

CA 1

REARREGLOS ESTRUCTURALES EN CROMOSOMAS HOLOCINÉTICOS: UN CASO FRECUENTE DE EVOLUCIÓN CROMOSÓMICA EN ESCORPIONES BUTHIDAE

Mola L.M.¹, A.A. Ojanguren Affilastro², R.S. Adilardi¹.

¹Laboratorio de Citogenética y Evolución, Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires, DEGE, FCEN (CONICET-UBA), CABA, Argentina. ²División de Aracnología, Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", CONICET, CABA, Argentina.
Email: lilimola@yahoo.com.ar

En los artrópodos con cromosomas holocinéticos, los principales mecanismos de evolución del cariotipo son las fusiones y fragmentaciones. En la gran mayoría de estos grupos los rearrreglos se encuentran en homocigosis, formando bivalentes en meiosis. Los escorpiones de la familia Buthidae constituyen una excepción a esta regla, ya que en las especies donde se estudió la meiosis es muy frecuente la presencia de multivalentes. En esta familia el género *Tityus* (Koch 1836) es el que tiene mayor número de especies analizadas; presenta gran variación en el número diploide y una alta incidencia de rearrreglos cromosómicos en heterocigosis. Hemos estudiado la meiosis en poblaciones de cuatro especies de *Tityus*, *Ananteris balzanii* (Thorell, 1891) y *Zabius fuscus* (Thorell, 1876) provenientes de las provincias de Entre Ríos, Corrientes, Córdoba, Formosa y Jujuy (Argentina). Este estudio mostró la presencia de polimorfismos o politipismos para el número cromosómico o las configuraciones meióticas en las seis especies, observándose desde III hasta multivalentes implicando todos los cromosomas del complemento. Los resultados que hemos obtenido en Buthidae, junto con los estudios publicados en otras especies de la familia muestran que 31, de 50 especies, presentan multivalentes en meiosis I en una o varias poblaciones indicando que los principales mecanismos de evolución cromosómica son las fusiones y las translocaciones recíprocas en heterocigosis. La presencia de multivalentes indicaría la existencia de genes coadaptados asociados a los rearrreglos con ventaja adaptativa en distintos ambientes.

CA 2

CYTOGENETIC ANALYSIS OF SIX POPULATIONS OF *Tityus mattogrossensis* (SCORPIONES: BUTHIDAE)

Mattos V.F.¹, M.A. Carvalho², M.C. Schneider³. ¹Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Biología, UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brasil. ²Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Biociências, Departamento de Biología e Zoología, UFMS, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. ³Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Ciências Biológicas, UNIFESP, Diadema, São Paulo, Brasil.
Email: vivianefagundesmn@hotmail.com

Tityus mattogrossensis is an endemic scorpion from Brazil central regions. With the aim to accomplish a populational cytogenetic analysis, samples of *T. mattogrossensis* from six localities were examined in order to determine the diploid number, chromosome behavior during meiosis and localization of repetitive DNA sequences. Spermatogonial metaphase cells showed $2n=20$ in specimens from five populations, with the exception of the individuals from Cuiabá that presented an interpopulational variation in the diploid number, $2n=19$. All individuals exhibited holocentric chromosomes that decreased in size. In three populations, the postpachytene cells showed only bivalents (9 or 10) with chromosomes disposed side by side. However, in three other populations, these cells presented also eight bivalents plus one chromosome chain composed by four chromosomes. Metaphase II cells revealed the correct segregation and disjunction of the chromosomes during the anaphase I, once they presented $n=9$ and $n=10$ ($2n=19$), and $n=10$ ($2n=20$). Mitotic metaphase cells submitted to silver impregnation exhibited two nucleolar organizer regions localized on terminal/subterminal chromosome regions. The FISH with 28S rDNA probe in meiotic cells revealed clusters in the terminal region of one bivalent-like element independent of the meiotic configuration. FISH with TTAGGn probe exhibited typical telomeric signals in pachytene cells. This study showed that despite the variation in the diploid number and the presence of multivalent associations, there is no chromosome variability among populations.

CA 3

CYTOGENETIC ANALYSIS AND MASSIVE SEQUENCING TO ACCESS THE CONTENT AND ORIGIN OF B CHROMOSOMES IN *Characidium gomesi* (TELEOSTEI, CHARACIFORMES)

Serrano E.A.¹, R. Utsunomia¹, D.M.Z.A. Silva¹, F.J. Ruiz-Ruano², C. Oliveira¹, J.P.M. Camacho², F. Foresti¹. ¹Departamento de Morfología, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Junior, Botucatu, São Paulo, Brazil. ²Departamento de Genética, Universidad de Granada, Granada, Spain.
Email: ericaserrano@ibb.unesp.br

B chromosomes are genetic parasite elements composed primarily of repetitive DNA sequences, and the knowledge of its origin has been widely sought. In the present study the origin of the B chromosome system in the fish species *Characidium gomesi* was investigated in multiple approaches involving cytogenetic, nucleotide analyses, and Illumina sequencing of 0B and 4B individuals. The next-generation sequencing permitted to isolate 51 satellite DNA sequences (satDNA CG1 - CG51), being 4 overrepresented in the 4B library and used in FISH experiments. In addition, histone H3 sites and 5S rDNA sequences were also amplified from microdissected B chromosomes. FISH analyses revealed that: i) some satDNA are distributed in the A set, B and sex chromosomes; ii) one satDNA is restricted to sex and B chromosomes; and iii) one satDNA is limited to the supernumerary element. The comparison of H3 histone and 5S rDNA sequences found in A and B chromosomes revealed a high-level of similarity among them, indicating a possible intraspecific origin of the B chromosome system in this species. The results obtained seems to indicate that after its origin in sex chromosomes, several satDNA sequences were amplified and spread out on the B chromosome, following the Muller's ratchet mechanism of evolution. Instead, the H3 histone gene isolated from the A and B chromosomes showed identical amino acid residues, suggesting that this conserved multigene family has been transferred into this element and still remains potentially active, bringing new insights into the B chromosomes evolution.

CA 4

THE GENIC DELIMITATION OF INVERSIONS BREAKPOINTS IN *Drosophila willistoni* BY CYTOGENETIC AND CYTOGENOMIC APPROACHES

García C.^{1,2}, A. Delprat², B. Goñi³, A. Ruiz², V.L.S. Valente¹.

¹Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. ²Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Biociències, Universitat Autònoma de Barcelona, España. ³Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
Email: cafagibio@hotmail.com

Drosophila willistoni is a Neotropical species and had its genome sequenced (strain Gd-H4-1 from Caribbean) in 2007. With its available genome, and the extensive knowledge of yours polymorphism, a vast field of new explorations about the genesis of inversions arises to this species. The present analysis aimed to characterize the IIL-H chromosomal inversion breakpoints in *D. willistoni*. For this purpose the Gd-H4-1 strain and the Uruguayan strain SG12.00, which is homozygous for this inversion, has been used. The establishment of 18 probes mapped by non-fluorescent *in situ* hybridization, to confirm the order and orientation of scaffolds in the chromosome II of the Gd-H4-1 strain showed that, in contrast to the current homologies, in *D. willistoni* chromosome arms IIL and IIR correspond to Muller elements B and C, respectively. With a clear definition about the genome assembly of the chromosome II, we have established the planning and the choice of probes for genic and intergenic sequences, and their physical mapping by non-fluorescent *in situ* hybridization to determine the genes flanking the distal and proximal breakpoints of the IIL-H inversion. It was found that the distal breakpoint of the IIL-H inversion occurs between the genes *Dwil*\GK21048 and *Dwil*\GK21115 in both strains. In turn, the delimitation of the IIL-H proximal breakpoint showed that this breakpoint is involved with the reuse of a 1.212 pb sequence by the distal breakpoint of the IIL-F inversion, and is also involved with the duplication of this same sequence.

CA 5

EXPLORING THE REPETITIVE DNA LANDSCAPE IN CHAGAS DISEASE VECTOR SPECIES BY NEXT GENERATION SEQUENCING

Pita S.¹, P. Lorite², P. Mora², J. Vela², T. Palomeque², F. Panzera¹.
¹Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ²Departamento de Biología Experimental, Área de Genética, Universidad de Jaén, España.
 Email: spita@fceien.edu.uy

We realize a genome-wide analysis to determinate and compare the repetitive DNA fraction components, named repeatome, between two divergent *Triatoma* species: *T. infestans* from South America and *T. rubrofasciata* from Vietnam. In both species, repetitive DNA content represent 20 to 40 % of the total genome, similar to that observed in other insects with holocentric chromosomes, such as the pea aphid or *Bombyx mori*. However, satellite DNA sequences are by far the main repeatome component in *Triatoma* species, being 17 to 30 % of the total genome, contrasting with the other two insect species where transposable elements are majority. Considering that satDNA sequences are usually associated with centromeres and pericentromeric areas, their high frequency in *Triatoma* species with non-localized centromere is very surprising. We have mapped by FISH more than 10 satDNA families per genome, including motifs between 2 to 1102 bp. We recognized 3 chromosome location patterns: (a) satDNA families on autosomal heterochromatin: involving C-heterochromatic autosomal regions; (b) satDNA families on all heterochromatin: including the C-heterochromatic autosomal regions and also the heterochromatic Y chromosome; (c) Euchromatic satDNA families: encompassing autosomal regions plus euchromatic X chromosomes. Our analysis on repetitive DNA denotes that holocentric chromosomes organization could be very different among insect groups. In addition, repeatome analyses allow us to shed light on the understanding of the divergence between Chagas disease vectors genomes.

CA 6

DISTRIBUCIÓN DE LOS CLUSTERS DE RDNA 18S EN ESPECIES DE LA FAMILIA FURNARIIDAE-AVES PASSERIFORMES

De Lima V.L.C.¹, R. Kretschmer², T.D. De Oliveira¹, M.S. De Souza¹, N.A. Bertocchi¹, S.A. Barcellos³, E.H.C. De Oliveira^{4,5}, R.J. Gunski¹, A.D.V. Garnero¹. ¹Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, PPGCB, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil. ²Programa de Pós Graduação em Genética e Biología Molecular, PPGGBM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. ³Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil. ⁴Laboratório de Cultura e Tecidos e Citogenética, SAMAM, Instituto Evandro Chagas Ananindeua, Pará, Brasil. ⁵Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil.
 Email: bio.vanusa@gmail.com

Un marcador cromosómico importante es la definición del número y localización de regiones génicas rDNA 18S en el cariotipo. Estos genes son altamente conservados en todos los organismos y están involucrados con actividades catalíticas, organizacionales y de regulación de la síntesis proteica en todas las células. En aves, las secuencias rDNA 18S son encontradas en un par de microcromosomas en las especies basales (Paleognatas), pero puede variar de uno a tres pares en otros grupos más derivados como en Passeriformes. El objetivo fue analizar la distribución de los clusters del gene rDNA 18S en seis especies de la familia Furnariidae: *Furnarius rufus*, *Cranioleuca obsoleta*, *Synallaxis frontalis*, *Synallaxis albescens*, *Syndactyla rufosuperciliata* y *Anumbius annumbi*. Para la obtención de cromosomas metafásicos fueron utilizados los métodos de cultivo de fibroblastos de biopsia de piel y cultivo de médula ósea de corta duración. Para los experimentos de hibridación *in situ* fluorescente fueron utilizadas sondas rDNA 18S. En las especies analizadas los clusters ribosomales se localizan en un par de microcromosomas, sugiriendo una característica plesiomórfica, ya que también fueron encontrados en especies basales. Esta no es una característica restringida a la familia Furnariidae, visto que la presencia de apenas un par de microcromosomas portadores de rDNA 18S también fue documentada en otras familias como Thraupidae y Estrilidae. Concluyese que el número de clusters de rDNA 18S es un carácter que se mantuvo conservado en especies pertenecientes a diferentes Órdenes de aves.

CA 7

ACUMULACIÓN DIFERENCIAL DE SECUENCIAS MICROSATÉLITES EN EL CROMOSOMA W DE *Nyctibius griseus* (AVES, CAPRIMULGIFORMES)

De Souza M.S.¹, R. Kretschmer², T.D. De Oliveira¹, V.L.C. De Lima¹, N.A. Bertocchi¹, S.A. Barcellos³, E.H.C. De Oliveira^{4,5}, A.D.V. Garnerio¹, R.J. Gunski¹. ¹Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pampa, RS, Brasil. ²Programa de Pós Graduação em Genética e Biología Molecular, PPGGBM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. ³Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil. ⁴Laboratório de Cultura e Tecidos e Citogenética, SAMAM, Instituto Evandro Chagas Ananindeua, Pará, Brasil. ⁵Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil. Email: marcelodesouzabio@gmail.com

Microsatélites o secuencias simples repetidas (SSRs) son pequeñas secuencias con 1 a 6 pares de bases repetidas en tándem y encontradas en el genoma de todos los eucariotas. Utilizando la técnica de hibridización *in situ* fluorescente (FISH), se observó un gran acúmulo de diferentes SSRs en cromosomas sexuales de plantas, réptiles, algunos mamíferos y peces, demostrando que la dinámica de acumulación de estas secuencias está relacionada a la heterocromatinización de los cromosomas. El objetivo de este trabajo fue identificar la distribución de secuencias de microsatélites con énfasis en los cromosomas sexuales de la especie *Nyctibius griseus* (Caprimulgiformes). Las preparaciones cromosómicas fueron realizadas a través de cultivo de médula ósea de corta duración. Para los experimentos de FISH se utilizaron sondas (CAA)10, (CAG)10 y (GAG)10 marcadas directamente con avidina-CY3. La sonda (CAA)10 se observó en acúmulos en la región pericentromérica del brazo largo (q) del cromosoma W, además de algunos microcromosomas. La sonda (CAG)10 también marcó un gran bloque en la región pericentromérica (brazo corto) del mismo cromosoma. La Sonda (GAG)10 se distribuyó en las regiones intersticial de los brazos p y q, y en la extremidad del brazo q del cromosoma W. Desde el punto de vista citogenético es posible inferir que el cromosoma W del Urutau pasó por un proceso de acúmulo de secuencias repetitivas, lo que explicaría el aumento de tamaño del mismo con relación a otros grupos de Aves.

CA 8

PRIMER REGISTRO CARIOTÍPICO DE *Spizaetus melanoleucus* (AVES: ACCIPITRIDAE) DE LA PROVINCIA DE MISIONES

Figueredo H.S.¹, V.B. Engelmann¹, M.A. Ledesma¹. ¹Laboratorio de Genética Animal, Parque Ecológico "El Puma", MEyRNR, Candelaria, Misiones, Argentina. Email: hernangenetica@gmail.com

La provincia de Misiones presenta una gran diversidad de aves, sin embargo la intensa deforestación producida en las últimas décadas ha puesto en situación de riesgo el hábitat de un gran número de especies. Por esto, el objetivo del presente trabajo fue realizar un nuevo aporte al conocimiento citogenético de una especie que se encuentra en un estado de conservación vulnerable. Se realizó cultivo de linfocitos de larga duración a partir de extracción de sangre periférica de un ejemplar juvenil de *Spizaetus melanoleucus*, en el Parque Ecológico "El Puma", Candelaria, Misiones. Se realizaron bandeos NORs y fueron contadas 30 metafases. Esta especie presentó un $2n = 86$ cromosomas, los 12 primeros pares corresponden a macrocromosomas, y los restantes son microcromosomas. Entre los macrocromosomas los pares 1 y 2 son submetacéntricos, 3 y 4 son metacéntricos y los restantes son subtelocéntricos. El cromosoma sexual Z es un submetacéntrico mediano y el W es un metacéntrico pequeño. Las regiones organizadoras del nucléolo se observaron en el par de macrocromosomas número 5; lo cual demuestra que estos elementos no sólo suelen encontrarse en los microcromosomas. El elevado número diploide en esta especie indica una gran variabilidad cromosómica dentro de la familia Accipitridae. Estudios previos en las otras dos especies de *Spizaetus*, presentaron un número cromosómico inferior. Estos cambios pudieron ser provocados por reordenamientos que hayan influenciado en la marcada diferencia existente en el número cromosómico de estas especies.

CA 9

MOLECULAR PHYLOGENY AND CYTOGENETICS REVEAL PUTATIVE CRYPTIC SPECIES OF *Wiedomys* (SIGMODONTINAE, RODENTIA) FROM CAATINGA BIOME, ALAGOAS STATE, BRAZIL

Di Nizo C.B.¹, E.Y. Suárez-Villota^{1,2}, A.L.C.P. Nascimento³, M.J.J. Silva¹. ¹Laboratorio de Ecología e Evolução, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brazil. ²Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. ³Museu de História Natural, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Brazil.
Email: camilladinizo@gmail.com

Wiedomys is the unique extant genus of the Tribe Wiedomyini. Currently, two allopatric species with different karyotypes are recognized: *W. pyrhorhinus*, endemic in the Caatinga, with $2n=62$, FN=86 and 90, and *W. cerradensis*, endemic in the Cerrado, with $2n=60$, FN=88. Herein molecular phylogeny from sixteen representatives of *Wiedomys* collected in Cerrado and Caatinga from five Brazilian states (Tocantins, Piauí, Bahia, Pernambuco and Alagoas) were obtained. DNA was extracted from liver and cytogenetic data was obtained from bone marrow and spleen. Seven representatives from Delmiro Gouveia, a preserved area of Caatinga, Alagoas state, presented $2n=62$ and FN=86, the same karyotype described previously for *W. pyrhorhinus* from Pernambuco state. However, Maximum Likelihood and Bayesian analyses using 797 bp of the cytochrome-b gene recovered from samples of Alagoas in the *W. cerradensis* clade (100 ML/ 1 PP). Based on this, the population from Alagoas could represent a putative candidate species, and therefore *W. cerradensis* would not be monophyletic. Consequently, the karyotype with $2n=62$, FN=86, would not be exclusive for *W. pyrhorhinus*. More studies involving nuclear markers and morphology are important to test these hypotheses. Our data evidenced *Wiedomys* as a poorly known genus and Caatinga biodiversity deserves to be more studied and conserved.

CA 10

ANÁLISIS DE LA SEGREGACIÓN DE CROMOSOMAS ROBERTSONIANOS (RB) EN HETEROCIGOTOS MÚLTIPLES DE *Mus m. domesticus* $2n=32$

Ayarza E.^{1,2}, R. Fernandez-Donoso¹, S. Berrios¹. ¹Programa Genética-ICBM, Fac. de Medicina, Universidad de Chile. ²Departamento de Tecnología Médica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
Email: sberrios@med.uchile.cl

En los heterocigotos Rb se ha observado mayoritariamente gametos cromosómicamente balanceados, lo que ha permitido inferir que durante la meiosis prevalece la segregación alterna sobre la segregación adyacente. A su vez se ha propuesto que en los heterocigotos múltiples la segregación de los cromosomas metacéntricos Rb es preferente respecto de la de los telocéntricos. Nos propusimos abordar este problema para lo cual estudiamos el número y la calidad de los cromosomas mitóticos de los descendientes de cruzamientos entre heterocigotos $2n=32$ con 8 cromosomas metacéntricos Rb, y homocigotos $2n=40$ o $2n=24$, y sus cruzamientos recíprocos. En los descendientes de los 4 tipos de cruzamientos se encuentran frecuencias variables de entre 0 y 8 cromosomas metacéntricos Rb provenientes del parental híbrido. Actualmente el número total de 60 individuos analizados no demuestra una segregación preferente de los cromosomas Rb por sobre los telocéntricos. Llama la atención sin embargo, que el 25 % de los descendientes de machos heterocigotos sea portador del máximo de 8 cromosomas Rb, en cambio el 83 % de descendientes de hembras heterocigotas tiene entre 3 y 5 cromosomas Rb. Aparentemente es diferente la segregación meiótica de cromosomas Rb entre machos y hembras aunque será necesario aumentar el número de individuos para poder alcanzar conclusiones respecto de la hipótesis que afirma que en las hembras heterocigotas ocurre una segregación preferente de metacéntricos Rb respecto de los cromosomas telocéntricos.