede estar reflejando tanto una situación real como un artefacto técnico, ya que dependiendo de la elongación de los cromosomas, en algunos casos los brazos pequeños pueden no resultar evidentes. Los patrones de bandeo G no difieren al comparar brazo a brazo los cromosomas de las tres poblaciones.

Ctenomys talarum recessus

Las poblaciones de *C. t. recessus* muestran variación tanto en el número diploide como en el número fundamental (Tabla I). Un macho y una hembra de Necochea presentaron un cariotipo de $2n=50$, NF=73 respectivamente. La diferencia en el número diploide entre estos ejemplares y entre ellos y el cariotipo de $2n=48$, está dada por la presencia de uno o dos cromosomas telocéntricos supernumerarios, que son los más pequeños del complemento (Fig. 3).



Fig. 3. Cariotipo de *Ctenomys talarum recessus* de Necochea. A. Tinción Giemsa, B. Bandas C secuenciales.

Karyotype of *Ctenomys talarum recessus* from Necochea. A. Giemsa stain. B. C bands.

Asimismo, la diferencia en el NF entre estos ejemplares y los de Magdalena corresponde a la ausencia de los brazos cortos en los pares A1, A3 y A4 y a la delección del brazo corto de uno de los homólogos de los pares A2 y A5 en los ejemplares de Necochea. Conforme al patrón de bandas G, en el caso de los pares A2 y A4 la delección parece incluir la porción proximal del brazo largo (Fig.4).

En la población de Monte Hermoso, se encontraron dos machos de $2n=48$, $NF=74$. En este caso, los pares A1, A2 y A5 presentan delecciones en ambos homólogos. Como en el caso de Necochea, la delección del par A2 parece incluir la porción proximal del brazo largo (Fig. 4). Entre ambas poblaciones no se observan diferencias en el patrón de bandas C. La heterocromatina se restringe a la región centromérica de la mayoría de los cromosomas y en algunos casos se extiende ligeramente a la región pericentromérica (Fig. 3b). Del mismo modo que en *C. t. talarum*, las poblaciones de *C. t. recessus* presentan patrones de bandeó G indistinguibles.

DISCUSION

Los resultados citogenéticos ponen de manifiesto la existencia de varios polimorfismos y de un politipismo cromosómico en ambas subespecies de *C. talarum*.

Los polimorfismos observados en ambas subespecies se caracterizan por cambios en el número fundamental y en el número diploide. En los reordenamientos que se manifiestan como un cambio en el número fundamental, la variación en el tamaño junto con el patrón de bandeó G de los pares polimórficos, permiten rechazar la hipótesis de la inversión pericéntrica como mecanismo causal de los cambios en la morfología de los cromosomas. Más bien, estos cambios evidencian ser el producto de la adición/delección de brazos completos.

La adición/delección de brazos heterocromáticos, resulta ser un tipo de reordenamiento frecuente en otras especies de roedores (Pathak et al. 1973, Patton & Sherwood 1982, Viegas Pequignot et al. 1984, Qumsiyeh 1988), y particularmente,

en otras especies de *Ctenomys* del grupo *mendocinus* (Massarini et al. 1991). Sin embargo, en el caso de *C. talarum* resulta significativo que, con la excepción del cariotipo de Magdalena, los brazos involucrados en estos polimorfismos son total o parcialmente eucromáticos. Del mismo modo, resulta sugerente que los pares que intervienen en los polimorfismos mencionados, compartan el patrón de bandas G con pares homólogos de las especies del grupo *mendocinus*, los cuales a su vez también presentan polimorfismos en sus brazos cortos que son, en este caso, completamente heterocromáticos (Massarini et al. 1991).

Aunque los brazos cortos involucrados en ambos polimorfismos varían con respecto a su patrón de bandeó C, los resultados sugieren que en ambos casos podrían estar involucradas secuencias repetidas.

Esta hipótesis se sustenta en evidencias provenientes de estudios moleculares al ser aislada la secuencia principal del DNA satélite en el género *Ctenomys* (Rossi et al. 1990). Un monómero (SRPC, secuencia repetida PvuII de *Ctenomys*) presenta identidad con el LTR (long terminal repeat) del RSV (Rous sarcoma virus) y posee secuencias consenso relacionadas con transcripción y replicación (Rossi et al. en prensa a). Tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo, las secuencias de las SRPC de *C. talarum* no se diferencian de las presentes en las especies del grupo *mendocinus* (Rossi et al., en prensa b). La hibridación "in situ" de esta secuencia evidencia su presencia en los brazos cortos eucromáticos de *C. t. recessus*, en los brazos cortos heterocromáticos de *C. t. talarum* y en los brazos cortos heterocromáticos de las especies del grupo *mendocinus* (Rossi et al. comunicación personal 1992). La detección de la secuencia SRPC en todos los brazos cortos tanto eucromáticos como heterocromáticos involucrados en polimorfismos de tipo adición/delección, sugiere que probablemente se trate de regiones no codificantes.

El polimorfismo relacionado con la variación en el número diploide ($2n=48-49-50$) presente en *C. t. recessus*, no puede ser explicado en términos de reordenamiento









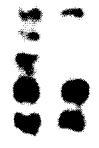




PAR	HOMOCIGOTO NO DELEC.	HETEROCIGOTO	HOMOCIGOTO DELECC.
A1	 Ctt, Mag		 Ctr, Ne
A2	 Ctt, Mag	 Ctr, Ne	 Ctr, MH
A3	 Ctt, Mag	 Ctt, Sal	 Ctr, Ne
A4	 Ctt, Mag		 Ctr, Ne
A5	 Ctt, Mag	 Ctr, Ne	 Ctr, MH

Fig. 4. Comparación de bandas G de los pares polimórficos en las subespecies y localidades estudiadas. Ctt= *Ctenomys talarum talarum*, Ctr= *Ctenomys talarum recessus*, Mag= Magdalena, Sal= Saladillo, Ne= Necochea, MH= Monte Hermoso.

G-bands comparisons of polymorphic pairs in the studied subspecies and localities. Ctt= *Ctenomys talarum talarum*, Ctr= *Ctenomys talarum recessus*, Mag= Magdalena, Sal= Saladillo, Ne= Necochea, MH= Monte Hermoso.

de tipo robertsoniano, ya que el número fundamental varía de $NF= 73$ a 82 , dependiendo del número de brazos involucrados en los polimorfismos de tipo adición/delección (Tabla I). Se sugiere en cambio, que este polimorfismo está probablemente dado por la presencia de una o dos microcromosomas supernumerarios del tipo B, que presentarían una segregación irregular. De todos modos, es necesario el estudio de una muestra mayor para poder poner a prueba esta hipótesis.

Respecto a la variación geográfica, el politipismo está dado por la existencia de diferencias interpoblacionales en la distribución de la heterocromatina. En tres localidades la heterocromatina constitutiva se restringe a la región centromérica (Necochea, Monte Hermoso y Santa Clara): en la población de Magdalena, ésta abarca brazos completos, mientras que en la población de Saladillo muestra un patrón mixto. Esta variación en el patrón de bandas C no se ve reflejada a nivel del bandeo G, cuyo patrón se mantiene constante.

Las diferencias en la cantidad y distribución de la heterocromatina sin alteración del patrón de bandas G, han sido descritas en varios grupos de mamíferos (Pathak 1973), Stock 1981, Walker & Spotorno 1984). Una explicación tentativa de la variabilidad encontrada en la distribución de la heterocromatina, puede estar dada por el concepto de equilocalización de las bandas C (John et al. 1985). Este concepto se refiere a que una ubicación similar de las bandas C entre pares de cromosomas no homólogos, podría ser atribuida a un ordenamiento específico de los cromosomas durante la interfase (Schweizer & Erhendorfer 1983), el cual favorecería la transposición o convergencia de secuencias repetidas entre cromosomas situados en continuidad. La producción inicial de heterocromatina ocurriría por mecanismos de amplificación de una secuencia repetida (John et al. 1985). Cabe considerar igualmente la hipótesis de que el mecanismo responsable del surgimiento de este politipismo sea el de transformación de la eucromatina o heterocromatinización (King 1980).

En cuanto a la probable direccionalidad de este cambio, la homología de bandas G y comparaciones de las medidas craneanas de gran parte de las especies de *Ctenomys*, han puesto en evidencia una importante afinidad filogenética entre *C. tucumanus* y *C. talarum*, representando *C. tucumanus* la condición más primitiva (Ortells 1990). Esta especie presenta heterocromatina restringida a la región centromérica, lo que de algún modo, nos permite inferir que ésta podría ser la condición primitiva en *C. talarum* y que la presencia de heterocromatina en los brazos cortos encontrada en la población de Magdalena y de regiones pericentroméricas, teloméricas e intercalares en Saladillo, serían condiciones apomórficas.

AGRADECIMIENTOS

La investigación realizada fue financiada por CONICET (PID No 3085300-88), la Universidad de Buenos Aires (subsidio N° 130) y la Organización de Estados Americanos por el subsidio otorgado a Osvaldo A. Reig en "Biosistemática de roedores Muroides y Caviomorfos". Agradecemos especialmente a Cristina Busch, Orlando A. Scaglia, María B. Espinoza y Roberto Persich por la ayuda prestada en el campo. A Csaba Herke y a Fernando J. Dyzenchouz por ayuda en el laboratorio. A Esteban Hasson por la revisión del manuscrito.

LITERATURA CITADA

- BARROS MA & JL PATTON (1985) Genome evolution in pocket gophers (Genus *Thomomys*) III. Fluorochrome-revealed heterochromatin heterogeneity. *Chromosoma* 92: 337-343.
- CONTRERAS JR & OA REIG (1965) Datos sobre la distribución del género *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae) en la zona costera de la Provincia de Buenos Aires comprendida entre Necochea y Bahía Blanca. *Physis* T.XXV 69: 169-186.
- COOK JA (1990) Rapid chromosomal evolution and the systematics on the Bolivian tuco-tucos. (Rodentia: Ctenomyidae). PhD dissertation, University of New Mexico, Albuquerque, N.M.
- COOK JA, S ANDERSON & TL YATES (1990) Notes on Bolivian mammals. 6. The genus *Ctenomys* (Rodentia: Ctenomyidae) in the highlands. *American Museum Novitates* 2980: 1-27.

- FORD C & J HAMMERTON (1956) A colchicine hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technology* 31: 247-251.
- FREITAS TRO & EP LESSA (1984) Cytogenetics and morphology of *Ctenomys torquatus* (Rodentia: Octodontidae). *Journal of Mammalogy* 65: 637-642.
- HSU TC (1974) Procedures for inducing C-bands and G-bands in mammalian chromosomes. *Mammalian Chromosome Newsletter* 15: 88-96.
- JOHN B, M KING, D SCHWEIZER & M MENDELAY (1985) Equilocality of heterochromatin distribution and heterochromatin heterogeneity in acridid grasshopper. *Chromosoma* 91: 185-200.
- KING M (1980) C-banding studies on Australian Hylid Frogs: secondary constriction structure and the concept of euchromatin transformation. *Chromosoma* 80: 191-217.
- LEE MR & F ELDER (1980) Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. *Cytogenetic and Cell Genetics* 26: 36-40.
- MASSARINI AI, MA BARROS, MO ORTELLS & OA REIG (1991) Chromosomal polymorphism and small karyotypic differentiation in a group of *Ctenomys* species from central Argentina (Octodontidae: Rodentia). *Genetica* 83: 131-144.
- ORTELLS MO (1990) *Biología evolutiva del género Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae). Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires.
- PATHAK S, TC HSU & FE ARRIGHI (1973) Chromosome of *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae) IV. The role of heterochromatin in karyotypic evolution. *Cytogenetics and Cell Genetics* 12: 315-326.
- PATTON JL & SW SHERWOOD (1982) Genome evolution in pocketgophers (genus *Thomomys*). I. Heterochromatin variation and speciation potential. *Chromosoma* 85: 149-162.
- QUMSIYEH MB (1988) Patterns of heterochromatin variation and phylogeny in rodents of the family Gerbillidae. *Texas Journal of Sciences* 40: 63-70.
- STOCK AD (1981). Chromosomal variation and constitutive heterochromatin in three porpoise species (genus *Stenella*). *Cytogenetics and Cell Genetics* 31: 91-100.
- SCHWEIZER D & F EHRENDORFER (1976) Giemsa banded karyotypes, systematics and evolution in *Anacyelus* (Asteraceae: Anthemidae). *Plant Systematic and Evolution* 126: 107-148.
- VIDAL RIOJA L (1985) Chromosome polymorphism in *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). *Caryologia* 30: 169-178.
- VIEGAS-PEQUIGNOT ET, T BENAZZOV, M PROD'HOMME & B DUTRILLAUX (1984) Caracterización de a very complex constitutive heterochromatin in two *Gerbillus* species (Rodentia). *Chromosome* 89: 42-47.
- WALKER LI & A SPOTORNO (1984) Cytogenetics and reproductive studies of two nominal subspecies of *Phyllotis darwini* and their F1 hybrids. *Journal of Mammalogy* 65: 220-230.