

January 1978

## Una población de Ratones de páramo Estudio Cromosómico

Dra. Alicia Montenegro Orbes

*Universidad de La Salle, revista\_uls@lasalle.edu.co*

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/ruls>

---

### Citación recomendada

Montenegro Orbes, D. (1978). Una población de Ratones de páramo Estudio Cromosómico. *Revista de la Universidad de La Salle*, (3), 27-42.

This Artículo is brought to you for free and open access by Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in *Revista de la Universidad de La Salle* by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

# Una población de Ratones de páramo

Estudio Cromosómico

*Preparaciones de la Médula Osea. Animales Colchicinados*

*Por la Dra. Alicia Montenegro Orbes*

Los métodos utilizados para la obtención de preparaciones de médula ósea se basan en los descritos por Baker (1972) y modificadas por D. Valdivieso (1975).

1. Se inyecta intraperitonealmente 0,01 ml. de Velbe (Eli Lilly Co.), al 0.025% o colchicina al 0.04%, por gramo de peso, una hora antes de sacrificar el animal.
2. Los animales pueden ser sacrificados utilizando una cámara herméticamente cerrada que contenga algodón saturado de éter o cloroformo. Se debe obtener el húmero o el fémur cuidadosamente sin romper ninguno de sus extremos. Limpiar el hueso cuidadosamente hasta cuando no haya músculo u otro tejido adherido al hueso. Cortar con tijera la parte distal y un poco de la parte proximal.
3. Con una jeringa de 5 ml. forzar hacia fuera la médula ósea con 3 ml. de una solución de citrato de sodio al 1%. Recogiendo las células en un tubo de centrifuga, dejar en reposo 5 minutos.
4. Pipetear vigorosamente para separar las células tratando de que no se formen burbujas. Esperar otros 10 minutos.
5. Centrifugar a 1.500 rpm por 3 minutos
6. Descartar el sobrenadante.

7. Cuidadosamente sin perturbar las células, añadir por los lados del tubo 3 ml. fijador de Carnoy (3MeOH) metanol, (1 AAG) Acido acético glacial.

8. Después de dos minutos se resuspenden las células y se deja fijar durante cinco minutos. Remover el fijador por centrifugación y repetir la fijación por 2 o 3 veces más.

#### 9. Preparación de láminas:

Se limpian las láminas y se dejan caer 2 o 3 gotas de la suspensión de células sacudiendo al mismo tiempo la lámina para lograr un mejor extendido de las células. Dejar secar al aire.

10. Se tiñen con Giemsa recién filtrada antes de mezclar con agua destilada.

#### Tinción:

Giemsa + Agua destilada o buffer 1:8

H<sub>2</sub>O destil. ➡ ➡ Acetona ➡ ➡ Acetona ➡ ➡

Acetona — Xilol ➡ ➡

(20 min.) (5 min.) (5 min.) (5 min.)

Xilol ➡ ➡ Xilol ➡ ➡ Montaje usando cubreobjetos de 22 x 40 mm. dos gotas de Permount o bálsamo de Canadá.

(2 min.) (X min.)

Dejar secar, 24 horas, luego examinar al microscopio.

### PREPARACIONES CROMOSOMICAS A PARTIR DE CULTIVOS DE SANGRE

En los últimos años, el número de técnicas descrito para la obtención de cultivos de sangre ha sido prodigioso. Gran interés han presentado por los primates (Egozcue y Vilarasu de Egozcue, 1966), procedimientos de cultivos distintos han sido descri-

tos específicamente para mamíferos en general (Giménez Martín y López Sáenz, 1966; Srivastava y Col., 1969), ratas y conejos (Williams y Ray, 1965; Cobayos Watson y Col., 1969); ratones (Ray y Birnie, 1967; Buckton y Nettesheim, 1968); mamíferos (Matthey R., 1970), (Caspersson T., Zehll., Johansson C., 1972).

Absolutamente todas las técnicas representan pequeñísimas variaciones sobre el mismo tema. Por esta razón se describe un método único, que pueda emplearse indistintamente en sangre total.

En los ratones *Thomasomys laniger laniger*, se obtuvo la sangre por punción cardíaca.

### TECNICA

1. Obtener sangre necesaria, en forma estéril en una jeringa heparinizada.

2. Introducir 10 gotas de sangre en un frasco de cultivo con 5 ml. de solución standard de medio de cultivo y 4 décimas de Phytohemaglutinina. Tapar el frasco.

3. Incubar durante 72 horas a 37° C. y luego añadir al cultivo 0.2 ml. de solución de colchicina al 0.04%.

4. Incubar 1 hora a 37° C.

5. Transferir el cultivo a un tubo de centrifuga. Centrifugar 10 minutos a 800 rpm. descartar el sobrenadante.

6. Resuspender las células. Añadir gota a gota 5 ml. de solución hipotónica durante 4 minutos. Centrifugar.

7. Añadir a cada tubo fijador de Carnoy II durante 25 minutos. Centrifugar 10 minutos a 800 rpm. Descartar el sobrenadante.

8. Resuspender las células. Añadir 5 ml. de fijador Carnoy I. Tapar los tubos y dejar reposar durante 30 minutos.

9. Centrifugar 10 minutos a 800 rpm. decantar y eliminar el sobrenadante. Repetir la operación dos veces. Decantar el fijador, resuspender las células y añadir el fijador gota a gota, hasta conseguir la concentración deseada para la preparación de las láminas.

10. Con una pipeta de pasteur, dejar caer gotas de la suspensión celular sobre un porta-objetos limpio. Las gotas se extienden espontáneamente.

11. Tinción de Giemsa, durante cinco minutos.

12. Montaje de la lámina y observación al microscopio.

### PREPARACIONES DE MEDULA OSEA. CULTIVO IN VITRO

Los análisis de cromosomas empleando células de médula-ósea, como los citados por Ford y Col. (1958); Bottura y Ferrari, 1960; Meighan y Stich, 1961; Tjio y Whang, 1965, y otros.

Técnica modificada en el Instituto Nacional de Salud por Giraldo y Martínez-Pinto.

### TECNICA

1. Sacrificar el animal no colchicinado, con cloroformo en una cámara cerrada.

2. Colocar la muestra en 5 cms. de un medio TC 199. Se añaden 0,5 ml. de médula ósea obtenida con las debidas precauciones de esterilidad, mezclar bien.

3. Se incuba durante media hora el cultivo a 37° C.

4. Al concluir la incubación, se añaden 0,2 ml. de una solución de colchicina al 0,04% durante 45 minutos.

5. Luego se centrifuga a 500-600 rpm. y se descarta el sobrenadante.

6. Tratamiento hipotónico con adición de 5 cms. de solución de KCl 0.075 M. durante 4 minutos.

7. Centrifugar 10 minutos a 500-600 rpm. Descartar el sobrenadante.

8. Añadir, lentamente, 5 ml. de fijador Carnoy 11 (6 volúmenes de Etanol, 3 volúmenes de Cloroformo, 1 volumen de ácido-acético glacial). Resuspender las células, dejar fijar durante 30 minutos. Centrifugar.

9. Hacer 2-3 cambios de fijador Carnoy I y en el último cambio, añadir solamente la cantidad de fijador suficiente para la preparación de las láminas.

10. Con una pipeta de pasteur, dejar caer dos gotas de la suspensión sobre una lámina limpia y desengrasada. Las gotas se extenderán por sí solas.

11. Teñir en Giemsa durante 15 minutos.

12. Montaje de la lámina y observación al microscopio.

## TECNICA DE FLUORESCENCIA

Se utilizó la técnica de Caspersson y colaboradores 1969a., 1969b.

### *Preparación de las láminas.*

1. Se puede aplicar a cualquier preparación cromosómica.

Teñir, durante 20 minutos en hidrocloreuro de quinacrina al 0.5%.

2. Lavar dos veces con agua destilada.

3. Lavar nuevamente la preparación con buffer o tampón de fosfato pH. 6.75.

4. Montar los portaobjetos en tampón de fosfato de pH. 6.75. Sellar la preparación.

5. Las preparaciones son observadas en un microscopio equipado para microscopia de fluorescencia.

Las figuras mitóticas adecuadas se buscan a pequeño aumento, y sólo una vez localizada la figura se pasa a la iluminación ultravioleta, y a mayor aumento.

En general se usa Kodak: Tri-X Pan (ASA 400) y luz de alto contraste (ASA 64). La exposición de 2-3 minutos.

Se revelan y se elabora el cariotipo.

## PREPARACIONES POR APLASTAMIENTO O "SQUASH"

Técnica utilizada la descrita por Hsu y Patton, 1969; v. también Lee, 1969.

1. Una hora antes de sacrificar el animal, inyectar intraperitonealmente 0,01 ml./gr. de peso de solución de colchicina al 0,025% o, también, puede utilizarse Velban al 0,025%, a dosis de 0,01 ml./gr. de peso.

2. Se obtiene mucosa, bazo y testículo, se hacen trozos muy pequeños de estas muestras, se le agrega 5 ml. de solución hipotónica a 37°C.

3. Agitar o pipetear vigorosamente.

4. Centrifugar a 500-700 rpm. durante 5 minutos. Dejar fijar durante 20 minutos.

5. Añadir 5 ml. de Carnoy sin romper el botón celular. Dejar fijar durante 20 minutos.

6. Descartar el fijador. Añadir 1-3 gotas de aceto-orceína al 2%. Resuspender las células pipeteando con una pipeta de Pasteur.

7. Colocar una gota de suspensión sobre el portaobjetos. Cubrir con un cubreobjetos. Aplastar con firmeza.

8. Flamear en mechero, de modo que la orceína llegue casi a hervir. Ello favorece la tinción y extensión de los cromosomas. Inmediatamente, aplastar de nuevo con fuerza.

9. Sellar la preparación, con esmalte de uñas, o deshidratar para montaje permanente.

## PREPARACIONES DIRECTAS DE BAZO

Las preparaciones directas de bazo se basan en los mismos principios que las de médula.

1. En un animal colchinado, tomar el bazo y colocarlo en una placa de Petri, conteniendo suficiente solución hipotónica a 37°C. para cubrir la pieza.

2. Con una tijera de disección, cortar la pieza en pequeños trozos, de 0.5 mm<sup>3</sup> aproximadamente.

3. Transferir los trozos de bazo a una caja de Petri conteniendo solución hipotónica.

4. Cubrir la caja de Petri, e incubar durante 20 minutos a 37°C.

5. Transferir las piezas de bazo a una caja de Petri conteniendo orceína acética al 2%. Es importante drenar las piezas de la mayor cantidad posible de solución hipotónica. Esto se consigue arrastrando las piezas por la superficie de una caja de Petri seco.

6. Cubrir la caja de Petri para evitar la evaporación de la orceína; dejar en la nevera a 4°C durante 1-2 horas.

7. Tomar un pedazo de bazo, colocarlo sobre el portaobjetos. Cubrirlo con una gota de orceína, colocar una laminilla y aplastar con firmeza.

## ANALISIS CROMOSOMICO

Las preparaciones fueron examinadas al microscopio para escoger los extendidos metafásicos más adecuados. Las células se seleccionaron con base en su morfología cromosómica, que pueden estar en una etapa intermedia de contracción y en lo posible con los brazos de las cromátides, paralelos. La tinción y la resolución deben ser óptimas para obtener una buena reproducción fotográfica. El extendido debe ser suficiente para minimizar las sobreposiciones.

### *Procedimiento fotográfico*

El análisis de los cromosomas se hace a partir de las ampliaciones fotográficas siendo este un método para el registro permanente.

En las preparaciones examinadas al microscopio fueron estudiadas aproximadamente 10 a 15 metafases por lámina y por lo menos 40 por espécimen. Las mejores metafases se fotografiaron usando película para copia, de alto contraste Kodak (M 135-36).

### *Recuento de los cromosomas*

Las ampliaciones fotográficas se dividieron en cuatro cuadrantes, trazando dos intersecciones a través de la impresión metafásica; se contaron los cromosomas de cada cuadrante y luego se sumaron las cuatro cifras.

### *Medición de los cromosomas*

Las mediciones se hicieron utilizando un proyector de pantalla en el cual se colocaron las imágenes ampliadas y luego se midieron con la

ayuda de una reglilla graduada. También se comprobaron dichas medidas usando un curvómetro. Las mediciones se pueden hacer también directamente en las fotografías o proyectando las imágenes en un proyector para diapositivas. Las medidas utilizadas fueron:

1) Valor absoluto promedio de la longitud en M (VAPL) el cual se obtuvo dividiendo el valor de la medición directa de cada cromosoma por el valor correspondiente al más pequeño del genoma;

2) Largo relativo, que es el porcentaje del largo absoluto sobre la longitud total de haploides incluyendo el cromosoma X;

3) Proporción del brazo, donde la longitud del brazo largo se divide por el brazo corto y viceversa;

4) Índice centromérico dato resultante de dividir longitud del brazo corto por la longitud total de un cromosoma dado. Tablas 3 y 4

### *Cariotipo e identificación de cromosomas*

Los cromosomas fueron recortados y ordenados en pares homólogos formando un cariotipo (Fig. 10) esta ordenación se hizo de acuerdo con el tamaño de los cromosomas, la posición del centrómetro, y otras características como la existencia de constricciones secundarias, satélites (Egozcue, 1971). Para la preparación del cariotipo, se recortaron los cromosomas de cada metafase y se pegaron sobre una cartulina; en algunas metafases se utilizó cinta adhesi-

va. Las Figuras utilizadas tenían un grado óptimo de concentración y un mínimum de cruzamiento.

La identificación individual de los cromosomas estuvo ayudada por los datos morfológicos y datos de fluorescencia, estos datos fueron confirmados con los resultados obtenidos de las mediciones de los cromosomas.

## RESULTADOS

El análisis cuidadoso de las metafases por las diferentes técnicas citogenéticas empleadas durante la investigación con los ratones de Páramo *Thomasomys laniger*, *laniger* dió un recuento total de 24 cromosomas. Estos fueron contados en aproximadamente 800 metafases de hembra y macho.

El juego diploide  $2n=24$  con 22 autosomas y un par de cromosomas sexuales . . (XY) (Figura 8) y XX para . . y se pueden distinguir morfológicamente, el cromosoma X tiene el centrómero en la región mediana y el Y el centrómero en la región terminal.

Los cromosomas fueron numerados en series de pares de 1 a 12, en orden decreciente según la longitud. La identificación de los cromosomas individuales se fundamenta en el tamaño, posición del centrómero y otros rasgos morfológicos. Los cromosomas sexuales se refieren como X y Y y son colocados uno junto al otro. Los once pares de autosomas se clasificaron en 3 grupos denominados A, B, C. (Tabla 3).

Para la relación poligenética están descritos en la Tabla 1. También están descritos individualmente, para fácil referencia.

Los pares 1, 2, 3, 4, constituyen el Grupo A y pueden ser fácilmente identificados por sus características morfológicas.

## GRUPO A

1. El par más grande del complemento entero. Este es submetacéntrico y el brazo largo es casi dos veces el tamaño del brazo corto. Valor absoluto en la longitud en  $m=6.22$ .

2. Es ligeramente submetacéntrico aunque puede ser catalogado según (Spotorno, 1976) como metacéntrico. El segundo cromosoma de este par generalmente presenta menor tamaño. Valor absoluto promedio de la longitud en  $m=5.65$ .

3. Este es considerablemente más pequeño que los dos anteriores, fácilmente diferenciable, por el tamaño y la posición del centrómero. Valor absoluto promedio de la longitud en  $m=(VAPL) 4.57$ .

4. Es el cromosoma X del par sexual, metacéntrico y ligeramente más pequeño que el par 3. Valor absoluto promedio de longitud en  $m:3,83$ .

## GRUPO B

5. Cromosomas de tamaño mediano con centrómeros submedianos VAPL: 3.50.



6. Un poco más pequeño que los números 4 y 5. Con centrómeros submedianos. Valor absoluto promedio de longitud en m (VAPL): 3.36.

7. Cromosomas con centrómero submediano es casi de igual tamaño que el número 6. Valor absoluto promedio de longitud en m: 3.08.

8. Cromosomas metacéntricos, centrómero en la parte media. Valor absoluto promedio de longitud en m: 2.72.

## GRUPO C

9. Cromosomas pequeños con centrómero aproximadamente mediano y de tamaño ligeramente menor que el par 8. Valor absoluto promedio de longitud en m: 2.7.

10. Cromosomas submetacéntricos, similar al número 9 pero más pequeño, centrómero mediano. Valor absoluto promedio en m: 1.91.

11. Cromosomas más pequeños, el cromosoma 11 tiene un satélite conspicuo sobre el brazo corto. Valor absoluto promedio en m: 1.41.

12. El cromosoma más pequeño de todo el complemento haploide o diploide, presenta centrómero en la región mediana. Valor absoluto promedio en m: 1.00.

## CROMOSOMA X

El cromosoma X fue determinado por la selección, en el cariotipo de la hembra, de un par de cromosomas

que tuvieran un representante diferencial en los machos. El X fue fácil de identificar por los brazos grandes. Generalmente es uno de los más grandes y submetacéntrico. (Figura 8).

## CROMOSOMA Y

El cromosoma Y de *Thomasomys laniger*, *laniger* es un cromosoma relativamente pequeño y el más acrocéntrico de todo el complemento diploide del . . (Figura 9).

La Tabla 5 resume la clasificación de los cromosomas *Thomasomys laniger*, *laniger* con respecto a la posición del centrómero dada por el índice de brazo L/C, es decir, la longitud del brazo largo en relación con la longitud del brazo corto.

Estos datos se han basado en las medidas de índice de brazo que pueden observarse en la Tabla 3 en la cual aparecen los cromosomas agrupados en las tres categorías o grupos convencionalmente establecidos: A, B y C en orden decreciente de tamaño.

El índice centromérico (IC) calculado por la relación del brazo corto a la longitud total de cada cromosoma, da una idea precisa de la posición del centrómero (Tabla 4).

## CARIOGRAMA

Los datos del índice del brazo correspondientes a la relación de longitud de brazo corto y brazo largo

(C/L) distribuidos en una gráfica, sobre los datos de VAPL (Valor Absoluto Promedio de la Longitud en m).

Las Figuras 13 y 14 reflejan la ubicación de los cromosomas de acuerdo con su tamaño y la posición del centrómero. Esta relación gráfica recibe el nombre de cariograma (Spotorno, 1976) y tiene la ventaja de esclarecer la distribución de los grupos de cromosomas (A, B, C) indicando la verdadera posición de ellos en cada grupo de acuerdo con su morfología.

## CARIOTIPOS

Las Figuras 10 y 11 ilustran cariotipos representativos de hembras y machos de *Thomasomys laniger, laniger*, con las técnicas de preparación de cromosomas a partir de médula, sea en animales colchicinados y en animales no colchicinados por incubación *in vitro*.

En todos los casos el número cromosómico fue  $2n=24$  con un complemento diferencial para los 2 sexos correspondientes a XX para hembra y XY para el macho.

Una observación interesante para un estudio posterior es una aparente deleción muy pequeña presente en uno de los homólogos del par número 2. El único par cromosómico en donde se observan conspicuamente satélites y constituyéndose en un marcador para este cromosoma es en el par N° 11 (Figura 11).

La Figura 15 representa un patrón de Bandas Q con la técnica de fluorescencia.

## PREPARACIONES POR SQUASH

Estas preparaciones se hicieron con el fin de comprobar el número de cromosomas en otras células y tejidos habiéndose obtenido en todos los casos  $2n=24$ ,  $n=12$ .

## IDEOGRAMA

Utilizando los valores de VAPL (Valor Absoluto Promedio de la Longitud en m) para cada cromosoma, así como los datos de índice centromérico (IC) se obtuvieron los datos absolutos para cada brazo y de esta manera se construyó el ideograma o representación esquemática del cariotipo tanto para macho como para hembra (Figuras 13 y 14).

### Número fundamental

El número fundamental (NF) propuesto por Matthey (1945) y que se basa en el recuento total de brazos de un genoma, de acuerdo con las características del cariotipo de *Th. laniger, laniger*; el  $NF=46$  para el complemento haploide que incluye un cromosoma X.

Este datos es de gran importancia para encontrar o dilucidar relaciones evolutivas entre diversos grupos que teniendo un genoma absoluto idéntico o muy similar indicado por el NF. aumentado o reducido su número cromosómico sin que varíe el recuento total de brazos.

## DATOS BIOLÓGICOS DEL RATÓN DE PÁRAMO

La especie *Thomasomys laniger*, *laniger* considerada por algunos autores sinónimo de *Thomasomys niveipes* presenta un marcado dimorfismo sexual en cuanto a caracteres somáticos como puede observarse en la Tabla 1 en la cual se agrupan valores promedios de la longitud total, longitud del cuerpo, tamaño de miembros anteriores y posteriores, ancho de la oreja y longitud de la cola, para machos y hembras con referencia al promedio general de la población para cada uno de estos valores. Estos datos expresados en milímetros indican siempre valores más altos para el macho . . . que para las hembras . . . (Figura 16).

En las Tablas 2a, 3b, 2c, se encuentran consignados los valores correspondientes para cada uno de los especímenes estudiados.

En cuanto a la distribución de los individuos en el área de colección la Figura 15 ilustra el porcentaje de especímenes capturados en cada una de las cuatro zonas convencionalmente denominadas como A, B, C y D: correspondiendo la Zona D a la parte más alta del Páramo y siguiendo en su orden las áreas C, B y A, por ser esta última la zona de menor altitud.

De acuerdo con los datos presentados en la Figura 15 el mayor número de especímenes fue recolectado en la Zona A y el menor número en

la Zona D. Esto posiblemente guarda relación con la disponibilidad de alimento en las diferentes áreas.

Otro dato interesante que será base para futuros estudios es la incidencia de un 2% de hermafroditismo representado en dos hembras que presentaron un ovario y útero (grávido en una de ellas) y un testículo poco desarrollado.

El número de crías en *Thomasomys laniger*, *laniger* a diferencia de otros ratones y demás roedores es generalmente de uno o 2 organismos los cuales se desarrollan en un útero bicorne.

## DISCUSIÓN

Aunque el objetivo inicial de este trabajo fue hacer un estudio de variación cromosómica de nivel poblacional, en esta especie coleccionada en el Páramo de Cruz Verde el hallazgo de un cariotipo tan interesante y tan poco común entre los mamíferos roedores, modificó ligeramente el curso de nuestra investigación al comprobar que además de no haber sido descrito ni estudiado citogenéticamente este organismo, su complemento cromosómico difiere muchísimo de todos los reportados para especies de este género. Por este motivo el interés principal de este trabajo, el cual a su vez forma parte de un proyecto multidimensional para estudios genéticos de variación cromosómica a nivel poblacional, se centró en la caracterización del genoma de esta especie, con el fin de

iniciar una serie de estudios tendientes a dilucidar el origen evolutivo de esta población con número fundamental de 46 el cual no difiere demasiado de los reportados para otras especies del mismo género como *Thomasomys monochromos* c-n ( $2n=42$ ,  $NF=42$ ); *Thomasomys aureus* X submetacéntrico y Y Acrocéntrico, *Thomasomys sp.* ( $2n=44$ ,  $NF=42$ , X y Y Submetacéntricos), *Thomasomys notatus* ( $2n=44$ ,  $NF=44$ , X y Y acrocéntricos), *Thomasomys taczanowski* ( $2n=44$ ,  $NF=44$ , X y Y acrocéntricos), Gardner y Patton (1976).

Sin embargo el número diploide de *Thomasomys laniger*, es apenas de 24 cromosomas en su mayoría metacéntricos y submetacéntricos, en tanto que los demás *Thomasomys* tienen predominantemente cromosomas acrocéntricos.

Esto no constituye una discrepancia irreconciliable pues es bien sabido que fenómenos o procesos de tipo Robertsoniano son frecuentes en la especiación y evolución de las poblaciones de roedores (Matthey, 1972; Gardner y Patton, 1976), de tal manera que un aumento o disminución en el número cromosómico de especies que comparten el mismo número fundamental puede resultar por fusiones céntricas, inversiones, translocaciones, fisiones, etc. Parece ser que las fusiones son más frecuentes y con mejor valor adaptativo que las fisiones, pues en estas un cromosoma metacéntrico o submetacéntrico da origen a dos cromosomas telocéntri-

cos y como es bien sabido, la telocentría es muy rara. En cambio, en el caso contrario, es decir, las fusiones, originan metacéntricos a partir de acrocéntricos ocasionando una reducción en el número  $2n$  pero manteniéndose inalterado el NF.

El polimorfismo cromosómico en rodeadores se manifiesta no solamente en variaciones importantes entre poblaciones taxonómicamente consideradas como pertenecientes a la misma especie, sino también a cambios dentro de una misma población que ocasionan todas las transiciones entre una interfecundidad completa y la interesterilidad (Matthey, 1973). Ford y Evans (1964) encontraron en una preparación meiótica de *Mus musculus*  $2n=40$ , una cadena cuadrivalente constituida por la translocación del cromosoma X y un autosoma, lo cual sugiere un evento inicial en evolución cariotípica con tendencia a la reducción del número  $2n$ .

El fenómeno de fusión céntrica Robertsoniana ha sido observado en *Mus*, *Acomys*, *Gerbillus* y *Tatera* (Matthey 1966, 1963, 1958). Para comprobar estas hipótesis referidas al caso de *Thomasomys laniger*, *laniger* se realizará un estudio completo de bandedo cromosómico y separación electroforética de proteínas sanguíneas como el realizado por Arrighi, Stock y Pathak (1974). Son particularmente interesantes los cariotipos con bandas G en *Clethrionomys* (Nadler *et al.*, 1976) así como los patrones de bandas C en *Peromyscus* Pathak, Hsu, Arrighi, 1973,

para determinación de heterocromatina constitutiva, que junto con las técnicas de fluorescencia son valiosos aportes que ayudan a dilucidar las tendencias evolutivas en un grupo o población por comparación con sus poblaciones o especies relacionadas.

El cariotipo de *Thomasomys laniger* carece del patrón de cromosomas acrocéntricos tan característico de los roedores y otros ratones de este género, estando reemplazados en su mayor parte por metacéntricos o submetacéntricos. Esta particularidad lo hace comparable con su pariente europeo el hamster, más particularmente con *Cricetulus griseus* el cual tiene un número cromosómico  $2n = 22$  con pocos cromosomas acrocéntricos. Se ha sugerido que esta especie de hamster puede haber evolucionado a partir de otros cricétidos o hamsters con número  $2n$  mayor de 40 y con numerosos acrocéntricos, por mecanismos de tipo Robertsoniano tales como fusiones céntricas, translocaciones, etc. (Matthey, 1972).

El caso de *Thomasomys laniger*, *laniger* podría ser análogo a este, pues es una especie con número  $2n = 24$  cuando todas las otras especies reportadas para este género tienen números cromosómicos  $2n$  superiores a 40, sin embargo esta especie, a pesar de su número cromosómico tan pequeño, conserva un número fundamental similar a otras especies de su mismo género.

Esta interesante observación puede servir de base para iniciar una serie de trabajos tendientes a esclare-

cer las relaciones evolutivas del *Thomasomys laniger*, *laniger* con otros grupos afines.

Uno de los pasos más importantes en el estudio cariológico es el establecimiento de similitudes y diferencias en cromosomas por comparación con grupos o especies relacionadas. Es por eso que para iniciar un estudio como éste se hace un análisis detallado de las características del cariotipo, se construyen ideogramas, etc., para lo cual se hace uso de todos los valores absolutos y relativos que sean útiles para la caracterización de cada cromosoma.

Es por esto que se han calculado los valores recíprocos de valor absoluto de la longitud en  $m$  (VAPL), longitud relativa, etc., datos que sirvieron para clasificar y ordenar los cromosomas y para construir el cariograma (Figura 17), que consiste en representar gráficamente las variables de tamaño (VAPL) y de índice de brazo con lo cual se ha comprobado que la división en grupos no fue arbitraria, es decir, que sí hay objetividad en el criterio seguido para la distribución de los grupos.

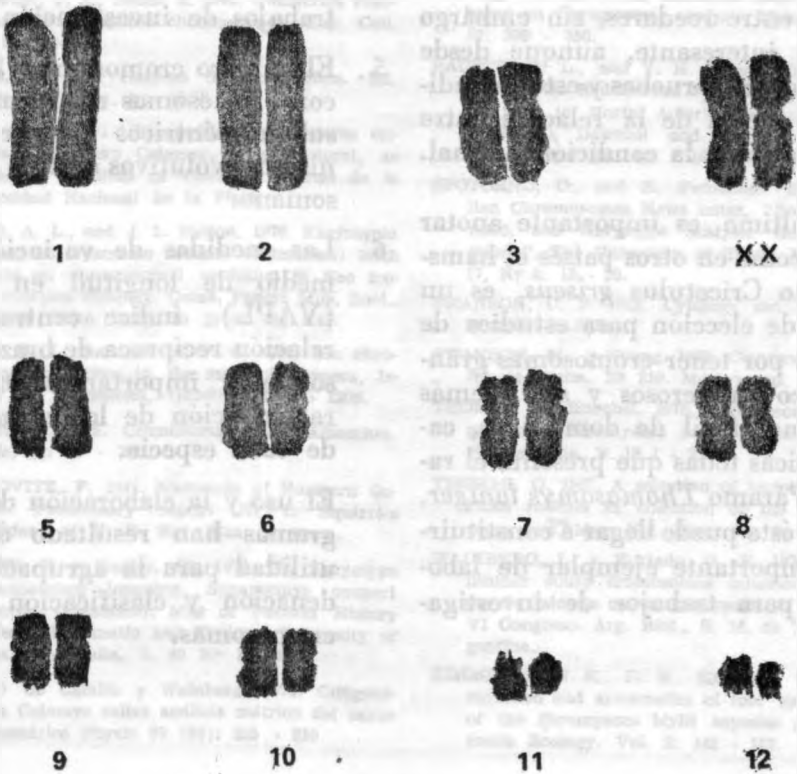
Los pares homólogos no siempre pueden ser reconocidos por simple morfología, pero con la elaboración del cariograma esta distribución es más fácil (Spotorno, 1976). Además con el uso del cariograma se puede detectar con mayor claridad la similitud de cromosomas de especies relacionadas con sólo superponer los cariogramas (Chiarelli, 1962).

La información actual obtenida con este trabajo ilustra las bases cromosómicas que apoyan esta teoría y que podrían resolverse por medio de estudios comparativos a nivel genético y bioquímico, utilizando entre otras técnicas bandeos cromosómico, detección de enzimas, estudios de proteínas, etc.

Las observaciones realizadas en cuanto a características morfológicas del animal mostraron un dimorfismo sexual acentuado en relación con tamaño; la hembra presenta en todas las etapas de su vida, mediciones más pequeñas que los correspondientes para el macho.

Además de los datos obtenidos en relación con los hábitos y costumbres de este animal, es interesante anotar que por lo menos en algunas épocas del año comparten su zona de influencia con otras especies del género *Oryzomys* por lo cual también sería muy interesante realizar estudios ecológicos comparativos a nivel de población que proporcionen información relacionada con la posición de este animal en el complejo faunístico del Páramo. La distribución observada en las diferentes latitudes del Páramo da una idea de los movimientos integrales que realizan estos animales muy posiblemente

FIGURA 10



CARIOTIPO DE *Thomasomys laniger*, laniger HEMBRA

te en combinación natural con cambios estacionales, disponibilidad de alimento, períodos de apareamiento, etc.

Otro aspecto muy interesante fue la observación de hermafroditas funcionales. Una hembra grávida con un sólo embrión en avanzado estado de desarrollo que aunque tenía un útero bicorne, presentaba además un pequeño testículo —este dato fue comprobado histológicamente—. También se observó otro caso en donde había testículos pequeños y útero, trompas y vagina.

Este fenómeno desde el punto de vista genético y evolutivo no parece extraño entre roedores, sin embargo es muy interesante, aunque desde luego requiere pruebas y estudios adicionales acerca de la relación entre esta situación y la condición normal.

Por último, es importante anotar que así como en otros países el hamster chino *Cricetulus griseus*, es un animal de elección para estudios de genética por tener cromosomas grandes, poco numerosos y ser además un animal fácil de domesticar, características todas que presenta el ratón de Páramo *Thomasomys laniger*, éste puede llegar a constituirse en importante ejemplar de laboratorio para trabajos de investigación.

## CONCLUSIONES

Del presente trabajo podemos sacar las siguientes conclusiones:

1. El ratón de Páramo *Thomasomys laniger*, *laniger*, es una especie con cariotipo poco común para ratones y roedores.
2. El número cromosómico es  $2n = 24$  con un número fundamental (NF) de 46.
3. El sexo está determinado cromosómicamente por un par XX para la O y un XY para el macho O.
4. *Thomasomys laniger*, *laniger* (o niveipes) puede ser un magnífico ejemplar de laboratorio para trabajos de investigación.
5. El número cromosómico  $2n = 24$  con cromosomas metacéntricos y submetacéntricos sugiere mecanismos evolutivos de tipo Robertsoniano.
6. Las medidas de variación promedio de longitud en micras (VAPL), índice centromérico, relación recíproca de brazos, etc., son muy importantes en la caracterización de los cromosomas de cada especie.
7. El uso y la elaboración de cariogramas han resultado de gran utilidad para la agrupación, ordenación y clasificación de los cromosomas.



## BIBLIOGRAFIA

- ARRIGHI, F. E. Stock, A. D. y Pathak, S. 1971. Chromosome of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae). V. Evidence of pericentric inversions. The University of Texas. Houston, Rev. Chromosomes Today 10, 323-329.
- BARTALOS, M. & T. A. Baramki. 1972. Citogenética Médica. Ed. Universitaria de Buenos Aires, 21-100.
- BIANCHI, N. O. and J. R. Contreras. 1967. The chromosomes of the field mouse *Akodon azarae* (Cricetidae, Rodentia) with special reference to sex Chromosome anomalies. *Cytogenetics*, 6: 306-313.
- BIANCHI, N. O., O. A. Reig, O. J. Molina, and F. N. Dulout. 1971. Cytogenetics of the South American akodont rodents (Cricetidae). I. A progress report of Argentinian and Venezuelan forms. *Evolution*, 25: 724-736.
- BORRERO, J. I. 1967. Mamíferos Tropicales. Departamento de Biología Universidad del Valle. 243 250.
- CABRERA, A., Yepes. 1961. Catálogo de los mamíferos de América del Sur. *Rev. Mus. Argentino Cien. Nat.* "Berdino Rivadavia", Cien. Zool., 4 (2) 309-732.
- CASPERSSON, T. A., Zeche, L. 1972. Quinacrine Fluorescence of metaphase chromosomes. *Exp. Cell. Res.* 72: 56-57.
- EGOZCUE, J. 1971. Técnicas de citogenética. Ed. Espasa, Barcelona, pp. 10-57.
- FRONZA, T. C. 1971. Citogenética de roedores cricétidos del género *Calomys*. Tesis doctoral, en realización. Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de la Plata.
- GARDNER, A. L., and J. L. Patton. 1976. Karyotypic variation in oryzomine rodents (Cricetidae) With comments on chromosomal evolution in Neo tropical cricetine complex. *Occas. Papers Mus. Zool., Louisiana State Univ.* in press 49: 1-49.
- HAYMAN, D. L. and Martin, P. G. 1968. Sex chromosome mosaicism in the marsupial genera, *Isodon* and *Perameles*. *Genética*, 1201 - 1206.
- HIENZA, H. A. 1975. Cromosomas. Ed. Alhambra. España, pp 23 - 140.
- HERSHKOVITZ, P. 1947. Mammals of Northern Colombia. Preliminary report N° 1: Squirrels (Sciuridae) of U. S. Nat. Mus. in press.
- HOFFMANN, R. y Nadler, Ch. 1976. The Karyotype of southernbog lemming, *Synaptomys cooperi* (Rodentia: Cricetidae). *Mus of Natural History and Dept. Systematic and Ecology, University of Kansas. Mammalia*, t. 40 N° 1: 79-82.
- HURTADO de Catalfo y Wainberg, 1974. Citogenética de *Calomys callus* análisis métrico del cariotipo somático *Physis* 33 (87): 215 - 219.
- HSU, T. C. and J. L. Patton. 1969. Bone Narrow preparations for chromosome Studies. In: Comparative Mammalian Cytogenetics, Ed. Springer.
- HSU, T. C. and Frances E. Arrighi. 1968. Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenetics* 7: 417 - 446.
- HSU, T. C., and K. Benirschke. 1968. An atlas of mammalian chromosomes. Springer - Verlag. N. Y., Vol. 2.
- MARTIN, R. E. y A. F. Deblase. 1968. A manual of Mammalogy sith to Families of the World. Field Museum of Natural History and Roosevelt University. Broun Company Publishers, Texas; 256-292.
- MATTHEY, R. 1973. The Chromosome formulae of eutherian mammals *Mammalia*. 37 (3): 394-421.
- MATTHEY, R. 1972. Cromosomas y evolución. *Triángulo*. 11: (3): 107 - 112.
- MASCARELLO, J. T., A. D. Stock, and S. Pathak. 1974. Conservation in the arrangement of genetic material in rodents. *Mammalia*. 55: 695 - 704.
- NADLER, Ch. F. 1967. Chromosomal evolution in Rodents. *Chromosoma*, 15: 277 - 307.
- PEARSON, O. P., and J. L. Patton. 1976. Relationships Among South American phylotine rodents based on Chromosome analysis. *Mammalogy*. Vol. 57: 339 - 350.
- RAUSCH, R. L., and V. R. Rausch. 1975. Relationships of the Red Backed Vole *Clethrionomys rutilus* (pallas), in North America: Karyotypes of the subspecies Dawsoni and albiventer, *Systematic Zoology* Vol. 24: 163 - 169.
- SPOTORNO, O., and R. Fernández. 1976. Mammalian Chromosomes News letter, "Reciprocal arm-ratio, and Karyotype analysis through karyograma". The University of Texas. Houston, Vol. 17, N° 4: 13 - 20.
- SWANSON, C. P. 1963. *Cytology and Cytogenetics*. Prentice Hall Inc.
- SWANSON, M., y Young. 1972. Citogenética. *Manuales de Uteha*. N° 310. México. pp. 11 - 31.
- THOMAS, H. Knoebel. 1976. Chromosomal Polymorphism in *Peromyscus noveboracensis* of Central Pennsylvania, V. 18 1 - 2.
- THOMAS, O. 1927. A selection of lectotypes of American rodents in collection of the British Museum *Ann. Mag. Nat. Hist.*, ser. 9, 19: 545 - 554.
- WAINBERG, L. y Hurtado, G. E. 1973. Nota preliminar sobre cromosomas mitóticos y meióticos de *Calomys callus*. *Resúmenes de Com. Libres. VI Congreso. Arg. Biol.*, S. M. de Tucumán, Argentina.
- ZIMMERMANN E., C. W. Kilpatrick. 1975. Genetic variation and systematics of four species of mice of the *Peromyscus hylidii* species group. *Systematic Zoology*. Vol. 2: 143 - 162.



**DATOS BIOGRAFICOS:**

de la Dra. Alicia Montenegro Orbes

Nació en Pupiales (Nariño) hace 27 años. Cursó la primaria en el Colegio de María Inmaculada y los secundarios en la normal Superior Pío XII, bajo la dirección de las Religiosas Franciscanas de María Inmaculada de Pupiales. Licenciada en Ciencias de la Educación, con especialidad en Biológicas en la Universidad Javeriana, Magister en biología en la misma universidad en donde presentó su tesis sobre: "Una Población de Ratones de Páramo, *Thomasomys laniger laniger*". El éxito del trabajo de investigación consiste en que la doctora Montenegro Orbes encontró el número cromosómico de estos roedores del páramo de Choachí, pues en tales animales el número cromosómico es de más de 40, mientras que en esta especie descubrió tan solo 24, y en esto radica la originalidad de su trabajo.

Alicia Montenegro Orbes ha trabajado en el magisterio en Pasto y en Bogotá, en esta ciudad fue profesora fundadora del bachillerato nocturno San Juan Bautista de la Salle, directora del Departamento de Ciencias del Colegio Santa Francisca Romana, profesora de tiempo parcial de la Universidad Pontificia Javeriana y secretaria de información en el Senado de la República. Vocal de la Junta Directiva de "Exalumnos Javerianos Educadores".

# Aseguradora del Valle

Compañía de Seguros de Vida, S. A.

Un nuevo sentido del Servicio en Seguros

20 Años su Seguro a manos llenas

Carrera 10ª N° 24-55 - Teléfono 2 82 55 55

Bogotá, D.E.