



Universidad de Buenos Aires

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales Departamento de Ecología, Genética y Evolución

**Dinámica del genoma en primates neotropicales: perfil  
composicional de la cromatina en  
*Cebus, Ateles y Aotus***

Tesis presentada para optar por el título de Licenciada en Ciencias Biológicas

Autora: Jazmín Stramelini  
Directora: Dra. Eliana Ruth Steinberg

Grupo de Investigación en Biología Evolutiva Departamento de Ecología, Genética y Evolución Universidad de Buenos Aires

Abril 2024

Jazmin Stramelini

Dra. Eliana Ruth Steinberg  
Investigador Adjunto CONICET  
GIBE - IEGEBA - UBA

# Agradecimientos

---

Este trabajo de Tesis no hubiese podido ser realizado sin el financiamiento de la Universidad de Buenos Aires por medio del subsidio UBACyT 20020170100261BA 2018- 2022 dirigido por las Dras. Marta Dolores Mudry y María José Bressa, y el CONICET por medio del subsidio PIP 2022-2024 N° 11220200102468CO dirigido por las Dras. María José Bressa y Eliana Ruth Steinberg.

Agradezco al Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), perteneciente al Departamento de Ecología, Genética y Evolución de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires y al Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEB) del CONICET. A mi directora Eliana, por recibirme en el laboratorio y mostrarme un lado de la primatología nuevo para mí. A Marta, por el tiempo y la predisposición de realizar sugerencias en cada etapa de realización de esta Tesis. A María José, gracias por enseñarme y ayudarme con la metodología estrella de este trabajo y por revisar minuciosamente cada metafase armada. A Daniela y a Lila, por las charlas entre trabajo de mesada y almuerzo.

Al Proyecto Caí, a Clara, Stephanie, Paula, a todos, por la oportunidad de conocer a los monos en primera persona, aprendí un montón.

A mamá y a papá, gracias. Sé que aunque no me esté recibiendo estarían orgullosos de mí. A mis hermanos, gracias por aguantar mi intensidad. A mi abuela Rosa, por estar presente. A mi abuela Ana, ojalá hubieses sabido qué iba a estudiar. A mi tía Negra, nos vemos poco pero hasta desde la distancia demostrás interés. Los amo.

A Lu y Mel, porque están desde hace años en cada momento y cada detalle. A Belén, por ser más que una “amiga de la facultad”. Las quiero a montones.

A las “biólogas del conurbano”, supieron hacer cada cursada más amena. El viaje es largo, pero se llega (aplica también al viaje hasta la facultad, por supuesto).

A cada uno de ustedes, gracias. Sepan disculpar lo escueto de mi agradecimiento, espero no olvidarme a nadie, cada uno sabrá personalmente por qué estoy agradecida.

Con esta Tesis doy fin a una etapa, a por la próxima gran aventura (agarrate Jezabel).

# Índice

<b>Resumen</b>	<b>3</b>
<b>Introducción</b>	<b>8</b>
Estructura y organización del genoma	9
Organización del genoma en isocoros	11
Propiedades de los isocoros	12
Isocoros y bandas cromosómicas	14
Origen y evolución de los isocoros	17
Introducción al modelo de estudio	21
Familia Atelidae	24
Familia Cebidae	26
Estudios del genoma en primates	29
<b>Objetivos e Hipótesis</b>	<b>32</b>
<b>Materiales y Métodos</b>	<b>34</b>
Muestras biológicas	35
Preparaciones cromosómicas	36
Tinción estándar	37
Tinción diferencial	37
Obtención del perfil composicional	40
<b>Resultados</b>	<b>42</b>
Determinación del índice mitótico y número modal	43
Caracterización cariotípica	43
Composición nucleotídica	50
Análisis interespecífico de la composición nucleotídica	55
Análisis del perfil composicional	57
<b>Discusión y Conclusiones</b>	<b>100</b>
Composición del genoma	101
Conservación de isocoros	104
Conclusiones generales	111
<b>Referencias Bibliográficas</b>	<b>112</b>
<b>Anexo Soluciones</b>	<b>124</b>
<b>Anexo Resultados</b>	<b>128</b>

# Resumen

---

La arquitectura nuclear, entendida como la organización temporal y espacial del genoma en el núcleo celular, es determinante en la función del genoma y en la regulación de los distintos procesos nucleares. Los isocoros, regiones genómicas que difieren significativamente entre sí en su composición nucleotídica y se hallan distribuidas desigualmente en los cromosomas, implican una nueva forma de estudiar y entender cómo se organiza el genoma. Éstos se dividen en dos familias: las familias de isocoros L (L1 y L2) pobres en GC y las familias de isocoros H (H1, H2 y H3) ricas en GC. La densidad génica, los niveles de transcripción, la condensación de la cromatina, entre otras, son algunas de las propiedades estructurales y funcionales del genoma que resultan opuestas entre ambas familias de isocoros y que dependen exclusivamente de su composición nucleotídica.

Estudios en distintos grupos taxonómicos evidenciaron un perfil composicional diferencial, entendido éste como la distribución de los isocoros en el genoma, sugiriendo que el contenido en GC de los isocoros podría ser el resultado y, a su vez, estar sometido a la acción de la selección natural. Estos patrones de composición nucleotídica determinan fenotipos genómicos que pueden ser similares en especies filogenéticamente cercanas y cuyo estudio nos permite analizar diferencias en la composición nucleotídica de las distintas especies y los posibles procesos evolutivos implicados. En este trabajo de Tesis se estudiaron ejemplares pertenecientes a tres especies de primates neotropicales: el mono araña de cara negra, *Ateles chamek* (ACH), el mono mirikiná, *Aotus azarae* (AAZ) y el mono caí de las yungas, *Cebus cay* (CCY). El objetivo fue estudiar la estructura y organización cromosómica de estas especies analizando sus perfiles composicionales para así interpretar la implicancia de estas regiones en la reorganización de la arquitectura cromosómica en sus cariotipos.

Los fenotipos genómicos se estudiaron a través de metodologías citomoleculares, e.g. bandas secuenciales fluorescentes 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) y cromomicina A<sub>3</sub> (CMA<sub>3</sub>), que permiten detectar regiones ricas en AT y GC respectivamente debido a la afinidad de estos fluorocromos con estas regiones cromatínicas. Dado que para los primates neotropicales se conocen las homeologías cromosómicas con los humanos y que para los cromosomas humanos se conoce el perfil composicional, fue posible inferir el perfil composicional de los monos del Nuevo Mundo en estudio a partir de la información obtenida del análisis de los patrones de bandas fluorescentes DAPI/CMA<sub>3</sub> y de bandas G. La localización y distribución de los pares de base AT/GC obtenidos se comparó con lo analizado previamente para distintas especies de monos aulladores (género *Alouatta*).

En las tres especies analizadas, tanto las bandas DAPI+ como las CMA<sub>3</sub>+ se distribuyeron de manera alternada en los cromosomas. Las regiones ricas en GC se

observaron en su mayoría en telómeros, mientras que las regiones pobres en GC se encontraron en su mayoría en posición intersticial y pericentromérica, tal como se distribuyen en el cariotipo humano.

A nivel interespecífico, *Ateles chamek* comparte un mayor número de regiones ricas en GC con *Alouatta caraya*, coincidiendo en 16 pares cromosómicos, mientras que con *Alouatta pigra* y *Alouatta guariba clamitans* se observó conservación en 8 y 6 pares cromosómicos respectivamente. En Cebidae, dado que no fue posible obtener resultados del perfil composicional para *Cebus cay*, el patrón de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> de *Aotus azarae* se comparó con lo obtenido previamente en el GIBE para *Cebus nigritus*, especie con cariotipo similar al de *Cebus cay*. Entre *A. azarae* y *C. nigritus* se halló conservación de regiones ricas en GC en 24 pares cromosómicos.

Si bien algunas regiones homeólogas mostraron un patrón de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> en concordancia con el patrón de isocoros en humanos, en otras regiones las diferencias observadas sólo serían interpretables por el surgimiento *de novo* y/o pérdida de isocoros. A pesar de los extensivos reordenamientos cromosómicos descritos en *A. chamek* y *A. azarae*, en ambas se observó una alta conservación de los isocoros descritos en el genoma humano, en especial en sintenias de importancia evolutiva. Las diferencias en los perfiles composicionales de las especies estudiadas podrían explicarse no sólo por los reordenamientos cromosómicos ocurridos en los linajes de estas especies, sino también por una posterior diversificación de la composición nucleotídica que podría ser explicada por diversos procesos que modulan la variación en secuencias repetitivas, tales como la evolución concertada. Nuestros resultados sugieren la posible existencia de patrones evolutivos especie-específicos a nivel de la composición nucleotídica y de la arquitectura cromatínica.

## **“Genome dynamic in Neotropical Primates: chromatin compositional patterns in *Cebus*, *Ateles* and *Aotus*”**

Nuclear architecture, understood as the temporal and spatial organization of the genome in the cell nucleus, is crucial in genome function and the regulation of various nuclear processes. Isochores, genomic regions that differ significantly in their nucleotide composition and are unevenly distributed on chromosomes, imply a new way to study and understand how the genome is organized. These are divided into two families: GC- poor L isochore families (L1 and L2), and GC- rich H isochore families (H1, H2, and H3). Gene density, transcription levels, chromatin condensation, among others, are some of the structural and functional properties of the genome that are opposite between both isochore families and depend exclusively on their nucleotide composition.

Studies in different taxonomic groups have shown a differential compositional pattern, understood as the distribution of isochores in the genome, suggesting that the GC content of isochores could be the result and, in turn, subject to the action of natural selection. These patterns of nucleotide composition determine genomic phenotypes, which may be similar in phylogenetically close species, and their study allows us to analyze differences in the nucleotide composition of different species and the possible evolutionary processes involved. In this thesis work, specimens belonging to three species of Neotropical primates were studied: the black-faced spider monkey, *Ateles chamek* (ACH), the Azara's night monkey, *Aotus azarae* (AAZ), and the black-capped capuchin, *Cebus cay* (CCY). The objective was to study the structure and chromosomal organization of these species by analyzing their compositional pattern to interpret the implication of these regions in the reorganization of chromosomal architecture in their karyotypes.

Genomic phenotypes were studied through cytomolecular methodologies, such as sequential fluorescent banding with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) and chromomycin A<sub>3</sub> (CMA<sub>3</sub>), which allow the detection of regions rich in AT and GC, respectively, due to the affinity of these fluorochromes with these chromatin regions. Since the chromosomal homeologies with humans are known for Neotropical Primates and the compositional pattern is known for human chromosomes, it was possible to infer the compositional pattern of the New World monkeys under study from the information obtained from the analysis of DAPI/CMA<sub>3</sub> fluorescent band patterns and G-banding. The localization and distribution of the AT/GC base pairs obtained were compared with the analysis previously conducted for different species of howler monkeys (genus *Alouatta*).

In all three analyzed species, both DAPI+ and CMA<sub>3</sub>+ bands were distributed alternately on the chromosomes. GC-rich regions were mostly observed at telomeres, while GC-poor regions were mostly found in interstitial and pericentromeric positions, similar to their distribution in the human karyotype. Furthermore, DAPI+ bands largely colocalized with positive G-bands on the chromosomes. Some homeologous regions were conserved, while others showed *de novo* emergence and/or loss of isochores compared to humans.

At the interspecific level, *Ateles chamek* shares a greater number of GC-rich regions with *Alouatta caraya* than with the rest of the howler monkeys studied, coinciding on 16 chromosomal pairs. Since it was not possible to obtain compositional pattern results for *Cebus cay*, the DAPI/CMA<sub>3</sub> banding pattern of *Aotus azarae* was compared with that previously obtained for *Cebus nigritus*, revealing conservation of GC-rich regions between these two species on 24 chromosomal pairs.

While some homeologous regions showed a DAPI/CMA<sub>3</sub> banding pattern consistent with the isochore pattern in humans, in others, the observed differences could only be interpreted by the emergence of *de novo* and/or loss of isochores. Despite extensive chromosomal rearrangements in *A. chamek* and *A. azarae*, both showed a high conservation of the isochore regions described in the human genome, especially in evolutionarily important synteny. The differences in the compositional patterns of the studied species could be explained not only by the chromosomal rearrangements that occurred in the lineages of these species but also by a subsequent diversification of nucleotide composition, which could be explained by various processes that modulate variation in repetitive sequences, such as concerted evolution. Our results suggest the possible existence of species-specific evolutionary patterns at the level of nucleotide composition and chromatin architecture.



# Introducción

---

## Estructura y organización del genoma

Desde su primera aparición, el término “genoma” recibe varias interpretaciones, ya sea como el conjunto cromosómico haploide (*Winkler, 1920*), el conjunto de genes (*Lederberg y McCray, 2001*), o la simple secuencia primaria de ADN que caracteriza una especie (*Filipski y Kumar, 2005*). Más recientemente se incorporaron otras variables de análisis y es así que el estudio del genoma hoy implica el análisis de varios niveles de organización, desde su composición nucleotídica y los genes que lo constituyen hasta el empaquetamiento del ADN en cromatina y su nivel de mayor grado de condensación, los cromosomas (*Felsenfeld y Groudine, 2003; Rowley y Corces, 2018; Maeshima y Babokhov, 2019*). Para su análisis o estudio, los genomas pueden ser considerados en el contexto de lo que se conoce como **arquitectura nuclear**: su organización temporal y espacial en el núcleo celular (*Misteli, 2005*). La estructura y organización del núcleo celular son determinantes en la función del genoma y en la regulación de distintos procesos nucleares: la replicación del ADN, la expresión génica, la recombinación y la sinapsis, entre otros (*Cremer y Cremer, 2001; Fraser y Bickmore, 2007; Schneider y Grosschedl, 2007*).

Un aspecto fundamental del núcleo celular es su heterogeneidad dada por la presencia de compartimentos nucleares, es decir, regiones macroscópicas en el núcleo que son morfológica y/o funcionalmente distintas de su alrededor (*Misteli, 2005*). Un ejemplo de esto lo componen los dominios de cromatina, que son evidenciados por el método de captura de la conformación de la cromatina o el método Hi-C, que permiten estudiar la conformación tridimensional de la cromatina con mayor precisión (*Dekker et al., 2002; Lieberman-Aiden et al., 2009*). Estos dominios, espacialmente compartimentalizados, se definen frecuentemente en relación a su ubicación respecto a estructuras distintivas del núcleo como la lámina nuclear (*Gonzalez-Sandoval y Gasser, 2016*). Los denominados Dominios Asociados Topológicamente (*TADs*, por sus siglas en inglés), constituyen unidades de cromatina que interactúan entre sí y pueden clasificarse en dos compartimentos: el compartimento “A”, activo transcripcionalmente y caracterizado por una replicación temprana, y el compartimento “B” que incluye genes inactivos y se correlaciona con una replicación tardía (*Lieberman-Aiden et al., 2009; Ryba et al., 2010; Dixon et al., 2016*). Los *TADs* que se encuentran más espacialmente alejados se asocian preferentemente a la lámina nuclear, poseen menor expresión génica y se los ha definido como Dominios Asociados a la Lámina Nuclear (*LADs*, por sus siglas en inglés) (*Guelen et al., 2008*). Estos dominios de cromatina se ensamblan en compartimentos cromatínicos de mayor orden. Este nivel de organización es evidente en la distinción de la cromatina en heterocromatina, que contiene regiones del genoma más altamente condensadas, y eucromatina, que consiste en regiones menos

condensadas (Shopland et al., 2006; Misteli, 2020). Su clasificación en conformación “abierta” y “cerrada” (i.e. eucromatina y heterocromatina) sugiere a la primera como la región de la cromatina que se transcribe y a la segunda como aquella que sería inactiva transcripcionalmente (Heitz, 1928). Esta clasificación resulta limitada, dado que Gilbert y colaboradores (2004) encontraron una relación entre la estructura de la cromatina y la densidad génica, independientemente de la actividad génica. Si bien sectores de cromatina cerrada se correlacionan con una menor densidad génica, pueden presentar genes transcripcionalmente activos (Gilbert et al., 2004). La comparación entre los arreglos de cromatina en el núcleo de distintas especies provee información crucial acerca de la arquitectura nuclear (Neusser et al., 2007).

A través de la asociación a distintas proteínas durante el estadio de metafase del ciclo celular, el ADN se compacta en una estructura cromatínica de mayor orden, i.e. los cromosomas. Los cromosomas están constituidos por fibras de cromatina de 30 nm, que se pliegan sobre sí formando bucles (“loops”, en inglés) y se unen a la matriz nuclear durante la mitosis, o al complejo sinaptonémico durante la meiosis (Stacky Anderson, 2001; Gordon y Rog, 2023). La aparición de técnicas de hibridación *in situ* fluorescente (FISH, por sus siglas en inglés, *Fluorescence In Situ Hybridization*), ha permitido dar cuenta de la organización de los cromosomas en el núcleo celular, otra característica fundamental de la arquitectura nuclear (Cremer y Cremer, 2010).

Theodor Boveri fue quien introdujo el término “territorios cromosómicos” para referirse a la ubicación que adquieren los cromosomas durante la interfase, señalando que cada cromosoma visible en mitosis retiene su individualidad durante esta etapa y ocupa una parte distintiva del espacio nuclear (Boveri, 1909). A partir de experimentos de FISH utilizando sondas específicas para los cromosomas de *Homo sapiens* (HSA) HSA 19, por poseer la mayor densidad génica, y HSA 18, por ser un cromosoma pobre en genes, se evidenció una distribución radial no aleatoria de estos territorios (Croft et al., 1999; Cremer et al., 2001). Los territorios cromosómicos de HSA 19 se encontraron en el interior del núcleo de linfocitos y otros tipos celulares, mientras que los de HSA 18 se localizaron en la periferia nuclear. Esta correlación entre la densidad génica y el arreglo radial alrededor del núcleo fue luego confirmada analizando la totalidad de los cromosomas humanos (Boyle et al., 2001).

La organización de los cromosomas y su cromatina respecto al núcleo estarían entonces asociados a distintas propiedades estructurales y funcionales del genoma, como la densidad génica, la actividad transcripcional, el tiempo de replicación, y el contenido en GC (Federico et al., 2006; Goetze et al., 2007; Grasser et al., 2008). A partir de ellas se definirían regiones

genómicas con características opuestas y distribuidas desigualmente, no sólo en los cromosomas metafásicos sino también en el núcleo interfásico: los **isocoros**, regiones que implicarían una nueva forma de estudiar y comprender cómo se organizaría el genoma.

### Organización del genoma en isocoros

El grupo de investigación del Dr. Giorgio Bernardi, en la década de 1970, observó que el genoma en eucariotas se organizaba en regiones de aproximadamente 300 Kb que diferían significativamente entre sí en la frecuencia relativa de las cuatro bases que componen el ADN (Macaya et al., 1976; Thiery et al., 1976). Estas regiones fueron adjudicadas con el nombre de isocoros (del griego *isos*, igual; y *choros*, región), dado que dentro de éstos, como su nombre lo sugiere, la composición de bases definida como el contenido en GC es constante (Bernardi, 1995; Costantini y Musto, 2017).

Cuando el ADN genómico nuclear es centrifugado en un gradiente de densidad de  $\text{Cs}_2\text{SO}_4$  en presencia de ligandos específicos, la degradación provocada rompe el ADN en fragmentos de 50-100 Kb que se separan de acuerdo con su composición de bases (Macaya et al., 1976; Thiery et al., 1976). El estudio de estos fragmentos en organismos eucariotas unicelulares (Costantini et al., 2013), invertebrados (Cammarano et al., 2009) y vertebrados (Costantini et al., 2009) permitió clasificarlos en dos familias, las familias de **isocoros L** (L1 y L2) pobres en GC y las familias de **isocoros H** (H1, H2 y H3) ricas en GC. Desde el punto de vista de su contenido relativo, en humanos las familias L conforman, en conjunto, 62,9% del genoma, mientras que las H constituyen 24,3%, 7,5% y 4,7%, respectivamente (Zerial et al., 1986; Zoubak et al., 1996; Bernardi, 2005); el resto del genoma se corresponde a secuencias de ADN satélite y ribosomales (Figura 1).

Dado que el genoma es composicionalmente heterogéneo, existen unos isocoros más abundantes que otros y su distribución en el genoma carece de un orden específico, característica que llevó a algunos autores a afirmar que el genoma constituiría un **mosaico de isocoros** (Pavliček et al., 2002; Bernardi et al., 1985).

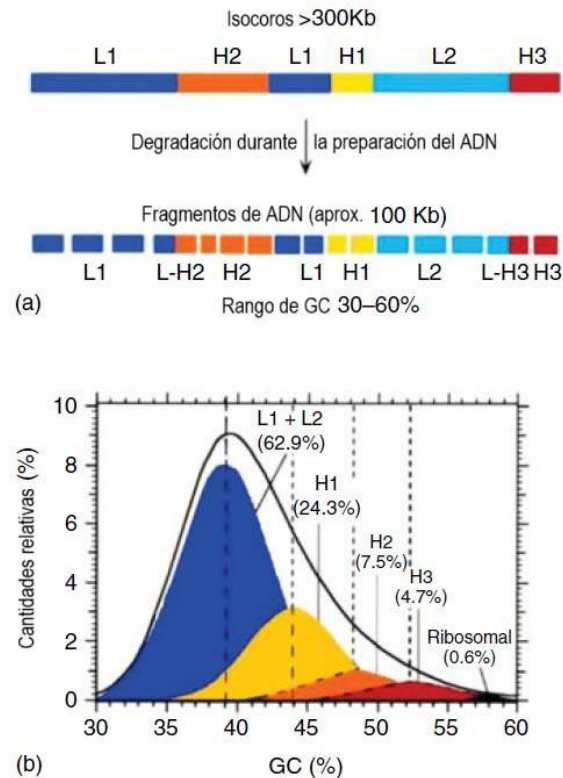


Figura 1. Esquema de la organización de los isocoros en el genoma humano. Modificado de Bernardi (2005). (a) Segmentación del ADN genómico nuclear luego de ser centrifugado en un gradiente de densidad de Cs<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en presencia de ligandos específicos. (b) Perfil composicional del ADN genómico nuclear indicando las cantidades relativas de cada familia de isocoros.

### Propiedades de los isocoros

Estudios del **perfil composicional** del genoma humano, entendido como la distribución de los isocoros (Bernardi, 1995; Lamolle y Musto, 2018), muestran propiedades biológicas diferenciales para ambas familias de isocoros que dependen exclusivamente de su composición nucleotídica (Saccone et al., 1993). En principio se encontró una correlación entre el contenido en GC de los isocoros y la cantidad de genes que contenían, siendo ésta mayor cuanto más rico en GC es el isocoro (Bernardi, 1985; Mouchiroud et al., 1991). Por ende, la cantidad de genes presentes sería mayor en isocoros de las familias H1, H2 y H3, que a su vez coinciden con las familias que abarcan la menor proporción del ADN total del genoma. En base a esto se establecieron dos “espacios génicos” (Figura 2A): un centro genómico o *genome core* en inglés, que corresponde a las familias más ricas en genes, H2 y H3 y un desierto genómico o *genome desert* en inglés, que corresponde a las familias de isocoros restantes, donde la densidad génica es baja (Mouchiroud et al., 1991; Zoubak et al., 1996).

Recientemente se ha demostrado una relación entre los isocoros y distintos dominios de cromatina: *TADs* y *LADs* coincidieron en tamaño y topología con los isocoros ricos y pobres en GC, respectivamente (Meuleman et al., 2013, Bernardi, 2015; Jabbari y Bernardi, 2017; Bernardi, 2021). A su vez, se observó una correlación entre los dos espacios génicos y los compartimentos A y B descritos previamente (Figura 2B), coincidiendo el *genome core* con el compartimento A y el *genome desert* con el compartimento B (Saccone et al., 2002, Federico et al., 2006; Bernardi, 2021), y a su vez con los territorios cromosómicos previamente descritos (Tajbakhsh et al., 2000). Por otro lado, la participación de los isocoros en la formación del nucleosoma (Frenkel et al., 2011) y en el largo de los *loops* de cromatina asociados al complejo sinaptonémico (Sizova y Karpova, 2016) destacan su implicancia en la arquitectura cromatínica a lo largo del ciclo celular.

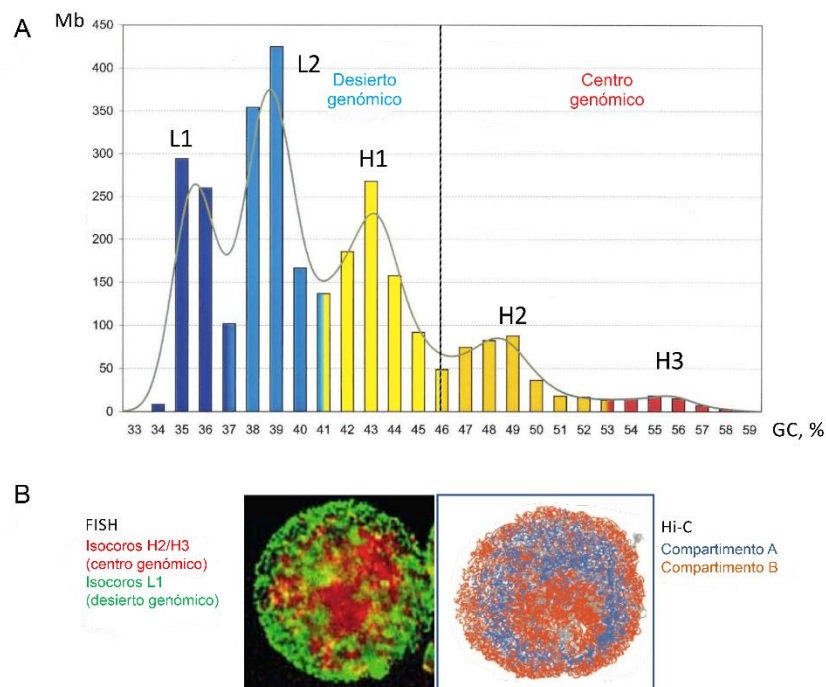


Figura 2. (A) Histograma mostrando la distribución de las familias de isocoros en el genoma humano, agrupados de acuerdo a su porcentaje de GC. A partir del perfil gaussiano se distingue un desierto genómico o *genome desert*, que corresponde a las familias de isocoros L, más pobres en GC; y un centro genómico o *genome core*, correspondiente a las familias H, más ricas en GC. (B) Comparación entre los patrones obtenidos para FISH y Hi-C en los que se observa la relación entre las familias de isocoros correspondientes al *genome core* y al *genome desert* y dos dominios de cromatina. Modificado de Bernardi (2021).

La distribución de isocoros en el genoma se observó correlacionada con otro patrón composicional que es la distribución de secuencias codificantes (D'Onofrio y Bernardi, 1992). Un análisis de los di- y tri- nucleótidos presentes en los isocoros (Costantini y Bernardi, 2008) mostró diferencias en las frecuencias de los aminoácidos codificados y, con ello, en las proteínas expresadas en las distintas familias de isocoros: estas regiones no solamente

difieren en la cantidad de genes que contienen sino también en el tipo de genes. En las familias de isocoros ricas en GC se sitúan secuencias que se expresan continuamente y en gran parte de los tejidos (genes *housekeeping*, de mantenimiento o constitutivos), mientras que en las familias de isocoros pobres en GC predominan genes regulados temporal y/o espacialmente (Vinogradov, 2003). Diferencias en las secuencias regulatorias presentes en cada familia de isocoros y los factores de transcripción que se unen a ellas dan cuenta de las diferencias en materia de regulación génica entre éstas (D'Onofrio et al., 2007; Arhondakis et al., 2011).

Un resumen de las principales características de las familias de isocoros H y L puede observarse en la Tabla 1.

Isocoros L	Isocoros H
Menos genes	Más genes
Más intrones y más largos	Menos intrones y más cortos
Genes tejido y temporal específicos	Genes de mantenimiento, de expresión casi constitutiva
Ausencia de islas CpG	Presencia de islas CpG
Cromatina cerrada	Cromatina abierta
Bajo nivel de transcripción	Alto nivel de transcripción
Bajo nivel de recombinación	Alto nivel de recombinación
Replicación tardía	Replicación temprana

Tabla 1. Principales características estructurales y funcionales de las familias de isocoros L y H. Tomada de Lamolle y Musto (2018).

Los patrones de composición nucleotídica del genoma determinan **fenotipos genómicos** (Bernardi, 2021), que resultan similares o idénticos en organismos cercanos filogenéticamente, y que pueden diferir entre especies no emparentadas (Lamolle y Musto, 2018), constituyendo así una nueva forma de analizar e interpretar la evolución de un grupo taxonómico de interés.

### Isocoros y bandas cromosómicas

El patrón organizacional del ADN en los cromosomas metafásicos se puede estudiar utilizando técnicas de tinción diferencial que dan cuenta de distintas regiones en los

cromosomas y que, en diversos casos, reflejan la composición de bases del ADN (Sumner, 1998). Estas técnicas evidencian un patrón de bandas característico para cada especie, reproducible independientemente del método que se utilice para realizarlas, pudiendo variar de acuerdo con el grado de condensación de los cromosomas (Sumner, 2003).

Las bandas G evidencian un patrón longitudinal de bandas transversales claras y oscuras en los cromosomas que son específicas de cada par cromosómico y, dado que para cada especie este patrón de bandas es constante, permiten hacer comparaciones de los cariotipos a nivel intraespecífico e interespecífico (Dobigny et al., 2004). Las bandas R se observan con tinción inversa respecto de las bandas G y es así que las bandas R positivas/oscuras se corresponden con las bandas G negativas/claras. Las bandas T, un subconjunto de las anteriores, revelan las regiones teloméricas. Por otro lado, las bandas C, ponen en evidencia las regiones de heterocromatina constitutiva (Dutrillaux y Lejeune, 1971; Seabright, 1971; Sumner, 1971; Hayes et al. 2000).

El análisis de las familias de isocoros permitió establecer una relación entre éstos y las bandas cromosómicas (Holmquist et al., 1992; Saccone et al. 1993). Una manera de comprender esta correlación es a través del **mapeo cromosómico composicional**, es decir, de la aplicación de hibridación *in situ* fluorescente utilizando como sonda distintas fracciones de ADN correspondientes con las distintas familias de isocoros (Saccone et al., 1993, 2001). El mapeo composicional brindó información no sólo de la composición nucleotídica de las bandas cromosómicas sino también de la distribución de los genes en los cromosomas (Federico et al., 2000). De las múltiples comparaciones realizadas se estableció la siguiente relación entre las bandas G, R y los isocoros:

- Bandas G. Las bandas Giemsa positivas se corresponden a isocoros pobres en GC, mayoritariamente de la familia L1, con una contribución menor de isocoros de la familia H1. La relación fue caracterizada previamente con la tinción con quinacrina, un fluorocromo específico de regiones ricas en AT (Bernardi, 1995).
- Bandas R. Las bandas R positivas comprenden al menos tres subconjuntos (T, T' y R'').
  - Bandas T: contienen la mayor concentración de isocoros ricos en GC, los H3 y parte de los H2.
  - Bandas R': comprenden, en cantidades casi iguales, tanto isocoros ricos en GC (principalmente de la familia H1) como isocoros pobres en GC. A su vez, pueden subdividirse en bandas T', que contienen grupos de isocoros de las familias H3 y H2, y bandas R'' que no los contiene.

Bernardi (1995) propuso la siguiente clasificación: a las bandas G denominarlas L, y a



las bandas T, T' y R'' denominarlas H3+, H3 y H3, respectivamente. La clasificación se resume en la Tabla 2.

Bandas cromosómicas	Isocoros <sup>a</sup>	[Genes]
Bandas R		
Bandas T ( <b>H3+</b> )	<b>H3 + H2 + H1 + L</b>	++++
Bandas R':		
Bandas T' ( <b>H3</b> )	H3 + H2 + H1 + L	+++
Bandas R'' ( <b>H3-</b> )	H1 + L	++
Bandas G ( <b>L</b> )	<i>H1 + L</i>	+

<sup>a</sup>, en negrita se indica la/s familia/s de isocoro/s predominantes, en itálica la minoritaria.

Tabla 2. Clasificación de bandas cromosómicas y sus isocoros. Tomado de Bernardi (1995).

Esta clasificación inicial se refinó posteriormente, dividiendo a las bandas G en bandas L1+ o L1- dependiendo de si contienen o no isocoros L1 (Saccone *et al.*, 2002). En la Figura 3 puede observarse la distribución de bandas H3+ y L1+ en un ideograma humano.

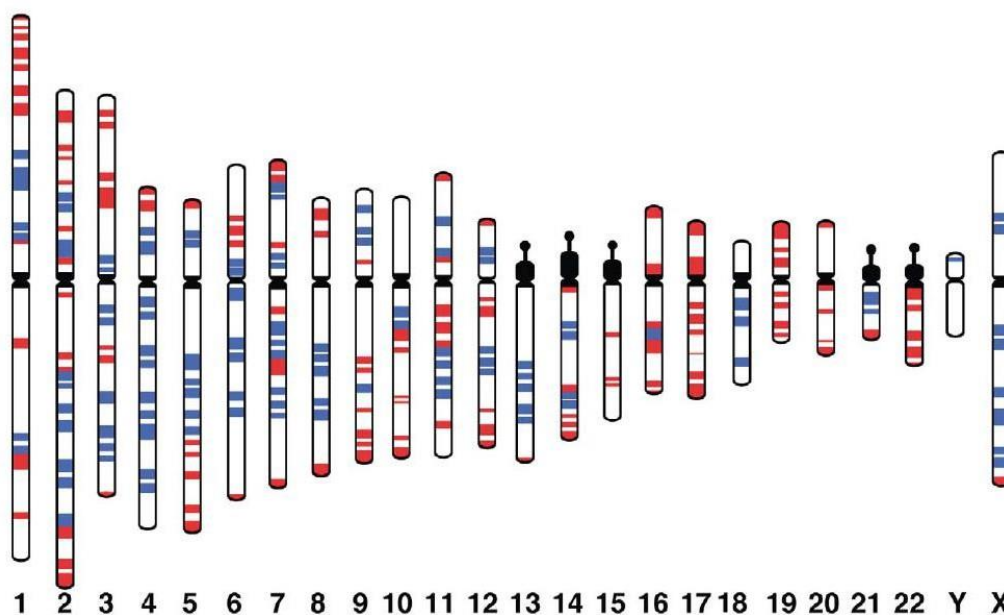


Figura 3. Distribución cromosómica de las bandas H3+ (rojo) y L1+ (azul) en un ideograma humano con bandas G. Tomada de Saccone y colaboradores (2002).

A partir del estudio de los isocoros en las bandas cromosómicas se pudieron establecer

otras propiedades asociadas a éstos: las bandas H3+ se caracterizan por mayores niveles de metilación del ADN, la mayor concentración de islas CpG (Craig y Bickmore, 1994; Varriale y Bernardi, 2009) y tiempos de replicación más tempranos (Federico et al., 1998; 2000), coincidiendo con que las bandas R y G presentan tiempos de replicación diferenciales, dado que replican en la fase S temprana y tardía, respectivamente (Dutrillaux et al., 1976; Biemont et al., 1978).

El mapeo composicional del genoma humano ha sido llevado a cabo de manera exhaustiva en los últimos años, permitiéndonos conocer detalladamente el patrón de isocoros de cada cromosoma y evidenciando aproximadamente 3.200 isocoros en todo el genoma (Costantini et al., 2006).

### Origen y evolución de los isocoros

En vertebrados, se han postulado diversas hipótesis que explicarían el surgimiento y conservación de estas regiones en el genoma. Así, el genoma de los vertebrados no sería sólo un mosaico estructural y funcional de isocoros sino también un **mosaico evolutivo** (Costantini y Musto, 2017; Lamolle y Musto, 2018). Una de estas hipótesis se basa en la observación de dos tipos de organización diferente respecto a los isocoros, ya sea si hablamos de organismos vertebrados homeotermos (mamíferos y aves) o poiquilotermos (peces, anfibios y reptiles). Los primeros contienen isocoros ricos en GC y una heterogeneidad composicional marcada, en tanto los segundos carecen de isocoros H y sus genomas son composicionalmente más homogéneos (Bernardi et al., 1985; Nekrutenko y Li, 2001). A su vez, en aves habría surgido de manera independiente una nueva familia de isocoros, más rica en GC que el resto, la familia H4. Esto llevó a postular la presencia de un “paleogenoma”, que correspondería a las familias de isocoros L1 y L2 observadas en el genoma de homeotermos y que comparten con los poiquilotermos, y de un “neogenoma”, correspondiente a las regiones enriquecidas en GC que surgieron en homeotermos (Bernardi, 2007).

Considerando el origen de los isocoros en el ancestro común de los amniotas (Figura 4) y la aparición de las familias ricas en GC en mamíferos y aves (Costantini y Bernardi, 2009), la ausencia de algunas de estas familias en ciertos amniotas (e.g. ornitorrincos y zarigüeyas) (Mikkelsen et al., 2007; Warren et al., 2008) sugiere su origen como independiente o por una evolución linaje-específica (Oota, 2017).

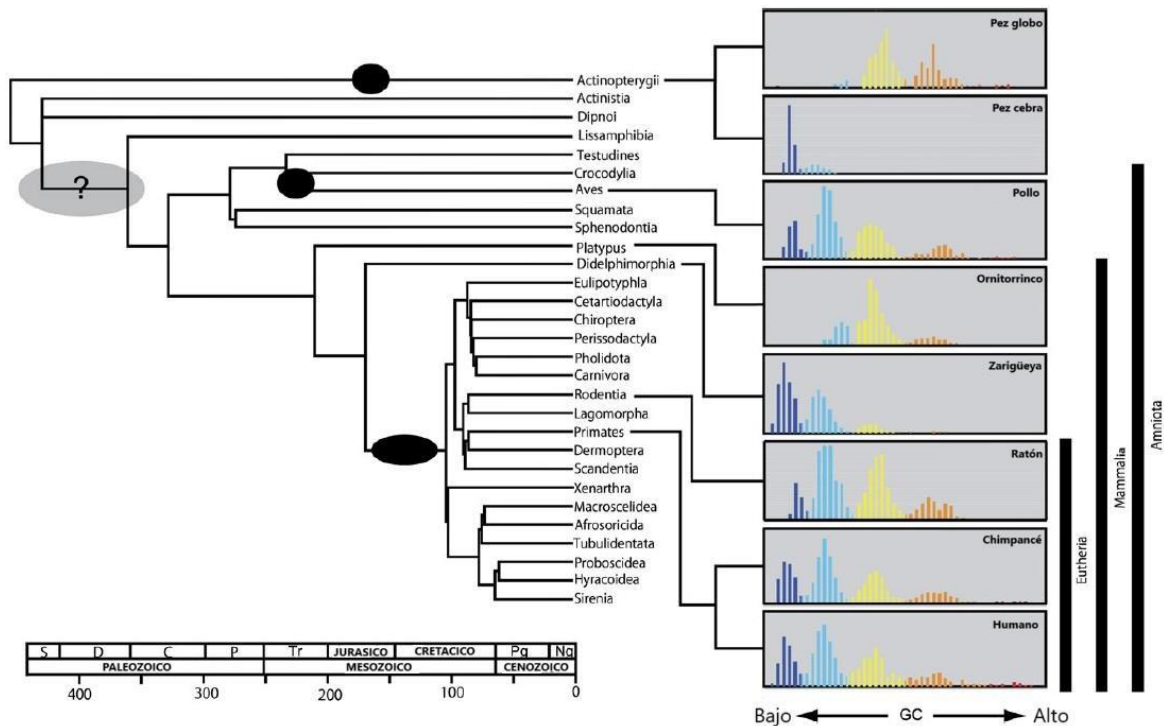


Figura 4. Árbol filogenético de las familias de isocoros. Si bien Primates, Rodentia y Aves presentan una estructura de isocoros clara, Didelphimorphia y Ornitorrinco carecen de familias de isocoros ricas y pobres en GC respectivamente. El óvalo gris con un signo de interrogación correspondería al supuesto origen de los isocoros ricos en GC. Los óvalos negros representarían orígenes alternativos de estos isocoros. La escala en el margen inferior izquierdo corresponde a la era geológica (S, Silúrico; D, Devónico; C, Carbonífero; P, Pérmico; Tr, Triásico; Pg, Paleógeno; Ng, Neógeno). La unidad de tiempo está expresada en millones de años. Los histogramas muestran la distribución de las familias de isocoros en distintos organismos. Cada color representa una familia de isocoro (azul, L1; celeste, L2; amarillo, H1; naranja, H2; rojo; H3). Modificado de Oota (2010).

La notable diferencia entre los perfiles composicionales de los homeotermos y los poiquilotermos generó la primera hipótesis sobre el origen de los isocoros, la de **estabilidad termodinámica**. Dado que la heterogeneidad composicional y la aparición de los isocoros H coincidirían con la aparición de los homeotermos, se postuló que los isocoros serían el resultado de una fuerte selección asociada a cambios en la temperatura corporal que podría afectar los puentes de hidrógeno entre los pares de bases (Bernardi *et al.*, 1985; 2007). Los pares GC se verían beneficiados dado que estos están unidos más fuertemente por tres puentes de hidrógeno a diferencia de los pares AT que están unidos por dos puentes de hidrógeno, brindando mayor estabilidad al ADN, al ARN y a las proteínas codificadas. Los cambios ocurrirían de manera independiente en los genomas ancestrales de aves y mamíferos (Bernardi, 1993; 2007). La transición composicional entre los homeotermos y los poiquilotermos no podría

ser explicada por la sustitución nucleotídica aleatoria, que implicaría la teoría neutral; por lo que se propuso una ventaja selectiva acompañando al incremento de GC en el *genome core* de los homeotermos (Bernardi, 2007).

La segunda hipótesis es la de **conversión génica sesgada** hacia GC. La conversión génica es el proceso de intercambio unidireccional de material genético entre secuencias similares; por el cual, una secuencia de ADN reemplaza a una secuencia homóloga de forma tal que ambas son idénticas luego del evento de conversión. Este proceso ocurre durante la recombinación meiótica a través de la estructura heterodúplex que forman las hebras de ADN (Chen et al., 2007). La recombinación se inicia con una ruptura de doble cadena (*DSB* o *Double Strand Breaks* en inglés) que puede repararse por dos mecanismos, uno que lleva a la recombinación homóloga (*CO* o *crossing over* en inglés) y otro que no resulta en *COs*. Ambas vías pueden resultar en conversión génica (revisado en Duret y Galtier, 2009). Cuando los dos alelos parentales no son idénticos, los errores de apareamiento en el heterodúplex son reparados. Dependiendo de cuál es el alelo usado como molde y cuál el reparado, la reparación puede resultar en conversión génica o en la restauración del alelo original. El mecanismo de reparación durante la recombinación es el sistema de reparación de errores de apareamiento (*MMR* o *MisMatch Repair system* en inglés) que está involucrado en la reparación de errores en la incorporación de pares de bases en la replicación del ADN (Surtees et al., 2004). Esta hipótesis propone que la reparación, que en un principio ocurriría de manera aleatoria, tendría una tendencia o sesgo hacia la incorporación de pares de bases G y C, es decir, favorecería a los alelos ricos en GC sobre los ricos en AT usando los primeros como molde sobre los segundos (Brown y Jiricny, 1989; Duret y Arndt, 2008; Lesecque et al., 2013); como consecuencia, las regiones genómicas involucradas tenderían a enriquecerse en GC. Ciertos autores proponen que, en consecuencia, los heterocigotas AT/GC producirían más gametas GC que gametas AT (Eyre-Walker, 1993; Galtier et al., 2001; Duret et al., 2006), llevando a una ventaja de los alelos G y C y con ello, al incremento del contenido GC en regiones altamente recombinables, por lo que se esperaría que los isocoros estuvieran asociados a las tasas de recombinación (Fullerton et al., 2001; Montoya-Burgos et al., 2003; Meunier y Duret, 2004).

La tercera y última hipótesis sugiere que las diferencias observadas se deben al **sesgo mutacional** en el sistema de replicación y/o reparación del ADN, es decir, a diferencias en las tasas de mutación asociadas a los cambios GC↔AT (Holmquist, 1989; Sueoka, 1993). Según esta hipótesis, la incorporación errónea de bases G y C debida a fallas en la maquinaria de replicación daría lugar a regiones ricas en GC con altas tasas de mutación (Oota, 2017). En una célula somática hay un *stock* de nucleótidos libres, cuya composición está asociada con el

tiempo de replicación (*Nachman y Crowell 2000; Eyre-Walker y Hurst, 2001*). Como resultado, los nucleótidos G y C son incorporados preferencialmente en el ADN cuando el *stock* es rico en GC. Por ejemplo, si el *stock* de nucleótidos es rico en AT en la replicación temprana y rico en GC en la replicación tardía, las últimas regiones tendrán una tendencia a enriquecerse en pares de bases GC. El tiempo de replicación durante la fase de síntesis o fase S a su vez estaría asociado a los patrones de mutación (*Holmquist, 1989; Stamatoyannopoulos et al., 2009*), estando las regiones de replicación tardía más propensas a las mutaciones que las regiones de replicación temprana, resultando las primeras regiones en desventaja frente a agentes mutágenos y, así, enriqueciéndose en GC.

Tanto la segunda como la tercera hipótesis no explican por qué este “sesgo” ocurre solamente en mamíferos y aves y no en los demás vertebrados, así como tampoco pueden explicar por qué existen amiotas que no poseen isocoros ricos en GC (*Bernardi, 2007*). Por otro lado, la observación de que existe una disminución del contenido en GC tanto en regiones de ADN codificante como no codificante en ciertos mamíferos, e.g. muridos y primates, convergiendo hacia un valor de equilibrio en su composición, llevó a algunos autores a proponer la desaparición de la estructura de isocoros (*Duret et al., 2002; Smith y Eyre-Walker, 2002; Webster et al., 2003; Alvarez-Valin et al., 2004; Antezana, 2005*). Esta hipótesis todavía se encuentra en discusión y llevó al grupo de Bernardi a reformular su hipótesis seleccionista (*Belle et al., 2004; Duret et al., 2006*).

La idea central de esta nueva hipótesis es que las transiciones composicionales que llevaron a la aparición de los isocoros ricos en GC en mamíferos y aves se debe fundamentalmente a selección direccional, tanto positiva como negativa, actuando a nivel de los isocoros (*Bernardi, 2007*). Más específicamente se debe a selección negativa a nivel regional (en los isocoros) que eliminaría cualquier desvío hacia lo que sería una composición funcional y óptima de los isocoros. La selección participaría no sólo en el origen de los isocoros sino también en su mantenimiento, dos fenómenos que no podrían ser explicados por la teoría neutralista (*Bernardi, 2007*). A su vez, explicaría el surgimiento conjunto de la estabilidad de la temperatura corporal con la presencia de “cromatina abierta” en el *genome core*, que requiere de un alto contenido en GC para estabilizarse y expandirse en el centro del núcleo interfásico (*Bernardi, 2007*). Si bien esta hipótesis aún se encuentra en discusión en la comunidad científica, es un enfoque en el que el genoma es considerado un sistema integrado donde las propiedades composicionales de las moléculas de ADN (composición de bases, dinucleótidos y otras secuencias cortas) serían características decisivas para la estructura, función y evolución del genoma (*Lamolle y Musto, 2018*). Así, la hipótesis seleccionista

permite un nuevo abordaje para analizar los genomas de distintos grupos taxonómicos desde un punto de vista comparativo.

Con el marco teórico precedente cabe definir que en este trabajo de Tesis nos enfocaremos en el análisis del perfil composicional de un grupo en particular de mamíferos como son los monos del Nuevo Mundo, pertenecientes al orden Primates.

## Introducción al modelo de estudio

El orden Primates comprende dos grandes subórdenes: Strepsirrhini y Haplorrhini. Los primates neotropicales o primates del Nuevo Mundo (Platyrrhini o Ceboidea) se consideran pertenecientes al grupo de los Haplorrhini, en el que se ubican junto a los Catarrhini, es decir, a los primates del Viejo Mundo (Cercopithecidae) y a los homínidos (Hominoidea), entre los que se encuentra el humano (Rowe y Myers, 2017). El origen de sus nombres se asocia con la morfología de sus narices (del griego *rhinos*, nariz), siendo en Platyrrhini más anchas, planas y con las fosas nasales ubicadas lateralmente y más espaciadas que en Catarrhini (Rosenberger, 2020). Aunque esta clasificación no sea exacta y se encuentren excepciones a ésta, su uso es práctico para agrupar a los grupos naturales.

Los primates neotropicales se distribuyen desde México hasta el norte de la Argentina, sin incluir las islas del Caribe (Silvestro et al., 2019). Su clasificación taxonómica aún hoy es motivo de constantes debates. Los estudios más recientes reconocen tres familias de Platyrrhini: Atelidae, Cebidae y Pitheciidae (Perelman et al., 2011; Schneider y Sampaio, 2015; Rosenberger, 2020). Los géneros que se aceptan dentro de cada familia se representan en la Figura 5.

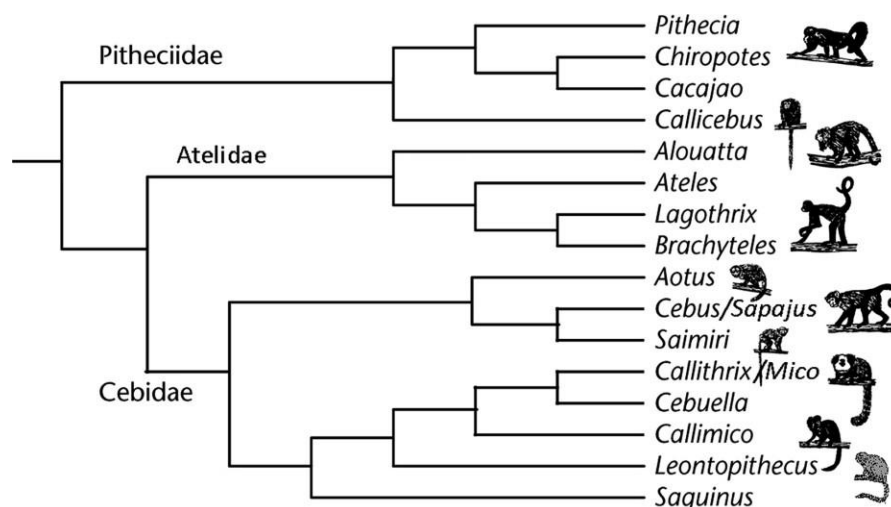


Figura 5. Filogenia resumida de los primates del Nuevo Mundo. Tomada de Fleagle (2013).

A nivel cromosómico, los primates neotropicales constituyen un grupo heterogéneo (Stanyon et al., 2008; de Oliveira et al., 2012; Dumas y Mazzoleni, 2017, entre otros). Reordenamientos cromosómicos (principalmente fusiones, fisiones, inversiones y translocaciones), variaciones en regiones heterocromáticas y presencia de sistemas de determinación sexual múltiples contribuyeron a la diversidad cariotípica característica de este grupo taxonómico, que muestra números diploides que varían entre  $2n = 16$  y  $2n = 62$  (Ponsà et al., 1995; Mudry et al., 2001; Seuánéz et al., 2005; Dumas et al., 2007; Stanyon et al., 2008, entre otros).

Los cromosomas, analizables y comparables por tamaño, morfología y comportamiento mitótico o meiótico, colaboran en el esclarecimiento de ciertas dudas taxonómicas y ancestralidades como así mismo en otro tipo de datos o caracteres en un análisis filogenético (Dobigny et al. 2004). Cabe aclarar algunos principios de este tipo de análisis, como por ejemplo, cuando una región cromosómica se mantiene en el genoma de distintas especies se habla de un segmento cromosómico sinténico (Andersson et al., 1996). El estudio de estos segmentos permite identificar **homeologías cromosómicas**, i.e., cromosomas genéticamente equivalentes entre dos o más especies que tendrían su origen en un cromosoma ancestral común (Andersson et al., 1996). Las homeologías fueron caracterizadas inicialmente mediante técnicas de tinción cromosómica diferencial (bandas G, Q, R). Sin embargo, se ha observado que su eficiencia se puede ver reducida en el caso de cariotipos con numerosos reordenamientos cromosómicos (Robinson et al., 2001). Es en este contexto que, los métodos de citogenética molecular basados en *FISH* utilizando sondas específicas para cromosomas enteros (pintado cromosómico) brindan una confirmación inequívoca de las homeologías en estudio gracias a su mayor precisión (Wienberg y Stanyon 1998; Wienberg, 2005). Así, estas sondas específicas han resultado de utilidad para estudiar la conservación genómica y los reordenamientos cromosómicos que han llevado a interpretar la evolución de los cariotipos de las especies actuales (Stanyon et al., 2008; de Oliveira et al., 2012; Dumas y Mazzoleni, 2017). Hoy día, debido a que se han desarrollado sondas para los cromosomas humanos, tanto a nivel de cromosoma entero como de brazos y segmentos parciales, se las utiliza para analizar, indirectamente, la evolución de un grupo de interés particular con relación al cariotipo humano (Ehrlich et al., 1997; Wienberg y Stanyon 1997; Müller 2006; Stanyon et al., 2008).

Mediante este enfoque se han analizado los cariotipos de diversas especies de primates (de Oliveira et al., 2002; 2005; Amaral et al., 2008; Araújo et al., 2017, entre otros) y, a partir de los datos obtenidos, se han propuesto diferentes hipótesis sobre el cariotipo ancestral de los primates neotropicales (Figura 6). En primates del Nuevo Mundo, el cariotipo ancestral estaría

caracterizado por un  $2n = 54$  (Neusser et al., 2001; Müller, 2006; Stanyon et al., 2008; de Oliveira et al., 2012). Los cromosomas humanos 4, 6, 9, 11, 12, 13, 17, 19, 20, 22 y X se encontrarían conservados, cada uno como un cromosoma separado. Los cromosomas humanos 5, 14, 18 y 21 se asociarían a otros cromosomas formando sintenias conservadas (5/7a, 14/15a, 8a/18 y 3a/21), mientras que los restantes se encontrarían fragmentados (1a, 1b, 1c, 2a, 2b/16b, 3b, 3c, 7b, 8b, 10a/16a, 10b y 15b) (Neusser et al., 2001; Müller, 2006; Stanyon et al., 2008; de Oliveira et al., 2012). Dado que en todos los primates neotropicales estudiados hasta el presente se ha observado que comparten las asociaciones sintéticas 8a/18, 10a/16a, 2b/16b, 5/7a, el pintado cromosómico ha permitido demostrar la monofilia del grupo (Neusser et al., 2001; Sineo y Stanyon, 2006; Dumas et al., 2007).

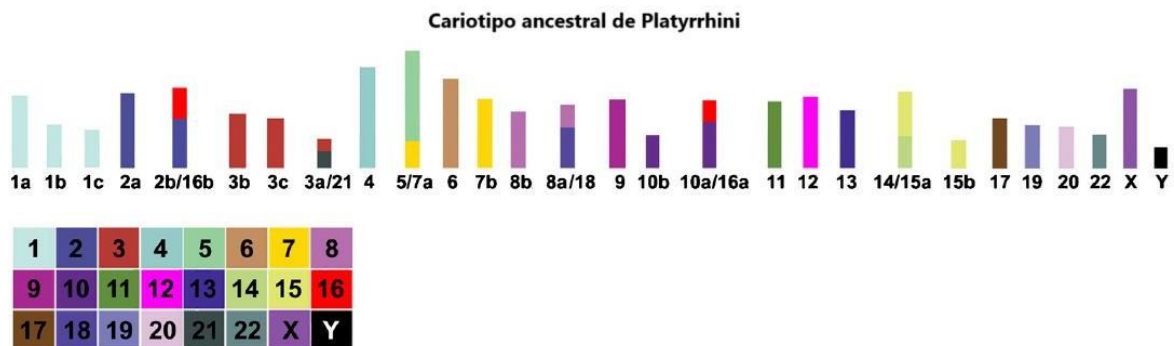


Figura 6. Cariotipo ancestral de Platyrrhini ( $2n = 54$ ). Los recuadros debajo a la izquierda indican el color correspondiente a cada cromosoma humano. Modificado de Araujo y colaboradores (2017). Nomenclatura de segmentos cromosómicos según Neusser y colaboradores (2001).

En este trabajo de Tesis estudiaremos especies pertenecientes a dos familias de Platyrrhini, Atelidae y Cebidae. De la primera analizaremos muestras de *Ateles chamek* y de la segunda de *Aotus azarae* y *Cebus cay*, con distribuciones geográficas que se observan en la Figura 7.





Figura 7. Distribución geográfica de las especies en estudio. Mapas: *A. azarae* (Martins-Junior et al., 2022), *A. chamek* (Morales-Jimenez et al., 2015) y *C. cay* (Nieves et al., 2019a).

## Familia Atelidae

La familia Atelidae incluye a los géneros *Alouatta*, *Ateles*, *Brachyteles* y *Lagothrix*. Los miembros de Atelidae comparten fisiones derivadas de los cromosomas humanos homólogos 1, 4, 5 y 15a, que en los atélidos resultaron en las formas cromosómicas 1a1, 1a2, 4a, la asociación 4b/15a2, 4c, la inversión 7a/5a/7a y 5b, 15a1/14 (Dumas y Mazzoleni, 2017). Esto llevó a proponer el hipotético cariotipo ancestral de Atelidae con un  $2n = 62$ .

En *Ateles* en particular, el número cromosómico diploide en la mayoría de las especies es  $2n = 34$ , XX/XY, con excepción de *A. paniscus*, especie en la que se reduce a  $2n = 32$ , XX/XY como producto de una fusión entre los pares 4 y 12. Este número cromosómico reducido daría cuenta de un alto grado de reordenamientos respecto a los otros atélidos (Pieczarka et al., 1989; de Oliveira et al., 2005; García et al., 2002). Respecto a las sintenias compartidas por las especies de este género, existe una inversión derivada que involucra la asociación 10a/16a en *Alouatta*, *Brachyteles* y *Lagothrix*, resultando en 16a/10a/16a/10a, que se considera que se perdió en *Ateles*, que en cambio presentan la asociación 16a/10a/16a (de Oliveira et al., 2012).

El mono araña de cara negra, *Ateles chamek* (Figura 8), se caracteriza por un pelaje negro, ausente alrededor de los ojos y el hocico, un peso que oscila entre los 5 kg en hembras y los 10 kg en machos, cola prensil y extremidades largas propias del género (Aquino et al., 1994). Su

distribución abarca Perú, norte de Bolivia y Brasil, por lo que en la Argentina puede encontrarse únicamente en cautiverio. A nivel citogenético, esta especie se caracteriza por un  $2n = 34$  con un sistema de determinación sexual de tipo XX/XY (Medeiros et al., 1997; Nieves et al., 2005a).



Figura 8. Características fenotípicas de *Ateles chamek*. Fotos: izq. ©Joel Sartore/ Photo Ark, der. Inaturalist Ecuador.  
Barra: 20 cm.

En la bibliografía, las distintas revisiones sistemáticas y reconstrucciones filogenéticas del género difieren en el número de especies que comprende y, por consiguiente, en la clasificación de *Ateles chamek*. Una de las primeras revisiones sistemáticas del género, hecha por Kellogg y Goldman (1944), reconoció cuatro especies a partir de caracteres morfológicos: *Ateles geoffroyi*, *A. fusciceps*, *A. belzebuth* y *A. paniscus*, siendo *Ateles chamek* una subespecie de este último (*A. p. chamek*). Froehlich et al. (1991) propuso, en cambio, a *A. chamek* como una subespecie de *A. belzebuth* (*A. b. chamek*) basado principalmente en diferencias morfométricas. Otras revisiones sistemáticas posteriores reconocen siete especies dentro del género: *A. geoffroyi*, *A. paniscus*, *A. hybridus*, *A. belzebuth*, *A. chamek*, *A. marginatus* y *A. fusciceps* (Groves et al., 2005; Morales-Jimenez et al., 2015), elevando a *A. chamek* al nivel de especie. Sin embargo, otros estudios sugieren la existencia de tan sólo dos o tres especies de *Ateles*: en el primer caso serían *A. paniscus* y *A. belzebuth* y en el segundo caso se incluiría a *A. geoffroyi* (Ruíz-García et al., 2016). Si bien la sistemática del género aún se encuentra en discusión, en este trabajo de Tesis tomaremos la clasificación que la considera una especie independiente, clasificación considerada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (o “IUCN”,

por sus siglas en inglés) (Alves et al., 2020).

## Familia Cebidae

La familia Cebidae incluye los géneros *Aotus*, *Cebus*, *Callimico*, *Callithrix*, *Cebuella*, *Leontopithecus*, *Mico*, *Saguinus* y *Saimiri* (Feagle et al., 2013; Rosenberger, 2020), siendo los dos primeros los géneros que llegan en su distribución geográfica a la Argentina y de interés en este trabajo.

El género *Aotus* (monos nocturnos o mirikinás) comprende primates de porte chico (de hasta 2 kg), arborícolas y de hábitos catemerales y nocturnos, únicos primates antropoides con dicha característica (Wright et al., 1994, Fernández-Duque y Erkert, 2006). *Aotus azarae* (mirikiná de Azara, Figura 9) es la única especie con distribución geográfica que alcanza su máxima distribución marginal sur en la Argentina y se la encuentra en el noreste del país. Su cariotipo posee un  $2n = 50, X_1X_1X_2X_2$  en las hembras y un  $2n = 49, X_1X_2Y$  en machos (Ma, 1981; Mudry et al., 1984; Milozzi et al., 2012).



Figura 9. Características fenotípicas de *Aotus azarae*. Fotos: izq. ©Joel Sartore/ Photo Ark, der. Asociación de Primatología Argentina. Barra: 10 cm.

Las relaciones filogenéticas del género dentro de Cebidae son aún hoy motivo de discusión. Tanto la asociación 10/11 como distintos caracteres morfológicos, comportamentales y paleontológicos, vinculan a *Aotus* (Cebidae) con *Callicebus* (Pitheciidae) (Ford, 1986; Rosenberger y Kearney, 1995; Dumas et al., 2005; Wildman et al., 2009). A su vez, la evidencia

molecular sugiere que este género podría pertenecer a Cebidae o Pitheciidae, dependiendo de si se usa ADN nuclear o mitocondrial respectivamente, resultando complicado clarificar la sistemática del género (Pérez et al., 2013). Los cariotipos de las distintas especies se caracterizan por un  $2n$  que varía de 46 a 59 cromosomas, difiriendo entre sí por numerosos reordenamientos (Galbreath, 1983; Torres et al., 1998) y por la presencia de sistemas cromosómicos múltiples de determinación sexual en algunas especies, al igual que lo observado en *Alouatta* (Sineo y Stanyon, 2006; Ma, 1981; Ma et al., 1976; Mudry et al., 2001).

Uno de los primeros estudios analizando la sistemática del género propuso la existencia de nueve especies y cuatro subespecies, clasificándolas en dos grupos de acuerdo a un rasgo morfológico distintivo en la coloración de su pelaje (Hershkovitz et al., 1983): el grupo de especies de cuello rojo, que incluía a *A. miconax*, *A. nigriceps*, *A. infulatus*, *A. nancymae* y *A. azarae* (y sus subespecies *A. a. azarae* y *A. a. boliviensis*), y el grupo de especies de cuello gris, que incluía a *A. lemurinus* (con sus subespecies *A. l. lemurinus* y *A. l. griseimembra*), *A. vociferans*, *A. trivirgatus* y *A. brumbacki*. Los estudios más recientes del género, basados en marcadores moleculares y cromosómicos, proponen la existencia de once especies (Defler et al., 2007; Menezes et al., 2010; Ruiz-García et al., 2016; Martins-Junior et al., 2022), y su división en dos grupos según su distribución geográfica: el grupo al norte del río Amazonas (*A. nancymae*, *A. miconax*, *A. griseimembra*, *A. lemurinus*, *A. vociferans*, *A. zonalis* y *A. brumbacki*) y el grupo que se distribuye al sur (*A. nigriceps*, *A. boliviensis*, *A. infulatus* y *A. azarae*), considerando *A. azarae* a nivel de especie plena.

El género ***Cebus*** (monos capuchinos o caí) es uno de los géneros de distribución geográfica más amplia entre los primates neotropicales, abarcando desde Honduras en Centroamérica hasta las selvas del norte argentino, las Yungas en las provincias de Salta y Jujuy y la Selva Paranaense al norte de la provincia de Misiones (Wilson y Reeder, 2005). En la Argentina se encuentran dos especies: *Cebus nigritus* (caí negro) y *Cebus cay* (caí de las Yungas, Figura 10). Esta última especie presenta una coloración más clara en comparación con la de *C. nigritus* y una distribución geográfica más hacia el noroeste (Brown et al., 1984). Su cariotipo presenta un  $2n = 54, XX / XY$  (hembra/macho) y, a nivel cariológico, se diferencia del de *C. nigritus* principalmente por la presencia de un bloque de heterocromatina constitutiva característico en el cromosoma 11, que está ausente en *C. nigritus* (Matayoshi et al., 1987; Mudry, 1990; Nieves y Mudry, 2016; Nieves et al., 2018).





Figura 10. Características fenotípicas de *Cebus cay*. Fotos: izq. Andrés Ruggeri, der. APrimA. Barra: 10 cm.

La taxonomía del género *Cebus*, al igual que la del resto de los Platyrrhini, es compleja y se encuentra en constante revisión. Inicialmente fue dividido en dos grandes grupos, basándose en características del pelaje: un grupo “robusto”, con copete en los machos (haciendo referencia a dos penachos de pelo oscuro a ambos lados de la cabeza), representado por una única especie, *Cebus apella*, y otro grupo “grácil”, sin copete en los machos, que incluía a *C. albifrons*, *C. capucinus* y *C. olivaceus* = *nigrivittatus* (Hershkovitz et al., 1949). Bajo esta clasificación, encontraríamos dos subespecies en la Argentina: *C. apella nigrinus* y *C. apella paraguayanus*. Groves (2005) reconoce un total de ocho especies. En el grupo robusto, eleva a nivel de especie a las subespecies reconocidas de *C. apella*: *C. libidinosus*, *C. xanthosternus* y *C. nigrinus*. Para el grupo sin copete incorpora a *C. kaapori*. *C. a. nigrinus* y *C. a. paraguayanus*. Así, pasarían entonces a ser elevadas a nivel de especies independientes: *C. nigrinus* y *C. libidinosus* (= *C. cay*), respectivamente. Una revisión sistemática más reciente (Lynch Alfaro et al., 2012) propuso dividir el género en dos, basándose principalmente en caracteres morfológicos y geográficos: *Cebus* para las especies gráciles y *Sapajus* para las robustas. Para las especies de la Argentina, esto implicaría nuevamente un cambio de nombre específico a *Sapajus nigrinus* y *Sapajus cay*. Sin embargo, el género *Cebus* presenta tal homogeneidad que claramente lo distingue de los otros géneros, tanto a nivel citogenético (Nieves et al., 2005a; 2011) como molecular (Ruiz-García et al., 2012); motivo por el cual en este trabajo de Tesis se prefiere mantener la clasificación original.

El cariotipo de *Cebus* es el más similar al cariotipo ancestral de Platyrrhini (Matayoshi et al., 1987; Ponsà et al. 1995; Amaral et al., 2008; de Oliveira et al., 2012), y se lo considera el género de Platyrrhini que comparte el mayor número de homeologías cromosómicas con *H. sapiens*

(Clemente et al., 1990; García et al., 2000).

## Estudios del genoma en primates

El estudio citogenético del genoma, particularmente en primates humanos, ha permitido evidenciar distintas propiedades que dependen en gran medida de su composición nucleotídica. La organización del genoma en isocoros se correlacionó con la distribución de la cromatina y los cromosomas alrededor del núcleo, con la densidad génica y el contenido en GC. Como consecuencia de estas particularidades es posible asociarlos con aspectos regulatorios del genoma, los tiempos de replicación y la transcripción del ADN.

La expresión génica puede estar influenciada por la posición de los *loci* y bandas cromosómicas en el núcleo interfásico como resultado de un cambio en la arquitectura de la cromatina (Bickmore y van Steensel, 2013). En múltiples trabajos (Tanabe et al., 2002; Mora et al., 2006; Neusser et al., 2007, entre otros) se estudió la estructura tridimensional del núcleo con el fin de analizar cómo los reordenamientos afectarían la ubicación y el correcto funcionamiento de los genes contenidos en las regiones cromosómicas reordenadas. Un estudio reciente, en el que se analizó la localización nuclear de distintos *loci* (de regiones eucromáticas, con diferentes niveles de GC, densidad génica y tiempos de replicación) en cromosomas con distintos tipos de reordenamientos, mostró que ninguno de estos *loci* presentó alterada su ubicación nuclear (entendida como su posición hacia el interior del núcleo o hacia su periferia) en las distintas especies de primates no humanos analizadas (Federico et al., 2017). A su vez, se estudió la topografía de los cromosomas homeólogos a los humanos HSA 18 y 19, en primates del Viejo y Nuevo Mundo, observando la misma distribución radial que la observada previamente en humanos, a pesar de los numerosos reordenamientos cromosómicos ocurridos en la evolución de estas especies (Tanabe et al., 2002; 2005). Los mismos resultados se han obtenido analizando otros pares cromosómicos y su ubicación en distintos tipos celulares, reafirmando la hipótesis que relaciona las configuraciones radiales de la cromatina con diferencias en la densidad génica (Mora et al. 2006; Neusser et al., 2007).

Según estos hallazgos, genes ortólogos (sinténicos) deberían localizarse en el mismo compartimento nuclear en especies distintas, a fin de preservar las condiciones óptimas para la transcripción y regulación génica (Federico et al., 2017). Sin embargo, se encontró una relación entre el tamaño de los cromosomas y su ubicación. Cuando las regiones cromosómicas ortólogas involucradas en las fusiones y fisiones resultaban en cromosomas más largos o

cortos respectivamente, se observaron variaciones especie-específicas en el patrón de distribución radial nuclear de los cromosomas (Neusser et al., 2007); los cromosomas más pequeños se ubicaron más cercanos al interior del núcleo. Con respecto a los tiempos de replicación, Grasser y colaboradores (2008) realizaron un análisis cuantitativo de la correlación entre éste y la topología nuclear de 64 *loci* en primates humanos y no humanos, demostrando que los *loci* de replicación tardía son propensos al reposicionamiento nuclear producto de inversiones evolutivas, mientras que los *loci* de replicación temprana se ubicarían preferentemente en el interior nuclear independientemente del tipo celular y la especie analizada.

Entre los primates no humanos, Platyrrhini constituye un grupo con cariotipos altamente reordenados respecto al cariotipo humano, que han sido estudiados extensamente a través de las técnicas de tinción diferencial y pintado cromosómico (Seuáñez, 1979; Müller y Wienberg, 2001, entre otros). El estudio del genoma en primates no humanos, a través de análisis comparativos, permite reconstruir su historia evolutiva y los mecanismos involucrados en los cambios en el genoma de estas especies (Enard y Pääbo, 2004; Rogers y Gibbs, 2014). Las propiedades composicionales y la localización nuclear de las bandas cromosómicas observables en los reordenamientos permitirían asignarles un papel en la evolución cariotípica y con ello, muy probablemente, en la evolución de estas especies (Tanabe, 2002, Federico et al., 2017). En los últimos años ha cobrado importancia el estudio de estos reordenamientos en la organización de la cromatina a nivel del núcleo celular, así como su implicancia en el correcto funcionamiento de los genes (Federico et al., 2017).

En el Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE) se estudió el contenido y composición nucleotídica mediante patrones de tinción secuenciales diferenciales con los fluorocromos 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) para detectar zonas ricas en pares de bases AT, y cromomicina A3 (CMA<sub>3</sub>) para zonas ricas en pares de bases GC. Se analizaron y compararon las regiones heterocromáticas a partir de bandas C entre diferentes especies de *Cebus* y de *Ateles*, evidenciando que la composición de la heterocromatina constitutiva es diferente en ambos géneros: en *Cebus* los bloques de heterocromatina C-positiva resultaron ser CMA<sub>3</sub>-positivos, demostrando que la heterocromatina constitutiva está enriquecida en pares de bases GC; mientras que en *Ateles*, las regiones de heterocromatina constitutiva resultaron ser DAPI-positivas, presentando entonces una composición nucleotídica rica en pares de bases AT (Fantini, 2015; Nieves et al., 2018).

Dado que en primates neotropicales se conocen las homeologías cromosómicas

conservadas con los humanos (*Morescalchi et al., 1997; Stanyon et al., 2004; Dumas et al., 2007, entre otros*) y que para los cromosomas humanos se conoce el perfil composicional o distribución de isocoros (*Saccone et al., 2002; Costantini et al., 2006*), es posible inferir el perfil composicional de los monos del Nuevo Mundo a partir de la información obtenida del análisis de los patrones de bandas fluorescentes DAPI/CMA<sub>3</sub> y de bandas G. La caracterización del contenido nucleotídico de la eucromatina en especies del género *Alouatta* (*A. caraya, A. guariba clamitans y A. pigra*) mostró un patrón especie-específico (*Steinberg et al., 2018; 2020*). Las bandas DAPI-negativas/CMA<sub>3</sub>-positivas se corresponderían en su mayoría con los isocoros H3 caracterizados en humanos, sugiriendo que habrían ocurrido reordenamientos cromosómicos que modificaron la ubicación de estas regiones en el genoma de aulladores, así como posibles amplificaciones y/o pérdida de estas regiones, constituyendo un antecedente del grupo para la nueva propuesta (*Steinberg et al., 2020*).

En este trabajo de Tesis buscaremos profundizar el conocimiento sobre esta característica del genoma y caracterizar su comportamiento en otros primates neotropicales.



## Objetivos e Hipótesis

---

## Objetivos

- Estudiar la estructura y organización cromosómica de especies de los géneros *Ateles*, *Cebus* y *Aotus*, analizando la distribución genómica de regiones ricas en pares de bases AT/GC.
- Interpretar la implicancia de estas secuencias en la reorganización de la arquitectura cromosómica en los cariotipos mediante el estudio del perfil composicional de especies de los géneros *Ateles*, *Cebus* y *Aotus*.

## Hipótesis

Hipótesis 1: el perfil composicional de pares de bases AT/GC descrito en *Homo sapiens* se encuentra conservado en primates neotropicales de los géneros *Ateles*, *Cebus* y *Aotus*.

Hipótesis 2: las variaciones en el perfil composicional en los géneros *Ateles*, *Cebus* y *Aotus* respecto a *Homo sapiens* pueden explicarse por los reordenamientos cromosómicos ocurridos en estos grupos.

# Materiales y Métodos

---

## Muestras biológicas

Los estudios realizados en este trabajo de Tesis se llevaron a cabo a partir de muestras previamente fijadas (*pellets*) en el GIBE, obtenidas según técnica estándar de cultivo de linfocitos de sangre periférica (*Steinberg et al., 2014*).

El acceso a muestras de sangre de primates no humanos estuvo restringido durante un periodo muy extenso de tiempo dado que, al ser potencialmente susceptibles al virus del COVID, los muestreos que involucraran capturas de ejemplares fueron desaconsejados por los especialistas primatólogos. Por otro lado, el número de primates alojados en cautiverio en zoológicos o centros de cría es cada vez menor, siguiendo una tendencia actual a reintroducir los ejemplares en su hábitat natural, o alojarlos en santuarios, siempre y cuando su traslado sea viable. Razones por las cuales, en los últimos años, el acceso a estos primates para muestreos disminuyó notablemente. Esto destaca el valor de disponer de material de reserva para poder trabajar en casos en los que de otra forma resultaría imposible, dados los costos y tiempos para acceder a muestras frescas a través de nuevas campañas de muestreo.

Se utilizaron muestras de un total de 14 individuos adultos mantenidos en cautiverio y correspondientes con tres especies, cuatro *Aotus azarae* (AAZ, 2n = 50, X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>2</sub>♀/ 2n = 49, X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>Y♂), cinco *Ateles chamek* (ACH, 2n = 34, XX♀/XY♂) y cinco *Cebus cay* (CCY, 2n = 54, XX♀/XY♂). La información correspondiente a cada individuo, el sexo y el lugar de procedencia de la muestra se detalla en la Tabla 3.

Especie	ID ejemplar en origen	ID ejemplar en el GIBE	Sexo	Procedencia
<i>Aotus azarae</i> (AAZ)	00-01D7-CE3E	517	♂	Parque de la Biodiversidad - Ex Zoo Córdoba
	00-01D7-56E9	518	♀	Parque de la Biodiversidad - Ex Zoo Córdoba
	00-01E7-E4E5	519	♂	Parque de la Biodiversidad - Ex Zoo Córdoba
	Miri	786	♀	EFA – Salta
<i>Ateles chamek</i> (ACH)	-	516	♂	Parque de la Biodiversidad - Ex Zoo Córdoba
	1	672	♀	Granja La Esmeralda - Santa Fe
	2	673	♀	Granja La Esmeralda - Santa Fe
	939000002137923	767	♀	REHM – Tucumán
	Flopo	844	♂	Ecoparque - Ex Zoo Buenos Aires
<i>Cebus cay</i> (CCY)	Priscilla	823	♀	REHM – Tucumán
	Flaco	825	♂	EFA – Salta
	Cunina	826	♀	EFA – Salta
	Vanina	828	♀	EFA – Salta
	Martín	830	♂	EFA – Salta

Tabla 3. Individuos analizados en este trabajo de Tesis. EFA: Estación de Fauna Autóctona, Salta, Argentina; REHM: Reserva Experimental Horco Molle, Tucumán, Argentina.

## Preparaciones cromosómicas

Las preparaciones cromosómicas se realizaron goteando 20 µl del *pellet* en portaobjetos empañados con vapor. Los portaobjetos deben estar previamente desengrasados y conservados en etanol 96% a 4°C. Dado que se trabajó con muestras fijadas con varios años de antigüedad, se realizaron dos tipos de pretratamientos para obtener preparaciones lo más libres de restos celulares posibles:

1. se resuspendió una alícuota del *pellet* en una solución de metanol: ácido acético glacial en proporción 1:1;
2. se resuspendió una alícuota del *pellet* en ácido acético glacial 70% en agua corriente.

Para evaluar su calidad, cada preparación fue observada al microscopio de contraste de fases Leica DM500 (Leica Microsystems Imaging Solutions Ltd., Cambridge, UK) de la Sala de Microscopía (Lab 65 – Depto. EGE – IEGERA).

## Tinción estándar

De cada fijación cromosómica se confeccionó al menos una preparación cromosómica control con tinción estándar para establecer los siguientes parámetros:

- **Índice mitótico (IM%)**: porcentaje de células en metafase sobre un total de 1000 núcleos estimulados;
- **Número cromosómico modal (2n)**: cantidad de cromosomas por célula; se contaron 50 metafases por individuo.

Las preparaciones control se tiñeron con una solución de Giemsa 10% en agua corriente por cinco minutos, luego se enjuagaron y se dejaron secar a temperatura ambiente.

## Tinción diferencial

Para la corroboración de la asignación taxonómica dada al ejemplar en su lugar de origen se realizaron técnicas de tinción diferencial (bandas G por tinción con Wright y por tripsina) y se compararon los patrones obtenidos con los ya descritos para las especies (*Mudry et al., 1984; Matayoshi et al., 1987; Medeiros et al., 1997*). Para la caracterización de las regiones de heterocromatina constitutiva las preparaciones se sometieron a la técnica de bandas C. Previo a la aplicación de estas técnicas, las preparaciones se dejaron envejecer a temperatura ambiente (25°C) al menos una semana. Las preparaciones, una vez teñidas, se observaron y fotografiaron en un microscopio óptico Leica DMLB (Leica Microsystems Imaging Solutions Ltd., Cambridge, UK) equipado con una cámara digital Leica DFC350 FX CCD y el programa Leica IM50 version 4.0 software (Leica Microsystems Imaging Solutions Ltd., Cambridge, United Kingdom). La metodología de preparación de las soluciones utilizadas se encuentra detallada en el Anexo Soluciones.

### A. Bandas G con coloración de Wright (*Steinberg et al., 2014*)

1. Se introducen los portaobjetos en un Koplín con una solución de 2xSSC a 65°C un tiempo mínimo de 10", dependiendo del tiempo de envejecimiento de la preparación.
2. Se lavan con abundante agua destilada y se dejan secar al aire.

3. Se tiñen las preparaciones con solución colorante de Wright (*buffer* Sorensen: solución colorante en proporción 3:1) durante 2' 30".
4. Se lavan con agua corriente y se dejan secar al aire para observar luego al microscopio óptico.

B. Bandas G con Tripsina (*Seabright, 1971* modificado)

1. Se introducen los portaobjetos en un Koplín con una solución de PBS sin  $\text{Ca}^{2+}$  ni  $\text{Mg}^{2+}$  a temperatura ambiente por 10'.
2. Se transfieren inmediatamente las preparaciones a un Koplín con una solución de tripsina 0,05% en PBS sin  $\text{Ca}^{2+}$  ni  $\text{Mg}^{2+}$  a temperatura ambiente por un tiempo mínimo de 10", que dependerá del tiempo de envejecimiento de la preparación.
3. Se tiñen con Giemsa 3% en agua corriente durante 3', se dejan secar y se observan al microscopio.

C. Bandas C (*Steinberg et al., 2014*)

1. Se colocan los portaobjetos en un Koplín con una solución de HCl 0,2 N a temperatura ambiente durante 20'.
2. Se lavan con agua destilada.
3. Se colocan las preparaciones en un Koplín con una solución de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  5% en baño termostático a 50°C. El tiempo de digestión dependerá principalmente del tiempo de envejecimiento de las preparaciones.
4. Se lavan con agua destilada.
5. Se sumergen las preparaciones en un Koplín con una solución de 2xSSC a 60°C durante 1 hora.
6. Se lavan con agua destilada.
7. Se tiñen con Giemsa 3% en agua corriente durante 5'.
8. Se lavan con agua corriente, se dejan secar al aire y se observan al microscopio.

Para detectar las regiones ricas en AT y GC respectivamente, se realizó la técnica de bandas fluorescentes secuenciales con 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) y cromomicina A<sub>3</sub> (CMA<sub>3</sub>).

D. Bandas DAPI-CMA<sub>3</sub> (Poggio et al., 2011)

1. Se deshidratan las preparaciones en un Koplín con una solución de etanol 70% frío 2', etanol 80% a temperatura ambiente 30" y etanol 100% a temperatura ambiente 30".
2. Se colocan las preparaciones en un Koplín con metanol durante 2 horas.
3. Se lavan con *buffer* Mc Ilvaine.

A partir de este paso se trabaja estrictamente en oscuridad.

4. Se colocan 75 µl de DAPI (solución de trabajo [1 µg/ml]). Se coloca un cubreobjetos plástico y se deja en cámara húmeda en oscuridad por 20'.
5. Se lavan con agua destilada, *buffer* Mc Ilvaine y agua destilada, procurando retirar el cubreobjetos en el primer lavado con agua destilada. Entre lavados, se retira el exceso de líquido golpeando el portaobjetos levemente.
6. Se colocan 50 µl de CMA<sub>3</sub> (solución de trabajo [0,6 mg/ml]). Se coloca un cubreobjetos plástico y se mantienen en cámara húmeda en oscuridad por un mínimo de 1 hora.
7. Se repite el paso 5.
8. Se dejan secar las preparaciones sobre papel absorbente al aire.
9. Se coloca el medio de montaje y luego un cubreobjetos de vidrio, se retira el exceso con papel absorbente y se sellan con pegamento.
10. Se incuban durante 3 días en oscuridad en estufa a 37°C. Una vez retirados ya están listos para observarlos en microscopio de fluorescencia.

En algunas preparaciones se realizó un pretratamiento con HCl 10mM a 37° C, previo a las bandas fluorescentes DAPI/CMA<sub>3</sub>, para remover más eficientemente la membrana plasmática y restos celulares.

Las células en metafase tratadas con DAPI/CMA<sub>3</sub> se fotografiaron en blanco y negro por separado para cada fluorocromo. Las imágenes fueron pseudocoloreadas (azul claro para DAPI, verde para CMA<sub>3</sub>) y procesadas con el software Photoshop versión 21.0.2 (2019). Se analizaron al menos 15 fotografías por individuo.

Las bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> se clasificaron según su ubicación en cada par cromosómico en cuatro tipos: teloméricas, centroméricas, pericentroméricas e intersticiales, tal como indica la Figura 11. A su vez, las mismas se clasificaron de acuerdo con su ubicación en cada brazo cromosómico. Las bandas más cercanas al centrómero se clasificaron como proximales y las más alejadas al centrómero como distales.



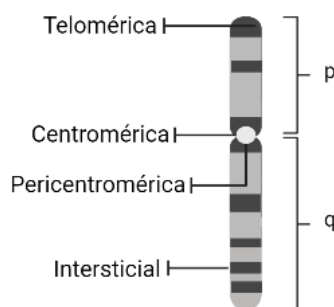


Figura 11. Clasificación de las bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> según su posición cromosómica. Elaboración propia usando BioRender.com.

## Obtención del Perfil Composicional

Para obtener el perfil composicional de cada especie analizada, se comparó el patrón de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> obtenido para cada cromosoma con el perfil composicional para las correspondientes regiones homeólogas de los cromosomas humanos, de acuerdo con Costantini y colaboradores (2006) y Saccone y colaboradores (2002). La bibliografía consultada para establecer las homeologías para cada especie en estudio con *Homo sapiens* se muestra en la Tabla 4.

Especie	Homeologías con <i>Homo sapiens</i>
<i>Aotus azarae</i>	Araujo et al., 2017
<i>Ateles chamek</i>	de Oliveira et al., 2005 Fantini et al., 2016
<i>Cebus cay</i>	García et al., 2000 Amaral et al., 2008

Tabla 4. Bibliografía consultada para el establecimiento de las homeologías cromosómicas de las especies estudiadas.

Si bien en *Aotus azarae* en particular no han sido publicados al día de la fecha estudios de *FISH* con sondas humanas indicando las homeologías, se utilizaron las homeologías identificadas a través de *FISH* para *A. infulatus* (Araujo et al., 2017), dada las similitudes entre su cariotipo y el de *A. a. boliviensis* (Mudry et al., 1984), especie con cariotipo idéntico al de *A. a. azarae* (Pieczarka y Nagamachi, 1988).

Para *Ateles chamek*, las homeologías respecto al humano obtenidas en Fantini y colaboradores (2016) resultaron incompletas para algunos cromosomas, dado que no se obtuvo hibridación con todas las sondas humanas utilizadas. Para obtener las homeologías faltantes

se complementaron dichos resultados con los obtenidos por de Oliveira y colaboradores (2005) para *A. belzebuth marginatus* y *A. paniscus paniscus*, basándonos en las homeologías entre los cariotipos de estas especies y *A. chamek* (Nieves et al., 2005b).

Finalmente, para *Cebus cay* se utilizaron las homeologías publicadas en Amaral y colaboradores (2008), en donde se utiliza la nomenclatura de Hershkovitz y colaboradores (1949) y se identifica a la especie como *C. apella paraguayanus*.

Para una mejor comprensión de los segmentos cromosómicos a los que estas publicaciones hacen referencia, se presenta la nomenclatura que les asignó Neusser y colaboradores (2001), dado que los distintos autores utilizaron las mismas sondas humanas y la nomenclatura propuesta por este autor (Tabla 5).

Platyrrhini <sup>a</sup>	Humano <sup>b</sup>	Platyrrhini <sup>a</sup>	Humano <sup>b</sup>
1a	1p	9	9
1b	1q32 q <sub>ter</sub>	10a/16a	10q/16p
1c	1q21 q31	10b	10p
2a	2q13 q <sub>ter</sub>	11	11
2b/16b	2p <sub>ter</sub> q12/16q	12	12
3a/21	3p12/21	13	13
3b	3p <sub>ter</sub> p24; p21 p12; q12 q13; q27 q <sub>ter</sub>	14/15 <sup>a</sup>	14/15q14 q24
3c	3p24 q21; q13 q26	15b	15q11 q13; q25 q <sub>ter</sub>
4	4	17	17
5/7a	5/7p22; q11; q21	19	19
6	6	20	20
7b	7p21 p11; q11 q21; q22 q <sub>ter</sub>	22	22
8a/18	8p/18	X	X
8b	8q	Y	Y

<sup>a</sup> Nomenclatura abreviada para los cromosomas del Platyrrhini ancestral

<sup>b</sup> Cromosoma o segmento cromosómico de humano homeólogo al cromosoma ancestral de Platyrrhini

Tabla 5. Homeologías de humanos correspondientes a cada cromosoma del Platyrrhini ancestral. Tomado de Neusser y colaboradores (2001).

# Resultados

---

## Determinación del índice mitótico y número modal

En este trabajo se caracterizó el índice mitótico (IM%) y el número cromosómico modal (2n) para cada ejemplar en estudio (Tabla 6).

Especie	ID ejemplar	IM%	2n	%2n
AAZ	517	3,1	49, X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> Y	62
	518	3,5	50, X <sub>1</sub> X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>2</sub>	56
	519	2,6	49, X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> Y	54
	786	4,2	50, X <sub>1</sub> X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>2</sub>	58
ACH	516	1,4	34, XY	52
	672	3,1	34, XX	56
	673	3,1	34, XX	52
	767	2,2	34, XX	52
	844	1	34, XY	56
CCY	823	4,7	54, XX	53
	825	3,4	54, XY	66
	826	2,7	54, XX	76
	828	3,3	54, XX	56
	830	3,3	54, XY	64

Tabla 6. Determinación del índice mitótico (IM%) y el número cromosómico modal (2n) para los individuos de *Aotus azarae* (AAZ), *Ateles chamek* (ACH) y *Cebus cay* (CCY). La columna %2n indica el porcentaje de células con el número modal descrito en la bibliografía.

## Caracterización cariotípica

A partir de la aplicación de distintas técnicas de tinción diferencial, se pudo corroborar la especie a la que cada uno de los ejemplares en estudio fuera asignado previamente. En todos los casos la especie asignada coincidió con el cariotipo obtenido y descrito para la especie, por lo que no se tuvo que reasignar taxonómicamente a ningún ejemplar.

***Ateles chamek***

Tanto el patrón de bandas G (Figura 12) como el patrón de bandas C (Figura 13) obtenido para los ejemplares ACH 516, 672, 673, 767 y 844 coincidieron con el esperado para la especie, confirmando inequívocamente la asignación de los individuos en estudio a la especie *A. chamek* (Medeiros et al., 1997). En todos ellos se observó un  $2n = 34$  con un sistema de determinación sexual simple XX en las hembras y XY en los machos. Se corroboró la fórmula cromosómica en ambos sexos, observándose de los 34 pares cromosómicos, doce pares con morfología submetacéntrica (pares 1-8, 10-13) y tres pares con morfología metacéntrica (pares 9, 14 y 15). Tanto el par 16 como el cromosoma Y resultaron acrocéntricos.

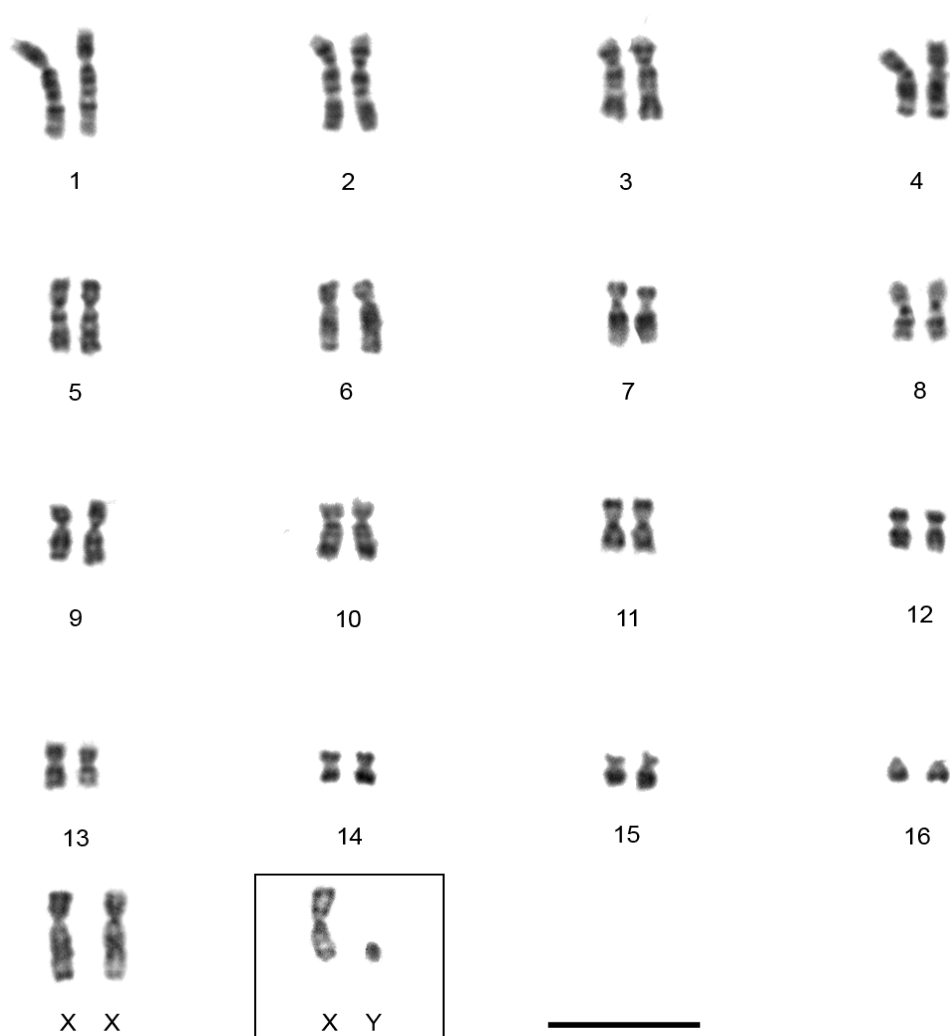


Figura 12. Patrón de bandas G para ejemplar hembra ( $2n = 34$ , XX) de *Ateles chamek* (Barra = 10  $\mu$ m). El recuadro indica el sistema sexual en machos ( $2n = 34$ , XY).

En el patrón de bandas C (Figura 13) se pudieron observar las bandas positivas de heterocromatina constitutiva descritas previamente para la especie: una intersticial en el brazo p del cromosoma 3 y una telomérica en el brazo p de los cromosomas 12 y 13, además de las centroméricas en todo el conjunto cromosómico (Nieves *et al.*, 2005b).

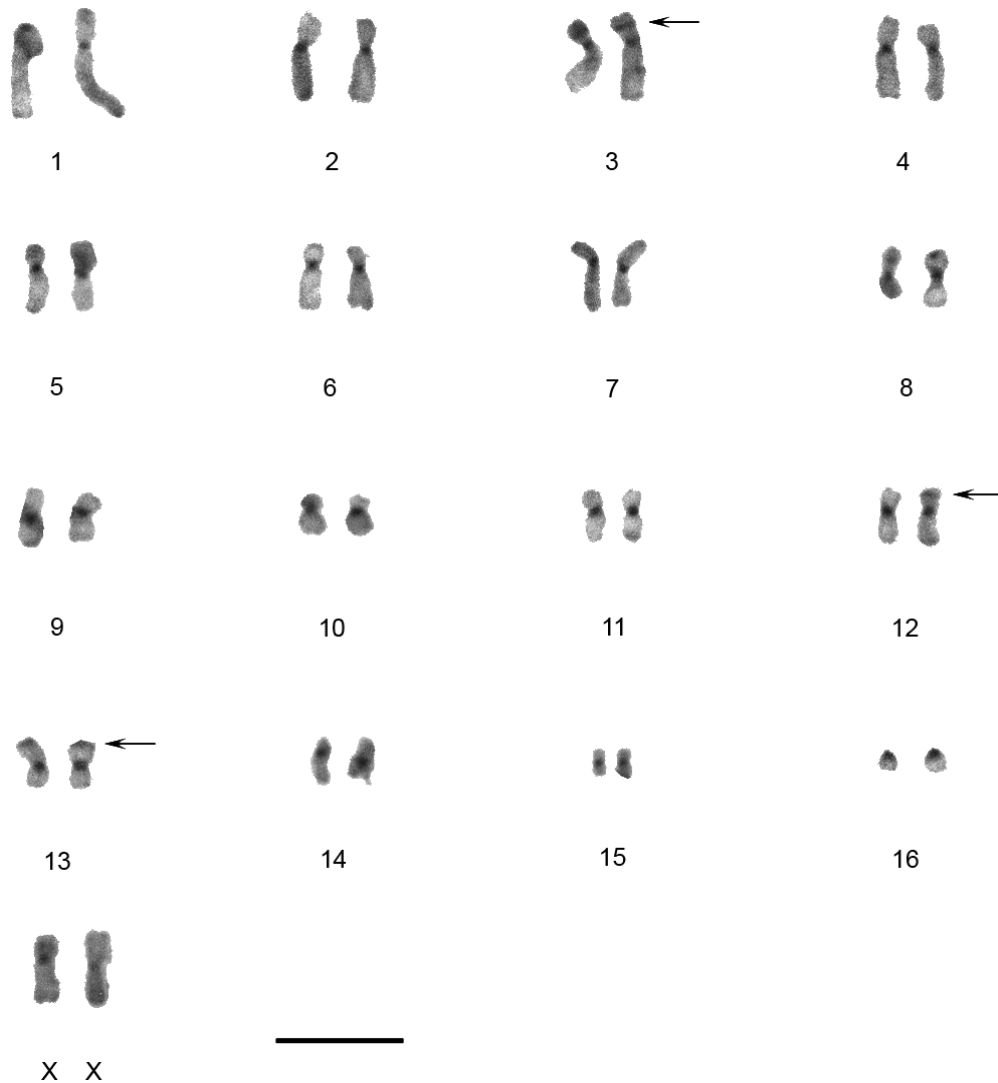


Figura 13. Patrón de bandas C para un ejemplar hembra ( $2n = 34, XX$ ) de *Ateles chamek*. Las flechas indican las bandas C+ que corresponden a los bloques de heterocromatina constitutiva en la especie (Barra = 10  $\mu$ m).

### ***Aotus azarae***

El patrón de bandas G observado en los ejemplares identificados como *A. azarae* (Figura 14) permitió confirmar su asignación a dicha especie (Mudry *et al.*, 1984). Se observó un  $2n = 50$ , con un sistema sexual  $X_1X_1X_2X_2$  en hembras y un  $2n = 49$ , con un sistema  $X_1X_2Y$  en machos.

En los machos, uno de los homólogos del par autosómico 23 está involucrado en una translocación Y-autosoma. En los machos con este sistema de determinación sexual múltiple, el X ancestral pasa a denominarse  $X_1$  y el cromosoma homólogo del par 23 involucrado en la translocación forma el cromosoma Y, presentando tanto secuencias del Y ancestral como del cromosoma 23. El otro cromosoma homólogo del par 23, que no estuvo involucrado en la translocación, pasa a denominarse  $X_2$ . El complemento autosómico, tanto en machos como en hembras, se caracteriza por la presencia de trece pares submetacéntricos (pares 1-13). En las hembras se observan once pares acrocéntricos (14-22, 24 y  $X_2$ ) y diez pares acrocéntricos (pares 14-22 y 24) en los machos. El cromosoma  $X_1$  posee morfología submetacéntrica y el cromosoma Y morfología acrocéntrica.

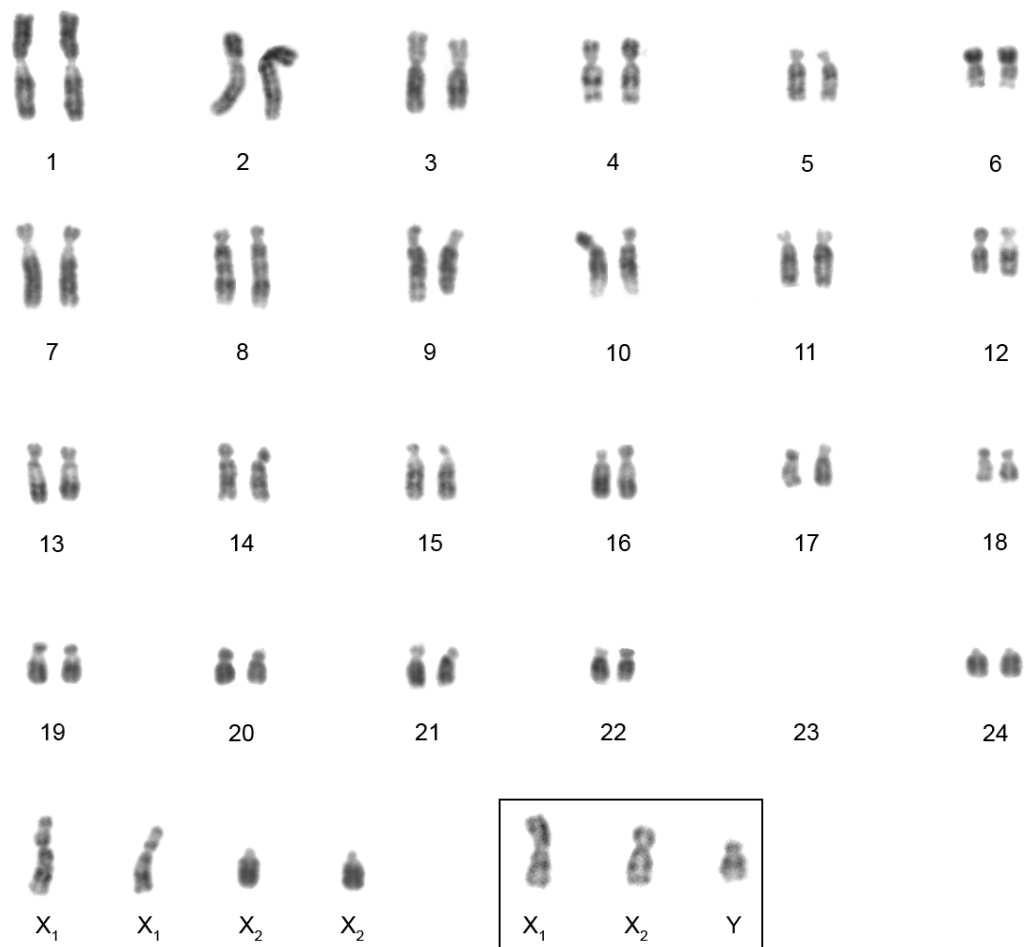


Figura 14. Patrón de bandas G para ejemplar hembra de *Aotus azarae* (Barra = 10  $\mu$ m). El recuadro indica el sistema sexual en los machos.



Con respecto a las bandas C se observaron bandas C+ en los centrómeros de todos los pares cromosómicos y una banda C+ intersticial en el brazo q en ambos homólogos de los pares cromosómicos 8 y 9, en coincidencia con lo previamente descrito para la especie (Milozzi *et al.*, 2012), tal como se indica en la Figura 15.

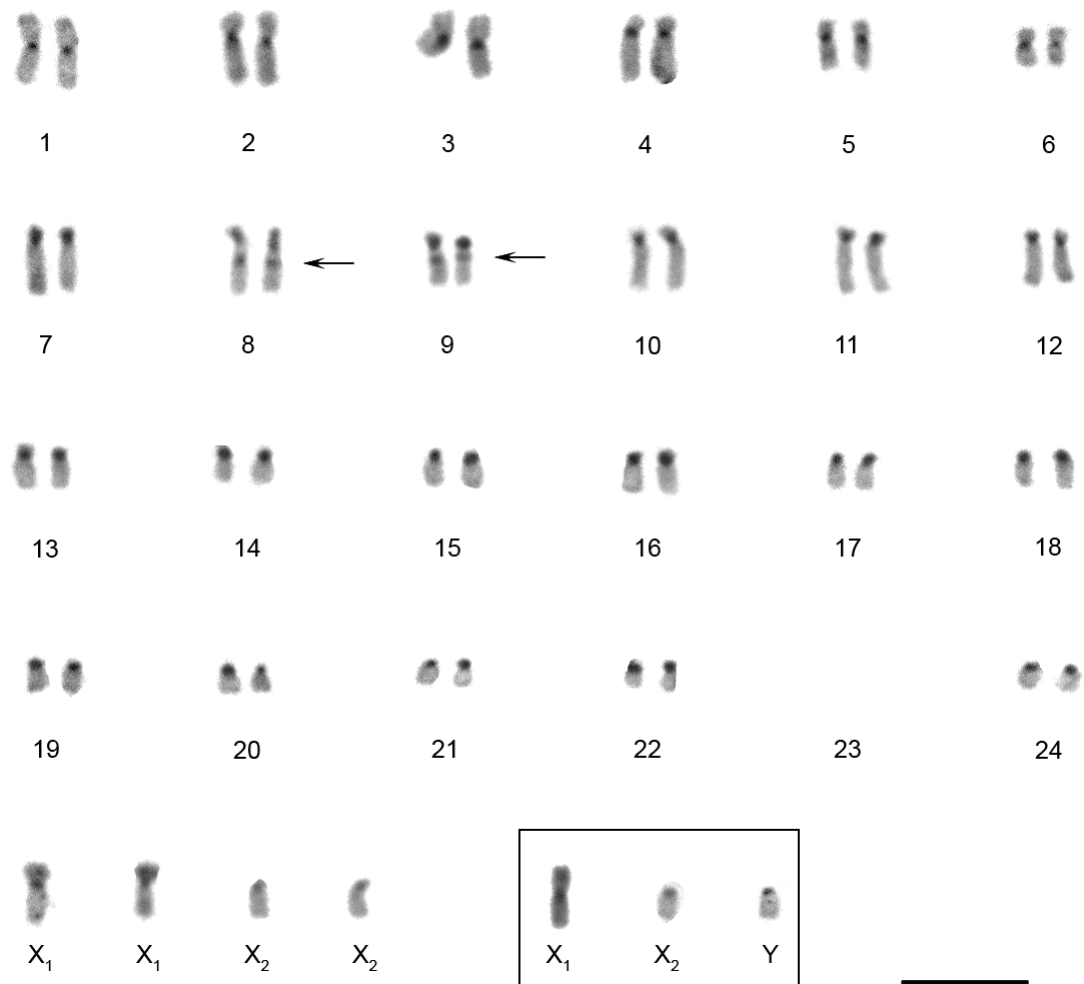


Figura 15. Patrón de bandas C para *Aotus azarae*. Las flechas indican las bandas C+ que corresponden a los bloques de heterocromatina constitutiva en la especie (Barra = 10 µm). El recuadro indica el sistema sexual en machos.

## *Cebus cay*

Para los individuos identificados como *Cebus cay*, ejemplares CCY 823, 825, 826, 828 y 830, se determinó un  $2n = 54$  tanto para los machos (XY) como las hembras (XX). Las bandas G (Figura 16) permitieron corroborar la asignación de especie pues coincidieron con el patrón publicado (Matayoshi et al., 1987; Mudry y Slavutsky, 1987). En el complemento autosómico se reconocieron ocho pares cromosómicos submetacéntricos (pares 1-8), dos pares metacéntricos (pares 9 y 10) y dieciséis pares acrocéntricos (pares 11-26), con un sistema de determinación sexual simple XX/XY, siendo el cromosoma X submetacéntrico y el cromosoma Y acrocéntrico, confirmando la asignación *C. cay* de los ejemplares analizados en este estudio.

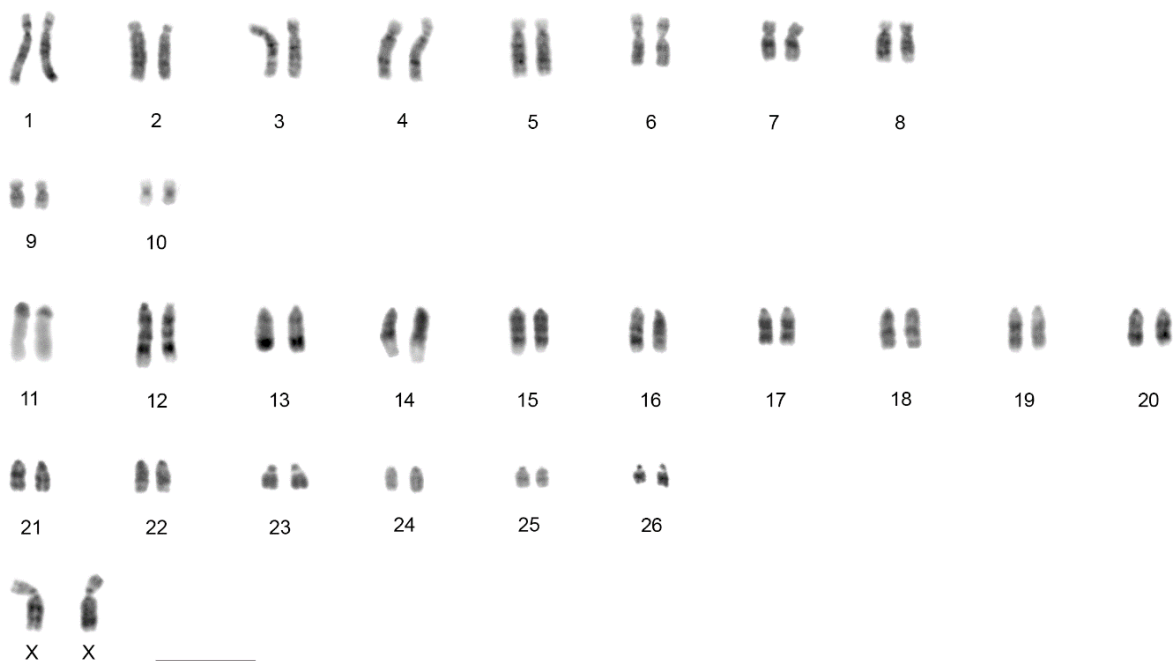


Figura 16. Patrón de bandas G para ejemplar hembra de *Cebus cay* (Barra = 10  $\mu\text{m}$ ).

## Composición nucleotídica

### *Ateles chamek*

En la Figura 17 se observa el patrón de bandas fluorescentes DAPI/CMA<sub>3</sub> obtenido para la especie, indicando con flechas rojas las bandas DAPI+ y con flechas amarillas para las bandas CMA<sub>3</sub>+. Se detectaron bandas DAPI+/CMA<sub>3</sub>- en posición intersticial (pares 1-13 y X) y pericentromérica (pares 1 y 3). Un único par cromosómico presentó una banda telomérica DAPI+ en el brazo p (par 7). Se observaron bandas DAPI-/CMA<sub>3</sub>+ en posición intersticial (pares 1-6 y X) y pericentromérica (pares 2, 5, 7 y 8). Las regiones teloméricas de uno o ambos brazos resultaron DAPI-/CMA<sub>3</sub>+ (pares 1-5, 7-11, 14 y X). El cromosoma Y se tiñó de forma homogénea con ambos fluorocromos.

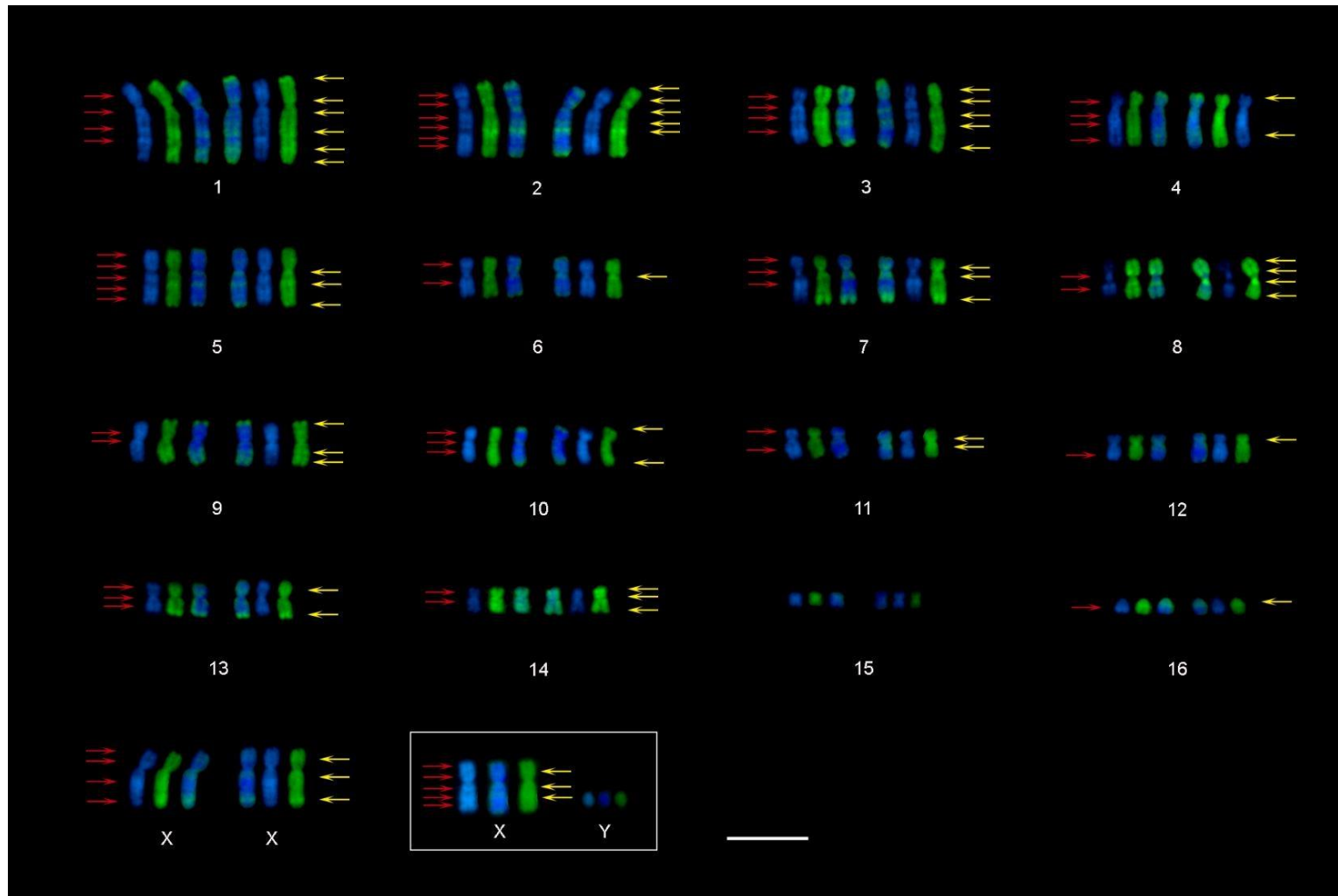


Figura 17. Patrón de bandas cromosómicas en preparaciones mitóticas de una hembra de *Ateles chamek* ( $2n = 34, XX$ ). Para cada par cromosómico se muestra la tinción con DAPI (azul), con  $CMA_3$  (verde) y la superposición de ambas. Las flechas rojas indican las bandas DAPI+ y las flechas amarillas las bandas  $CMA_3$ +. En el recuadro se indica el par sexual para los machos de la especie (Barra =  $10 \mu m$ ).

### *Aotus azarae*

Para *Aotus azarae*, el patrón de bandas DAPI+/CMA<sub>3</sub>- obtenido se observa en la Figura 18, en donde se indican con flechas rojas las bandas DAPI+ y con flechas amarillas las bandas CMA<sub>3</sub>+. Se observaron bandas DAPI+/CMA<sub>3</sub>- intersticiales en todos los pares cromosómicos y en los cromosomas sexuales. En siete pares (9, 10, 12, 17, 19, 21 y 24) y en los cromosomas X<sub>2</sub> e Y se observó tinción completa del brazo p con DAPI. El resto de las bandas DAPI+/CMA<sub>3</sub>- se localizaron en regiones pericentroméricas, en el brazo p (pares 6 y 22), en el brazo q (pares 3, 5, 8, 13, 16, 20 y cromosoma X<sub>1</sub>), o en ambos (pares 2 y 14). En las regiones centroméricas (pares 1, 2, 4, 6-15, 17-22, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e Y) y teloméricas, las bandas resultaron ser únicamente DAPI-/CMA<sub>3</sub>+; las bandas teloméricas resultaron CMA<sub>3</sub>+ en uno (pares 4-10, 12-15, 18-22, 24, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>) o ambos brazos cromosómicos (pares 1, 3 y 11).

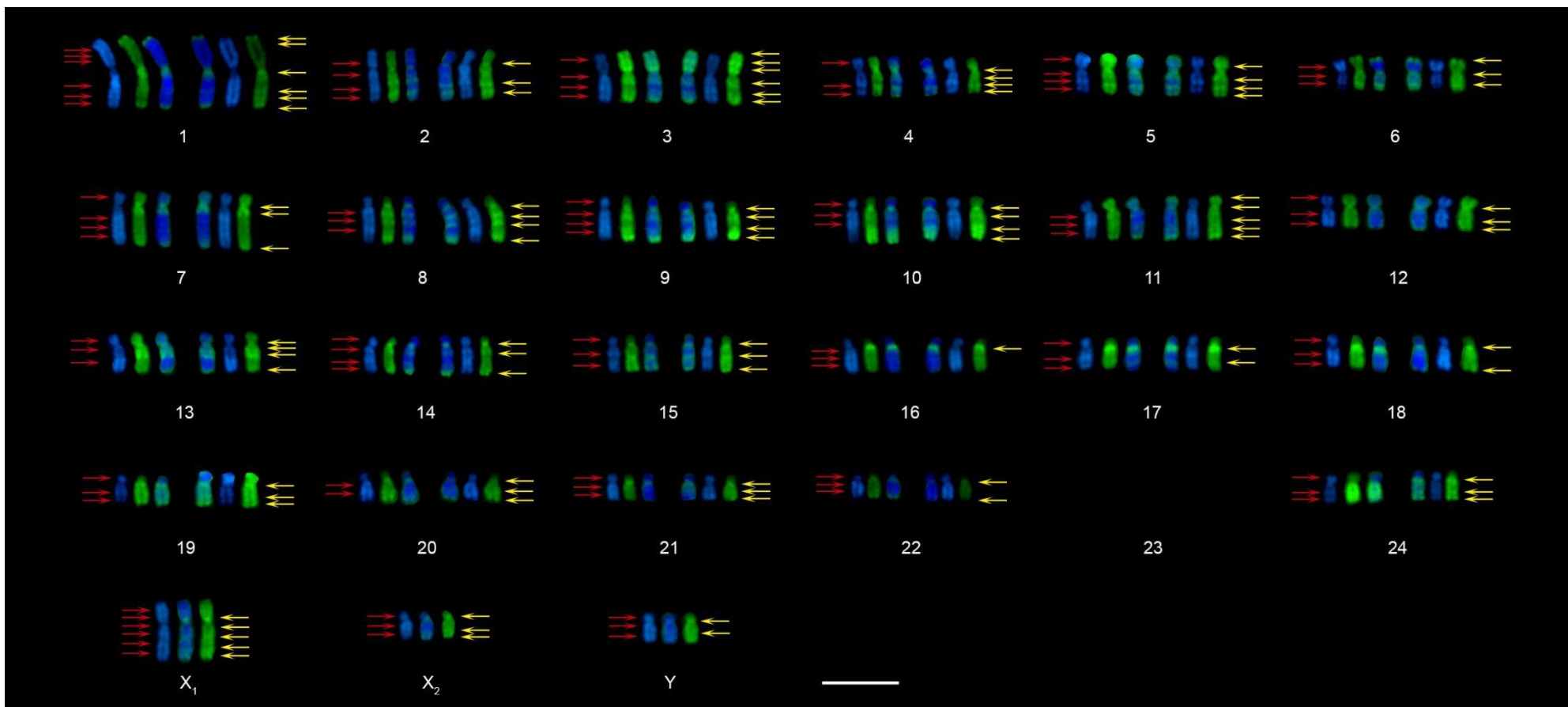


Figura 18. Patrón de bandas cromosómicas en preparaciones mitóticas de un macho de *Aotus azarae* ( $2n = 49, X_1X_2Y$ ). Para cada par cromosómico se muestra la tinción con DAPI (azul), con  $CMA_3$  (verde) y la superposición de ambas. Las flechas rojas indican las bandas DAPI+ y las flechas amarillas las bandas  $CMA_3$ + (Barra =  $10 \mu m$ ).

## *Cebus cay*

No se pudo obtener un patrón de bandas fluorescentes DAPI/CMA<sub>3</sub> en *Cebus cay*. En primer lugar, las preparaciones cromosómicas obtenidas contaron con pocas metafases. De las 26 metafases que pudieron ser fotografiadas, la tinción con DAPI resultó con poca resolución, observándose bandas incipientes únicamente en algunos pares cromosómicos. Por otro lado, la tinción con CMA<sub>3</sub> resultó poco clara en gran parte de estas metafases, observándose la presencia de membrana plasmática sobre éstas. En el resto de las metafases teñidas con CMA<sub>3</sub> se observó una tinción homogénea, de igual modo que para algunas de las metafases teñidas con DAPI, resultando imposible distinguir bandas. En otras metafases, los cromosomas resultaron “hinchados” producto de la metodología de tinción diferencial. En la Figura 19 se observa la tinción con DAPI y CMA<sub>3</sub> en una de las metafases para la cual se obtuvo el mejor resultado. Consideramos que la antigüedad de los *pellets* pudo haber sido el factor principal de estos resultados. Por otro lado, por una cuestión de tiempo (viaje programado para el mes de abril 2024), no pudieron realizarse más tinciones DAPI/CMA<sub>3</sub> sobre esta especie, última a tratar, sin perjudicar el tiempo dedicado al análisis de *Ateles chamek* y *Aotus azarae*, con las cuales si se contó con un buen material.

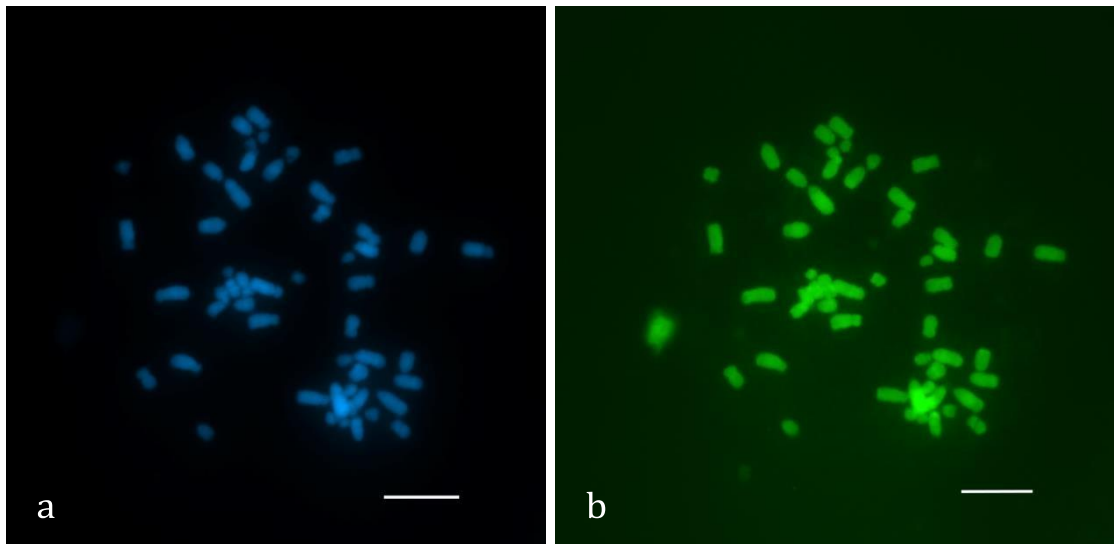


Figura 19. Resultado de la aplicación de la técnica de tinción fluorescente DAPI/CMA<sub>3</sub> en *Cebus cay*. a) Metafase con bandas DAPI. b) Metafase con bandas CMA<sub>3</sub> (Barra =10  $\mu$ m).

## **Análisis interespecífico de la composición nucleotídica**

En este trabajo de Tesis se analizan comparativamente y se discuten los hallazgos obtenidos sobre la composición nucleotídica de la cromatina comprometida en la estructura de cada par cromosómico de las especies de monos neotropicales propuestos en relación a las homeologías previamente estudiadas y publicadas, como características del genoma humano y sus cromosomas (HSA).

Los individuos de las diferentes especies se analizan y discuten, presentando para cada familia de primates las comparaciones de homeologías respecto de HSA y, a partir de ello, inferiremos el estado actual de los cariotipos aceptados para cada uno de los géneros y especies en estudio en esta oportunidad.

### **Familia Atelidae**

Iniciamos el análisis comparativo con *Ateles chamek* teniendo en consideración los datos previamente publicados en los monos aulladores, pertenecientes a la misma familia (Steinberg et al., 2018; 2020) (Tabla 7). De un análisis cualitativo se desprende que el cariotipo del mono araña posee un menor número de bandas intersticiales DAPI+/CMA<sub>3</sub>- que el del aullador *A. caraya* (ACA), siendo 36 bandas en ACA y 33 en ACH, y mayor que el de los aulladores *A. guariba clamitans* (AGUc) y *A. pigra* (API), ya que se observan 32 en AGUc y 20 en API. Al mismo tiempo se destaca que el mono araña presentó un menor número de bandas intersticiales DAPI-/CMA<sub>3</sub>+ que lo observado en los monos aulladores (10 en ACH vs 21 en ACA y API y 14 en AGUc) y un número similar de bandas teloméricas (16 en ACH vs 12 en ACA, 14 en AGUc y 18 en API).



Especie	Bandas DAPI-/CMA <sub>3</sub> +				
	Telomérica	Pericentromérica	Intersticial	Brazo completo	Bandas totales
ACA	12	10	21	2	45
AGUc	14	20	14	3	51
API	18	16	21	4	59
ACH	16	6	10	1	33
Especie	Bandas DAPI+/CMA <sub>3</sub> -				
	Telomérica	Pericentromérica	Intersticial	Brazo completo	Bandas totales
ACA	7	9	36	-	52
AGUc	6	6	32	-	44
API	1	8	20	1	30
ACH	1	2	33	-	36

Tabla 7. Número localización de bandas fluorescentes en las distintas especies estudiadas en la familia Atelidae.

ACA: *A. caraya*; AGUc: *A. guariba clamitans*; API: *A. pigra*; ACH: *A. chamek*.

## Familia Cebidae

Dada la ausencia de un patrón de bandas fluorescentes DAPI/CMA<sub>3</sub> para *Cebus cay*, en la comparación de *Aotus azarae* con otra especie de la familia Cebidae se decidió comparar el patrón de *Aotus azarae* obtenido en este trabajo de Tesis con el de *C. nigrinus*, previamente analizado por personal del GIBE (Steinberg et al., 2018; Nieves et al., 2019b) y revisado para este trabajo de Tesis. Tal como se describió en la introducción, *C. nigrinus*, presenta un cariotipo muy similar al de *C. cay*: ambas especies poseen un número cromosómico diploide  $2n = 54$  con un sistema de determinación sexual simple XX para las hembras y XY para los machos, y se diferencian en que *C. cay* presenta un bloque de heterocromatina distal característico en el cromosoma 11, ausente en los *C. nigrinus* estudiados previamente y, por tal motivo, ese par cromosómico es de menor tamaño (Matayoshi et al., 1987; Nieves y Mudry, 2016; Nieves et al., 2018). Estas características de los cariotipos de estas dos especies permitieron realizar la comparación interespecífica en Cebidae.

Al comparar cualitativamente la distribución de las bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> (Tabla 8) se observó que el mono mirikiná *A. azarae* (AAZ) posee un mayor número de bandas intersticiales DAPI-/CMA<sub>3</sub>+ que *C. nigrinus* (CNI), siendo 36 para el primero y 23 para el segundo. Las bandas teloméricas CMA<sub>3</sub>+ se detectaron en un número similar en ambas

especies (25 en AAZ y 22 en CNI). Las bandas pericentroméricas CMA<sub>3</sub><sup>+</sup> fueron notablemente más numerosas en *C. nigritus*, siendo 19 en esta especie y sólo cinco en *A. azarae*. El cariotipo del mono mirikiná posee un mayor número de bandas intersticiales DAPI<sup>+</sup>/CMA<sub>3</sub><sup>-</sup> que el observado en el caí negro (67 en AAZ y 35 en CNI).

Especie	Bandas DAPI-/CMA <sub>3</sub> <sup>+</sup>				
	Telomérica	Pericentromérica	Intersticial	Brazo completo	Bandas totales
AAZ	25	5	36	-	88
CNI	22	19	23	2	66
Especie	Bandas DAPI <sup>+</sup> /CMA <sub>3</sub> <sup>-</sup>				
	Telomérica	Pericentromérica	Intersticial	Brazo completo	Bandas totales
AAZ	-	13	67	9	89
CNI	4	5	35	3	47

Tabla 8. Número y localización de bandas fluorescentes en las distintas especies estudiadas en la familia Cebidae.

AAZ: *A. azarae*; CNI: *C. nigritus*.

## Análisis del perfil composicional

La distribución de los isocoros en el genoma de las distintas especies en estudio en este trabajo de Tesis se analizó comparando las bandas fluorescentes DAPI/CMA<sub>3</sub> positivas para cada par cromosómico con el patrón en *Homo sapiens* (HSA) de los isocoros de la región homeóloga correspondiente. Estudios previos (Saccone *et al.*, 1993; Saccone y Bernardi, 2001) mostraron la correspondencia de los isocoros H3<sup>+</sup> con las bandas CMA<sub>3</sub><sup>+</sup>, ricas en GC, por lo que las bandas obtenidas se compararon con los isocoros H3<sup>+</sup> del patrón de isocoros de HSA que se observa en el ideograma de la Figura 20. Las bandas DAPI<sup>+</sup>, ricas en AT, se corresponderían con los isocoros L1<sup>+</sup> del patrón de isocoros de HSA obtenidos del mismo ideograma. Ambos, a su vez, se compararon con el perfil composicional obtenido por Costantini y colaboradores (2006) a través de secuencias del genoma humano completo (Figura 21), generando un mapa composicional más preciso que permite discernir no sólo las bandas más ricas y las más pobres en GC sino también las intermedias.

Para cada especie se muestra una imagen de cada par cromosómico con su patrón de bandas fluorescentes DAPI/CMA<sub>3</sub> hacia la derecha y el patrón de bandas G para un homólogo del par hacia la izquierda. En esta oportunidad se incluye el patrón de bandas G de los segmentos homeólogos de HSA considerados, el patrón de isocoros y el perfil composicional.

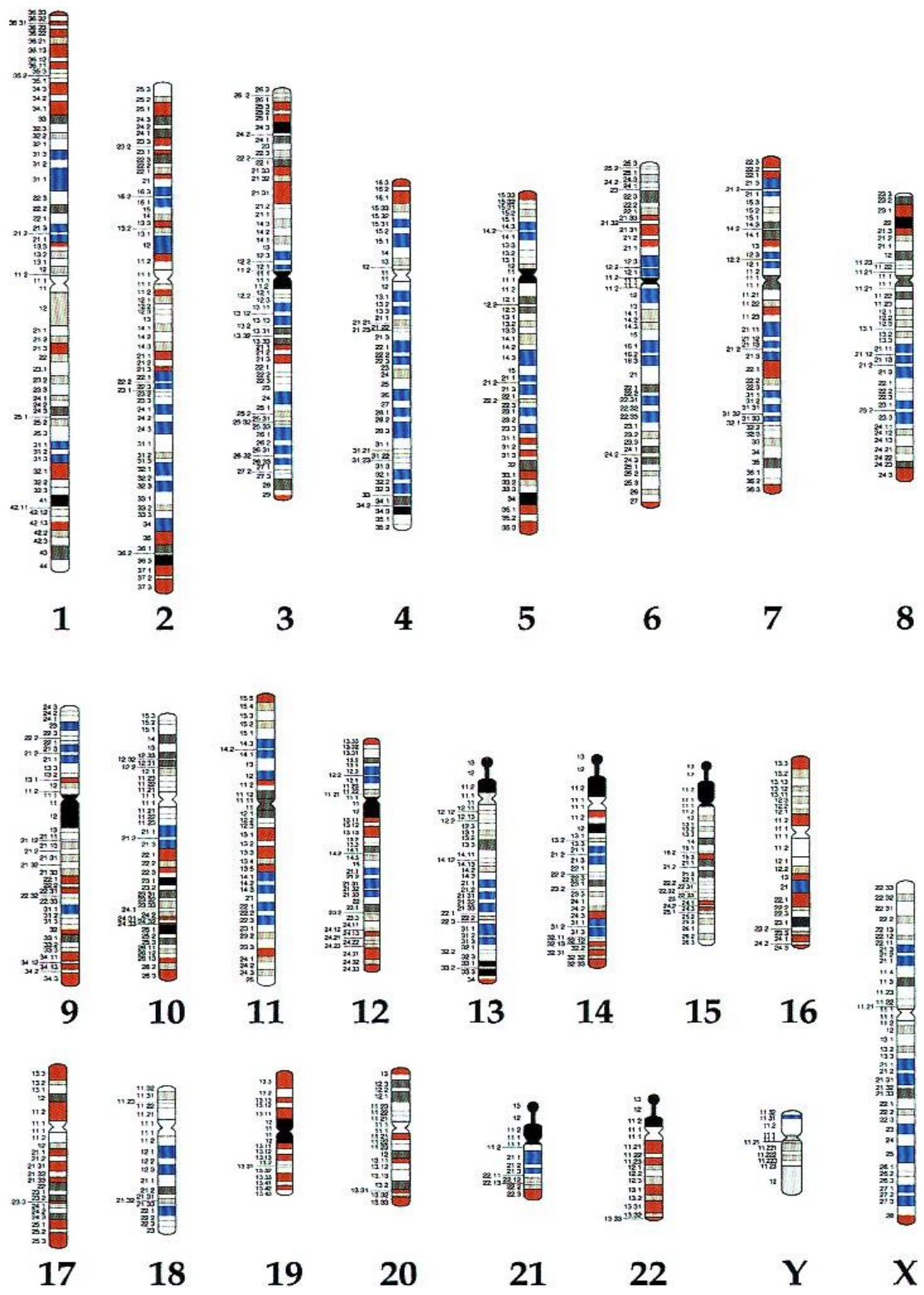


Figura 20. Ideograma de HSA mostrando el patrón de bandas G y la ubicación de los isocoros H3+ (rojo) y L1+ (azul). Tomada de Saccone y Bernardi (2001).

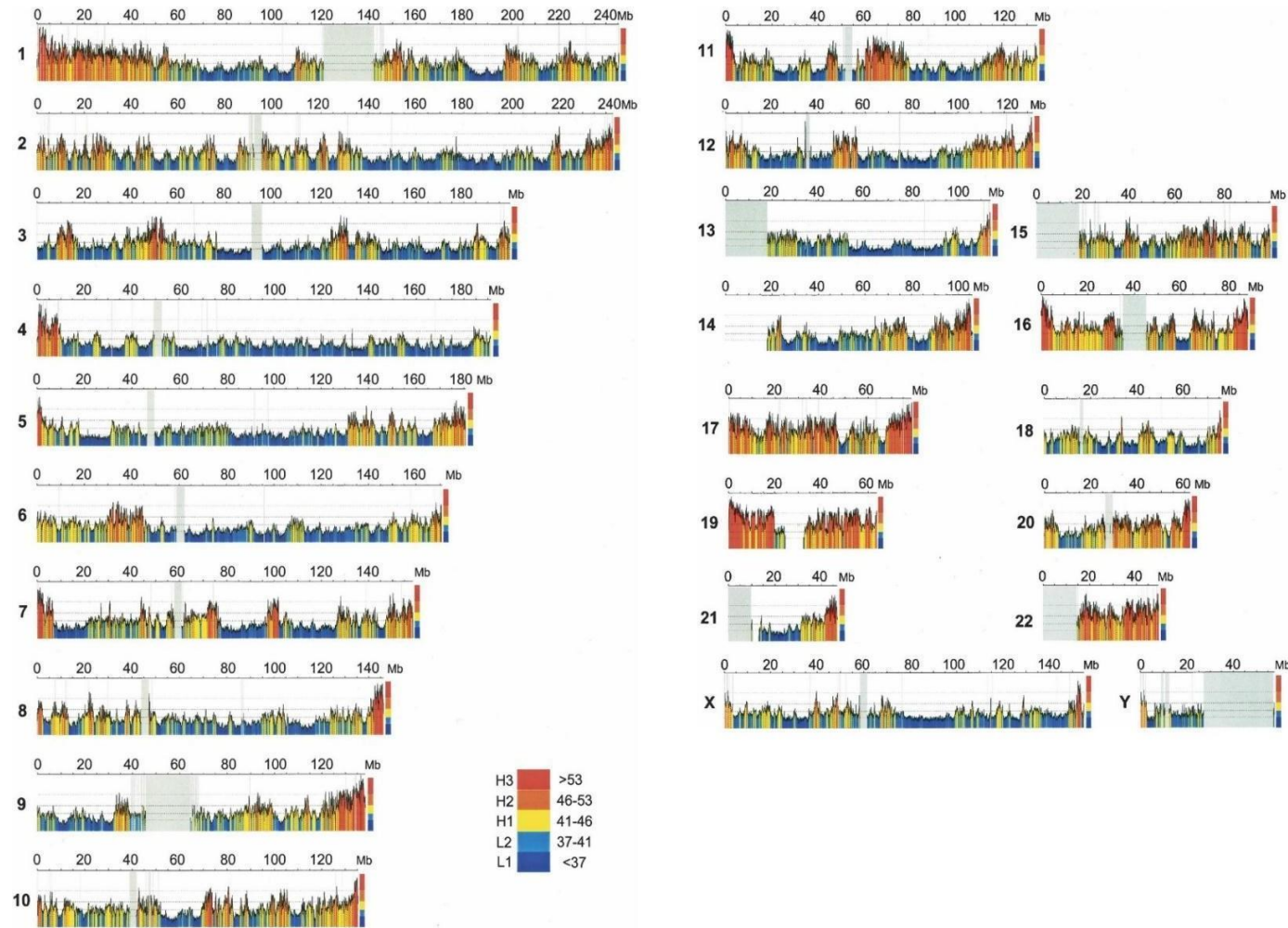


Figura 21. Mapa composicional de los cromosomas humanos (HSA). Los colores representan distintos niveles de GC, abarcando las cinco familias de isocoros, desde los isocoros más pobres en GC (en azul) hasta los isocoros más ricos en GC (en rojo). Las líneas verticales grises corresponden a las brechas en las secuencias, las regiones verticales grises a los centrómeros. Tomada de Costantini y colaboradores (2006).

## *Ateles chamek*

Para *Ateles chamek*, las homeologías respecto del humano publicadas en Fantini y colaboradores (2016) aplicando *FISH* resultaron incompletas, dado que para algunos cromosomas no se obtuvo hibridación con todas las sondas humanas utilizadas. Para conocer las homeologías faltantes se complementaron con los resultados obtenidos por de Oliveira y colaboradores (2005) para *A. paniscus*, considerando las homeologías entre los cariotipos publicados y *A. chamek* (Nieves et al., 2005b). Estas especies poseen idénticas homeologías con el cariotipo humano, si bien *A. paniscus* posee un  $2n = 32$ , XX/XY producto de una fusión entre los pares 4 y 12. Se utilizó la nomenclatura de segmentos humanos descrita en de Olivera y colaboradores (2005), modificada de la descrita por Neusser y colaboradores (2001), la cual se detalla en la Tabla 9.

<i>A. chamek</i> <sup>a</sup>	Humano <sup>b</sup>	<i>A. chamek</i> <sup>a</sup>	Humano <sup>b</sup>
1a1	1p21→pter	9	9
1a2	1p12→p21		
1b	1q21→q31	10a	10q
1c	1q21 q31	10b	10p
2a	2q12→qter	11	11
2b	2pter→q12	12	12
3 <sup>a</sup>	3p12	13a	q14→qter q11→q13
		13b	
3b	p24→pter, p12→p21, q12→q13, q27→qter	14	14
		15a1	q11→q24
		15a2	15q13→q21.2
3c	p21→p24, q13→q26	15b 16a	q11→13, q25→qter 16p
		16b	16q
4a 4b	4q31.3→qter	17	17
4c	4q23→q31.2	18	18
	4pter→q22	19	19
5a	5q31.3→qter	20	20
5b	5pter→q31.2	21	21
6	6	22	22
7a	p22, q11, q21	X	X
7b	p11→p21, q11→q21, q22→qter	Y	Y
8a	8p		
8b	8q		

<sup>a</sup> Nomenclatura abreviada para los cromosomas de *A. chamek*.

<sup>b</sup> Cromosoma o segmento cromosómico de HSA homeólogo al cromosoma de *A. chamek*.

Tabla 9. Homeologías de HSA correspondientes a cada cromosoma de *Ateles chamek*. Elaborada a partir de los datos provistos por de Oliveira y colaboradores (2005).

Para el cromosoma 1 de ACH (Figura 22) se observa una banda CMA<sub>3</sub>+ telomérica en el brazo p que coincide con el isocoro H3+ telomérico en la correspondiente región homeóloga de HSA. La banda CMA<sub>3</sub>+ más proximal y la banda DAPI+ intersticial en ese brazo, en principio, no se corresponderían con los isocoros H3+ y L1+ de la región homeóloga en humano. El brazo q de este cromosoma se caracteriza por la presencia de las sintenias de Platyrrhini ancestral 8a/18 y 10a/16a. En el segmento correspondiente a HSA8 se observa un isocoro H3+ que estaría conservado en ACH y corresponde a la banda CMA<sub>3</sub>+ proximal. La banda DAPI+ pericentromérica se correspondería con un isocoro L de menor contenido en GC (L2), según puede observarse en el perfil composicional. Para la región homeóloga del HSA18 se observan tres isocoros L1+ en el humano, que sólo el más distal se conservaría en el mono araña. Por otro lado, surgiría un nuevo isocoro H en esa región correspondiente a la banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial. Para la primera región del HSA 16, el isocoro H3+ no estaría conservado. Sin embargo, el isocoro H3+ telomérico está conservado en la región terminal del cromosoma 1 del mono araña y homeóloga a HSA16. En la región homeóloga al HSA10a se observan una banda intersticial DAPI+ y otra CMA<sub>3</sub>+ que en el ideograma no estarían indicadas como isocoros L1 y H3 y, que según el perfil composicional, podrían constituir isocoros con contenido en GC bajo e intermedio, respectivamente.

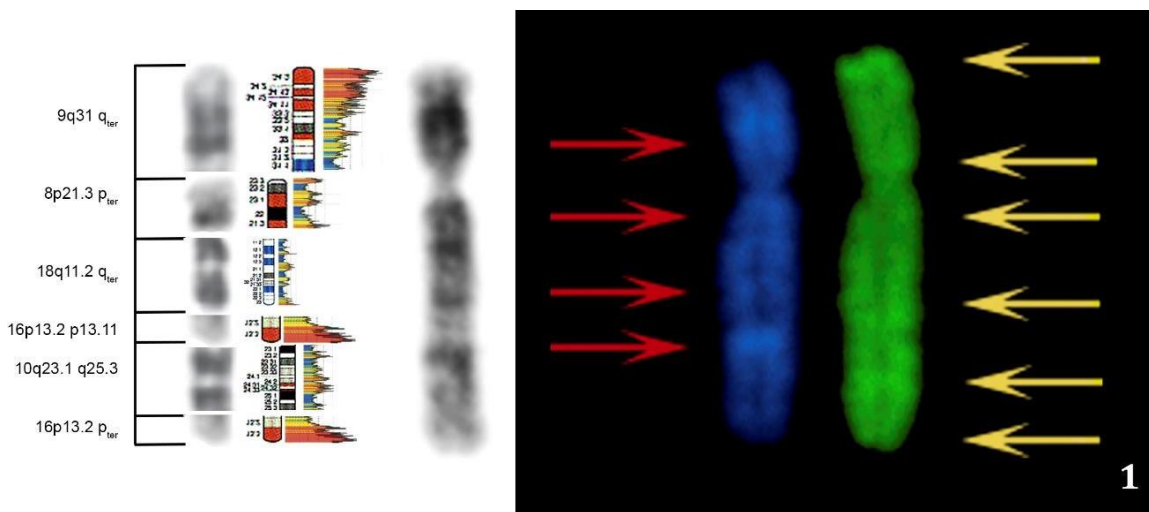


Figura 22. Cromosoma 1 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.



Para el cromosoma 2 de ACH (Figura 23), en el brazo p, región homeóloga a HSA 12p, se conservan un isocoro L1+ intersticial y el isocoro H3+ telomérico; sin embargo, se observa una banda DAPI+ proximal que no se correspondería con isocoros en esa región en HSA. La banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial en el brazo p se correspondería con isocoros H1/H2 presentes en HSA. En el brazo q encontramos la sintenia del Platyrrhini ancestral 14/15, en donde las bandas DAPI/CMA<sub>3</sub>+ coinciden con el patrón de isocoros L1 y H3 de *H. sapiens*, por lo que esta región estaría conservada respecto al humano, con excepción de la banda DAPI+ más proximal que podría haber surgido como un isocoro de novo posiblemente con un menor contenido en AT, o haberse perdido en el humano. Tanto las regiones homeólogas a HSA1 y HSA4 coinciden en la presencia de isocoros ricos en AT exclusivamente. Cabe destacar que si bien en ACH se observan dos bandas DAPI+, la cantidad de isocoros L1+ es mayor en el ideograma humano correspondiente a esas regiones. La región telomérica de ACH no presentó bandas CMA<sub>3</sub>+, por lo que no estaría conservado el isocoro H3+ presente en la región homeóloga en HSA.

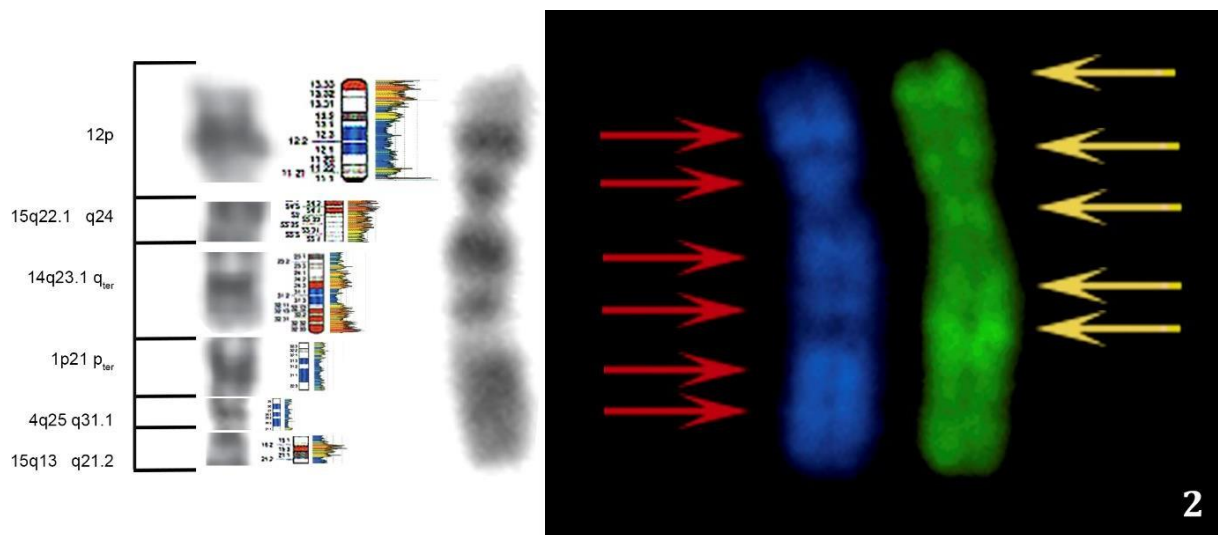


Figura 23. Cromosoma 2 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 3 de ACH (Figura 24), en el brazo p se observan dos bandas CMA<sub>3</sub>+ que coincidirían con los dos sectores ricos en isocoros H3+ de la región homeóloga de HSA. En ACH se observa una región rica en AT correspondiente a la banda DAPI+, que no tiene correspondencia con una región rica en AT en el humano. Esta región podría haber surgido *de novo* en ACH o haberse perdido en HSA. En las regiones correspondiente a la sintenia 3/15 en el brazo q habría conservación de los isocoros L1 y H3 humanos. La banda DAPI+ pericentromérica podría corresponderse a un isocoro L2 según el perfil composicional de la región homeóloga de HSA, al igual que la banda DAPI+ intersticial más proximal. La banda DAPI+ más distal en la región con homeología con HSA3 también estaría conservada, perteneciendo a un isocoro L1+. En cuanto a los isocoros H3+, sólo uno de los que se observan en la región homeóloga de HSA3 (el más distal) se correspondería con la banda CMA<sub>3</sub>+ más proximal, por lo que estaría conservada. La banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial más distal podría corresponderse a un isocoro de menor contenido en GC de la familia H1 o H2. Finalmente, para completar el análisis del cromosoma 3, se observa que el isocoro H3+ telomérico está conservado en la región con homeología a HSA2.

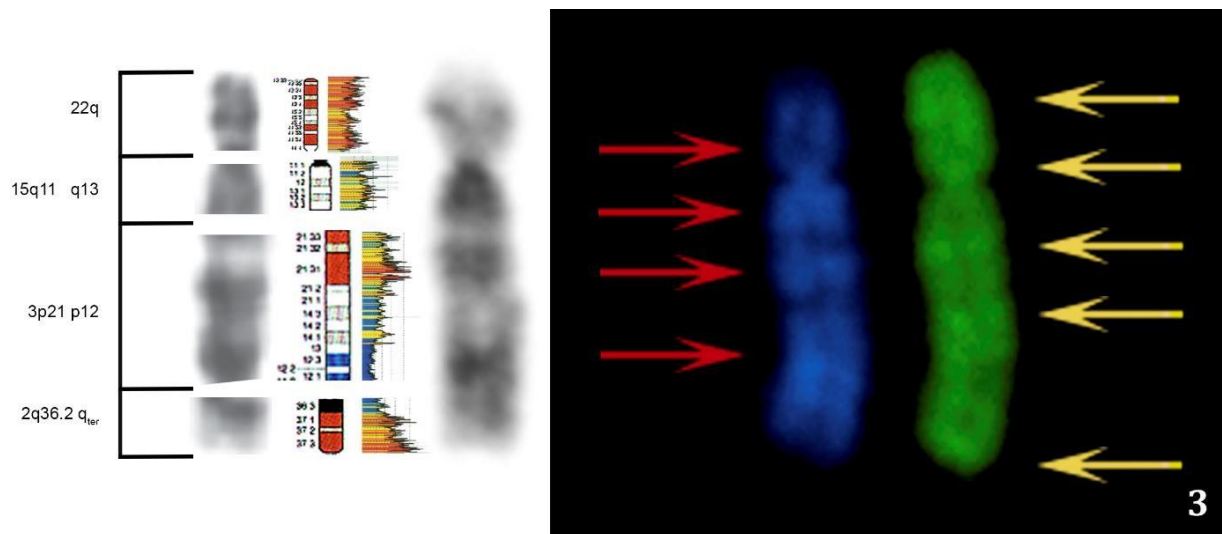


Figura 24. Cromosoma 3 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.



Para el cromosoma 4 de ACH (Figura 25), las regiones ricas en GC y en AT del brazo p están conservadas, con una banda CMA<sub>3</sub>+ telomérica y una banda DAPI+ intersticial que coincidirían con isocoros H3+ y L1+ en la región homeóloga de HSA. En la región correspondiente a HSA7, los isocoros L1+ estarían conservados y habría dos isocoros H3+ ausentes en ACH, que podrían haberse perdido en esta especie o haber surgido *de novo* en HSA. Se detectó una banda CMA<sub>3</sub>+ en el brazo q de *Ateles* que se correspondería con un isocoro de la familia H1 o H2, según el perfil composicional de la región homeóloga de HSA. En la última región del brazo q, homeóloga a HSA1, se conservaría el isocoro L1+ y no el H3+.

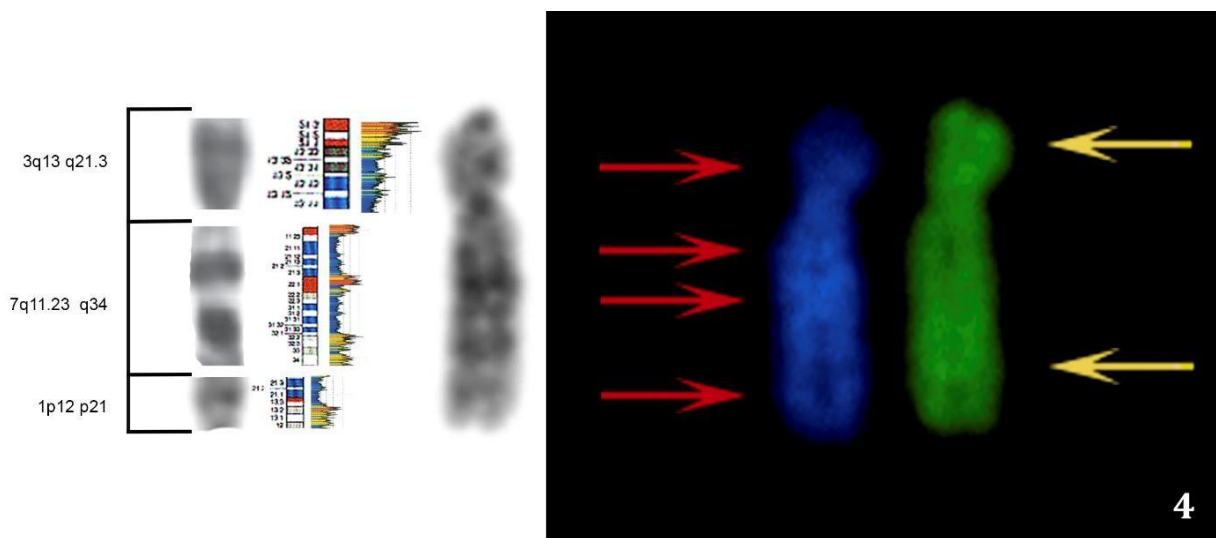


Figura 25. Cromosoma 4 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 5 de ACH (Figura 26), en el brazo p la banda DAPI+ pericentromérica podría corresponderse al isocoro L1+ observado en la región homeóloga de HSA. La banda DAPI+ más distal correspondería a un isocoro de la familia L de acuerdo al perfil composicional. En el brazo q, las bandas DAPI+ se corresponden con los isocoros L1+ presentes en la región homeóloga de HSA, con excepción de la banda DAPI+ más distal que implicaría la formación *de novo* de un isocoro L1+, o la pérdida de éste en humanos. Por otra parte, teniendo en cuenta el perfil composicional, también podría tratarse de un isocoro de la familia L2. En este brazo, se conservaría el isocoro H3+ correspondiente a la banda CMA<sub>3</sub>+ telomérica. Tanto la banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial como la pericentromérica, según el perfil composicional, podrían estar indicando la presencia de un isocoro de la familia H1 o H2.

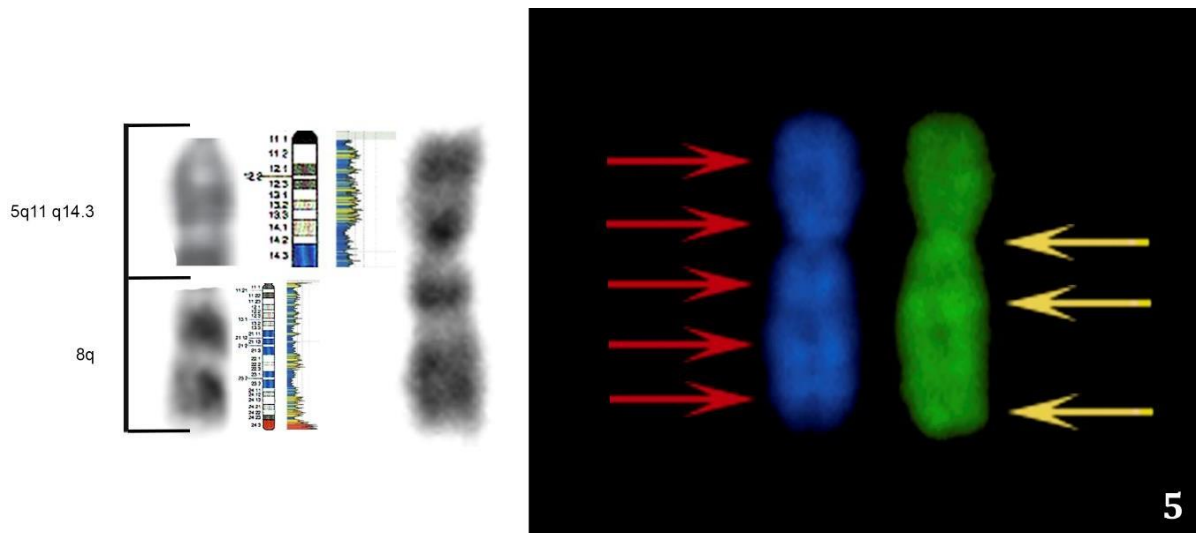


Figura 26. Cromosoma 5 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 6 de ACH (Figura 27), se observa escasa conservación de los isocoros respecto de lo descrito para HSA. En el brazo p se mantendría únicamente el isocoro L1+, aunque la ubicación de la banda DAPI+ es más intersticial que la del isocoro en la región homeóloga. Tampoco se observaron bandas CMA<sub>3</sub>+, por lo que todos los isocoros H3+ presentes en la región de HSA homeóloga estarían ausentes en ACH debido a la pérdida en este grupo o a su surgimiento *de novo* en HSA. En el brazo q, para la región homeóloga de HSA2 se conservarían sólo los dos isocoros proximales que se corresponden con las bandas DAPI+ y CMA<sub>3</sub>+ obtenidas en nuestro trabajo, mientras que para la región de HSA1 la ausencia de bandas se correspondería con la ausencia de isocoros L1+ o H3+.

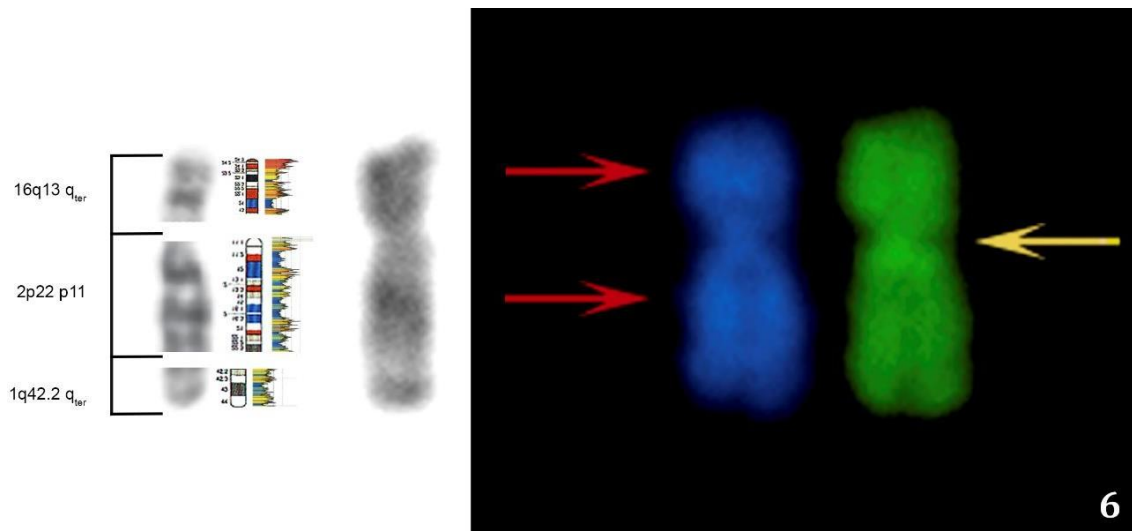


Figura 27. Cromosoma 6 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 7 de ACH (Figura 28), en el brazo p la banda DAPI+ telomérica no se corresponde con ningún isocoro de la familia L para esa región homeóloga de HSA por lo que podría haber surgido de novo en ACH o haberse perdido en HSA. La banda CMA<sub>3</sub>+ se correspondería con alguno o algunos de los isocoros H3+ presentes en dicha región. En la primer región homeóloga al brazo q se observan tres conjuntos de isocoros L1+, uno de ellos coincidiría con la banda DAPI+ intersticial y uno de esos isocoros podría corresponderse con la banda DAPI+ centromérica. La banda CMA<sub>3</sub>+ pericentromérica en el brazo q no estaría conservada, pero si la banda telomérica que se correspondería con el isocoro H3+ de la región homeóloga en HSA.

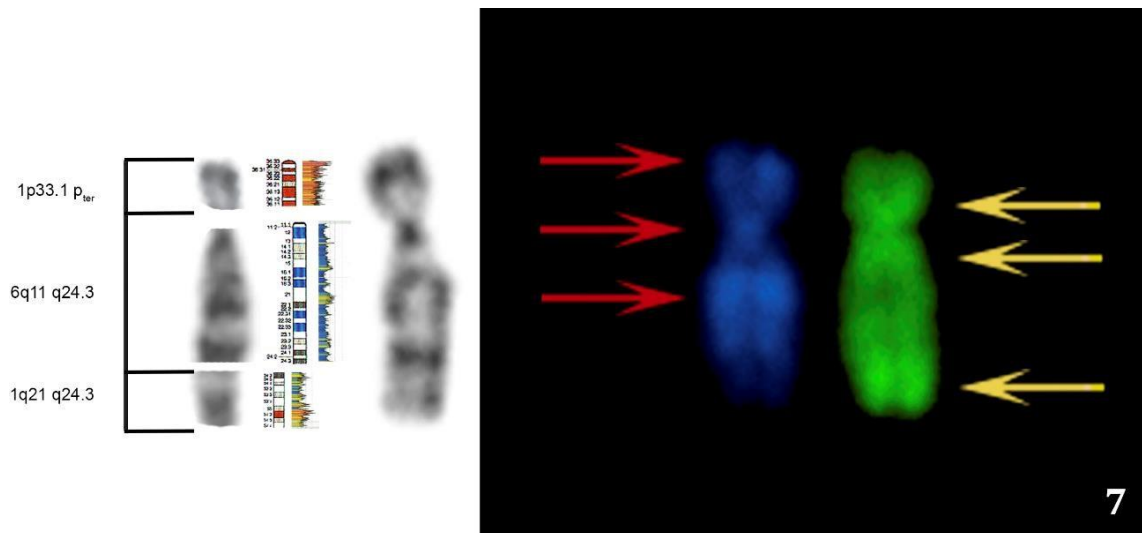


Figura 28. Cromosoma 7 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas, DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 8 de ACH (Figura 29), los isocoros H3+ de HSA se conservarían en toda la longitud del cromosoma con excepción de un isocoro intersticial en cada brazo, de menor tamaño, que podrían no detectarse por la técnica aplicada. Otra explicación posible es que estos isocoros más pequeños podrían haberse perdido en ACH o haber surgido *de novo* en HSA. Además, se detectan dos isocoros pobres en GC que habrían surgido *de novo* en ACH o se habrían perdido en HSA y que se corresponderían con las bandas DAPI+ centromérica e intersticial en el brazo q.

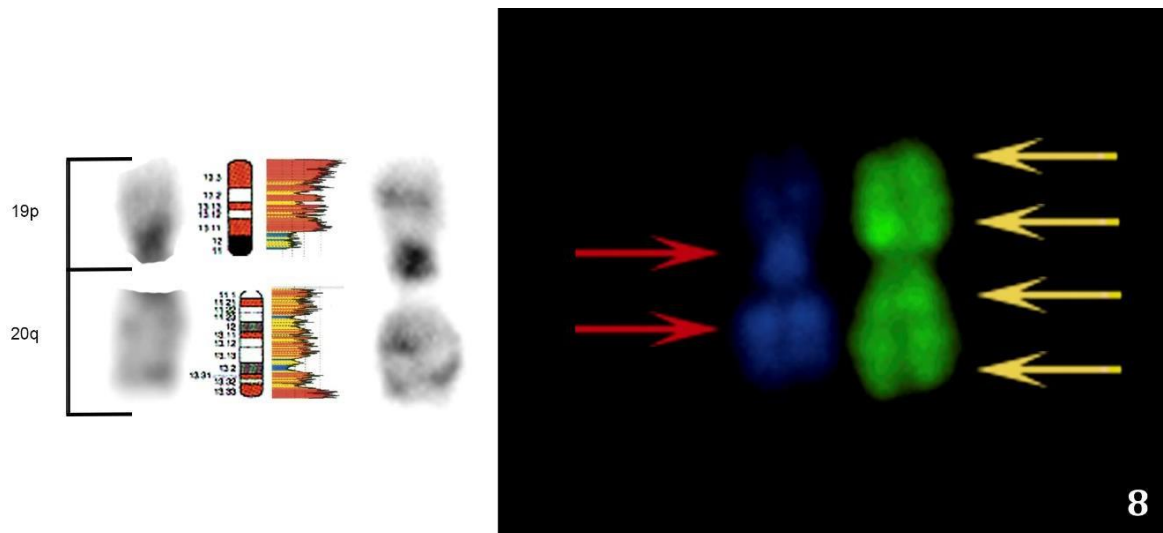


Figura 29. Cromosoma 8 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 9 de ACH (Figura 30), en el brazo p habría un isocoro H3+ telomérico que podría haber surgido *de novo* en ACH o haberse perdido en HSA. La banda DAPI+ observada coincidiría con uno de los pares de isocoros L1+ presentes en la región homeóloga de HSA. El otro isocoro L1+ de HSA no se detecta y, por lo tanto, no estaría conservado en ACH. En el brazo q, en la región correspondiente a la sintenia 5/7a del Platyrrhini ancestral, habría un nuevo isocoro L1+ pericentromérico, que podría corresponderse con un isocoro L2 de acuerdo al perfil composicional en la región homóloga correspondiente. En solo uno de los sectores del 7q11 estaría ausente el isocoro H3+ que se observa en HSA (en el más proximal). El sector homeólogo a HSA5 tendría conservado los isocoros correspondientes a las bandas CMA<sub>3</sub>+ intersticiales.

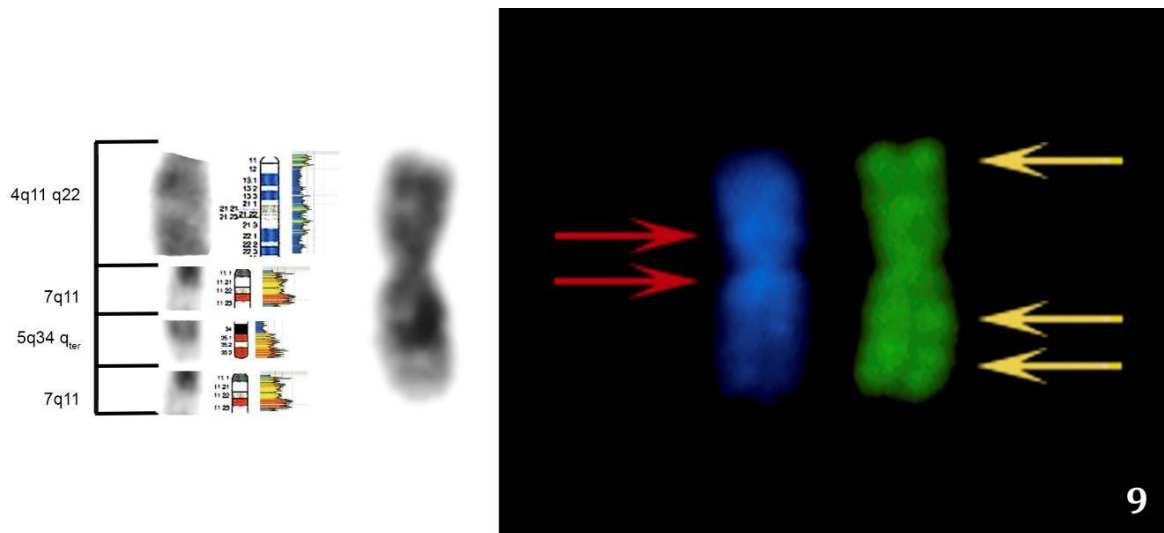


Figura 30. Cromosoma 9 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 10 de ACH (Figura 31), los isocoros presentes en las regiones de HSA correspondientes a la sintenia 21/3/6 coinciden con las bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> observadas en ACH, por lo que estarían conservados. En las regiones correspondientes a HSA3 y HSA6 se observan al menos dos isocoros L1+ más que en ACH, por lo que éstos se habrían perdido en esta especie o habrían surgido *de novo* en HSA.

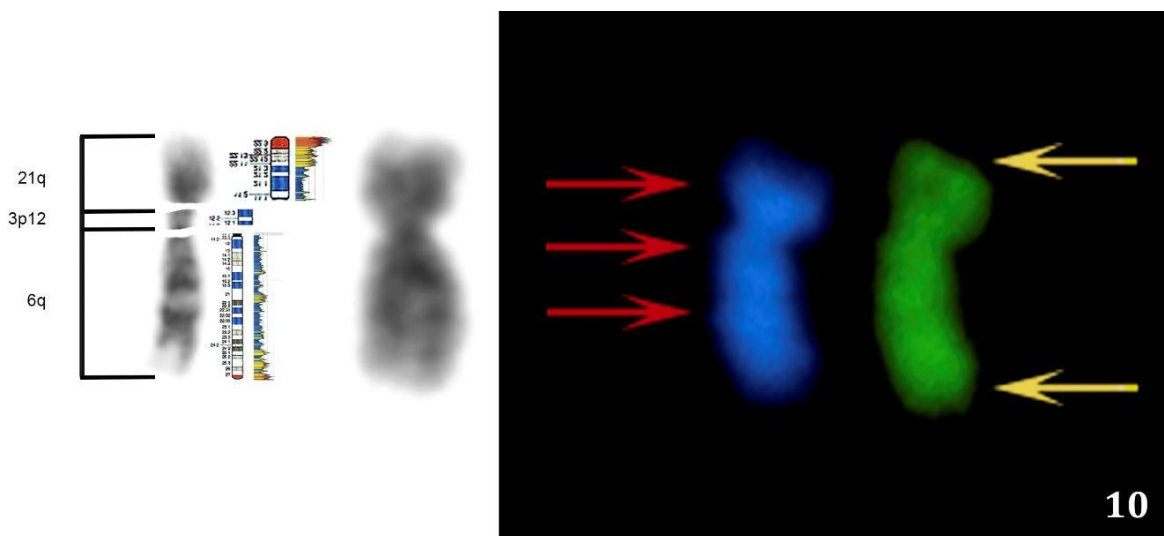


Figura 31. Cromosoma 10 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 11 de ACH (Figura 32), observamos que se conserva el patrón de isocoros.

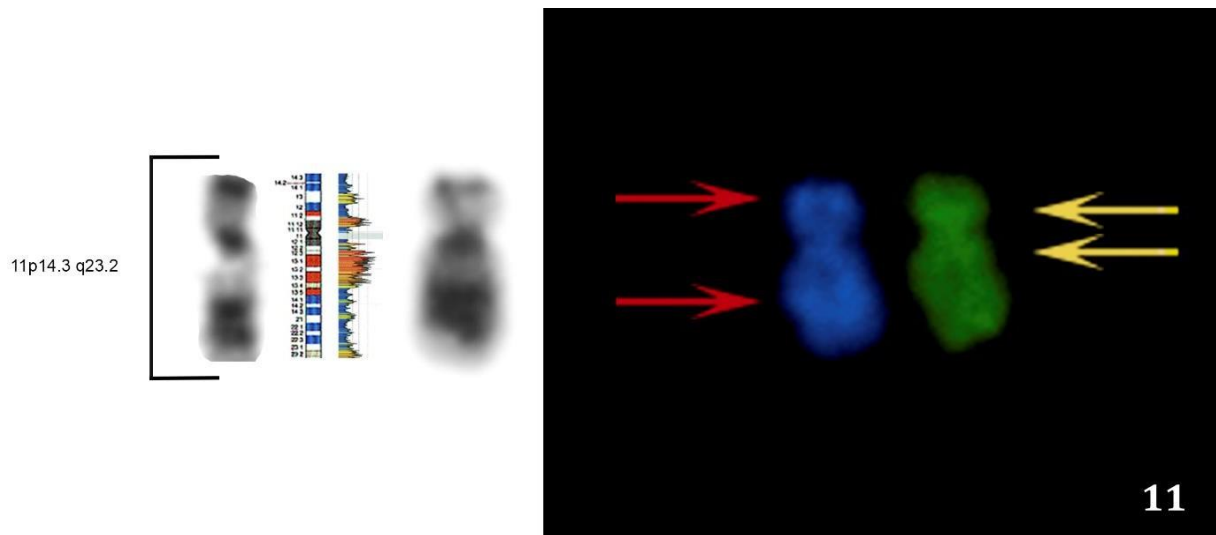


Figura 32. Cromosoma 11 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 12 de ACH (Figura 33) se conservaría sólo uno de los isocoros intersticiales L1+ presentes en el cromosoma homeólogo de HSA. La banda CMA<sub>3</sub>+ centromérica podría corresponderse a un nuevo isocoro H3+ en ACH, o a la pérdida de éste en HSA, o a un isocoro de las familias H1 o H2, tal como se ve en el perfil composicional. El isocoro H3+ telomérico presente en la región homóloga de HSA se habría perdido (o habría surgido *de novo* en HSA).

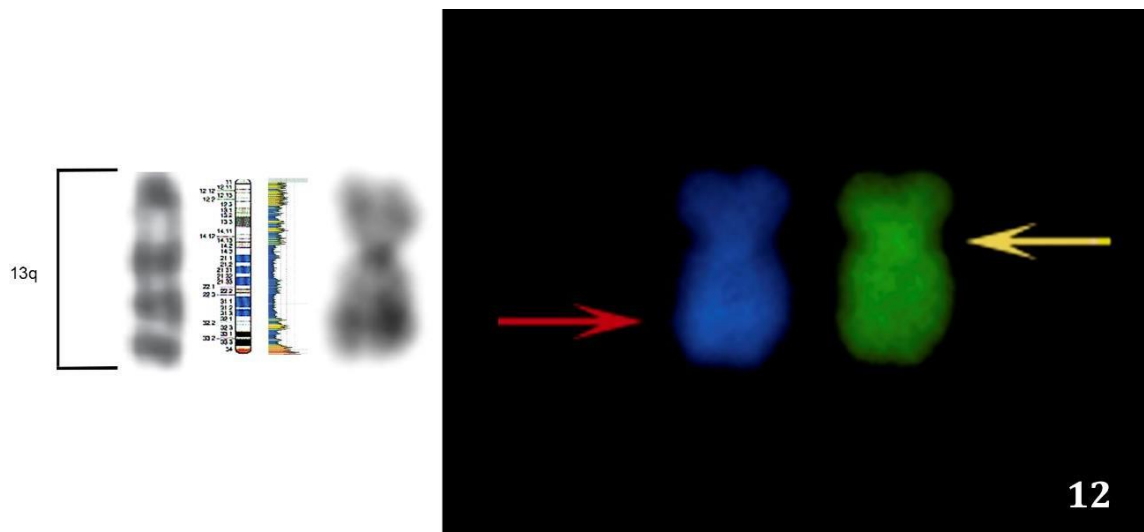


Figura 33. Cromosoma 12 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas, DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 13 de ACH (Figura 34), la región homóloga del cromosoma HSA2 tendría los isocoros conservados, dos L1+ que coinciden con las bandas DAPI+ pericentromérica e intersticial y uno H3+ telomérico en concordancia con la banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial distal. En el brazo p se observó una banda DAPI+ que podría corresponderse con los isocoros L2 que se observan en el perfil composicional de la región homóloga de HSA; esto mismo aplicaría para la banda pericentromérica CMA<sub>3</sub>+ y para un isocoro H1/H2. Como alternativa de interpretación cabe decir que podrían tratarse de isocoros L1+ y H3+ que surgieron *de novo* en ACH o se perdieron en HSA, respectivamente.

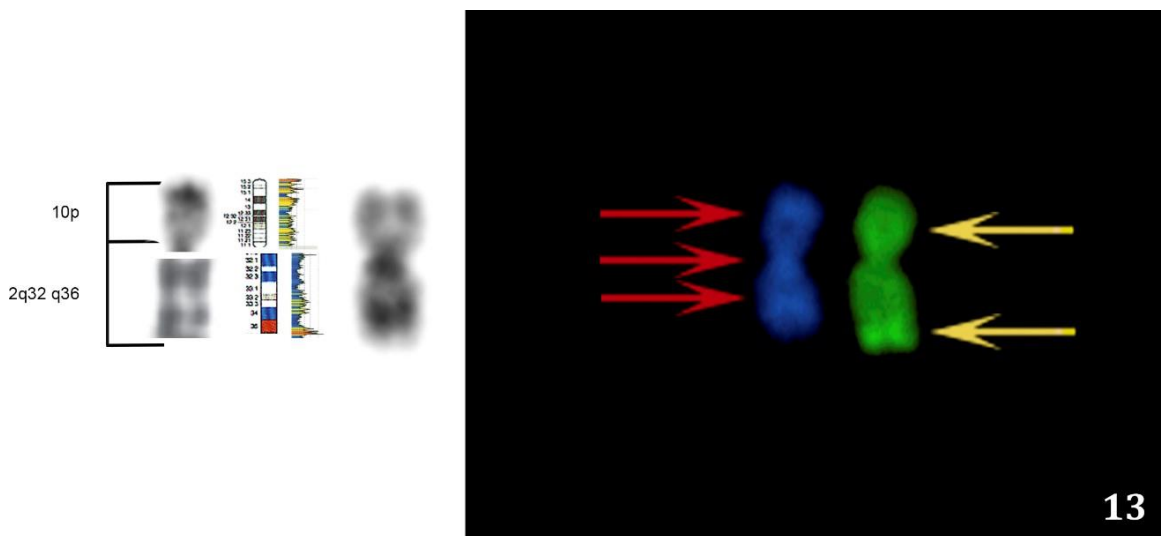


Figura 34. Cromosoma 13 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 14 de ACH (Figura 35), al igual que como se observó para el par 8, los isocoros H3+ son predominantes en toda la longitud del cromosoma homeólogo correspondiente para HSA. Las bandas CMA<sub>3</sub>+ coincidirían con estos isocoros; por ello, se estaría ante la presencia de un conjunto de isocoros H3+ menos, que corresponde a aquellos intersticiales proximales en el brazo q del cromosoma HSA17. En el caso de la banda DAPI+ intersticial del brazo p, ésta podría corresponderse con el isocoro L2 que se observa en el perfil composicional. La banda DAPI+ centromérica se interpreta que podría haber surgido *de novo* como un isocoro L en ACH o haberse perdido en HSA.



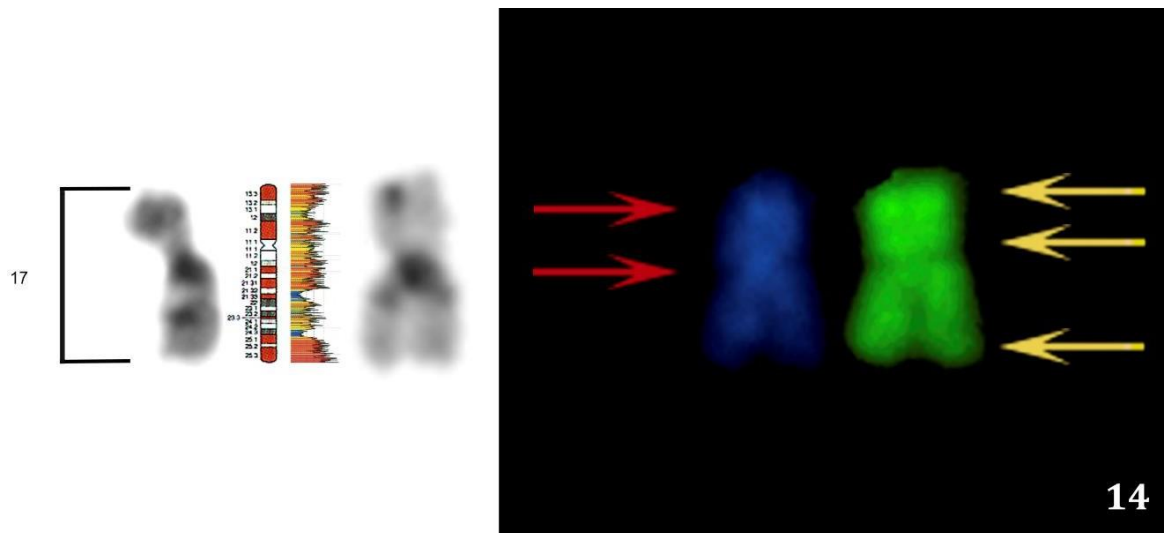


Figura 35. Cromosoma 14 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 15 de ACH (Figura 36), no se observaron bandas DAPI/ CMA<sub>3</sub> por lo que los isocoros L1+ presentes en la región de HSA homeóloga no estarían conservados debido a que se perdieron en ACH o se formaron *de novo* en HSA.

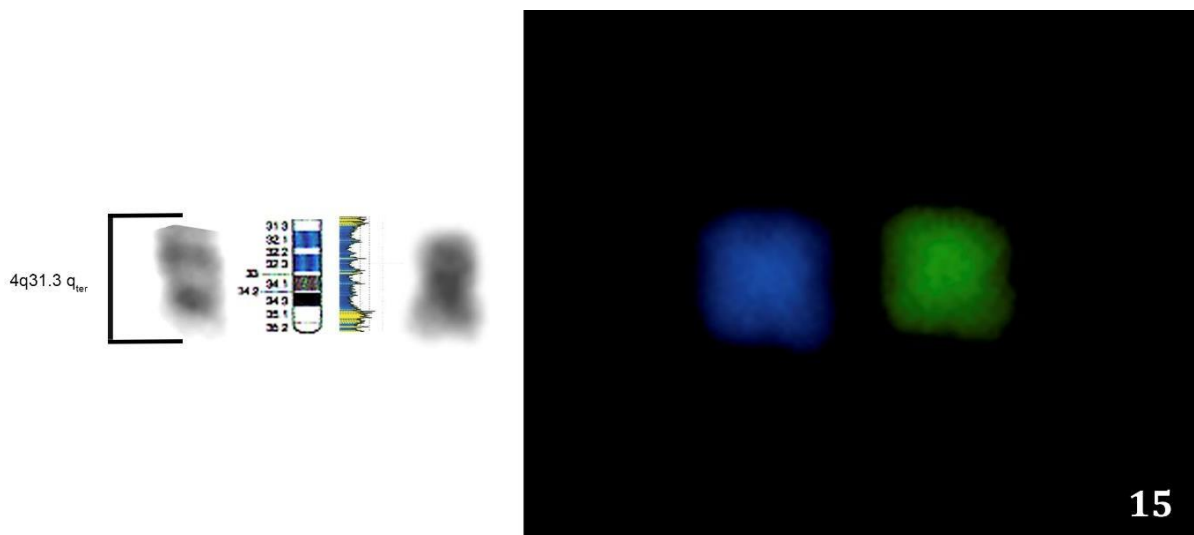


Figura 36. Cromosoma 15 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 16 de ACH (Figura 37), puede verse una conservación de los isocoros presentes en la región homeóloga de HSA.

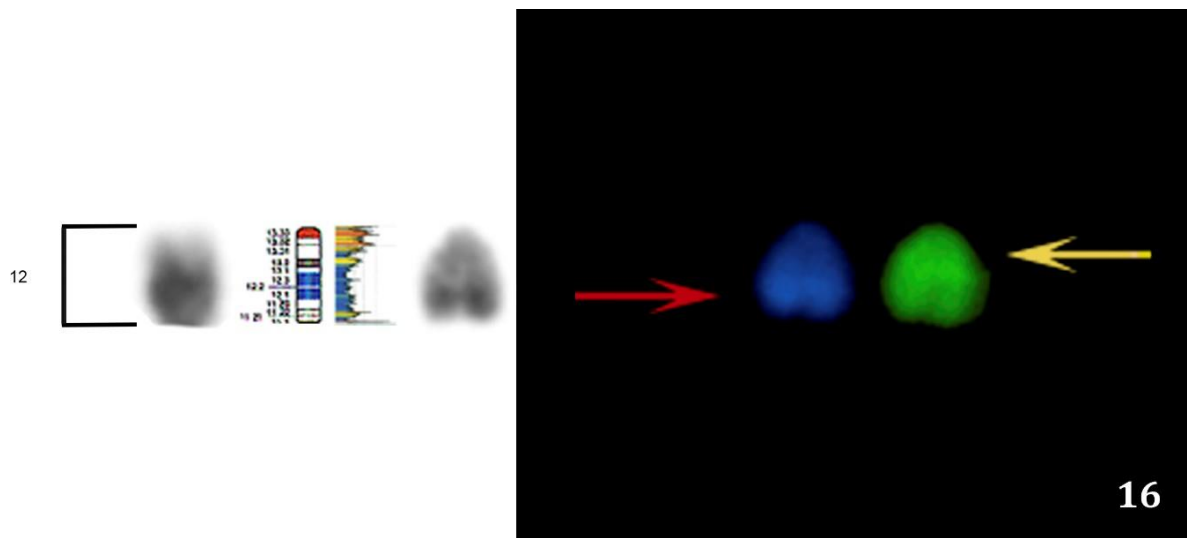


Figura 37. Cromosoma 16 de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Al analizar los cromosomas sexuales, observamos que para el cromosoma X de ACH (Figura 38), en el brazo p se conserva el isocoro L1+ correspondiente a la banda DAPI+. Se observa una banda CMA<sub>3</sub>+ en ACH que podría corresponderse con un isocoro H1/H2. En el brazo q estaría ausente un isocoro L1+, que se corresponde con la banda DAPI+ intersticial intermedia. La banda CMA<sub>3</sub>+ telomérica se correspondería con el isocoro H3+ telomérico que se observa en el X de humanos. La banda CMA<sub>3</sub>+ pericentromérica podría corresponderse con un isocoro H1/H2 de los que se ven en el perfil composicional.

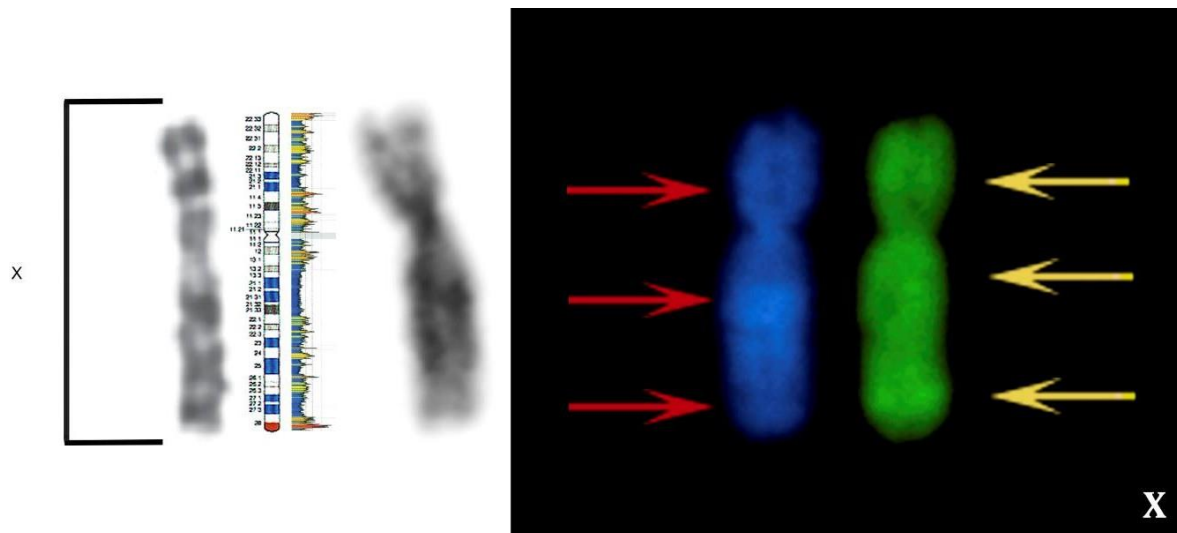


Figura 38. Cromosoma X de *Ateles chamek*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Dado que para el cromosoma Y de esta especie no se observó un patrón de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> y que en Platyrrhini este cromosoma, al estar altamente reordenado respecto al Y humano, no presenta homeología (Consigliere et al., 1996, 1998; Mudry et al. 2001; de Oliveira et al. 2002; Steinberg, 2011), no se realizó un análisis de su perfil composicional.

## *Aotus azarae*

De acuerdo con Ma (1981), los cariotipos de *A. nigriceps* y la subespecie *A. a. boliviensis* comparten el reordenamiento cromosómico de tipo fusión del cromosoma Y con el mismo autosoma; sin embargo, difieren en el número modal, siendo  $2n = 51$  para los machos y  $2n = 52$  para las hembras de *A. nigriceps* y  $2n = 49$  para los machos y  $2n = 50$  para las hembras de *A. a. boliviensis*. En *A. a. azarae*, con excepción del par involucrado en la translocación Y-autosoma, el cariotipo se considera idéntico al de *A. a. boliviensis* (Mudry et al., 1984).

Un estudio de los patrones de bandas G y C para *A. infulatus* (Pieczarka y Nagamachi, 1988) y su posterior comparación con los cariotipos de las antes mencionadas especies demostró que todos los autosomas y el cromosoma X de *A. infulatus* eran comparables en sus patrones de bandas con los de *A. a. boliviensis*; aunque se encontró una diferencia en el número de bandas G en el brazo q del cromosoma 12 (tres en *A. infulatus*, cuatro en *A. a. boliviensis*). En ambas, la región organizadora nuclear se observa en el cromosoma 6 (Pieczarka et al., 1993; Ma, 1981).

A la fecha no existen estudios de *FISH* con sondas humanas para *A. azarae*. Sin embargo, se ha publicado un trabajo con este tipo de estudio para *A. infulatus* (Araujo et al., 2019). Dada la similitud entre los cariotipos de *A. azarae* con *A. a. boliviensis* y la de esta última especie con el de *A. infulatus*, se utilizaron las homeologías publicadas para *A. infulatus* en este trabajo de Tesis para evaluar la composición nucleotídica de *A. azarae* en relación con el cariotipo humano. Dado que cada autor organizó los cromosomas de distinta forma, se compararon los patrones de bandas G de ambas especies para asignar las homeologías cromosómicas entre estas especies y el humano (Figura 39).

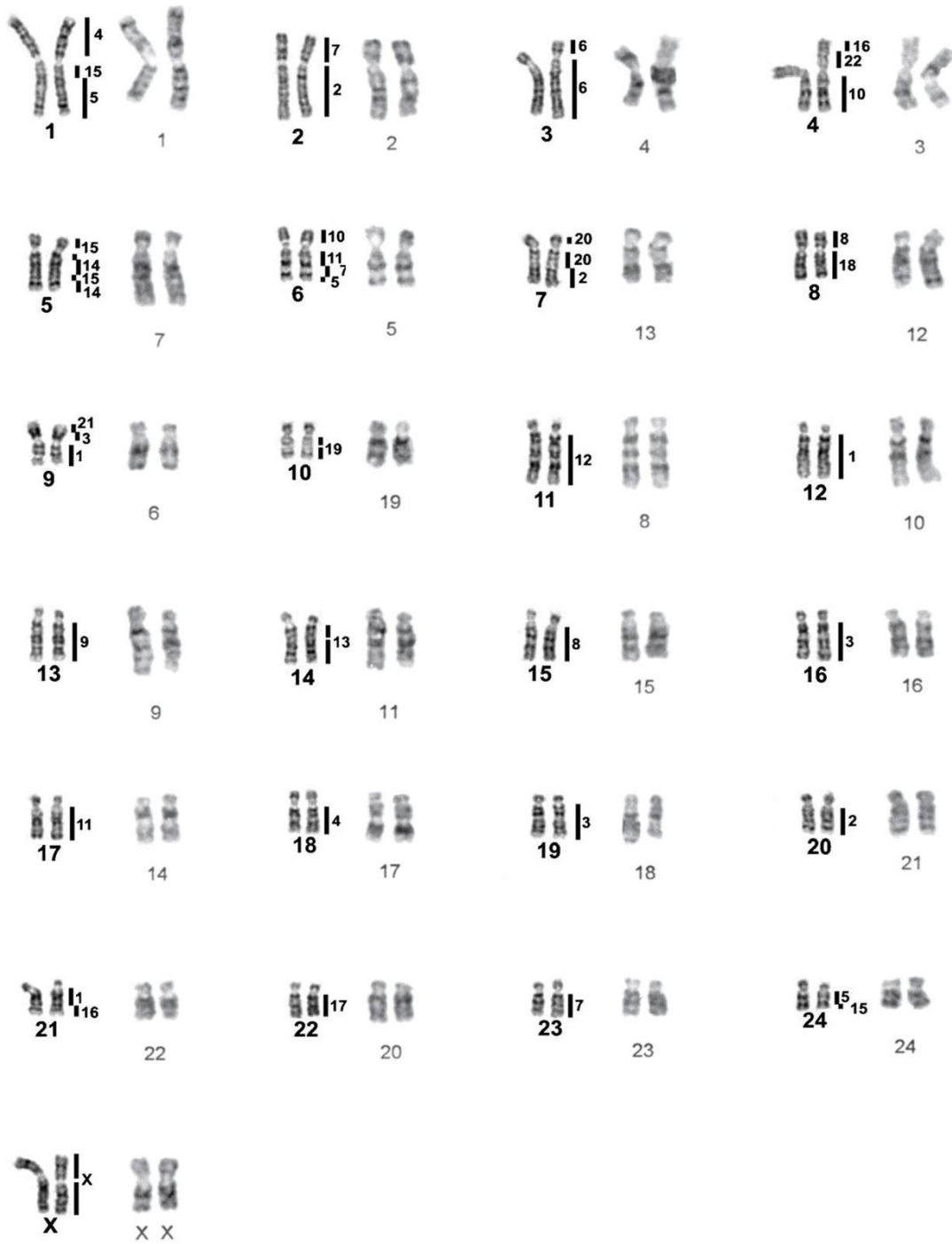


Figura 39. Comparación entre los cromosomas de *A. infulatus* (izquierda) y *A. azarae* (derecha). Se tomaron de Araujo y colaboradores (2017) y Milozzi y colaboradores (2012), respectivamente.

Para el cromosoma 1 de AAZ (Figura 40), en el brazo p sólo uno de los cuatro conjuntos de isocoros L1+ de *Homo sapiens* no estarían conservados, pudiendo haber surgido *de novo* en HSA o haberse perdido en AAZ; los otros tres conjuntos de isocoros L1+ se corresponderían con las bandas DAPI+ observadas. Las dos bandas CMA<sub>3</sub>+, tanto la telomérica como la intersticial, se corresponderían con nuevos isocoros H3+ en AAZ (o a isocoros que se perdieron en HSA); a los efectos comparativos consideramos, que según el perfil composicional se podrían corresponder a isocoros de las familias H1 o H2. En la región homóloga de HSA15 se halla una banda CMA<sub>3</sub>+ que coincidiría con las regiones del perfil composicional en las que se observan familias de isocoros H1 y H2. En la región homóloga al cromosoma HSA5 estarían conservados tanto los isocoros L1+ como los H3+. En esta región, además, las dos bandas DAPI+ distales podrían corresponderse con los isocoros de la familia L que se observan entre las bandas H3+ en el perfil composicional.

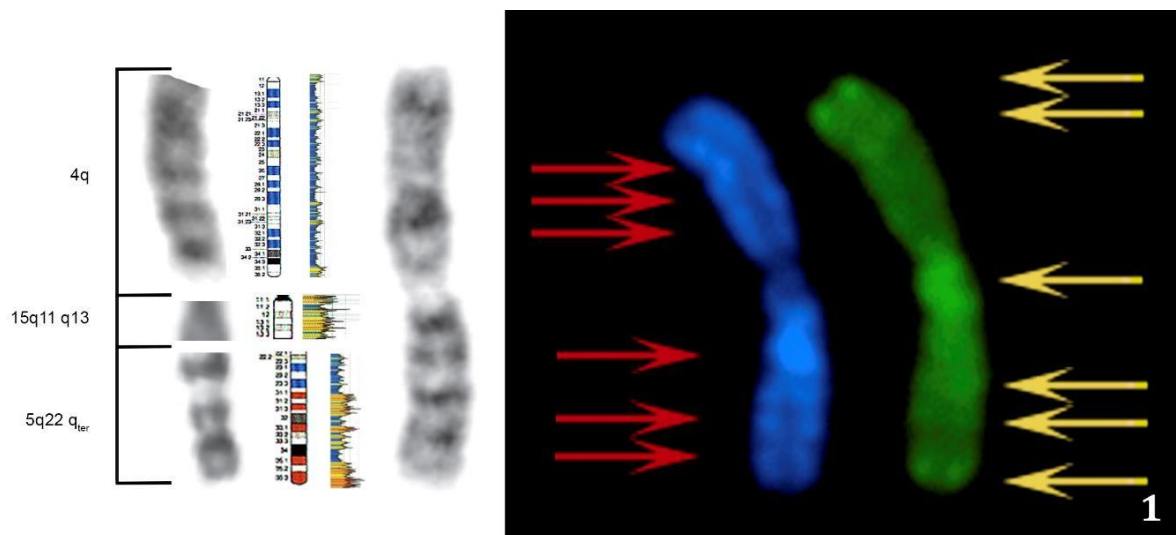


Figura 40. Cromosoma 1 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 2 de AAZ (Figura 41), en el brazo p los únicos isocoros que estarían conservados son los L1+ proximales que coinciden con la banda DAPI+ proximal. Los isocoros L1+ más distales y el isocoro H3+ intersticial, que pueden observarse en el ideograma de la región homóloga de HSA, no estarían conservados. Se observó una banda centromérica CMA<sub>3</sub>+ que podría corresponderse a un nuevo isocoro H3+ en AAZ (o a la pérdida de este en HSA). En el brazo q, los isocoros H3+ estarían conservados, aunque en menor número que los observados en la región homeóloga de HSA. En cuanto a los isocoros L1+, sólo estaría

conservado el más proximal. Las dos bandas DAPI+ más distales podrían corresponderse a isocoros L2, de acuerdo con el perfil composicional, o a isocoros L1+ surgidos *de novo*. El isocoro L1+ más distal, que se observa en el ideograma de la región homóloga de HSA, se habría perdido en AAZ (o surgido *de novo* en HSA).

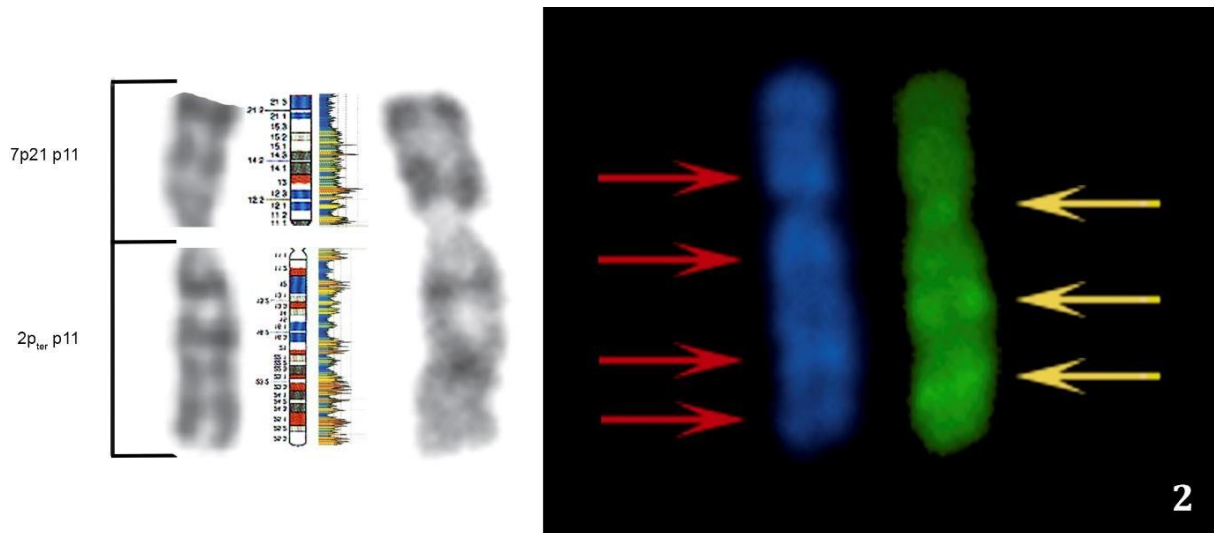


Figura 41. Cromosoma 2 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 3 de AAZ (Figura 42), en el brazo p en la región homóloga al cromosoma HSA16, el isocoro H3+ telomérico estaría conservado y no se detecta el isocoro H3+ intersticial que se observa en la región homeóloga. A su vez, se observó una banda DAPI+ que no se correspondería con ningún isocoro L, por lo que se habría formado *de novo* en AAZ (o se habría perdido en HSA). La región homóloga del cromosoma HSA22 estaría conservada en su totalidad. En el brazo q, el isocoro L1+ proximal estaría conservado y las bandas DAPI+ intersticiales podrían corresponderse con isocoros L2, de acuerdo con el perfil composicional. Las bandas CMA<sub>3</sub>+ también se corresponderían con los isocoros H3+ presentes en la región homóloga y estarían conservados.

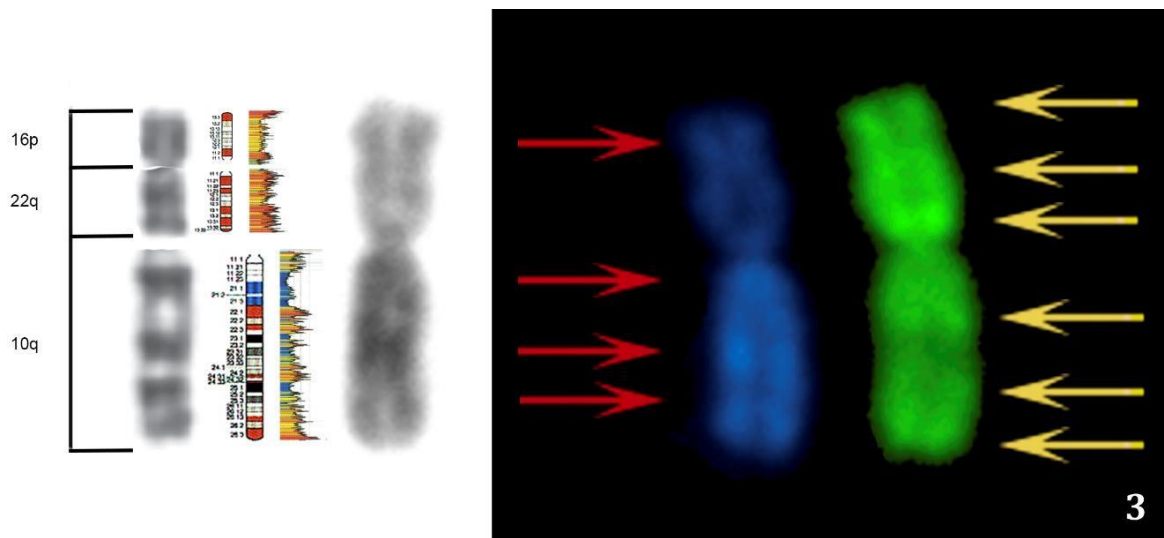


Figura 42. Cromosoma 3 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 4 de AAZ (Figura 43), en el brazo p la banda DAPI+ más distal podría corresponderse con un isocoro L2 y la banda CMA<sub>3</sub>+ centromérica con los isocoros H3+ que se observan en la región homeóloga. En el brazo q, se conservaría el isocoro H3+ telomérico y habrían surgido dos isocoros H3+ *de novo* en AAZ, o las bandas CMA<sub>3</sub>+ se corresponden con regiones con contenido en GC intermedias, constituyendo isocoros de las familias H1 y/o H2, presentes en el perfil composicional de HSA. Los isocoros L1+ en este brazo estarían conservados. En ambos brazos se observan isocoros L1+ pericentroméricos en HSA que no se corresponden a isocoros de la misma familia en AAZ, por lo cual pudieron haberse perdido en AAZ o surgido *de novo* en HSA.



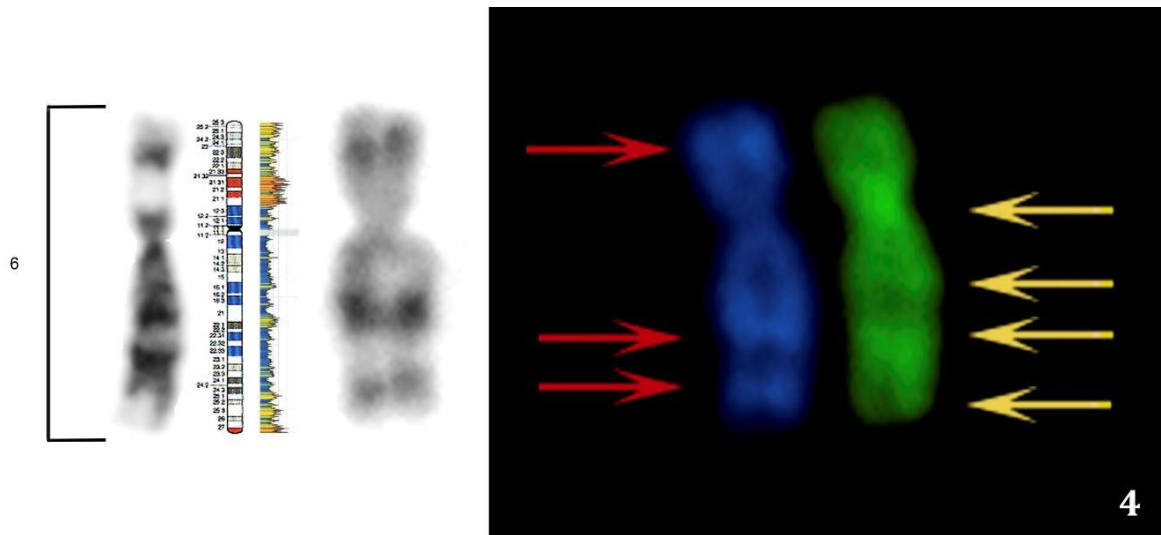


Figura 43. Cromosoma 4 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 5 de AAZ (Figura 44), la ausencia de isocoros H3+ y L1+ en el brazo p de HSA junto con la presencia de bandas tanto DAPI+ como CMA<sub>3</sub>+ sugiere que la metodología de bandas fluorescentes está detectando regiones ricas en isocoros con contenido intermedio en GC en humanos, que en AAZ podrían haberse empobrecido/enriquecido en estos pares de bases, es decir, isocoros L2 y H1 o H2, respectivamente (ver más adelante). En la región homóloga al cromosoma HSA11, los isocoros L1+ estarían conservados, mientras que la banda CMA<sub>3</sub>+ podría estar indicando el surgimiento de un isocoro H3+ en AAZ y/o pérdida de éste en HSA, o la detección de un isocoro de las familias H1 o H2, que se observan en el perfil composicional. En la región homóloga al cromosoma HSA7, el isocoro H3+ estaría conservado y se observa una banda DAPI+ que no se correspondería con un isocoro de la familia L, ya que no se observan en el ideograma y tampoco en el perfil composicional correspondiente, pudiendo ser interpretado como el surgimiento *de novo* en AAZ o la pérdida de éste en HSA. Finalmente, en la región homóloga al cromosoma HSA5, sólo estaría conservado el isocoro H3+ telomérico. A grandes rasgos, la sintenia 5/7/11/10 pareciera conservar su perfil composicional.

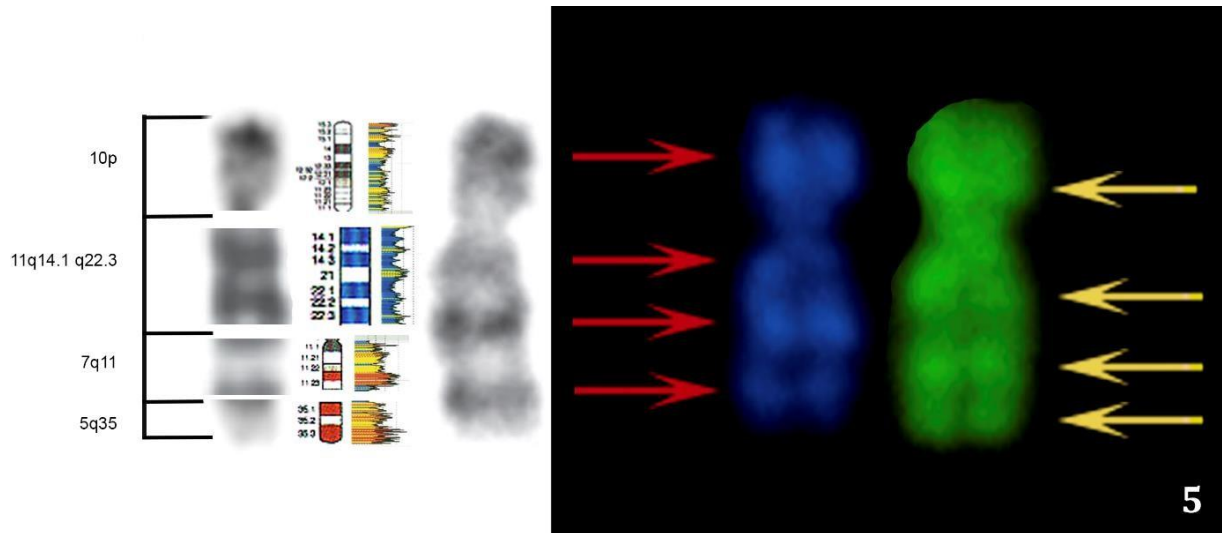


Figura 44. Cromosoma 5 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas, DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 6 de AAZ (Figura 45), tanto la región homóloga al cromosoma HSA21 como la región homóloga al cromosoma HSA3 muestran conservados sus isocoros: el isocoro H3+ telomérico se corresponde con la banda CMA<sub>3</sub>+ telomérica y los isocoros L1+ se corresponden con la banda DAPI+ intersticial. En el brazo q, homeólogo a HSA1, tanto los isocoros L1+ como las bandas CMA<sub>3</sub>+ estarían conservados. La banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial se correspondería con isocoros H1/H2 de acuerdo con el perfil composicional.

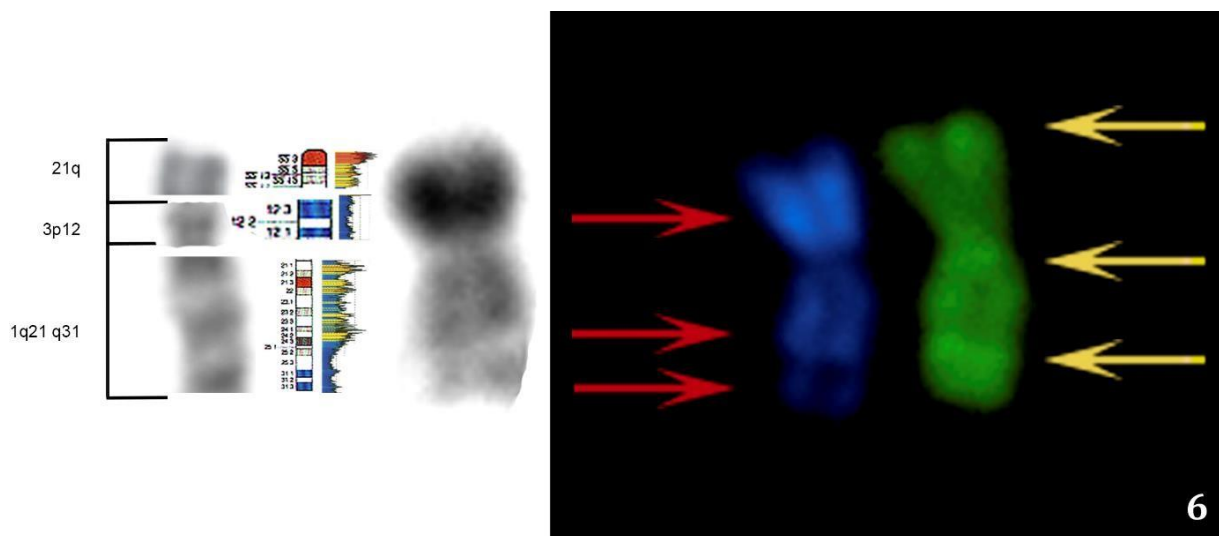


Figura 45. Cromosoma 6 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 7 de AAZ (Figura 46), en las regiones homeólogas al cromosoma HSA15, al menos dos de las tres bandas DAPI+ observadas (una en el brazo p y dos en el brazo q) podrían corresponderse a isocoros L2 de acuerdo con el perfil composicional, o al surgimiento *de novo* de isocoros L1+ en AAZ (o su pérdida en HSA). En el brazo p, la banda CMA<sub>3</sub>+ pericentromérica que se observa en *Aotus* se correspondería con uno de los isocoros H3+ del ideograma. El otro isocoro H3+ se habría perdido en AAZ o habría surgido *de novo* en HSA. En el brazo q, ningún isocoro H3+ presente en HSA se habría conservado, con excepción del que se corresponde con la banda CMA<sub>3</sub>+ terminal. Para las regiones homeólogas al cromosoma HSA14, al menos en q<sub>prox</sub>, tanto el isocoro H3+ como los L1+ se conservan, dado que coinciden con las bandas CMA<sub>3</sub>+ pericentromérica y DAPI+ intersticial en esa región. En q<sub>ter</sub>, sólo se conservaría el isocoro H3+ y se habrían perdido los isocoros L1+ (o habrían surgido *de novo* en HSA), ya que no hay bandas DAPI+.

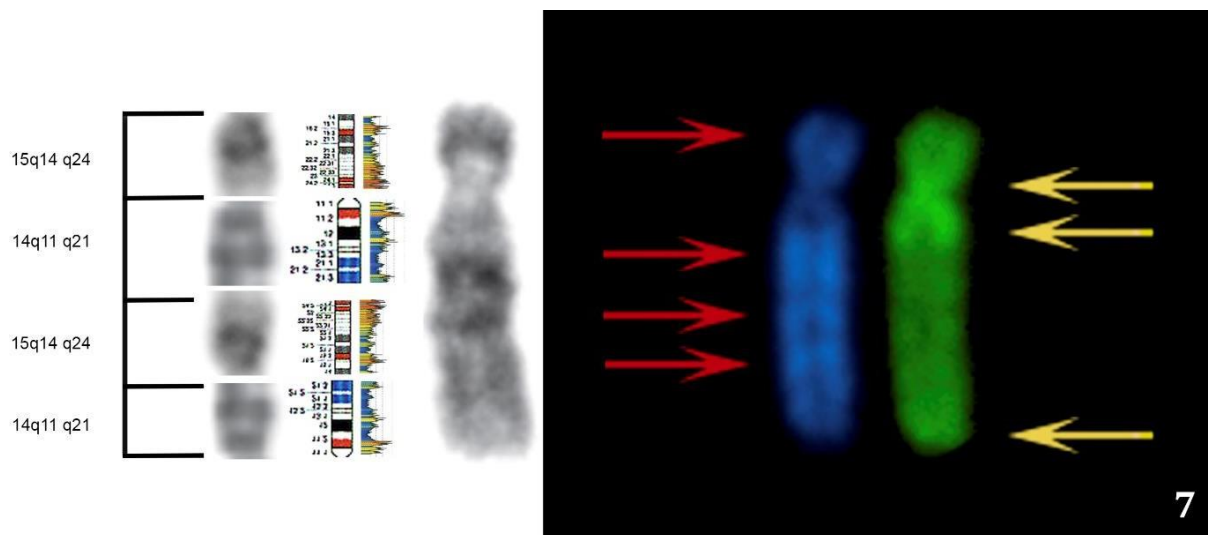


Figura 46. Cromosoma 7 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 8 de AAZ (Figura 47) el cromosoma humano homeólogo es el HSA12; sin embargo, de acuerdo con Araujo y colaboradores (2017) el brazo p no hibridó con la sonda para este cromosoma, por lo que analizaremos únicamente las bandas correspondientes al brazo q. En éste, en principio se conservaría el isocoro H3+ telomérico y los isocoros L1+ que se corresponderían con los isocoros L2 según el perfil composicional. La banda DAPI+ pericentromérica podría corresponderse a la región pericentromérica del cromosoma 12, observándose en el perfil composicional isocoros L2. El isocoro L1+ intersticial que se observa

en HSA no estaría conservado. De las bandas intersticiales CMA<sub>3</sub>+ podría decirse que se conserva únicamente la más proximal, mientras que la más distal no se correspondería con isocoros de ninguna de las familias H.

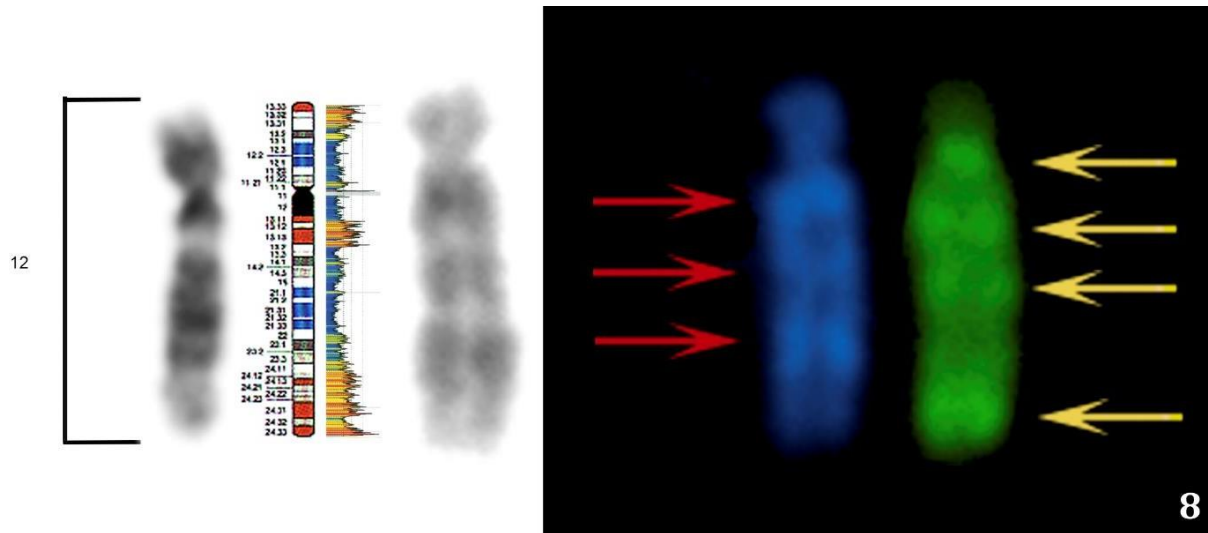
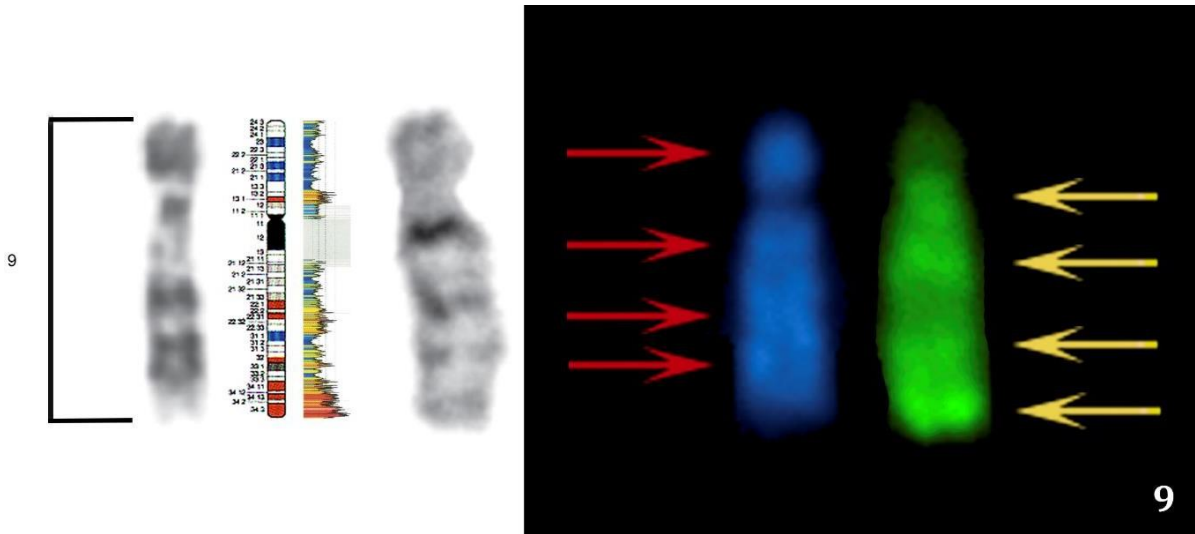


Figura 47. Cromosoma 8 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 9 de AAZ (Figura 48), la sonda del cromosoma HSA9 tampoco hibridó en el brazo p, por lo que sólo se considerará el análisis para el brazo q. Se observaron tres bandas DAPI+ intersticiales cuando en el ideograma humano se observa sólo un isocoro L1+ que, por su ubicación, podría corresponderse a la banda intermedia. Las bandas DAPI+ más proximal y distal se identificarían con isocoros L2 de acuerdo con el perfil composicional. Los isocoros H3+ intersticiales y terminal se corresponden con bandas CMA<sub>3</sub>+ por lo que estarían conservados.

Figura 48. Cromosoma 9 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus



respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 10 de AAZ (Figura 49), el brazo p no hibridó con la sonda para el cromosoma humano homeólogo HSA1, por lo que en esta oportunidad decidimos directamente no incluirlo en la Figura 49 para no generar confusiones. En el brazo q, que hibridó con la sonda para el cromosoma humano homeólogo, se conservarían todos los isocoros. La banda CMA<sub>3</sub>+ proximal se correspondería con un isocoro de la familia H1/H2 según el perfil composicional de HSA.

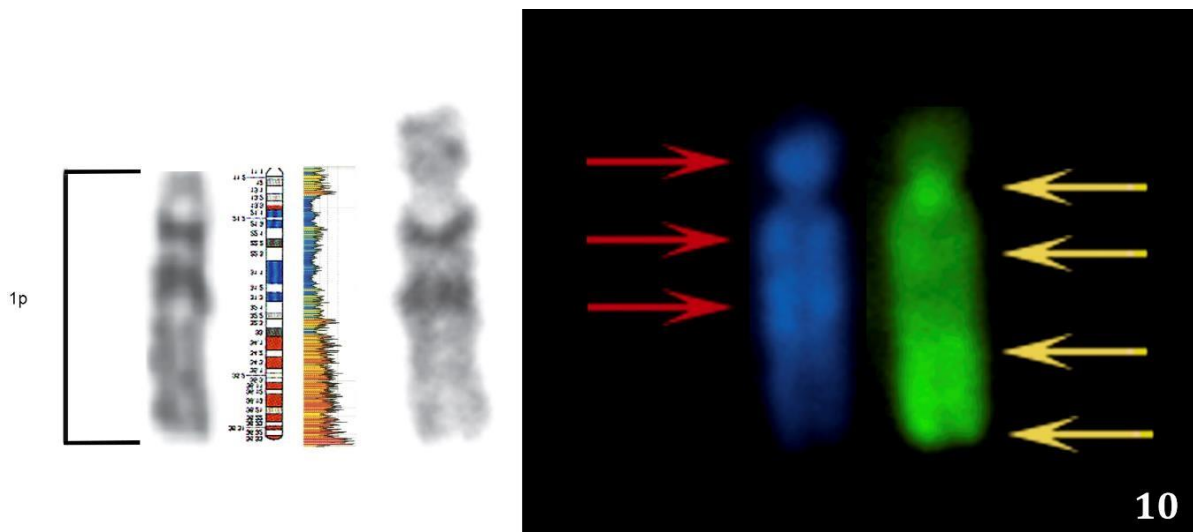


Figura 49. Cromosoma 10 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/ CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas, DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 11 de AAZ (Figura 50), el brazo p no presentó señales de

hibridación con la sonda del cromosoma humano homeólogo. En el brazo q, los isocoros L se conservarían. La banda DAPI+ intersticial intermedia se correspondería con los isocoros L1+ de la región homeóloga, mientras que la banda más proximal y la más distal podrían corresponderse con los isocoros L2 que se observan en el perfil composicional. De todos modos, en el cromosoma 13 humano se observa una región amplia de isocoros ricos en AT sin ningún isocoro de la familia H, lo que indicaría el surgimiento *de novo* de al menos un isocoro de esta familia en *Aotus* (o su pérdida en HSA) que se corresponde con la banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial más proximal, mientras que la más distal se correspondería con isocoros de la familia H1/H2 según el perfil composicional. La banda CMA<sub>3</sub>+ telomérica se corresponde con el isocoro H3+ telomérico.

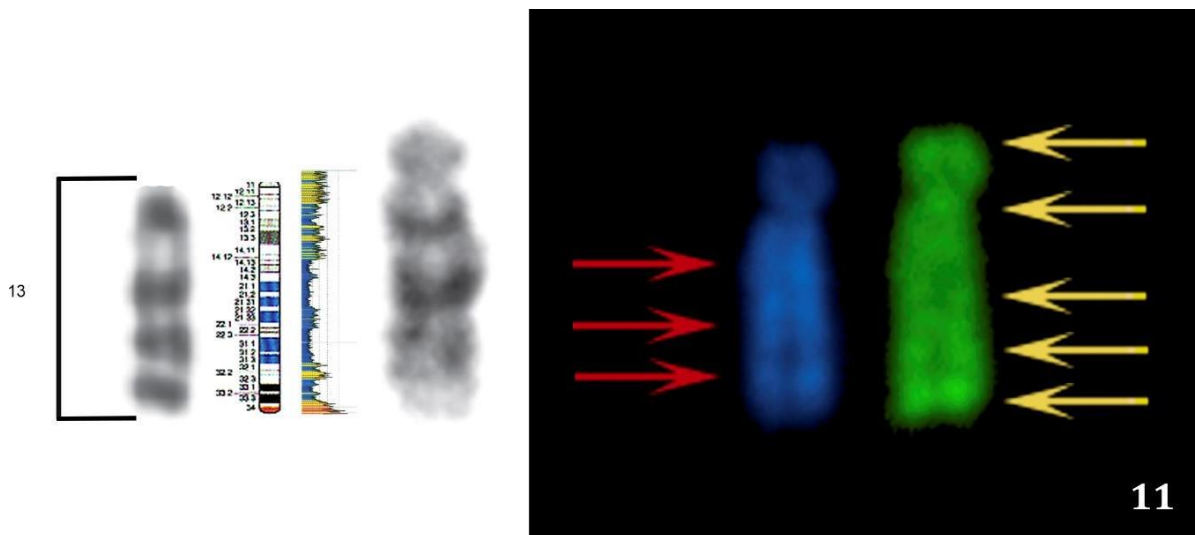


Figura 50. Cromosoma 11 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 12 de AAZ (Figura 51), los isocoros presentes en HSA no se conservarían en el brazo p de AAZ. Las bandas DAPI+ y CMA<sub>3</sub>+ observadas se corresponderían con isocoros L1+ y H3+, respectivamente, surgidos *de novo* en AAZ o perdidos en el humano. El isocoro CMA<sub>3</sub>+ centromérico se podría corresponder a isocoros H1/H2 de acuerdo al perfil composicional. El brazo q, homeólogo al cromosoma HSA 18q, conservaría los isocoros L1+ y no así los que se corresponden con las bandas CMA<sub>3</sub>+, a menos que éstos se traten de isocoros de las familias H1 y/o H2 coincidiendo con el perfil composicional.

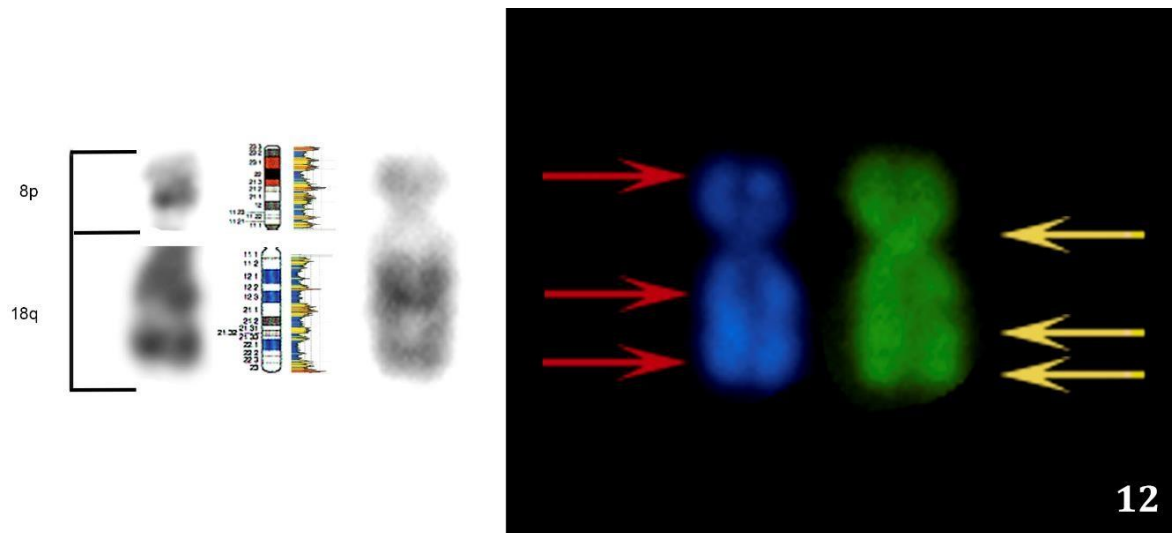


Figura 51. Cromosoma 12 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 13 de AAZ (Figura 52), en la región homeóloga al cromosoma HSA 20 los isocoros H3+ estarían conservados con excepción del isocoro H3+ terminal, presente en humanos y ausente en AAZ. La banda DAPI+ intersticial en el brazo p podría corresponderse con los isocoros L2 presentes en el perfil composicional. Por otro lado, la banda DAPI+ pericentromérica en el brazo q no estaría conservada, por lo que podría haberse formado *de novo* en *Aotus azarae*, o haberse perdido en humanos. La región homeóloga a HSA2 estaría conservada en su totalidad.



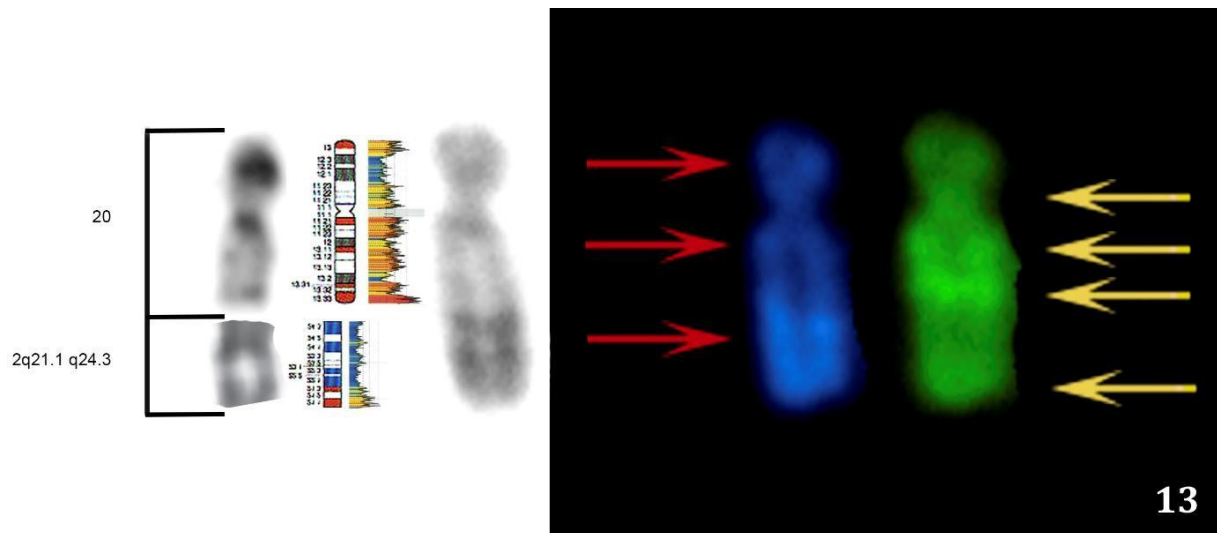


Figura 52. Cromosoma 13 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 14 de AAZ (Figura 53), en el brazo q, la banda DAPI+ pericentromérica no se correspondería con un isocoro L1+ y la intersticial más proximal se correspondería con un isocoro L2 según el perfil composicional. Las bandas CMA<sub>3</sub>+ se corresponden con isocoros H3+. Se observa un mayor número de isocoros L1+ y H3+ en el cromosoma humano que en *Aotus azarae*, que podría significar la pérdida de éstos en AAZ o el surgimiento *de novo* en HSA.



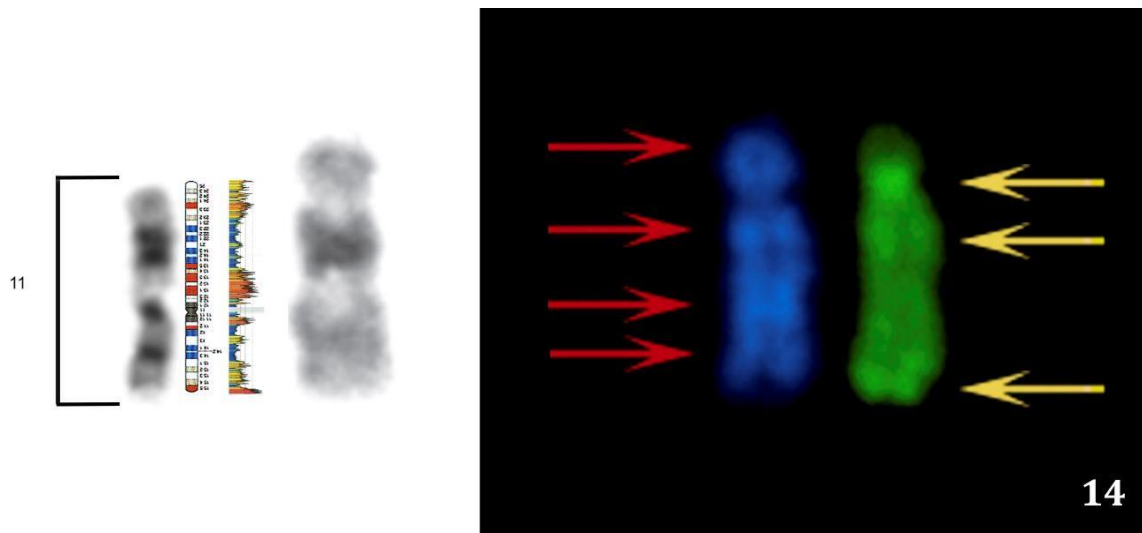


Figura 53. Cromosoma 14 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA (invertido) junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 15 de AAZ (Figura 54), en el brazo q, que es el único que hibridó con la sonda de HSA8 en los estudios contemplados, estarían conservados los isocoros L1+ y el isocoro H3+ telomérico. La banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial podría corresponderse con los isocoros H1/H2 que se observan en el perfil composicional del cromosoma de HSA homeólogo.

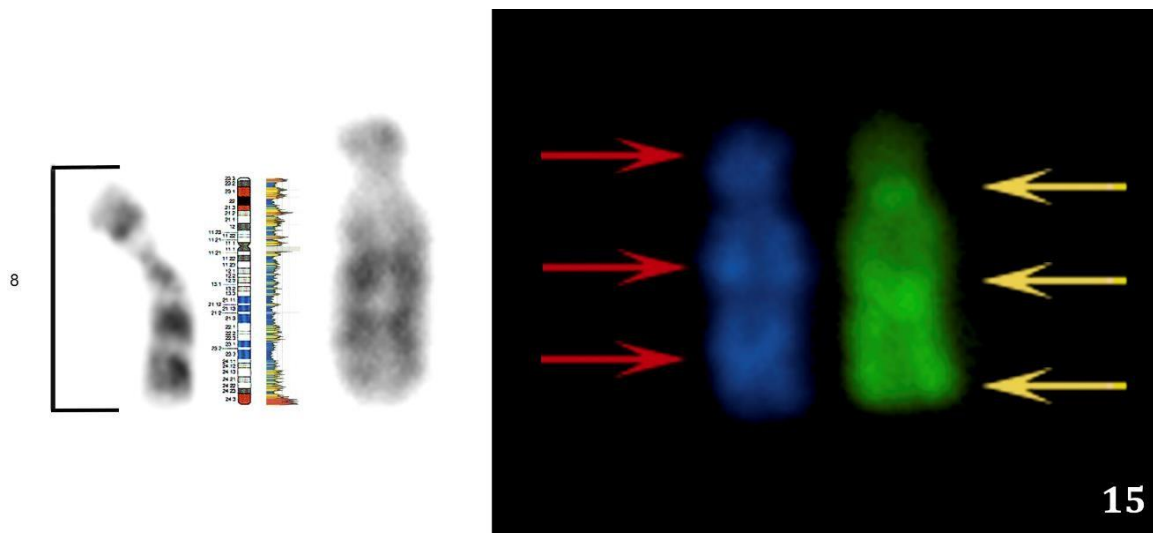


Figura 54. Cromosoma 15 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 16 de AAZ (Figura 55), donde la sonda de HSA3 hibridó únicamente en el brazo q, se observa conservación total de los isocoros H3+ y L1+.

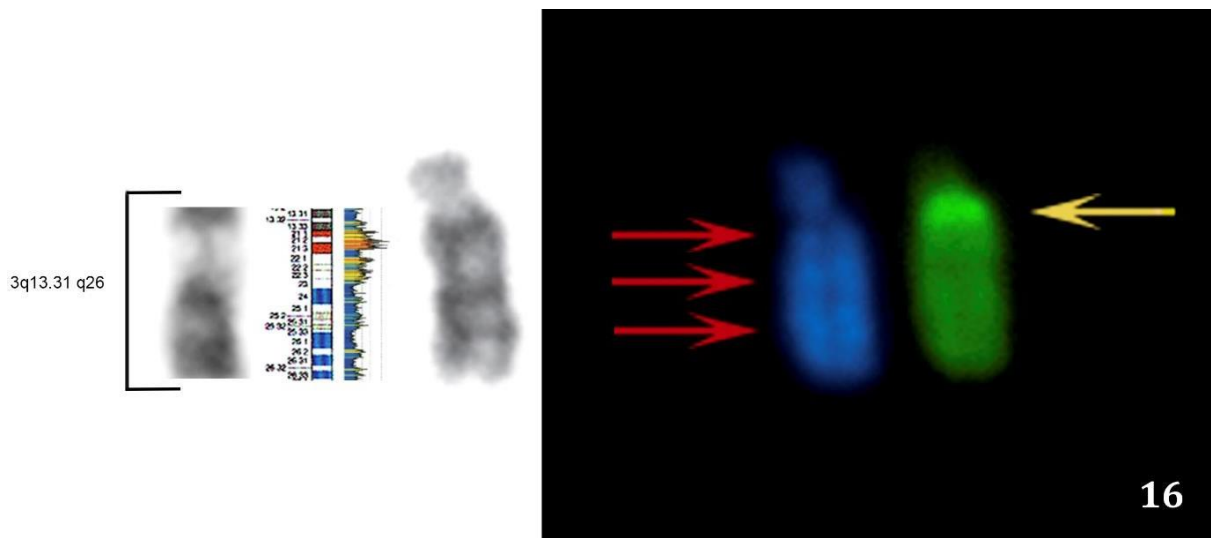


Figura 55. Cromosoma 16 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 17 de AAZ (Figura 56), los isocoros estarían conservados en el brazo q, único brazo que hibridó con la sonda del cromosoma HSA4. Las bandas CMA<sub>3</sub>+ y DAPI+ más distales podrían corresponderse con isocoros de la familia H1/H2 y L2 observados en el perfil composicional, respectivamente.

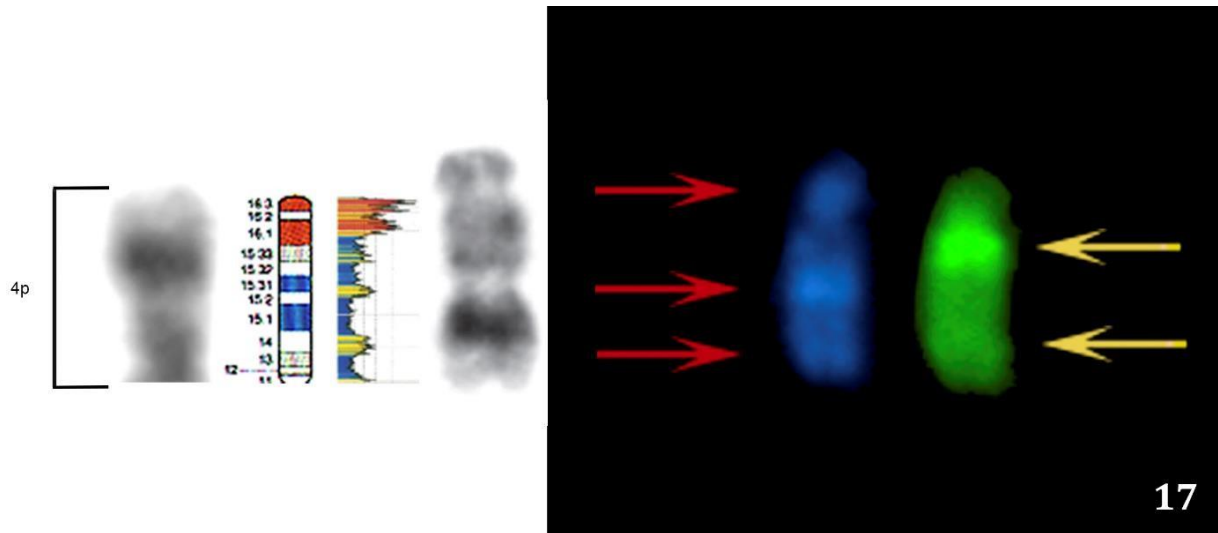


Figura 56. Cromosoma 17 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 18 de AAZ (Figura 57), donde la sonda de HSA hibridó únicamente en el brazo q, se observó conservación de los isocoros H3+ que se corresponderían con la banda CMA<sub>3</sub>+ pericentromérica y de los isocoros L1+ que se corresponderían con la banda DAPI+ distal. La banda CMA<sub>3</sub>+ telomérica no se correspondería con un isocoro H3+ en HSA, pudiendo resultar en un nuevo isocoro rico en GC en *Aotus azarae*. La banda DAPI+ proximal podría corresponder a los isocoros L2 que se observan en el perfil composicional de la región homeóloga de HSA.

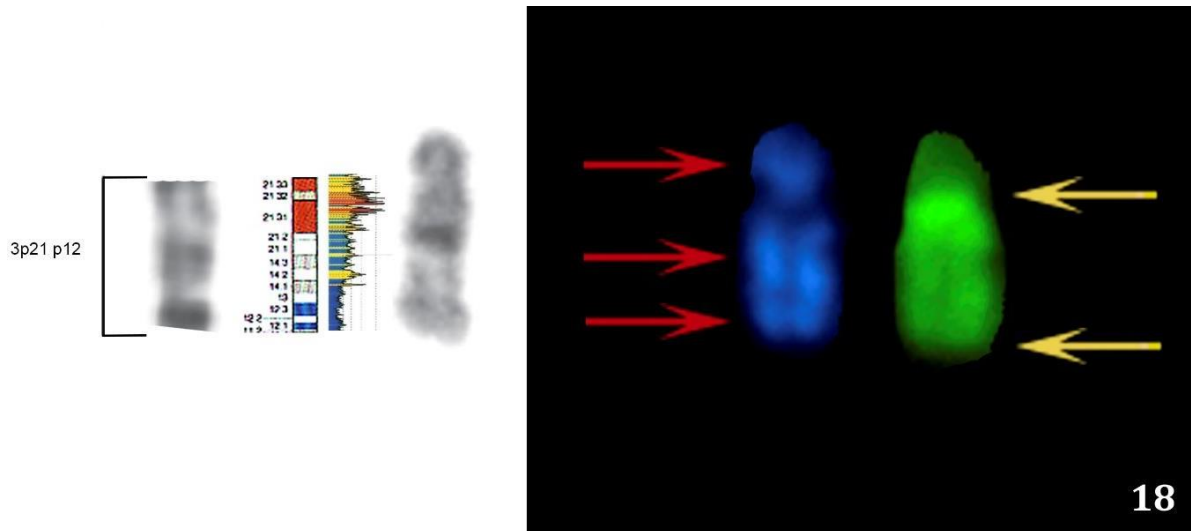


Figura 57. Cromosoma 18 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 19 de AAZ (Figura 58), si bien la bibliografía consultada indicó que solamente el brazo q presentó señales de hibridación con la sonda de HSA19, no se especificó exactamente a qué región de éste correspondían. Consideramos que tanto el brazo q como el brazo p del cromosoma HSA19 podrían haber hibridado dado que en ambos se conservaría el patrón de isocoros H y no el de isocoros L. Las bandas DAPI+ podrían corresponderse a isocoros de la familia L que surgieron *de novo* en *Aotus azarae* o que se perdieron en *Homo sapiens*.

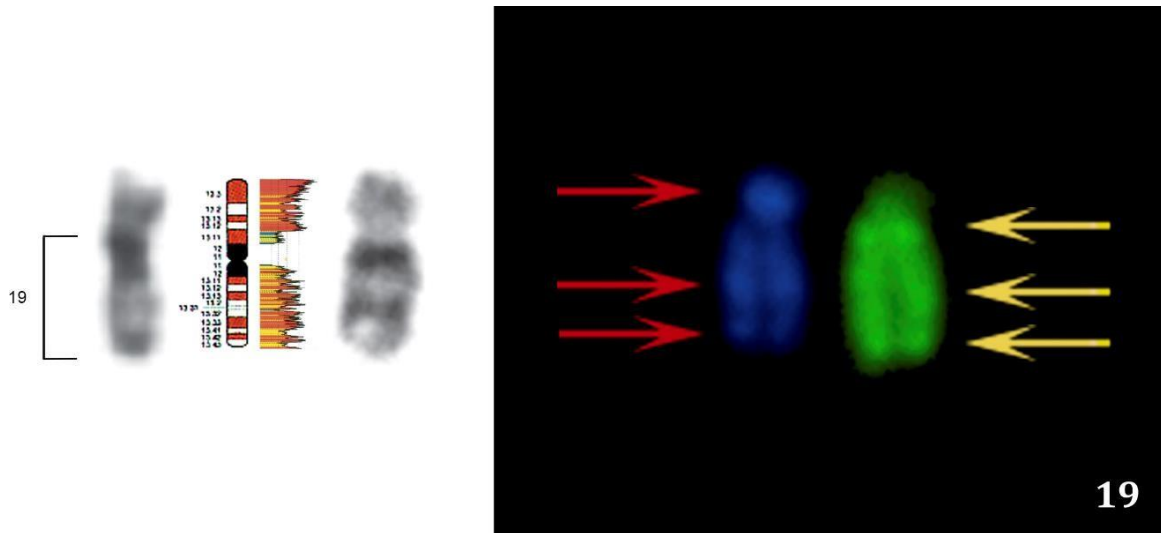


Figura 58. Cromosoma 19 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 20 de AAZ (Figura 59), la región homeóloga al brazo q sería el brazo q del cromosoma HSA17. Los isocoros estarían conservados. Las bandas CMA<sub>3</sub>+ se corresponderían con los isocoros H3+, a excepción de la banda intersticial intermedia que se correspondería con los isocoros H1/H2 que se observan en el perfil composicional de HSA. Las bandas DAPI+ colocalizan con las bandas G positivas en donde, según el perfil composicional, habría isocoros L2.

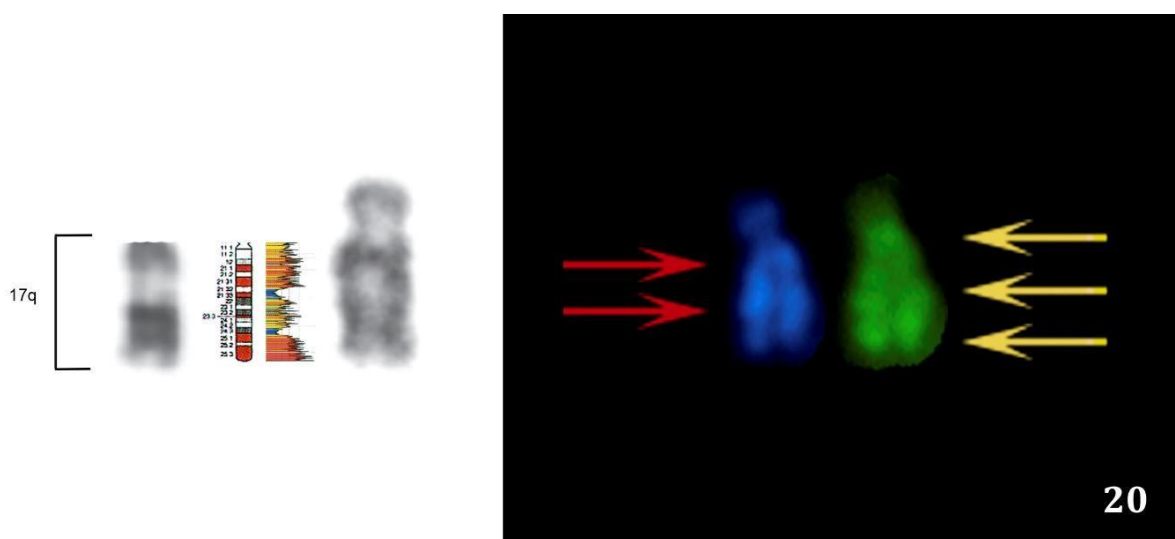


Figura 59. Cromosoma 20 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 21 de AAZ (Figura 60), sólo se analizará el brazo q por ser el único con el que se halló homeología con los cromosomas humanos. Tanto los isocoros H3+ terminal como intersticial que se observan en el ideograma humano se corresponderían con las bandas CMA<sub>3</sub>+ de igual ubicación en *Aotus azarae*. La banda CMA<sub>3</sub>+ pericentromérica se correspondería a los isocoros H1/H2 que se observan en el perfil composicional de HSA. La banda DAPI+ más proximal se correspondería con el isocoro L1+ distal observado en el ideograma, mientras que la banda DAPI+ distal se correspondería con la banda G positiva presente en la región homeóloga de HSA, rica en isocoros L2 de acuerdo con el perfil composicional. Los isocoros L1+ intersticiales más proximales que se observan en HSA no estarían conservados.

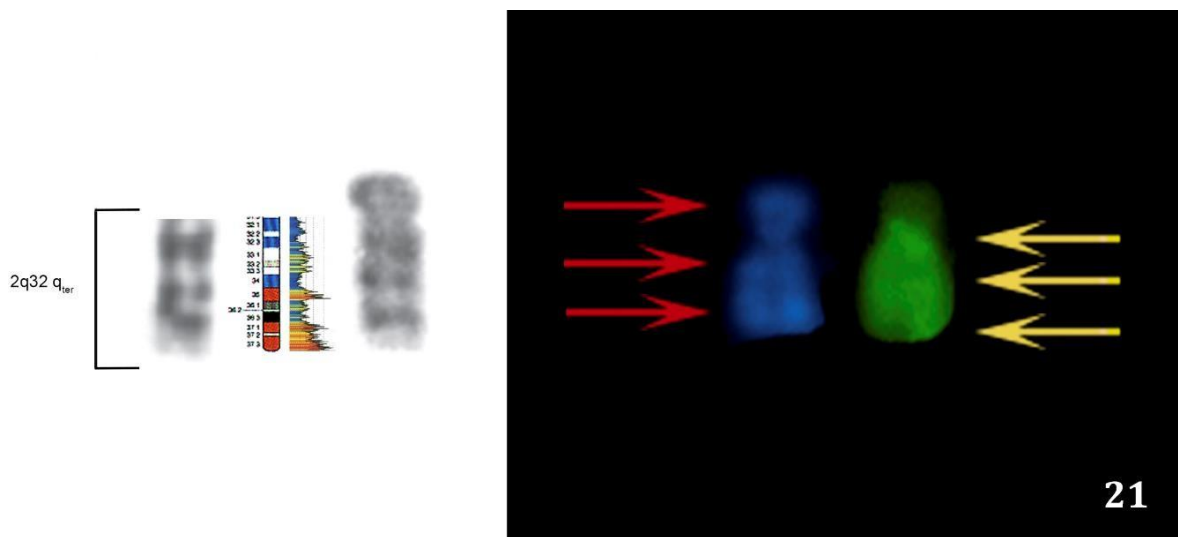


Figura 60. Cromosoma 21 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 22 de AAZ (Figura 61), en la región homeóloga a HSA1 q<sub>ter</sub> las bandas G se corresponden con las bandas DAPI+ intersticiales en *Aotus azarae* que, a su vez, coinciden con isocoros de la familia según el perfil composicional L. A su vez, se conservaría el isocoro H3+ que coincide en posición con la banda CMA<sub>3</sub>+ pericentromérica. En esa región de HSA se observa otro isocoro H3+ más distal, que se habría perdido en *Aotus azarae* (o se habría formado *de novo* en *Homo sapiens*). En la región homeóloga a HSA16 sólo se conservaría el isocoro H3+ telomérico.

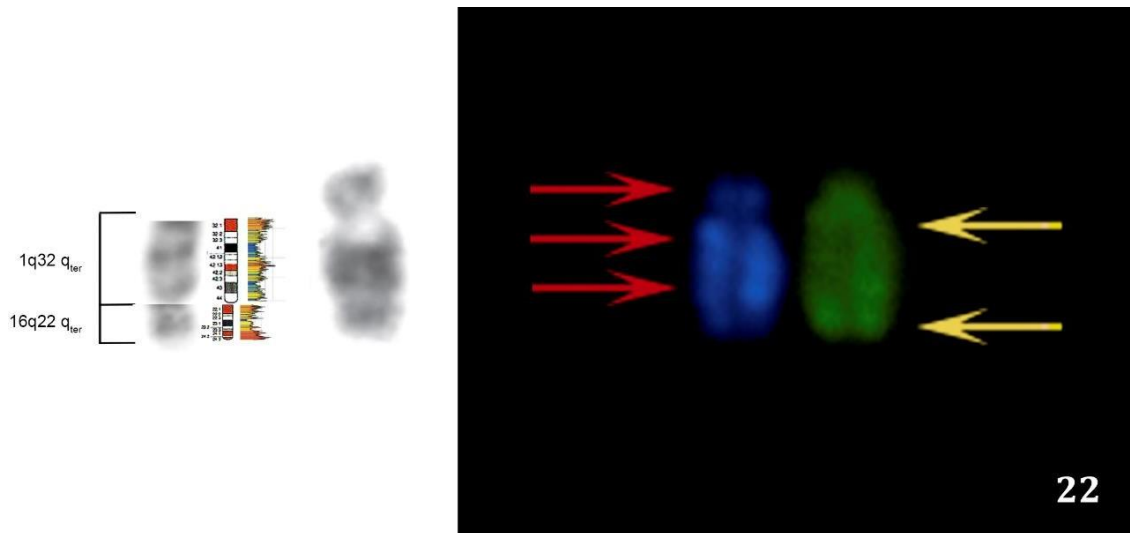


Figura 61. Cromosoma 22 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma 24 de AAZ (Figura 62), a excepción de las bandas CMA<sub>3</sub>+ pericentromérica y telomérica que se corresponderían con isocoros H1 o H2 de acuerdo con el perfil composicional, la banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial no se correspondió con ningún isocoro de la familia H en la región homeóloga de humanos. Los isocoros L estarían conservados, como L1+ que se correspondería a la banda DAPI+ más proximal y como un isocoro L2 para la más distal.

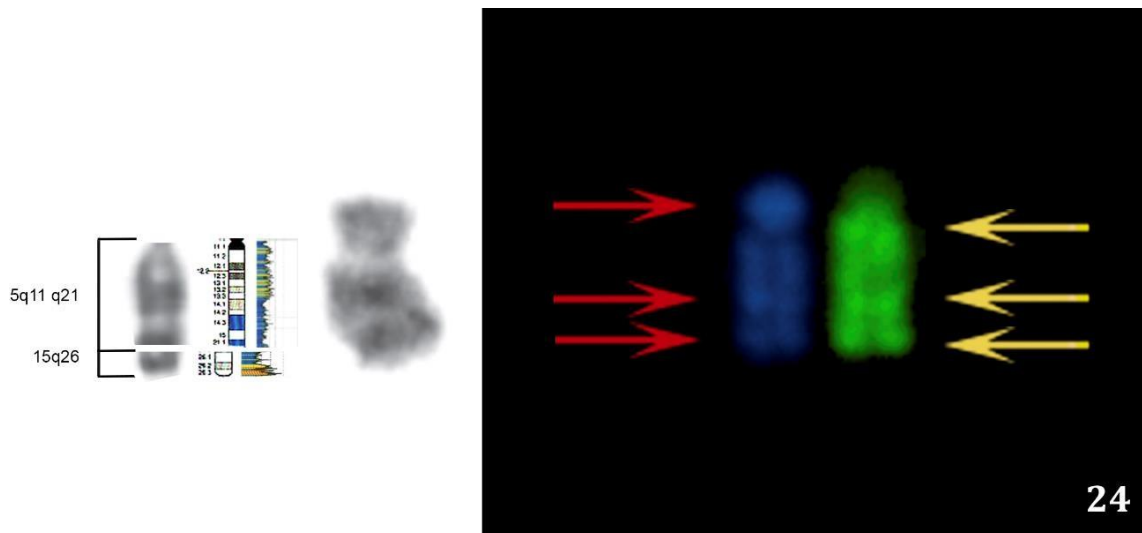


Figura 62. Cromosoma 24 de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmentos cromosómicos homeólogos de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma X<sub>1</sub> de AAZ (Figura 63), los isocoros L estarían conservados. En el brazo q, todas las bandas DAPI+ se corresponderían con los isocoros L1+ que se observan en el ideograma del X humano, con excepción de la banda DAPI+ pericentromérica que podría corresponderse con un isocoro de la familia L2 según el perfil composicional. En el brazo p, la banda DAPI+ proximal se corresponde con isocoros L1+ presentes en HSA, la más distal se correspondería con los isocoros L2 que se observan en el perfil composicional. Las bandas CMA<sub>3</sub>+ podrían corresponderse en su mayoría con isocoros H1 y/o H2 según el perfil composicional, con excepción de la telomérica que coincide con el isocoro H3+ telomérico.



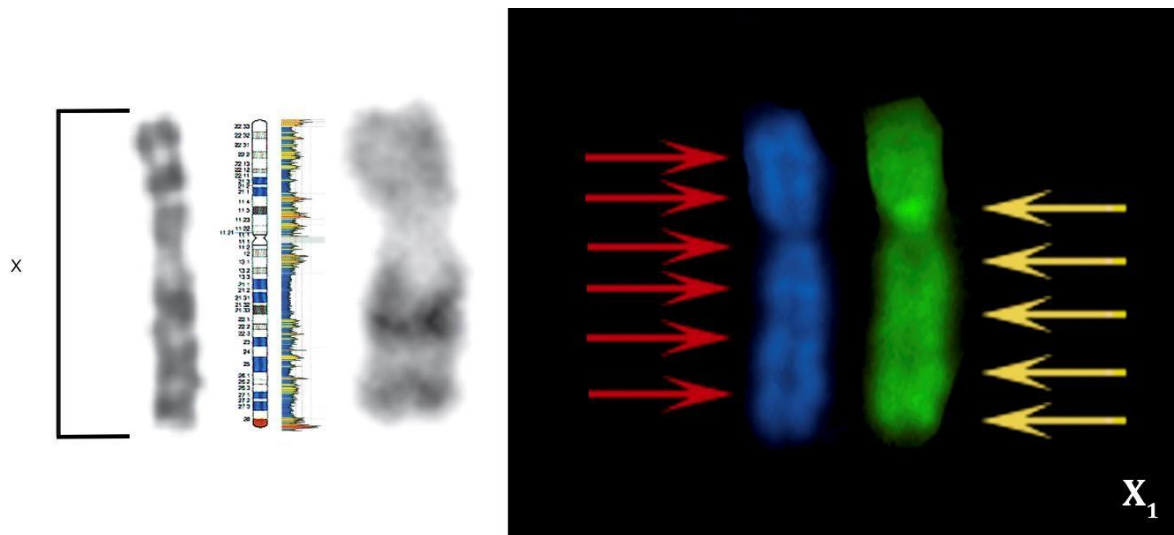


Figura 63. Cromosoma  $X_1$  de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; cromosoma homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Al analizar el par sexual, cabe referir que para el cromosoma  $X_2$  de AAZ (Figura 64), solamente los isocoros L1+ pericentromérico e intersticial estarían conservados, dado que coinciden con las bandas DAPI+ obtenidas. Se observó la pérdida en humanos y/o ganancia en *Aotus azarae* del isocoro de la familia H que se correspondería con la banda CMA<sub>3</sub>+ telomérica. La banda CMA<sub>3</sub>+ intersticial se correspondería a isocoros H1 o H2 según el perfil composicional. A su vez, un isocoro H3+ proximal se habría ganado en humanos o perdido en *Aotus azarae*.

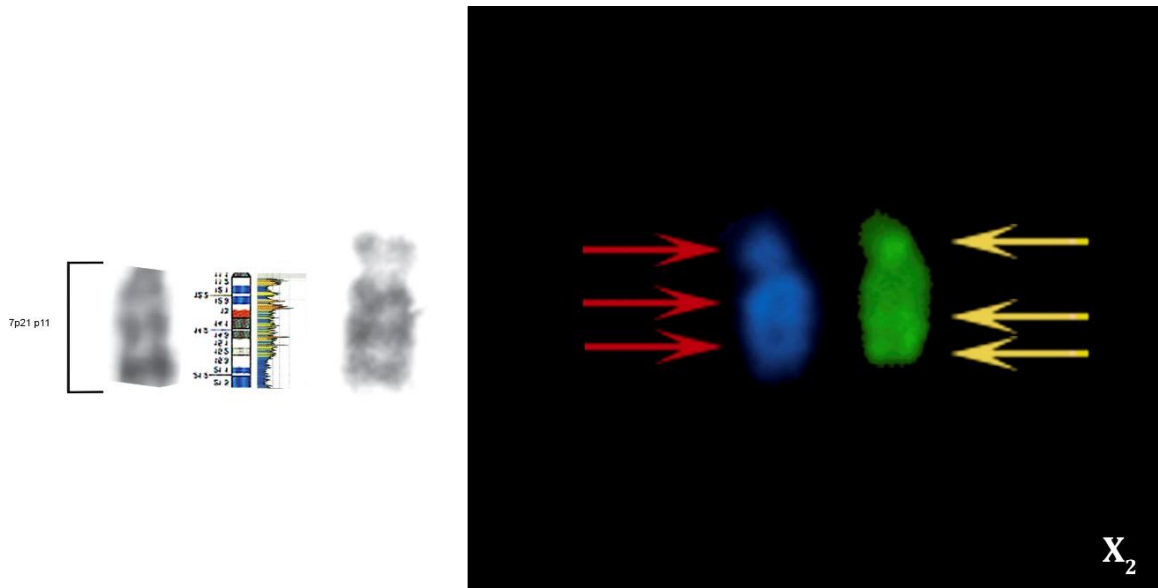


Figura 64. Cromosoma  $X_2$  de *Aotus azarae*. De derecha a izquierda: par cromosómico teñido con DAPI/CMA<sub>3</sub> y sus respectivas bandas DAPI+ en rojo y CMA<sub>3</sub>+ en amarillo; patrón de bandas G del par; segmento cromosómico homeólogo de HSA junto con su patrón de bandas G, patrón de isocoros y perfil composicional.

Para el cromosoma Y de AAZ, originado de una translocación Y-autosoma, donde este autosoma es un homólogo del par 23 (el otro homólogo pasó a denominarse  $X_2$ ), una vez más no se realizó un análisis del perfil composicional debido a la falta de homología del Y de Platyrrhini con el Y humano.

## Discusión y Conclusiones

---

## Composición del genoma

En Atelidae, sólo seis pares de cromosomas de las cuatro especies estudiadas presentaron total homeología para el contenido nucleotídico en pares de bases GC (bandas DAPI-/CMA<sub>3</sub>+), los cuales se especifican en la Tabla 10.

ACA	AGUc	API	ACH
2q	2q <sub>prox</sub> -2q <sub>int</sub>	2q	10q <sub>ter</sub> -10q <sub>int</sub>
10p	12p	7p	8p
12q	3q	10	10p
14q	6q	17q	9q <sub>ter</sub>
19q	15q	20q	4q <sub>ter</sub>
X	X	X	X

Tabla 10. Cromosomas y/o regiones cromosómicas con total homeología para el contenido nucleotídico en pares de bases GC. ACA: *A. caraya*; AGUc: *A. guariba clamitans*; API: *A. pigra*; ACH: *A. chamek*.

Considerando que se conocen las homeologías cromosómicas interespecíficas y entre ellas y el humano, se confeccionó una tabla en la que se comparó cada región homeóloga respecto a su contenido de bandas DAPI-/CMA<sub>3</sub>+ (Tabla 12 del Anexo Resultados). Para cada región homeóloga con *Homo sapiens* y para cada especie de Atelidae, se analizó la conservación en cantidad y posición de bandas. Algo interesante a destacar es que, al comparar el patrón de bandas DAPI-/CMA<sub>3</sub>+ entre *A. chamek* (2n = 34, XY) y cada una de las tres especies de aulladores de manera individual, se observó mayor conservación con *Alouatta caraya* (2n = 52, X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>2</sub> ♀ /X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> ♂). Si bien con esta especie se observó conservación en cantidad y posición de las bandas en 16 pares cromosómicos, con *A. pigra* (2n = 58, X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>2</sub> ♀/X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> ♂) y *A. guariba clamitans* (2n = 46, X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>3</sub> ♀/2n = 45, X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> ♂) sólo se observó esta conservación en ocho y seis pares cromosómicos, respectivamente.

En *Ateles*, 17 fusiones en *tándem* o robertsonianas y tres fisiones redujeron su número diploide respecto del resto de las especies de Atelidae (de Oliveira et al., 2012). Esta reducción en el número cromosómico explicaría la reducción observada en el número de bandas positivas DAPI/CMA<sub>3</sub> respecto de lo descrito para los monos aulladores. Las diferencias en regiones ricas en AT y GC podrían explicarse ya sea por surgimiento *de novo* o por pérdida de secuencias en las distintas especies.

En Cebidae, considerando que se conocen las homeologías cromosómicas entre las especies estudiadas y entre ellas y el humano, se comparó cada región homeóloga respecto a su contenido de bandas DAPI-/CMA<sub>3</sub>+ (Tabla 13 del Anexo Resultados). Para cada región homeóloga con *Homo sapiens* y entre cada especie de Cebidae, se analizó la conservación de bandas fluorescentes. Se observó una alta conservación en cantidad y posición de las bandas en 24 pares de cromosomas entre ambas especies (Tabla 11). Nuevamente, las diferencias observadas en el número de regiones ricas en AT y GC podrían explicarse ya sea por surgimiento *de novo* o por pérdida de estas secuencias en las distintas especies, como se explica más adelante.

CNI	AAZ	CNI	AAZ
1q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub>	1q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub>	13q	13q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub>
2q	1p	14q	10q
3q	4q	15q	23q
4	3	16q	14q
5p/5q	22q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub> /2q	17q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub>	11q
6q <sub>ter</sub>	7q <sub>ter</sub>	18q	16q
7q <sub>ter</sub>	12q <sub>ter</sub>	19q	9q
8q <sub>ter</sub>	15q <sub>ter</sub>	20q	18q
9q	19q	21q	20q
10q	13q <sub>prox</sub> -q <sub>int</sub>	22q	22q <sub>prox</sub>
11q <sub>ter</sub>	6p <sub>ter</sub>	23q	6q
12q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub>	8q	Xq	X <sub>1</sub> q

Tabla 11. Cromosomas y/o regiones cromosómicas con total homeología para el contenido nucleotídico en pares de bases GC. AAZ: *A. azarae*; CNI: *C. nigrinus*.

Tanto para *Ateles chamek* (ACH) como para *Aotus azarae* (AAZ), las bandas teloméricas resultaron predominantemente CMA<sub>3</sub>+: 16 en ACH y 25 en AAZ, habiéndose observado sólo una banda DAPI+ telomérica en ACH y ninguna en AAZ, lo que indicaría un mayor contenido en pares de bases GC en los telómeros. Por el contrario, las bandas intersticiales, si bien se tiñeron con ambos fluorocromos, resultaron en su mayoría DAPI+: en ACH 33 resultaron DAPI+ y tan sólo 10 CMA<sub>3</sub>+ y en AAZ 67 bandas intersticiales fueron DAPI+ y 36 CMA<sub>3</sub>+. Las bandas pericentroméricas para ACH son predominantemente ricas en GC (seis bandas CMA<sub>3</sub>+ y dos bandas DAPI+), mientras que para AAZ resultaron ricas en AT (13 bandas DAPI+ y cinco bandas CMA<sub>3</sub>+).

Desde un punto de vista cualitativo, el número total de bandas DAPI+ y CMA<sub>3</sub>+, tanto en *A. chamek* como en *A. azarae*, resultó similar dentro de cada especie. En *A. chamek*, se observó un total de 36 bandas DAPI+ y 33 bandas CMA<sub>3</sub>+, mientras que en *A. azarae* se observaron un total de 88 bandas CMA<sub>3</sub>+ y 89 bandas DAPI+, lo que sugeriría que el genoma de estas especies estaría compuesto por una proporción similar de pares de bases AT y GC. En *Cebus nigrinus*, se observaron un total de 66 bandas CMA<sub>3</sub>+ y 47 bandas DAPI+, lo que sugeriría un enriquecimiento en pares de bases GC en su genoma. Este género posee una alta proporción de heterocromatina constitutiva en sus cariotipos, muy superior a la observada en *Ateles* y *Aotus*, rica en pares de base GC (Fantini, 2015); estas regiones podrían explicar parcialmente el enriquecimiento detectado en el nuevo trabajo original realizado para el presente trabajo de Tesis. Por el contrario, en *A. chamek* la heterocromatina resultó rica en AT (Fantini, 2015), al igual que en *A. azarae*, como pudo ser evidenciado en este trabajo de Tesis mediante la metodología de bandas fluorescentes secuenciales DAPI/CMA<sub>3</sub> sobre metafases a las que se les había aplicado previamente la técnica de bandas C. De este modo, se puso en evidencia la composición nucleotídica de la heterocromatina constitutiva (Figura 65).

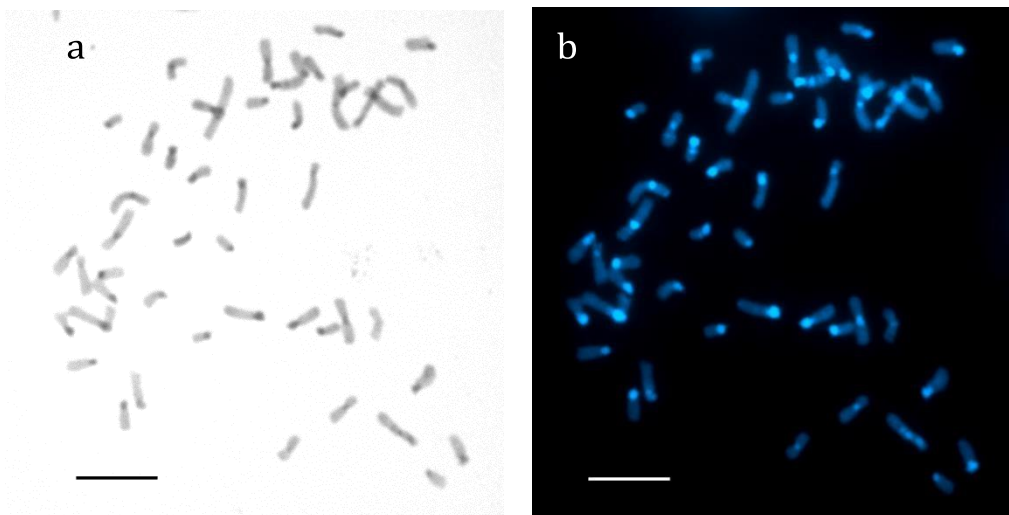


Figura 65. Resultado de la aplicación de la técnica de tinción fluorescente DAPI/CMA<sub>3</sub> en bandas previamente teñidas con la técnica de bandas C en *Aotus azarae*. a) Metafase con bandas C b) Metafase con bandas DAPI+. Barra =10  $\mu$ m.

## Conservación de los isocoros

Las bandas fluorescentes secuenciales DAPI/CMA<sub>3</sub> permitieron describir la distribución de regiones ricas en pares de bases AT/GC de *A. chamek* y *A. azarae*, cumpliendo con el primer objetivo de este trabajo de Tesis. A partir de la caracterización de la distribución de bases nucleotídicas en estas especies, se observaron bandas cromosómicas ricas en pares de bases GC y AT de localización telomérica, intersticial y pericentromérica. Las variaciones interespecíficas observadas en cuanto al contenido, distribución y localización de las bases nucleotídicas en sus cromosomas sugieren la posible existencia de patrones de bandas cromosómicas específicos para cada especie y, con ello, un perfil composicional característico en cada una de ellas.

Si bien algunas regiones homeólogas mostraron un patrón de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> en concordancia con el patrón de isocoros en humanos, la presencia de otras sólo sería interpretable por el surgimiento *de novo* y/o pérdida de isocoros, resultando imposible, en esta oportunidad, establecer una direccionalidad a las variaciones vistas, dado que para ello sería oportuno ampliar el espectro de comparaciones para lo que deberían evaluarse otros grupos taxonómicos. Si bien las bandas DAPI+ y las CMA<sub>3</sub>+ se correspondieron con isocoros L1+ y H3+, respectivamente, también se evidenciaron regiones con mayor o menor contenido en GC en los primates no humanos, es decir, isocoros L2 o H1/H2 en el perfil composicional de *Homo sapiens* para cada región homeóloga. Sin embargo, una interpretación plausible es la que sostiene que podría estar indicando el enriquecimiento en GC y/o AT de esas regiones respecto a *Homo sapiens*, permitiendo ser así evidenciadas con esta metodología de análisis.

Para poder comparar mejor la conservación de los distintos isocoros en estas especies se procedió a plasmar en tablas (Tabla 14 para *Ateles chamek* y Tabla 15 para *Aotus azarae* en el anexo Resultados) lo obtenido del análisis, cromosoma por cromosoma, del perfil composicional de estas especies. Como se refirió previamente, el cariotipo de *Ateles chamek* es un cariotipo muy derivado, comparado tanto con el cariotipo ancestral propuesto para Platyrrhini como también para la familia Atelidae, surgido de múltiples fusiones cromosómicas (Figura 66). Sin embargo, del análisis de la conservación de los isocoros del genoma humano en las regiones con sintenias cromosómicas que caracterizan este grupo taxonómico se observó una alta conservación de isocoros en esas regiones. Como mención de alguna de las sintenias que conservan homeología en composición nucleotídica podemos mencionar la sintenia ancestral de Platyrrhini 3/15 en el cromosoma 3 y las sintenias ancestrales de *Ateles*

5/8 y 10/2 en los cromosomas 5 y 13, respectivamente.

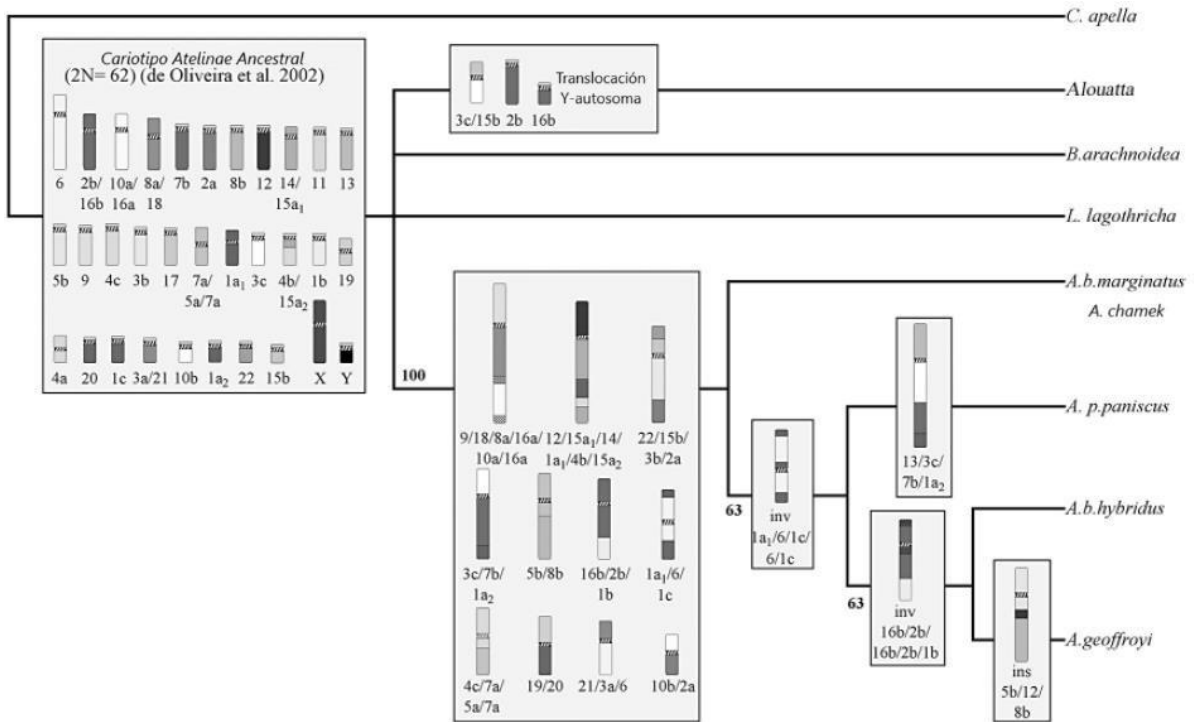


Figura 66. Reconstrucción de filogenias cromosómicas a partir del cariotipo ancestral de Atelinae (2n = 62) utilizando datos de pintado cromosómico. Modificado de de Oliveira y colaboradores (2005).

Para *Aotus azarae*, del análisis de la conservación de los isocoros del genoma humano en las regiones con gran parte de las sintenias cromosómicas que caracterizan a este grupo taxonómico (Figura 67), se observó una alta conservación de isocoros en dichas regiones. Ejemplos de esto lo constituyen el cromosoma 1 que, con excepción de un único isocoro de la Familia L, conservaría toda la sintenia 4/15/5 ancestral de *Aotus*, el cromosoma 6 que conserva en su totalidad otra sintenia ancestral de *Aotus*, la 3/21.



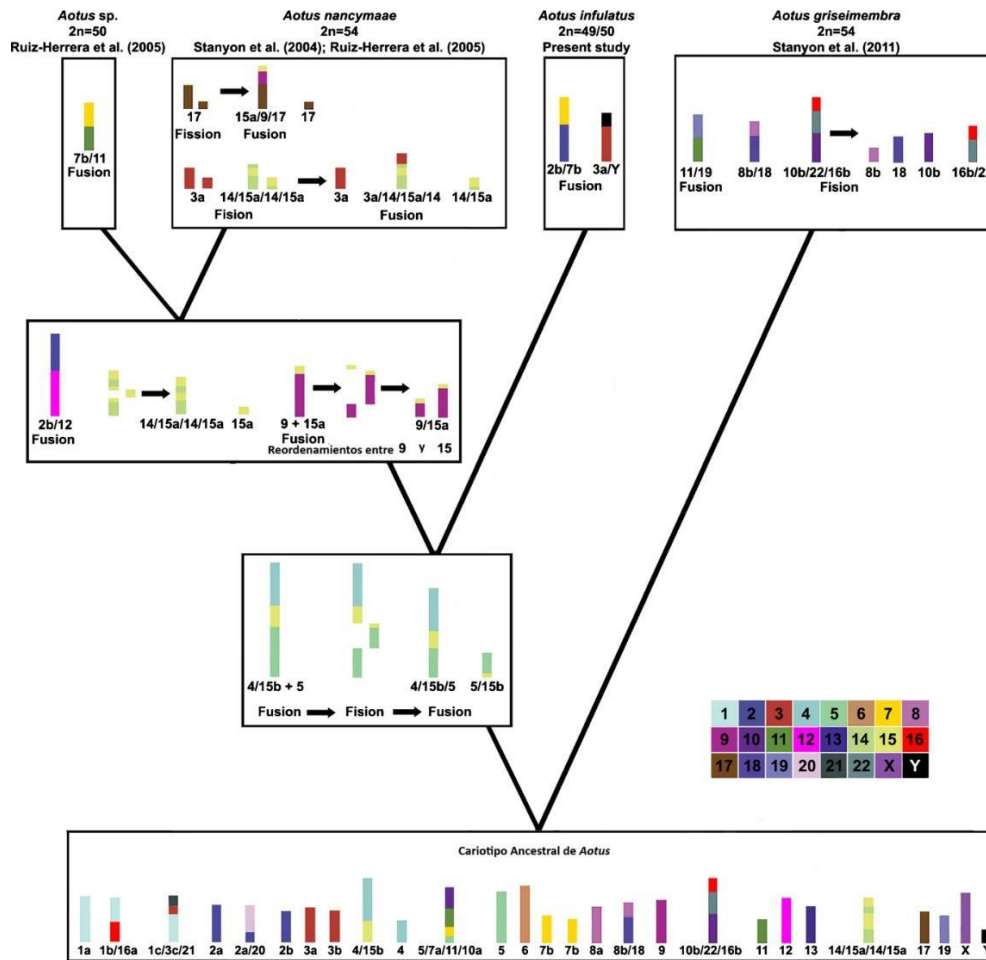


Figura 67. Serie de transformaciones hipotéticas ocurridas a partir del cariotipo ancestral de *Aotus* ( $2n = 52$ ). Modificado de Araujo y colaboradores (2017). Nomenclatura de segmentos cromosómicos según Neusser y colaboradores (2001).

En ambas especies, se observaron cromosomas en los que está conservado únicamente una región de la sintenia, como por ejemplo en el cromosoma 12 de AAZ donde se conserva sólo la región correspondiente al 18 de la sintenia 8/18 ancestral de Platyrrhini, en el cromosoma 4 de ACH donde se conserva sólo la región correspondiente al 3 de la sintenia ancestral de *Ateles* 3/7/1. Finalmente, ciertos cromosomas conservaron la totalidad de los isocoros presentes en los homeólogos humanos, por ejemplo los cromosomas 9, 15, 16 y 20 en *Aotus azarae* y el cromosoma 16 en *Ateles chamek*.

En cuanto a los cromosomas sexuales, dado que el cromosoma Y en Primates del Nuevo Mundo no presenta homeología respecto al Y humano por estar altamente reordenado (Consigliere et al., 1996, 1998; Mudry et al. 2001; de Oliveira et al. 2002; Steinberg, 2011) no se realizó el estudio de su perfil composicional. En *A. azarae* y *A. chamek*, el cromosoma X ancestral presentó conservación de los isocoros, lo cual se corresponde con la alta conservación de este cromosoma en mamíferos, entre ellos los primates (Consigliere et al. 1996, 1998; Mudry et al. 2001; de Oliveira et al. 2002,

entre otros): la única excepción es un isocoro pobre en GC en *A. chamek* que pudo haber surgido *de novo* en esta especie o haberse perdido en el cromosoma X humano. A grandes rasgos, cualitativamente no se observó una predominancia en conservación de isocoros de las familias L y H en las especies estudiadas (43 isocoros H y 37 isocoros L conservados respecto a HSA en ACH; 71 isocoros H y 73 isocoros L en AAZ).

En regiones en las que existe una alta conservación cromosómica comprobada mediante técnicas de hibridación *in situ* fluorescente, a partir de las cuales se lograron establecer las homeologías entre *Homo sapiens* y estas especies de primates (García et al., 2000; de Oliveira et al., 2005; Araujo et al., 2017, entre otros), las variaciones observadas en el contenido nucleotídico sugieren que distintos procesos podrían estar actuando en la evolución de estas secuencias. Tres hipótesis se han propuesto para explicar el origen y conservación de los isocoros, que aún se encuentran en constante debate. Estas hipótesis se han detallado extensivamente en la Introducción de este trabajo de Tesis por lo que, en este apartado, nos limitaremos a detallar cuáles fueron las evidencias que demuestran que ninguna de ellas resulta suficiente para explicar la distribución de isocoros en el genoma de estos primates.

Para la **hipótesis seleccionista**, distintos estudios sugieren que carece de una base empírica que le dé sustento, dado que no habría relación aparente entre la temperatura corporal en los vertebrados y el contenido en GC (Belle et al., 2002; Ream et al., 2003). A su vez, existe evidencia que data el origen de los isocoros ricos en GC de los mamíferos hace 310-350 Ma. en el último ancestro común de los amniotas, i.e. mucho antes del origen de la homeotermia en mamíferos (Hughes et al., 1999; Kuraku et al., 2006). Por otro lado, si estuviese actuando la selección sobre estas secuencias, ésta debería hacerlo sobre la información contenida en los isocoros y no simplemente sobre su composición nucleotídica, dado que las variaciones en el contenido en GC afectan a todos los compartimentos nucleares, no sólo a secuencias no codificantes consideradas neutras o bajo presión selectiva débil, sino también a secuencias codificantes (Bernardi et al., 1985; Mouchiroud et al., 1987; Aissani et al., 1991; D'Onofrio et al., 1991; Lander et al., 2001).

La **hipótesis de mutación sesgada** propone que todas las mutaciones en sitios neutros deberían tener la misma probabilidad de fijarse; sin embargo, existe evidencia que sugiere que los pares de bases GC tienen mayor probabilidad de fijarse que los pares de bases AT (Eyre-Walker, 1999; Duret, 2002; Spencer et al., 2006). Así, si bien en el genoma humano la tasa de mutación se correlaciona con el contenido en GC (Hardison et al., 2003; Wolfe, 2003), no sería la única variable que influya en éste. Finalmente, a pesar de que se encontró una correlación entre el contenido en GC y la tasa de recombinación en humanos y otros primates (Arndt et al., 2003; 2005; Montoya-Burgos et al., 2003; Meunier y Duret, 2004; Myers et al., 2005; Duret y Arndt, 2008), la **hipótesis de conversión génica** no podría explicar por qué hay amniotas que parecieran no tener isocoros ricos en GC (Mikkelsen et al., 2007; Warren et al., 2008; Fujita et al., 2011), siendo la conversión génica considerada un proceso universal que se da en todos los organismos (Birdsell, 2002; Pessia et al., 2012).

En consecuencia, la selección natural, la mutación y la conversión génica sesgadas no podrían explicar, al menos por sí solas, el patrón que se ve en la distribución de los isocoros. Algunos autores proponen que, en muchos mamíferos incluyendo los primates, los isocoros ricos en GC estarían desvaneciéndose, es decir, sus genomas estarían experimentando un decaimiento en el contenido en GC (Webster et al., 2003; Belle et al., 2004; Meunier y Duret, 2004; Antezana, 2005; Duret, 2006). Con el secuenciado de genomas completos, se observó que, al igual que en humanos, tan sólo una pequeña porción del genoma en los primates no humanos es codificante (1-2%) (Marques-Bonet et al., 2009; Treangen y Salzberg, 2012). Por otra parte, 98-99% del genoma no codificante comprende secuencias altamente repetitivas que presentan variaciones tanto en su secuencia como en el número de copias entre especies, incluso entre aquellas más cercanas filogenéticamente, sugiriendo que experimentan una evolución rápida (López-Flores y Garrido-Ramos, 2012; Lower et al., 2018). Dado que los isocoros, además de poseer secuencias codificantes, poseen un alto contenido de secuencias repetitivas se han postulado otras hipótesis que podría explicar cómo éstas han divergido en los distintos grupos de primates.

La **hipótesis de la biblioteca** (o *Library hypothesis*, en inglés) ofrece una explicación posible al origen y la distribución de las secuencias repetitivas entre los distintos linajes (Meštrović et al., 1998; Plohl et al., 2012), que podría extenderse a los isocoros. Ruiz-Ruano y colaboradores (2016) propusieron el surgimiento de secuencias repetitivas en un evento de duplicación, ya sea la duplicación de todo el genoma o la de un segmento genómico *de novo*, dando como resultado una repetición en *tándem* novedosa en una posición genómica distinta (Ruiz-Ruano et al., 2016). Luego de la duplicación, cada secuencia puede evolucionar de manera independiente a través de la divergencia de secuencias o mostrar un patrón de evolución concertada. Se habla de evolución concertada cuando las repeticiones dentro de un genoma

(parálogas) muestran más similitud de secuencia entre sí que con sus contrapartes en otras especies (ortólogas) (Ganley, 2013). Cabe observar con detenimiento este concepto importante en el mantenimiento de la función y estructura de los genomas ya que, la evolución concertada surge como consecuencia de un proceso de homogeneización que reduce la variación intragenómica entre repeticiones, contrarrestando el efecto de la mutación (revisado en Ganley, 2013). La homogeneización entre copias repetitivas parálogas puede darse por recombinación desigual o por conversión génica. Cuando las variantes que surgen de este proceso son deletéreas, será la selección la encargada de suprimir cualquier propagación de estas secuencias. Así, la evolución concertada reflejaría un equilibrio dinámico entre la mutación, la homogeneización y la selección natural, así como un mecanismo de divergencia molecular que permitiría dispersar de manera rápida variantes repetitivas favorables en un genoma, que luego se fijarían en la población por reproducción sexual (Ahmad et al., 2020); por lo que ha sido propuesta también como un mecanismo de especiación (Ganley, 2013; Garrido-Ramos, 2017; Lower et al., 2018).

Varias son las observaciones que indicarían, por otro lado, que la evolución del contenido en GC en los genomas de mamíferos, y con ello de los isocoros, está fuertemente relacionada con la evolución de sus cariotipos. Como evidencias que dan sustento a lo antedicho, se pueden destacar la correlación entre el contenido en GC y el tamaño cromosómico, i.e. los cromosomas de menor tamaño son por lo general más ricos en GC (Duret y Galtier, 2009). La predisposición de regiones ricas en GC a experimentar rupturas cromosómicas (Webber y Ponting, 2005) podría explicar, en parte, el reordenamiento de *loci* específicos de primates enriquecidos con elementos de secuencia repetitiva de alta copia (Cheng et al., 2005; Prakhongcheep et al., 2013; Nieves et al., 2018) producto de rupturas cromosómicas durante la evolución de sus genomas (Ruiz-Herrera et al., 2005; Kehrer-Sawatzki et al., 2008). Finalmente, se daría lugar a la interpretación acerca de la posible relación entre los reordenamientos cromosómicos y la homogeneización del contenido en GC (Duret y Galtier, 2009), dado que existe evidencia sobre muchas fusiones cromosómicas ocurridas en el linaje de mamíferos (Nakatani et al., 2007) que podrían ser responsables de la “erosión” de los isocoros ricos en GC observada en estos animales (Duret et al., 2002; Belle et al., 2004).

En conclusión, diversos procesos podrían estar actuando para generar las variaciones en el perfil composicional en las especies de primates no humanos aquí estudiadas respecto a *Homo sapiens*. Estas diferencias podrían explicarse no sólo por los reordenamientos cromosómicos ocurridos en los linajes de estas especies, sino por una posterior diversificación de la composición nucleotídica que podría ser explicada por diversos procesos que modulan la

variación en secuencias repetitivas, tales como la evolución concertada. Más estudios son necesarios para corroborar si este patrón se mantiene en otros grupos de primates no humanos.

## Conclusiones generales

- ✓ Al nivel interespecífico, *Ateles chamek* comparte un mayor número de regiones ricas en GC en regiones homeólogas con *Alouatta caraya* que con el resto de los aulladores estudiados, coincidiendo en cantidad y posición de bandas en 16 pares cromosómicos.
- ✓ El patrón de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> de *Aotus azarae* se comparó con lo obtenido previamente para *Cebus nigritus* hallando conservación en cantidad y posición de bandas entre estas dos especies en 24 pares cromosómicos.
- ✓ A pesar de los extensivos reordenamientos cromosómicos en las especies estudiadas, en *Ateles chamek* y *Aotus azarae* se observó una alta conservación de los isocoros descritos en el genoma humano, en especial en sintenias de importancia evolutiva.
- ✓ Las diferencias en los perfiles composicionales de las especies estudiadas se atribuyeron a posibles reordenamientos cromosómicos que modificaron la ubicación de estas regiones en el genoma, así como posibles amplificaciones y/o pérdida de estas regiones y la posterior diversificación en la composición nucleotídica.
- ✓ Nuestras observaciones apoyan la posible existencia de patrones evolutivos especie-específicos a nivel de la composición nucleotídica y de la arquitectura cromatínica que orientarían los reordenamientos evolutivos.

## Referencias Bibliográficas

---

- Ahmad, S.F.; Singchat, W.; Jehangir, M.; Suntronpong, A.; Panthum, T.; Malaivijitnond, S.; Srikulnath, K. **2020**. Dark Matter of Primate Genomes: Satellite DNA Repeats and Their Evolutionary Dynamics. *Cells*. 9(12): 2714.
- Aissani, B.; D'onofrio, G.; Mouchiroud, D.; Gardiner, K.; Gautier, C.; Bernardi, G. **1991**. The compositional properties of human genes. *J. Mol. Evol.* 32: 493–503.
- Alvarez-Valin, F.; Clay, O.; Cruveiller, S.; Bernardi, G. **2004**. Inaccurate reconstruction of ancestral GC levels creates a “vanishing isochores” effect. *Mol. Phylogenet. Evol.* 31: 788–793.
- Alves, S.L.; de Melo, F.R.; Boubli, J.; Rylands, A.B.; Messias, M.; Mittermeier, R.A.; et al. **2020**. *Ateles chamek*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020.
- Amaral, P.; Finotelo, L.; de Oliveira, E.; Pissinatti, A.; Nagamachi, C., Pieczarka, J. **2008**. Phylogenetic studies of the genus *Cebus* (Cebidae-Primates) using chromosome painting and G-banding. *BMC Evol. Biol.* 8: 169.
- Andersson, L.; Archibald, A.; Ashburner, M. et al. **1996**. Comparative Genome Organization of Vertebrates. *Mammalian Genome* 7: 717–734.
- Antezana, M. **2005**. Mammalian GC content is very close to mutational equilibrium. *J. Mol. Evol.* 61: 834–836.
- Aquino, R. y Encarnación, F. **1994**. Los Primates del Perú. *Primate Report* 40: 1-127.
- Araújo, N.A.; Stanyon, R.; Pereira, V.S.; Svartman, M. **2017**. Interspecific Chromosome Painting Provides Clues to the Ancestral Karyotype of the New World Monkey Genus *Aotus*. *Journal of Mammalian Evolution* 26: 283–290.
- Arhondakis, S.; Auletta, F.; Bernardi, G. **2011**. Isochores and the regulation of gene expression in the human genome. *Genome Biology and Evolution*, 3(1): 1080–1089.
- Arndt, P.F.; Petrov, D.A.; Hwa, T. **2003**. Distinct changes of genomic biases in nucleotide substitution at the time of mammalian radiation. *Mol. Biol. Evol.* 20: 1887-1896.
- Arndt, P.F.; Hwa, T.; Petrov, D.A. **2005**. Substantial regional variation in substitution rates in the human genome: importance of GC content, gene density, and telomere-specific effects. *J. Mol. Evol.* 60: 748-763.
- Belle, E.M.; Smith, N.; Eyre-Walker, A. **2002**. Analysis of the phylogenetic distribution of isochores in vertebrates and a test of the thermal stability hypothesis. *J. Mol. Evol.* 55:—356-63.
- Belle, E.M.S.; Duret, L.; Galtier, N.; Eyre-Walker, A. **2004**. The decline of isochores in mammals: An assessment of the GC content variation along the mammalian phylogeny. *J. Mol. Evol.* 58(6):652–660.
- Bernardi, G.; Olofsson, B.; Filipski, J.; Zerial, M.; Salinas, J.; Cuny, G.; Meunier-Rotival, M.; Rodier, F. **1985**. The mosaic genome of warm-blooded vertebrates. *Science*. 228(4702): 953-958.
- Bernardi, G. **1995**. The human genome: organization and evolutionary history. *Annu. Rev. Genet.* 29:445-476.
- Bernardi, G. **2005**. The distribution of genes in human genome. *Encyclopedia of Genetics, Genomics, Proteomics and Bioinformatics* (Dunn M.J., Jorde L.B., Little P.F.R., Subramaniam S., eds.), John Wiley & Sons, UK.
- Bernardi, G. **2007**. The neoselectionist theory of genome evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104(20):8385- 90.
- Bernardi, G. **2015**. Chromosome architecture and genome organization. *PLoS One.* 10(11):e0143739.
- Bernardi, G. **2021**. The “genomic code”: DNA pervasively moulds chromatin structures leaving no room for “junk.” *Life.* 11(4):342.
- Bickmore W.A.; van Steensel B. **2013**. Genome architecture: domain organization of interphase chromosomes. *Cell.* 152(6): —1270-1284.
- Biemont, M.C.; Laurent, C.; Couturie, J.; Dutrillaux, B. **1978**. Chronologie de la réplication des bandes des chromosomes sexuels dans les lymphocytes de sujets normaux et anormaux. *Ann. Génét.* 21:133-141.
- Birdsell, J.A. **2002**. Integrating genomics, bioinformatics, and classical genetics to study the effects of recombination on genome evolution. *Mol. Biol. Evol.* 19(7):1181-1197.
- Boveri, T. **1909**. Die Blastomerenkerne von *Ascaris megalocephala* und die Theorie der Chromosomenindividualität. *Arch Zellforsch* 3: 181–268.
- Boyle, S.; Gilchrist, S.; Bridger, J.M.; Mahy, N.L.; Ellis, J.A.; Bickmore, W.A. **2001**. The spatial organization of human chromosomes within the nuclei of normal and emerlin- mutant cells. *Hum. Mol. Genet.* 10: 211– 219.



- Brown, A.; Chalukian, S.; Malmierca, L. **1984**. Hábitat y alimentación de *Cebus apella* en el N.O. Argentino y la disponibilidad de frutos en el dosel arbóreo. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"*. *Zoología* 13:273–280.
- Brown, T.C. y Jiricny, J. **1989**. Repair of base-base mismatches in simian and human cells. *Genome* 31: 578-583.
- Cammarano, R.; Costantini, M.; Bernardi, G. **2009**. The isochore patterns of invertebrate genomes. *BMC Genomics*, 10:538.
- Chen, J-M; Cooper, D.N.; Chuzhanova, N.; Ferec, C.; Patrinos, G.P. **2007**. Gene conversion: mechanisms, evolution and human disease. *Nat. Rev. Genet.* 8:762–775.
- Cheng, Z.; Ventura, M.; She, X.; Khaitovich, P.; Graves, T.; Osoegawa, K.; Church, D.; DeJong, P.; Wilson, R.K.; Pääbo, S.; et al. **2005**. A genome-wide comparison of recent chimpanzee and human segmental duplications. *Nature*. 437(7055):88-93.
- Clemente, I.C.; Ponsà, M.; Garcia, M.; Egozcue, J. **1990**. Chromosome evolution in the Cercopithecidae and its relationship to human fragile sites and neoplasia. *Int. J. Primatol.* 11:377–398.
- Consigliere, S.; Stanyon, R.; Koehler, G.; Agoramorthy, G.; Wienberg, J. **1996**. Chromosome painting defines genomic rearrangements between red howler monkey subspecies. *Chromosome Research*. 4: 264-270.
- Consigliere, S.; Stanyon, R.; Koehler, U.; Arnold, N.; Wienberg, J. **1998**. In situ hybridization (FISH) maps chromosomal homologies between *Alouatta belzebul* (Platyrrhini, Cebidae) and other primates and reveals extensive interchromosomal rearrangements between howler monkey genomes. *Am. J. of Primatol.* 46: 119-133.
- Costantini, M.; Clay, O.; Auletta, F.; Bernardi, G. **2006**. An isochore map of human chromosomes. *Genome Research*. 16(4): 536–541.
- Costantini, M. y Bernardi, G. **2008**. The short-sequence design of isochores from the human genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 105(37):13971–13976.
- Costantini, M.; Cammarano, R.; Bernardi, G. **2009**. The evolution of isochore patterns in vertebrate genomes. *BMC Genomics*. 10:146.
- Costantini, M.; Alvarez-Valin, F.; Costantini, S.; Cammarano, R.; Bernardi, G. **2013**. Compositional patterns in the genomes of unicellular eukaryotes. *BMC Genomics*. 14:755.
- Costantini, M. y Musto, H. **2017**. The Isochores as a Fundamental Level of Genome Structure and Organization: A General Overview. *J. Mol. Evol.* 84(2-3):93-103.
- Craig, J. y Bickmore, W. **1994**. The distribution of CpG islands in mammalian chromosomes. *Nat. Genet.* 7:376– 382.
- Cremer, T. y Cremer, C. **2001**. Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nat. Rev. Genet.* 2:292–301.
- Cremer, M.; von Hase, J.; Volm, T.; Brero, A.; Kreth, G.; Walter, J.; Fischer, C.; Sólovei, I.; Cremer, C.; Cremer, T. **2001**. Non-random radial higher-order chromatin arrangements in nuclei of diploid human cells. *Chromosome Res.* 9:541–567.
- Cremer, T., y Cremer, M. **2010**. Chromosome territories. *Cold Spring Harb Perspect. Biol.* 2(3):a003889.
- Croft, J.A.; Bridger, J.M.; Boyle, S.; Perry, P.; Teague, P.; Bickmore, W.A. **1999**. Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus. *J. Cell. Biol.* 145: 1119–1131.
- D'Onofrio, G. y Bernardi, G. **1992**. A universal compositional correlation among codon positions. *Gene*. 110:81– 88.
- D'Onofrio, G.; Mouchiroud, D. Aissani, B.; Gautier, C.; Bernardi, G. **1991**. Correlation between the compositional properties of human genes, codon usage, and amino-acid composition of proteins. *J. Mol. Evol.* 32:504–510
- D'Onofrio, G.; Ghosh, T.C.; Saccone, S. **2007**. Different functional classes of genes are characterized by different compositional properties. *FEBS Lett.* 581:5819–5824.

- de Oliveira, E.H.C.; Neusser, M.; Figueiredo, W.B.; Nagamachi, C.; Pieczarka, J.C.; Sbalqueiro, I.J.; Wienberg, J.; Müller, S. **2002**. The phylogeny of howler monkeys (*Alouatta*, Platyrrhini): Reconstruction by multicolor cross-species chromosome painting. *Chromosome Research* 10: 669-683.
- de Oliveira, E.H.C., Neusser, M., Pieczarka, J.C., Nagamachi, C., Sbalqueiro, I.J., Müller, S. **2005**. Phylogenetic inferences of Atelinae (Platyrrhini) based on multi-directional chromosome painting in *Brachyteles arachnoides*, *Ateles paniscus paniscus* and *Ateles b. marginatus*. *Cytogenet. Genome. Res.* 108: 183-190.
- de Oliveira, E.H.C.; Neusser, M.; Müller, S. **2012**. Chromosome Evolution in New World Monkeys (Platyrrhini). *Cytogenet. Genome. Res.* 137: 259-272.
- Defler, T.R.; Bueno, M.L. **2007**. *Aotus* Diversity and the Species Problem. *Primate Conservation*. 22: 55-70. Dekker, J.; Rippe, K.; Dekker, M.; Kleckner, N. **2002**. Capturing chromosome conformation. *Science*. 295:1306-1311.
- Dixon, J.R.; Gorkin, D.U.; Ren, B. **2016**. Chromatin Domains: The Unit of Chromosome Organization. *Mol. Cell.* 62(5): 668-80.
- Dobigny, G.; Ducroz, J.F.; Robinson, T.J.; Volobouev, V. **2004**. Cytogenetics and Cladistics. *Systematic Biology*. 53: 470-484.
- Dumas, F.; Bigoni, F.; Stone, G.; Sineo, L.; Stanyon, R. **2005**. Mapping genomic rearrangements in titi monkeys by chromosome flow sorting and multidirectional in-situ hybridization. *Chromosome Research*. 13(2): 85-96.
- Dumas, F.; Stanyon, R.; Sineo, L.; Stone, G.; Bigoni, F. **2007**. Phylogenomics of species from four genera of New World monkeys by flow sorting and reciprocal chromosome painting. *BMC Evol. Biol.* 7 (Suppl 2), S11.
- Dumas, F.; Mazzoleni, S. **2017**. Neotropical primate evolution and phylogenetic reconstruction using chromosomal data. *The European Zoological Journal*. 84 (1): 1-18.
- Duret, L. **2002**. Evolution of synonymous codon usage in metazoans. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 12: 640-649.
- Duret, L.; Semon, M.; Piganeau, G.; Mouchiroud, D.; Galtier, N. **2002**. Vanishing GC-rich isochores in mammalian genomes. *Genetics*. 162: 1837-47.
- Duret, L.; Eyre-Walker, A.; Galtier, N. **2006**. A new perspective on isochore evolution. *Gene*. 385: 71-74.
- Duret, L. y Arndt, P.F. **2008**. The impact of recombination on nucleotide substitutions in the human genome. *PLoS Genet.* 4: e1000071.
- Duret, L. y Galtier, N. **2009**. Biased gene conversion and the evolution of mammalian genomic landscapes. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 10:285-311.
- Dutrillaux, B. y Lejeune, J. **1971**. A new technic of analysis of the human karyotype. *C R Acad Hebd Seances Acad Sci D.* 272(20): 2638-2640.
- Dutrillaux, B.; Couturier, J.; Richer, C-L.; Viegas-Pequinot, E. **1976**. Sequence of DNA replication in 277 R- and Q-bands of human chromosomes using a BrdU treatment. *Chromosoma*. 58: 51-61.
- Ehrlich, J.; Sankoff, D.; Nadeau, J.H. **1997**. Synteny Conservation and Chromosome Rearrangements During Mammalian Evolution. *Genetics*. 147: 289-296.
- Enard, W.; Pääbo, S. **2004**. Comparative primate genomics. *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet.* 5: 351-378. Eyre-Walker, A. **1993**. Recombination and mammalian genome evolution. *Proc. Biol. Sci.* 252: 237-243. Eyre-Walker, A.; Hurst, L.D. **2001**. The evolution of isochores. *Nat. Rev. Genet.* 2: 549-555.
- Fantini, Lucía. **2015**. Evolución cromosómica y divergencia de especies en *Cebus* y *Ateles* (Primates: Platyrrhini) desde un enfoque citogenético molecular. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
- Feagle, J. **2013**. *Primate Adaptation and Evolution*. Stony Brook University, Stony Brook, NY.
- Federico, C.; Saccone, S.; Bernardi, G. **1998**. The gene-richest bands of human chromosomes replicate at the onset of the S-phase. *Cytogenet. Cell Genet.* 80: 83-88.
- Federico, C.; Andreozzi, L.; Saccone, S.; Bernardi, G. **2000**. Gene density in the Giemsa bands of human chromosomes. *Chromosome Res.* 8(8): 737-746.

- Federico, C. C.; Scavo, C.; Cantarella, C. D.; Motta, S.; Saccone, S.; Bernardi, G. **2006**. Gene-rich and gene-poor chromosomal regions have different locations in the interphase nuclei of cold-blooded vertebrates. *Chromosoma*, 115(2): 123–128.
- Federico, C.; Pappalardo, A.M.; Ferrito, V.; Tosi, S.; Saccone, S. **2017**. Genomic properties of chromosomal bands are linked to evolutionary rearrangements and new centromere formation in primates. *Chromosome Res.* 25(3–4): 261–276.
- Felsenfeld, G. y Groudine, M. **2003**. Controlling the double helix. *Nature*. 421: 448–453.
- Fernández-Duque, E. y Erkert, H. **2006**. Cathemerality and lunar periodicity of activity rhythms in owl monkeys of the Argentinian Chaco. *Folia Primatologica*. 77: 123–138.
- Filipski, A. y Kumar, S. **2005**. Comparative Genomics in Eukaryotes. En *The Evolution of the Genome*. Elsevier Academic Press, 521 - 583.
- Ford, S.M. **1986**. Systematics of the New World Monkeys. Alan R. Liss, New York.
- Frenkel, Z. M.; Bettecken, T.; Trifonov, E. N. **2011**. Nucleosome DNA sequence structure of isochores. *BMC Genomics*. 12: 203.
- Froehlich, J.W., Supriatna, J., Froehlich, P.H., **1991**. Morphometric analyses of *Ateles*: systematic and biogeographic implications. *Am. J. Primatol.* 25: 1–22.
- Fujita, M.K.; Edwards, S.V.; Ponting, C.P. **2011**. The Anolis lizard genome: an amniote genome without isochores. *Genome Biol. Evol.* 3: 974–984.
- Fullerton, S.M.; Bernardo Carvalho, A.; Clark, A.G. **2001**. Local rates of recombination are positively correlated with GC content in the human genome. *Mol. Biol. Evol.* 18: 1139–1142.
- Galbreath, G.J. **1983**. Karyotypic evolution in *Aotus*. *Am. J. Primatol.*, 4: 245–251.
- Galtier, N.; Piganeau, G.; Mouchiroud, D.; Duret, L. **2001**. GC-content evolution in mammalian genomes: the biased gene conversion hypothesis. *Genetics*. 159: 907–911.
- Ganley, A.R.D. **2013**. Concerted Evolution. En *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition* (pp. 126–130). Elsevier Inc.
- García, F.; Nogués, C.; Ponsà, M.; Ruiz-Herrera, A.; Egozcue, J.; Garcia Caldés, M. **2000**. Chromosomal homologies between humans and *Cebus apella* (Primates) revealed by ZOO-FISH. *Mammalian Genome* 11: 399–401.
- García, F.; Ruiz-Herrera, A.; Egozcue, J.; Ponsà, M.; Garcia, M. **2002**. Chromosomal homologies between *Cebus* and *Ateles* (Primates) based on ZOO-FISH and G-banding comparisons. *Am. J. of Primatol.* 57: 177–188.
- Garrido-Ramos, M.A. **2017**. Satellite DNA: An evolving topic. *Genes*. 8: 230.
- Gilbert, N.; Boyle, S.; Fiegler, H.; Woodfine, K.; Carter, N.P.; Bickmore, W.A. **2004**. Chromatin architecture of the human genome: Gene-rich domains are enriched in open chromatin fibers. *Cell*. 118: 555–566.
- Goetze, S.; Mateos-Langerak, J.; Gierman, H. J.; de Leeuw, W.; Giromus, O.; Indemans, M. H. G.; Koster, J.; Ondrej, V.; Versteeg, R.; van Driel, R. **2007**. The Three-Dimensional Structure of Human Interphase Chromosomes Is Related to the Transcriptome Map. *Molecular and Cellular Biology*, 27(12), 4475–4487.
- Gonzalez-Sandoval, A. y Gasser, S. M. **2016**. On TADs and LADs: Spatial Control Over Gene Expression. *Trends in Genetics*. 32(8): 485–495.
- Gordon, S. G. y Rog, O. **2023**. Building the synaptonemal complex: Molecular interactions between the axis and the central region. *PLoS Genet.* 19(7): e1010822.
- Grasser, F.; Neusser, M.; Fiegler, H.; Thormeyer, T.; Cremer, M.; Carter, N. P.; Cremer, T.; Müller, S. **2008**. Replication-timing-correlated spatial chromatin arrangements in cancer and in primate interphase nuclei. *J. Cell Science*. 121(11): 1876–1886.
- Groves, C.P., **2005**. Order Primates. En *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*, 3rd Edition, Johns Hopkins University Press, Baltimore, 111–184.
- Guelen, L., Pagie, L., Brasset, E. et al. **2008**. Domain organization of human chromosomes revealed by mapping

- of nuclear lamina interactions. *Nature*. 453: 948–951.
- Hardison, R.C.; Roskin, K.M.; Yang, S., et al. **2003**. Covariation in frequencies of substitution, deletion, transposition, and recombination during eutherian evolution. *Genome Res.* 13: 13–26.
- Hayes, H.; Dutrillaux, B.; Popescu, P.; Bourgeois, C. **2000**. Chromosome Banding Techniques. En Popescu, P., Hayes, H., Dutrillaux, B. (eds) *Techniques in Animal Cytogenetics. Principles and Practice*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Heitz, E. **1928**. Das Heterochromatin der Moose. *Jarbuch Wiss. Bot.* 69: 762–780.
- Hershkovitz, P. **1949**. Mammals of northern Colombia. Preliminary report No. 4: monkeys (Primates), with taxonomic revisions of some forms. *Proceedings of the United States National Museum*. 98: 323–427.
- Hershkovitz, P. **1983**. Two New Species of Night Monkeys, Genus *Aotus* (Cebidae, Platyrrhini): A Preliminary Report on *Aotus* Taxonomy. *Am. J. Primatol.* 4: 209–243.
- Holmquist, G.P. **1989**. Evolution of chromosome bands: molecular ecology of noncoding DNA. *J. Mol. Evol.* 28: 469–486.
- Holmquist, G.P. **1992**. Chromosome bands, their chromatin flavors, and their functional features. *Am. J. Hum. Genet.* 51(1): 17–37.
- Hughes, S.; Zelus, D.; Mouchiroud, D. **1999**. Warm-blooded isochore structure in Nile crocodile and turtle. *Mol. Biol. Evol.* 16: 1521–1557.
- Jabbari, K. y Bernardi, G. **2017**. An isochore framework underlies chromatin architecture. *PLoS One*. 12(1): e0168023.
- Kehrer-Sawatzki, H.; Cooper, D.N. **2008**. Molecular mechanisms of chromosomal rearrangement during primate evolution. *Chromosome Res.* 16: 41–56.
- Kellogg, R., Goldman, E.A., **1944**. Review of the spider monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 1–45.
- Kuraku, S.; Ishijima, J.; Nishida-Umehara, C.; Agata, K.; Kuratani, S.; Matsuda, Y. **2006**. cDNA-based gene mapping and GC3 profiling in the soft-shelled turtle suggest a chromosomal size-dependent GC bias shared by sauropsids. *Chromosome Res.* 14: 187–202.
- Lamolle, G. y Musto, H. **2018**. Genoma Humano. Aspectos estructurales. *Anales de La Facultad de Medicina*, 5(2): 12–28.
- Lander, E.S.; Linton, L.M.; Birren, B.; Nusbaum, C. Zody, M.C., et al. **2001**. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 409: 860–921.
- Lederberg, J. y McCray, A.T. **2001**. ‘Ome sweet ’omics—a genealogical treasury of words. *Scientist*. 15(7): 8.
- Leseqque, Y.; Mouchiroud, D.; Duret, L. **2013**. GC-biased gene conversion in yeast is specifically associated with crossovers: molecular mechanisms and evolutionary significance. *Mol. Biol. Evol.* 30: 1409–1419.
- Lieberman-Aiden, E.; van Berkum, N. L.; Williams, L.; Imakaev, M.; Ragoczy, T.; Telling, A.; Amit, I.; Lajoie, B. R.; Sabo, P. J.; Dorschner, M. O.; Sandstrom, R.; Bernstein, B.; et al. **2009**. Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*. 326(5950): 289–293.
- López-Flores, I. y Garrido-Ramos, M.A. **2012**. The repetitive DNA content of eukaryotic genomes. *Genome Dyn.* 7: 1–28.
- Lower, S.S.; McGurk, M.P.; Clark, A.G.; Barbash, D.A. **2018**. Satellite DNA evolution: Old ideas, new approaches. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 49: 70–78.
- Lynch Alfaro, J.W., Silva, J.D.E.S.E., Jr, Rylands, A.B., **2012**. How different are robust and gracile capuchin monkeys? An argument for the use of *Sapajus* and *Cebus*. *Am. J. Primatol.* 74: 273–286.
- Ma, N.S.F., Elliott, M.W., Morgan, L., Miller, A., Jones, T.C., **1976**. Translocation of Y chromosome to an autosome in the Bolivian owl monkey, *Aotus*. *Am. J. Phys. Anthropol.* 45: 191–201.
- Ma, N.S.F. **1981**. Chromosome Evolution in the Owl Monkey, *Aotus*. *Am. J. Phys. Anthropol.* 54 (3): 293–303.
- Macaya, G.; Thiery, J.P.; Bernardi, G. **1976**. An approach to the organization of eukaryotic genomes at a macromolecular level. *J. Mol. Biol.* 108: 237–254.

- Maeshima, K.; Ide, S.; Babokhov, M. **2019**. Dynamic chromatin organization without the 30-nm fiber. *Curr. Opin. Cell Biol.* 58: 95–104.
- Marques-Bonet, T.; Ryder, O.A.; Eichler, E.E. **2009**. Sequencing primate genomes: What have we learned? *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 10: 355–386.
- Martins-Junior, A.M.G.; Sampaio, I.; Silva, A.; Boubli, J.; Hrbek, T.; Farias, I.; Ruiz-García, M.; Schneider, H. **2022**. Out of the shadows: Multilocus systematics and biogeography of night monkeys suggest a Central Amazonian origin and a very recent widespread southeastward expansion in South America. *Mol. Phylogenet. Evol.* 170: 107426.
- Matayoshi, T.; Seuáñez, H.N.; Nasazzi, N. **1987**. Heterochromatic variation in *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini) of different geographic regions. *Cytogen. and Cell Gen.* 44: 158-162.
- Medeiros, M.A.; Barros, R.M.S.; Pieczarka, J.C.; Nagamachi, C.Y.; Ponsà, M.; García, M.; García, F.; Egozcue, J. **1997**. Radiation and Speciation of Spider Monkeys, Genus *Ateles*, from the Cytogenetic viewpoint. *Am. J. Primatol.* 42: 167–178.
- Menezes, A.N.; Bonvicino, C.R.; Seuáñez, H.N. **2010**. Identification, classification and evolution of Owl Monkeys (*Aotus*, Illiger 1811). *BMC Evol. Biol.* 10(1): 248.
- Meštrović, N.; Plohl, M.; Mravinac, B.; Ugarković, D. **1998**. Evolution of satellite DNAs from the genus *Palorus* experimental evidence for the “library” hypothesis. *Mol. Biol. Evol.*, 15: 1062–1068.
- Meuleman, W.; Peric-Hupkes, D.; Kind, J.; Beaudry, J. B.; Pagie, L.; Kellis, M.; Reinders, M.; Wessels, L.; van Steensel, B. **2013**. Constitutive nuclear lamina-genome interactions are highly conserved and associated with A/T-rich sequence. *Genome Res.* 23(2): 270–280.
- Meunier, J. y Duret, L., **2004**. Recombination drives the evolution of GC-content in the human genome. *Mol. Biol. Evol.* 21: 984–990.
- Mikkelsen, T.S.; Wakefield, M.J.; Aken, B.; Amemiya, C.T.; Chang, J.L.; Duke, S.; et al. **2007**. Genome of the marsupial *Monodelphis domestica* reveals innovation in non-coding sequences. *Nature.* 447: 167–177.
- Milozzi, C.; Steinberg, E.R.; Mudry, M.D. **2012**. Uso de análisis genéticos y comportamentales en el manejo en cautiverio del mono de noche *Aotus azarae* (Platyrrhini: Cebidae). *InVet.* 14(1): 9-18.
- Misteli, T. **2005**. Concepts in nuclear architecture. *BioEssays.* 27(5): 477-487.
- Misteli, T. **2020**. The Self-Organizing Genome: Principles of Genome Architecture and Function. *Cell.* 183(1): 28-45.
- Montoya-Burgos, J.I.; Boursot, P.; Galtier, N., **2003**. Recombination explains isochores in mammalian genomes. *Trends. Genet.* 19: 128–130.
- Mora, L.; Sánchez, I.; Garcia, M.; Ponsà, M. **2006**. Chromosome territory positioning of conserved homologous chromosomes in different primate species. *Chromosoma.* 115: 367–375.
- Morales-Jimenez, A.L.; Disotell, T.; Di Fiore, A. **2015**. Revisiting the phylogenetic relationships, biogeography, and taxonomy of spider monkeys (genus *Ateles*) in light of new molecular data. *Mol. Phylogenet. Evol.* 82 Pt B, 467–483.
- Morescalchi, M.; Schempp, W.; Consigliere, S.; Bigoni, F.; Wienberg, J.; Stanyon, R., **1997**. Mapping chromosomal homology between humans and the black-handed spider monkey by fluorescence in situ hybridization. *Chromosome Res.* 5: 527–536.
- Mouchiroud, D.; Fichant, G.; Bernardi, G. **1987**. Compositional compartmentalization and gene composition in the genome of vertebrates. *J. Mol. Evol.* 26: 198–204.
- Mouchiroud, D.; D’Onofrio, G.; Aïssani, B.; Macaya, G.; Gautier, C.; Bernardi, G. **1991**. The distribution of genes in the human genome. *Gene.* 100: 181–187.
- Mudry de Pargament, M.D.; Colillas, O. J.; Salum, S.B. **1984**. The *Aotus* from northern Argentina. *Primates.* 25(4): 530-537.
- Mudry de Pargament, M.M. y Slavutsky, I.R. **1987**. Banding Patterns of the Chromosomes of *Cebus apella*:

- Comparative Studies Between Specimens from Paraguay and Argentina. *Primates*. 28: 111-117.
- Mudry, M.D. **1990**. Cytogenetic variability within and across populations of *Cebus apella* in Argentina. *Folia Primatologica* 54: 206-16.
- Mudry, M.D.; Rahn, I.M.; Solaril, A.J. **2001**. Meiosis and Chromosome Painting of Sex Chromosome Systems in Ceboidea. *Am. J. Primatol.* 54 65–78.
- Mudry, M.D.; Nieves, M.; Steinberg, E.R. **2015**. Cytogenetics of howler monkeys. In *Howler Monkeys: Adaptive Radiation, Systematics, and Morphology* (pp. 85–105). Springer New York.
- Müller, S. y Wienberg, J. **2001**. “Bar-coding” primate chromosomes: molecular cytogenetic screening for the ancestral hominoid karyotype. *Human Gen.* 109(1): 85–94.
- Müller, S. **2006**. Primate Chromosome Evolution. En *Genomic Disorders* (James R. Lupski y Pawel Stankiewicz, pp. 133-152). Totowa, NJ: Humana Press.
- Nachman, M.W. y Crowell, S.L. **2000**. Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. *Genetics*. 156(1): 297-304.
- Nakatani, Y.; Takeda, H.; Kohara, Y.; Morishita, S. **2007**. Reconstruction of the vertebrate ancestral genome reveals dynamic genome reorganization in early vertebrates. *Genome Res.* 17: 1254–1265.
- Nekrutenko, A; Li, W.H. **2001**. Assessment of compositional heterogeneity within and between eukaryotic genomes. *Genome Res.* 10: 1986–1995.
- Neusser, M.; Stanyon, R.; Bigoni, F.; Wienberg, J.; Müller, S. **2001**. Molecular cytotaxonomy of New World monkeys (Platyrrhini) - comparative analysis of five species by multi-color chromosome painting gives evidence for a classification of *Callimico goeldii* within the family of Callitrichidae. *Cytogen. and Cell Genet.* 94(3–4): 206–215.
- Neusser, M.; Schubel, V.; Koch, A.; Cremer, T.; Muller, S. **2007**. Evolutionarily conserved, cell type and species-specific higher order chromatin arrangements in interphase nuclei of primates. *Chromosoma*. 116: 307–320.
- Nieves, M.; Mühlmann, M.; Dolores Mudry, M. **2005 a**. 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.; Ascunce, M.S.; Rahn, M.I.; Mudry, M.D. **2005 b**. Phylogenetic relationships among some *Ateles* species: the use of chromosomic and molecular characters. *Primates*. 46: 155–164.
- 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: 111–117.
- Nieves, M.; Mudry, M.D. **2016**. Diversity of *Cebus* species from the southern distribution of the genus. En *Phylogeny, Molecular Population Genetics, Evolutionary Biology and Conservation of the Neotropical Primates* (Ruiz-García, M. y Shostell, J.M., pp. 115-134). Nova Science Publishers.
- Nieves, M.; Fantini, L.; Mudry, M.D. **2018**. What do we know about the heterochromatin of capuchin monkeys (*Cebus*: Platyrrhini)? *Biol. J. of the Linnean Society.* 123: 113–124.
- Nieves, M., et al. **2019 a**. *Sapajus cay*. En *Categorización 2019 de los mamíferos de Argentina según su riesgo de extinción*. Lista Roja de los mamíferos de Argentina. Versión digital (eds SAYDS–SAREM).
- Nieves, M.; Fourastié F.; Steinberg E.R.; Bressa M.J.; Mudry M.D. **2019 b**. Composición y estructura cromatínica del mono capuchino *Sapajus nigritus* (Cebidae, Platyrrhini). *BAG. J. Basic Appl. Genet.* 30(1): 81.
- Oota, S.; Kawamura, K.; Kawai, Y.; Saitou, N. **2010**. A new framework for studying the isochore evolution: estimation of the equilibrium GC content based on the temporal mutation rate model. *Genome Biol. Evol.* 2: 558–571.
- Oota, S. **2017**. GC Content Heterogeneity. In *Evolution of the Human Genome I* (pp. 61–92).
- Pavliček, A.; Paces, J.; Clay, O.; Bernardi, G. **2002**. A compact view of isochores in the draft human genome sequence. *FEBS Letters.* 511: 165–169.

- Perelman, P.; Johnson, W.E.; Roos, C.; Seuánez, H.N.; Horvath, J.E. et al. **2011**. A Molecular Phylogeny of Living Primates. *PLoS Genet.* 7(3): e1001342.
- Pérez, S.I.; Tejedor, M.F.; Novo, N.M.; Aristide, L. **2013**. Divergence Times and the Evolutionary Radiation of New World Monkeys (Platyrrhini, Primates): An Analysis of Fossil and Molecular Data. *PLoS One.* 8(6):e68029.
- Pessia, E.; Popa, A.; Mousset, S.; Rezvoy, C.; Duret, L.; Marais, G.A. **2012**. Evidence for widespread GC-biased gene conversion in eukaryotes. *Genome Biol. Evol.* 4: 675–682.
- Pieczarka, J.C. y Nagamachi, C.Y. **1988**. Cytogenetic studies of *Aotus* from Eastern Amazonia. Y/Autosome rearrangement. *Am. J. Primatol.* 14(3): 255–263.
- Pieczarka, J.C.; Nagamachi, C.Y.; Barros, R.M.S. **1989**. The karyotype of *Ateles paniscus paniscus* (Cebidae, Primates):  $2n = 32$ . *Revista brasileira de genética.* 12: 543–551.
- Pieczarka, J.C.; de Souza Barros, R.M.; de Faria, F.M.; Nagamachi, C.Y. **1993**. *Aotus* from the southwestern Amazon region is geographically and chromosomally intermediate between *A. azarae boliviensis* and *A. infulatus*. *Primates.* 34(2): 197–204.
- Plohl, M.; Meštrović, N.; Mravinac, B. **2012**. Satellite DNA evolution. *Genome Dyn.* 7: 126–152.
- Poggio, M.G.; Bressa, M.J.; Papeschi, A.G. **2011**. Male meiosis, heterochromatin characterization and chromosomal location of rDNA in *Microtomus lunifer* (Berg, 1900) (Hemiptera: Reduviidae: Hammacerinae). *Comp. Cytogen.* 5(1): 1–22.
- Ponsà, M.; García, M.; Borell, A.; Garcia, F.; Egozcue, J.; Gorostiaga, M.A.; Delprat, A.; Mudry, M. **1995**. Heterochromatin and cytogenetic polymorphisms in *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini). *Am. J. Primatol.* 37: 325–331.
- Prakhongcheep, O.; Chairprasertsri, N.; Terada, S.; Hirai, Y.; Srikulnath, K.; Hirai, H.; Koga, A. **2013**. Heterochromatin blocks constituting the entire short arms of acrocentric chromosomes of Azara's owl monkey: Formation processes inferred from chromosomal locations. *DNA Res.* 20: 461–470.
- Ream, R.A.; Johns, G.C.; Somero, G.N. **2003**. Base compositions of genes encoding alpha-actin and lactate dehydrogenase-A from differently adapted vertebrates show no temperature-adaptive variation in G+ C content. *Mol. Biol. Evol.* 20: 105–110.
- Robinson, T.J. **2001**. The comparative cytogenetics of African small Mammals in perspective: Status, trends, and bibliography. En *Proceedings of the African Small Mammals Symposium*, 185-214. París: IRD Editions.
- Rogers, J. y Gibbs, R.A. **2014**. Comparative primate genomics: Emerging patterns of genome content and dynamics. *Nat. Rev. Genet.* 15(5): 347-359.
- Rosenberger, A.L. y Kearney, M. **1995**. The power of fossils, the pitfalls of parsimony – platyrrhine phylogeny. *Am. J. of Phys. Anthrop.* 38(S20): 130.
- Rosenberger, A.L. **2020**. *New World Monkeys: The Evolutionary Odyssey*. Princeton University Press
- Rowe, N.; Myers, M. **2017**. All The World's Primates. En *The International Encyclopedia of Primatology*, 1-4. John Wiley & Sons, Ltd.
- Rowley, M.J. y Corces, V.G. **2018**. Organizational principles of 3D genome architecture. *Nat. Rev. Genet.* 19: 789–800.

- Ruiz-García, M.; Castillo, M.I.; Lichilín-Ortiz, N.; Pinedo-Castro, M. **2012**. Molecular Relationships and Classification of Several Tufted Capuchin Lineages (*Cebus apella*, *Cebus xanthosternos* and *Cebus nigrurus*, Cebidae), by Means of Mitochondrial Cytochrome Oxidase II Gene Sequences. *Folia Primatologica*. 83: 100–125.
- Ruiz-García, M.; Rodríguez Suárez, G.; Adolfo Gutiérrez-Espeleta, G. **2016**. Historical Genetic demography and some insights into the systematics of *Ateles* (Atelidae, Primates) by means of diverse mitochondrial genes. En *Phylogeny, Molecular population Genetics, Evolutionary Biology and Conservation of the Neotropical Primates*. Nova Science Publisher.
- Ruiz-Herrera, A.; García, F.; Giulotto, E.; Attolini, C.; Egozcue, J.; Ponsà, M.; Garcia, M. **2005**. Evolutionary breakpoints are co-localized with fragile sites and intrachromosomal telomeric sequences in primates. *Cytogen. Genome Res.* 108(1–3): 234–247.
- Ruiz-Ruano, F.J.; López-León, M.D.; Cabrero, J.; Camacho, J.P.M. **2016**. High-throughput analysis of the satellitome illuminates satellite DNA evolution. *Sci Rep.* 6: 28333.
- Ryba, T.; Hiratani, I.; Lu, J.; Itoh, M.; Kulik, M.; Zhang, J.; Schulz, T.C.; Robins, A.J.; Dalton, S.; Gilbert, D.M. **2010**. Evolutionarily conserved replication timing profiles predict long-range chromatin interactions and distinguish closely related cell types. *Genome Res.* 20(6): 761–770.
- Saccone, S.; De Sario, A.; Wiegant, J.; Raap, A. K.; Della Valle, G.; Bernardi, G. **1993**. Correlations between isochores and chromosomal bands in the human genome (in situ hybridization/chromosome banding/compositional map). *PNAS.* 90: 11929–11933.
- Saccone, S. y Bernardi, G. **2001**. Human chromosomal banding by in situ hybridization of isochores. *Methods in Cell Science.* 23: 7-15.
- Saccone, S.; Federico, C.; Bernardi, G. **2002**. Localization of the gene-richest and the gene-poorest isochores in the interphase nuclei of mammals and birds. *Gene.* 300(1-2): 169-178.
- Schneider, R. y Grosschedl, R. **2007**. Dynamics and interplay of nuclear architecture, genome organization, and gene expression. *Genes Dev.* 21(23): 3027-3043.
- Schneider, H. y Sampaio, I. **2015**. The systematics and evolution of New World primates – A review. *Mol. Phyl. and Evol.* 82 (B): 348–357.
- Seabright, M. **1971**. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet.* 2: 971-972.
- Seuáñez, H.N. **1979**. The phylogeny of human chromosomes. Heidelberg/New York: Springer Verlag. 149 p.
- Seuáñez, H.N.; Bonvicino, C.R.; Moreira, M.A.M. **2005**. The primates of the Neotropics: genomes and chromosomes. *Cytogenet. Genome Res.* 108: 38–46.
- Shopland, L.S.; Lynch, C.R.; Peterson, K.A.; Thornton, K.; Kepper, N.; Hase, J.V.; Stein, S.; Vincent, S.; Molloy, K.R.; Kreth, G.; et al. **2006**. Folding and organization of a contiguous chromosome region according to the gene distribution pattern in primary genomic sequence. *J. Cell Biol.* 174: 27–38.
- Silvestro, D.; Tejedor, M.; Serrano-Serrano, M.; Loiseau, O.; Rossier, V.; Rolland, J.; Zizka, A.; Antonelli, A.; Salamin, N. **2019**. Early Arrival and Climatically-Linked Geographic Expansion of New World Monkeys from Tiny African Ancestors. *System. Biol.* 68 (1): 78–92.
- Sineo, L.; Stanyon, R. **2006**. Primate Cytogenetics and Comparative Genomics. Firenze University Press.
- Sizova, T. V. y Karpova, O. I. **2016**. The length of chromatin loops in meiotic prophase I of warm-blooded vertebrates depends on the DNA compositional organization. *Russian J. of Genetics.* 52(11): 1124–1130.
- Smith, N.G. y Eyre-Walker, A. **2002**. The compositional evolution of the murid genome. *J. Mol. Evol.* 55: 197– 201.
- Spencer, C.C.; Deloukas, P.; Hunt, S.; Mullikin, J. Myers, S. et al. **2006**. The influence of recombination on human genetic diversity. *PLoS Genet.* 2:e148
- Stack, S.M. y Anderson, L.K. **2001**. A model for chromosome structure during the mitotic and meiotic cell cycles. *Chromosome Res.* 9: 175–198.
- Stamatoyannopoulos, J.A.; Adzhubei, I.; Thurman, R.E.; Kryukov, G.V.; Mirkin, S.M.; Sunyaev, S.R. **2009**. Human



- mutation rate associated with DNA replication timing. *Nat Genet.* 41(4): 393-395.
- 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: 17-39.
- Steinberg, E.R. **2011**. Determinación sexual en primates neotropicales: el caso de los monos aulladores. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
- Steinberg, E.R.; Nieves, M.; Fantini, L.; Mudry, M.D. **2014**. Primates karyological diagnosis and management programs applications. *J. of Med. Primatol.* 43: 455-467.
- Steinberg, E.R., Bressa M.J., Mudry M.D. **2018**. Chromatin Nucleotide Content, Distribution, and Location in Ceboidea (Primates). En *International Congress of Genetics*. Foz do Iguacu, PR, Brasil: International Genetics Federation (IGF); septiembre 2018.
- Steinberg, E.R., Maladesky, L., Fortes, V.B., Cortés-Ortiz, L., Canales-Espinosa, D., Bressa M.J., Mudry M.D. **2020**. 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.
- Sueoka, N. **1993**. Directional mutation pressure, mutator mutations, and dynamics of molecular evolution. *J. Mol. Evol.* 37(2): 137-53.
- Sumner, A.T.; Evans H.J.; Buckland R.A. **1971**. New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nat New Biol.* 232(27): 31-2.
- Sumner, A.T. **1998**. The mitotic chromosome. *Advances in Genome Biol.* 5A: 211-261. Sumner, A.T. **2003**. *Chromosomes, Organization and Function*. Blackwell publishing.
- Surtees, J.A.; Argueso, J.L.; Alani, E. **2004**. Mismatch repair proteins: key regulators of genetic recombination. *Cytogenet. Genome Res.* 107: 146-59.
- Tajbakhsh, J.; Luz, H.; Bornfleth, H.; Lampel, S.; Cremer, C.; Lichter, P. **2000**. Spatial distribution of GC- and AT-rich DNA sequences within human chromosome territories. *Exp. Cell Res.* 255(2): 229-237.
- Tanabe, H.; Muller, S.; Neusser, M.; von Hase, J.; Calcagno, E., et al. **2002**. Evolutionary conservation of chromosome territory arrangements in cell nuclei from higher primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99: 4424-4429.
- Tanabe, H.; Küpper, K.; Ishida, T.; Neusser, M.; Mizusawa, H. **2005**. Inter and intra-specific gene-density- correlated radial chromosome territory arrangements are conserved in Old World monkeys. *Cytogen. Genome Res.* 108: 255-261.
- Thiery, J.P.; Macaya, G.; Bernardi G. **1976**. An analysis of eukaryotic genomes by density gradient centrifugation. *J. Mol. Biol.* 108: 219-235.
- Torres, O.M.; Enciso, S.; Ruiz, F.; Silva, E.; Yunis, I. **1998**. Chromosome diversity of the genus *Aotus* from Colombia. *Am. J. Primatol.* 44: 255-275.
- Treangen, T.J.; Salzberg, S.L. **2012**. Repetitive DNA and next-generation sequencing: Computational challenges and solutions. *Nat. Rev. Genet.* 13: 36-46.
- Varriale, A. y Bernardi, G. **2010**. Distribution of DNA methylation, CpGs, and CpG islands in human isochores. *Genomics*, 95(1), 25-28.
- Vinogradov, A. E. **2003**. Isochores and tissue-specificity. *Nucleic Acids Res.* 31: 5212-5220.
- Warren, W.C.; Hillier, L.W.; Marshall Graves, J.A.; Birney, E.; Ponting, C.P.; Grutzner, F.; Belov, K.; Miller, W.; Clarke, L.; Chinwalla, A.T. **2008**. Genome analysis of the platypus reveals unique signatures of evolution. *Nature.* 453: 175-183.
- Webber, C.; Ponting, C.P. **2005**. Hotspots of mutation and breakage in dog and human chromosomes. *Genome Res.* 15: 1787-1797.
- Webster, M.T.; Smith, N.G.; Ellegren, H. **2003**. Compositional evolution of noncoding DNA in the human and

- chimpanzee genomes. *Mol. Biol. Evol.* 20: 278–286.
- Wienberg, J.; Stanyon, R. **1997**. Comparative painting of mammalian chromosomes. *Curr. Op. in Genet. & Develop.* 7: 784-791.
- Wienberg, J.; Stanyon, R. **1998**. Comparative Chromosome Painting of Primate Genomes. *ILAR Journal*. 39: 77– 91.
- Wienberg, J. **2005**. Fluorescence in situ hybridization to chromosomes as a tool to understand human and primate genome evolution. *Cytogen. and Genome Res.* 108 (1-3): 139-160.
- Wildman D.E.; Jameson N.M.; Opazo J.C.; Yi S.V. **2009**. A fully resolved genus level phylogeny of neotropical primates (Platyrrhini). *Mol. Phylog. Evol.* 53: 694–702.
- Wilson, D.E. y Reeder, D.M. **2005**. *Mammal Species of the World*. JHU Press
- Winkler, H. **1920**. *Verbreitung und Ursache der Parthenogenesis im Pflanzen und Tierreiche*. Jena: Verlag Fischer.
- Wolfe, K. **2003**. Evolutionary biology: Speciation reversal. *Nature*. 422(6927): 25-26.
- Wright, P.C. **1994**. *The behavior and ecology of the owl monkey*. En *Aotus: The owl monkey*, 97-112. Academic Press.
- Zerial, M.; Salinas, J.; Filipski, J.; Bernardi, G. **1986**. Gene distribution and nucleotide sequence organization in the human genome. *Eur. J. Biochem.* 160: 479-485.
- Zoubak, S.; Clay, O.; Bernardi, G. **1996**. The gene distribution of the human genome. *Gene* 174: 95-102.

## Anexo Soluciones

---

## Bandas G por Tinción de Wright

- Colorante de Wright:

Colocar en agitador un vaso de precipitado con 100 ml de metanol y agregar lentamente 0,25 gr de colorante de Wright (Sigma W3000). Dejar agitando durante media hora. Filtrar con papel de filtro y guardar la solución resultante en una botella color caramelo cubierta con aluminio. Incubar por tres días a 37° C, luego se conserva a temperatura ambiente hasta tres meses.

- Solución 2xSSC:

Agregar 17,53 gr de cloruro de sodio (ClNa) y 8,82 gr de citrato de sodio dihidrato en 1 litro de agua bidestilada.

- *Buffer* Sorensen:

Preparar por separado las Soluciones A y B del *buffer* de la siguiente manera:

Sol. A:  $\text{PO}_4\text{KH}_2$  M/15 4,53 gr/500 ml agua bidestilada.

Sol. B:  $\text{PO}_4\text{Na}_2\text{H}$  M/15 9,47 gr/500 ml agua bidestilada.

Preparar el *buffer* Sorensen con dos partes de la solución A y una parte de la solución B.

- Solución colorante

Preparar al momento de usar: 3 partes de *buffer* Sorensen y 1 parte de colorante de Wright. Para un volumen final de 40 ml: 20 ml de solución A, 10 ml de solución B y 10 ml de colorante de Wright.

## Bandas G por Tripsina en frío

- Solución de Tripsina 1%

Colocar 1 gr de tripsina (Difco 1:250) en 100 ml de agua bidestilada. Agitar la solución durante 2 horas. Filtrar con papel de filtro y guardar en freezer (-20°C) para su conservación, fraccionada en alícuotas de 10 ml.

- Solución de Tripsina 0,05% en PBS sin  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$

Diluir 2 ml de Tripsina 1% en 38 ml de PBS sin  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  para un volumen final de 40ml (Koplin).

- PBS sin  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$

ClNa	8 gr
ClK	0,2 gr
PO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> H (anhidro)	1,15 gr
PO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub>	0,2 gr
Agua bidestilada	1 L

## Bandas C

- ClH 0,2 N

Colocar 1,6 ml de CHl en 100 ml de agua corriente. Mantener a temperatura ambiente hasta por 2 semanas.

- Solución sobresaturada de (OH)<sub>2</sub>Ba 5%

Colocar 2,5 gr de (OH)<sub>2</sub>Ba en 50 ml de agua corriente, mantener saturado. Preparar nuevamente cada vez que se vaya a utilizar.

## Bandas fluorescentes (DAPI-CMA<sub>3</sub>)

- Buffer Mc Ilvaine

- Solución A:

0,1 M ácido cítrico monohidratado (PM= 210,1): 2,101 g en 100ml de agua bidestilada

- Solución B:

28,4 g PO<sub>4</sub>HNa<sub>2</sub> en 1 L de agua bidestilada

Al momento de usar mezclar, para armar 200 ml de buffer Mc Ilvaine, 35,2 ml de Solución A y 164,8 ml de Solución B.

- DAPI (4'6'-diamidino-2-phenylindole; Fluka, Sigma-Aldrich, Buchs, Schweiz)

- Solución madre [0,2 mg/ml; 200 µg/ml] 2 mg de DAPI en 1 ml de agua bidestilada
- Solución de trabajo [0,001 mg/ml; 1 µg/ml]

25 µl solución stock + 4,975 ml de Buffer Mc Ilvane.

Conservar ambas soluciones en freezer a -20°C y siempre en oscuridad.

- Cromomicina A<sub>3</sub>

- Solución colorante [0,6 mg/ml]

- 10 mg de CMA<sub>3</sub> + 10 ml buffer B<sup>4</sup> diluido (1:1) (buffer B<sup>4</sup> : H<sub>2</sub>O bidestilada)

- Conservar en Erlenmeyer pequeño, cubierto con papel aluminio. Agregar el buffer B<sup>4</sup> con cuidado, sin agitar ni burbujear, y guardar en heladera evitando el movimiento brusco de la solución. Dejar estacionar al menos una semana antes de usar.

- Buffer B<sup>4</sup>

- Colocar 10 ml Buffer Mc Ilvaine + 0,1 ml MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1M (PM: 202,80). Para preparar este último, colocar 5,07 g MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1M en 25 ml de agua destilada. Calentar durante 2-3 minutos hasta que hierva. Conservar a 4°C.

- Pretratamiento con CIH

- PBS

- Para 500 ml colocar 4,38 gr de ClNa 0,15 M (PM: 58,44) + 3 gr PO<sub>4</sub>NaH<sub>2</sub> anhidro (PM: 119,98).

1. Pasar cada portaobjetos 30" en etanol 70%, luego 30" en etanol 80% y finalmente 30" en etanol 100%. Dejar secar.

2. Incubar los portaobjetos en 10mM CIH (824 µl CIH en 99,176 ml de agua destilada) por 10' en baño en agitación a 37° C.

3. Remover y lavar en PBS.

4. Proceder a teñir con DAPI y CMA<sub>3</sub>.

# Anexo Resultados

---

Tabla 12. Comparación de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> entre *Alouatta caraya* (ACA), *Alouatta guariba clamitans* (AGUc), *Alouatta pigra* (API) y *Ateles chamek* (ACH). † de pter a qter. En rojo, regiones que se conservan en cantidad y posición de bandas. En naranja, regiones que se conservan en cantidad de bandas pero no en la posición de éstas.

HSA †	ACA	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	AGUc	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	API	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	ACH	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +
1p12-p21	1p		2q <sub>ter</sub>	T	3p <sub>prox</sub>	T	2q <sub>int</sub>	
		I					7p	P
							4q <sub>ter</sub>	T
5q <sub>prox</sub> -q31.2	1q <sub>prox</sub>	P	13q	P			5p - 5q <sub>int</sub>	P
				T	13q	P	9q <sub>int</sub>	
7p22;q11; q21	1q <sub>int</sub>		1q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub>			I	9q <sub>ter</sub>	T
						T		
5q31.3-q <sub>ter</sub>		I		I	24q	I		
7p22;q11; q21	1q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub>	I		I		I	9q <sub>ter</sub>	
		T		T				T
6	2p		2p	T	2p	T	7p - 7q <sub>int</sub>	P
		I						P
	2q	P	2q <sub>prox</sub> -q <sub>int</sub>	P	2q	P	10q <sub>int</sub> - 10q <sub>ter</sub>	T
				I				
22q	3p	T	9p	--	9	Brazo completo	3p	T
		I						
9q	3q	P	3p	P	1q <sub>prox</sub>		1p	T
		I						
		T		T				
16q	4p	T	10q	--			6p	
		P						
4p <sub>ter</sub> -q22	4q		1q <sub>prox</sub>		1p			
		T		T		T		
16p	5p	alternadas	9q		6p	T	1q <sub>int</sub>	I
10q				P			1q <sub>int</sub>	I
16p	5q	alternadas	20		6q	P	1q <sub>ter</sub>	T
10q						I		
8p	6p	alternadas	4q <sub>prox</sub> -p <sub>ter</sub>		5p	T		



Tabla 12 (continuación). Comparación de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> entre *Alouatta caraya* (ACA), *Alouatta guariba clamitans* (AGUc), *Alouatta pigra* (API) y *Ateles chamek* (ACH). † de pter a qter. En rojo, regiones que se conservan en cantidad y posición de bandas. En naranja, regiones que se conservan en cantidad de bandas pero no en la posición de éstas.

HSA †	ACA	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	AGUc	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	API	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	ACH	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +
18	6q	alternadas		P	5q	P	1q <sub>prox</sub>	
						I		
				T		T		
15q11 q13	7p (X <sub>2</sub> p)		7p (X <sub>2</sub> p)		26q		3q <sub>prox</sub>	
15q25-q <sub>ter</sub>		I		I				
3p24 p21	7q (X <sub>2</sub> q)	P	7q (X <sub>2</sub> q)		19q	P	3q <sub>int</sub>	I
								I
3q13 q26		I		I		I	4p	
						T		
17	8p	T	4q <sub>int</sub> -q <sub>ter</sub>				14p	T
	8q	I					14q	
		I		I	27q	P		
		T		T				
4q31.3-q <sub>ter</sub>	9p	--	11p	P	8p			
	9q	--	11q	P	8q			
19	10p	brazo	12p	brazo	7p	brazo	8p	P
	10q	brazo	12q	brazo	7q	brazo		
2q13-q <sub>ter</sub>	11q	I	5p	--	11q	P	3q <sub>ter</sub>	T
							13q	
20		I	17	P			8q	P
		I				T		T
		T						
12	12q	P	3q	I	10	P	2p	T
		I		I		I	16	
		T		T		T		
11	13q	alternadas	5q				11p	T
				I	1q <sub>ter</sub>	I	11q	T
				T		T		
7 q11 q21	14q	P	6q	P	17q (X <sub>2</sub> )	P	9q <sub>ter</sub>	T

Tabla 12 (continuación). Comparación de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> entre *Alouatta caraya* (ACA), *Alouatta guariba clamitans* (AGUc), *Alouatta pigra* (API) y *Ateles chamek* (ACH). † de pter a qter. En rojo, regiones que se conservan en cantidad y posición de bandas. En naranja, regiones que se conservan en cantidad de bandas pero no en la posición de éstas.

HSA †	ACA	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	AGUc	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	API	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	ACH	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +
7q22-qter							4q <sub>prox</sub> - q <sub>int</sub>	I
		T		T		T		
3p <sub>ter</sub> p24	15q	alternadas	16q	P	16q		3q <sub>int</sub>	I
3p21-p12								I
3q13								
3q27-qter				T		T		
8q	16q	alternadas	19q	P	3q	P		
				I		I		
						T		
13	17q	P	14q		18		12	
		I		I				
				I		T		
		T						
2p <sub>ter</sub> - q12	18q		1p	--	15		6p <sub>ter</sub> - 6q <sub>int</sub>	I
		I				I		
		I				I		
		T						
1p21-p <sub>ter</sub>	19q	P	15q	P	20q	P	2q <sub>int</sub>	
		I					7p	P
		T		T		T	4q <sub>ter</sub>	T
15q21.3-q24	20q	P	2q <sub>ter</sub>		4q <sub>int</sub>		2q <sub>prox</sub>	P
							2q <sub>ter</sub>	
14		I				I	2q <sub>int</sub>	I
		T		T				
3p12	21q		18q	P	4p <sub>ter</sub>			
21q		I					10 p	
		I						
				T		T		

Tabla 12 (continuación). Comparación de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> entre *Alouatta caraya* (ACA), *Alouatta guariba clamitans* (AGUc), *Alouatta pigra* (API) y *Ateles chamek* (ACH). † de pter a qter. En rojo, regiones que se conservan en cantidad y posición de bandas. En naranja, regiones que se conservan en cantidad de bandas pero no en la posición de éstas.

HSA †	ACA	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	AGUc	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	API	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +	ACH	DAPI- /CMA <sub>3</sub> +
15q13- q21.2	22q		1q <sub>int</sub>		22q		2q <sub>prox</sub>	P
							2q <sub>ter</sub>	
1q23- q31.2		I				I		
				T		T		
1q32 q <sub>ter</sub>	23q		21q (X <sub>3</sub> q)	P	23q		6q <sub>ter</sub>	
		I				I		
		T						
1q21 q31	24	--	8q		25	P	7q <sub>ter</sub>	T
				T				
10p	25	--	22	P	28		13p	
						T		
X	X <sub>1</sub> p	T	X <sub>1</sub> p	T	X <sub>1</sub> p		Xp	
		I		I		I		I
	X <sub>1</sub> q		X <sub>1</sub> q		X <sub>1</sub> q		Xq	
		I		I		I		I
		I		I		I		
		T		T		T		T

Tabla 13. Comparación de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> entre *Cebus nigritus* (CNI) y *Aotus azarae* (AAZ). † de pter a qter. En rojo, regiones que se conservan en cantidad y posición de bandas. En naranja, regiones que se conservan en cantidad de bandas pero no en la posición de éstas.

HSA †	CNI	DAPI-/CMA <sub>3</sub> +	AAZ	DAPI-/CMA <sub>3</sub> +
7q <sub>ter</sub>	1p <sub>ter</sub>	T	2p	
5	1p	P		
	1q	P		
		I	1q <sub>int</sub> - q <sub>ter</sub>	2 I
		T		1 T
4	2p		17q	P, I
	2q	T	1p	T, I
6	3p		4p	
	3q	P	4q	C, 2 I
		T		T
16p /16 <sup>a</sup>	4p <sub>ter</sub>	T	3p <sub>ter</sub> - p <sub>int</sub>	T
10q / 10 <sup>a</sup>	4p - q <sub>int</sub>	P	3q	
	4q <sub>int</sub>	P		
	4q <sub>int</sub> - q <sub>ter</sub>	I		I
		I		I
		T		T
16q /16b	5p	T	22q <sub>int</sub> - q <sub>ter</sub>	I, T
2p+q <sub>prox</sub> /2b	5q	P	2q	1 C
		3 I		2 I
14q <sub>prox</sub>	6p <sub>ter</sub>		7q <sub>prox</sub> - q <sub>int</sub>	1 C, 1 P
15 (excepto q <sub>prox</sub> ) /15 <sup>a</sup>	6p <sub>int</sub> - q <sub>prox</sub>		7q <sub>int</sub>	
14	6q <sub>int</sub> - q <sub>ter</sub>	2 I	7q <sub>int</sub> - q <sub>ter</sub>	
		T		T
8p / 8 <sup>a</sup>	7p	I	12p	
18	7q	T	12q	C, I, T
8q / 8b	8p		15q	C, I
	8q	T		T
19	9p			
	9q	I	19q	P, I
		T		T

Tabla 13 (continuación). Comparación de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> entre *Cebus nigritus* (CNI) y *Aotus azarae* (AAZ). † de pter a qter. En rojo, regiones que se conservan en cantidad y posición de bandas. En naranja, regiones que se conservan en cantidad de bandas pero no en la posición de éstas.

HSA †	CNI	DAPI-/CMA <sub>3</sub> +	AAZ	DAPI-/CMA <sub>3</sub> +
20	10p	Brazo	13p	
	10q	Brazo	13q <sub>prox</sub> - q <sub>int</sub>	C, I
	11p			
3q <sub>prox</sub> / 3 <sup>a</sup>	11q <sub>prox</sub>		6p <sub>int</sub>	
21	11q <sub>ter</sub>	T	6p <sub>ter</sub> - p <sub>int</sub>	T
12	12p		8p	
	12q <sub>int</sub>	P	8q	C
	12q <sub>int</sub> - q <sub>ter</sub>	2 I		2 I
T		T		
2q (exc. q <sub>prox</sub> ) / 2 <sup>a</sup>	13p			
	13q	Bloque I	13q <sub>int</sub> - q <sub>ter</sub>	T
1p / 1 <sup>a</sup>	14p			
	14q	P Bloque T	10q	C, 2 I T
7 (exc. q <sub>ter</sub> ) / 7b	15p			
	15q	P	23q	C
		I		I
T	T			
11	16p			
	16q	P	14q	C
		I		I
T	T			
13	17p			
	17q <sub>int</sub>	P	11q	C
		I		2 I
17q	T	T		
3p	18p			
	18q	P	16q	P
		2 I		
T				

Tabla 13 (continuación). Comparación de bandas DAPI/CMA<sub>3</sub> entre *Cebus nigritus* (CNI) y *Aotus azarae* (AAZ). † de pter a qter. En rojo, regiones que se conservan en cantidad y posición de bandas. En naranja, regiones que se conservan en cantidad de bandas pero no en la posición de éstas.

HSA †	CNI	DAPI-/CMA <sub>3</sub> +	AAZ	DAPI-/CMA <sub>3</sub> +
9	19p		9p	Brazo
	19q	2 I	9q	C, 2 I, T
3q <sub>ter</sub> / 3b	20p			
	20q	P	18q	P
		I		
20q <sub>ter</sub>	T	T		
17	21p			
	21q	P	20q	P
		I		I
T		T		
1q / 1b	22p			
	22q	P I	22q <sub>prox</sub> - q <sub>int</sub>	P
1q / 1c	23p			
	23q	P	6q	C, I
15q <sub>prox</sub>	24p			
	24q		1q <sub>prox</sub> - q <sub>int</sub>	C
22	25p			
	25q		2p <sub>int</sub>	I, P
10p	26p		5p	I
	26q			
X	Xp	T	X <sub>1</sub> p	
		P		
	Xq	P	X <sub>1</sub> q	C, 3 I
		T		T

Tabla 14. Comparación de isocoros H3+ y L1+ en *Homo sapiens* (HSA) y bandas CMA<sub>3</sub>+ y DAPI+ en *Ateles chamek* (ACH). Se resaltaron los isocoros/bandas que se corresponderían. En el caso de coincidir con una familia de isocoros de menor o mayor contenido en GC, se indica el mismo en la celda correspondiente.

HSA	H3+	L1+	ACH	CMA <sub>3</sub> +	DAPI+
9	T		1p	T	
	I				I
		I		P	
8p	I	L2	1p - q <sub>prox</sub>		P
	I			I	
18		I	1q <sub>prox</sub> - i <sub>ter</sub>		
	H1/H2	I		I	I
16p	T		1q intersticial		I
10q	H1/H2			I	
16p	T		1q terminal	T	
12p	T		2p	T	
		I			I
	H1/H2			I	
15q14 q24	I		2q p	P	
14	I		2q i		I
		I			I
	T			I	
1p		I		I	
4		I		I	
15q14 q24	I		2q t		
22q	I		3p	I	
	I			P	I
15q11 q13			3q p	C	
		L2			P
3p21 p12	I		3q i	I	
	I	L2			I
	H2/H1			I	
2q13 qter	2 I		3q t	T	
3q13 q26	I		4p	T	
		I			I
7q11 q21	2 I	2 I	4q p e i		2 I
	H1/H2			I	
1p		I	4q t		I
	I				

Tabla 14 (continuación). Comparación de isocoros H3+ y L1+ en *Homos sapiens* (HSA) y bandas CMA<sub>3</sub>+ y DAPI+ en *Ateles chamek* (ACH). Se resaltaron los isocoros/bandas que se corresponderían. En el caso de coincidir con una familia de isocoros de menor o mayor contenido en GC, se indica el mismo en la celda correspondiente.

HSA	H3+	L1+	ACH	CMA <sub>3</sub> +	DAPI+
5		L2	5p - 5q i		I
		I			I
8q	H1/H2	I	5q i - 5 t	P	I
	H1/H2			I	
		I			I
		L2			I
	T			T	
16q	T, I	I	6p		I
2pter q12	I		6p t - 6q i	P	
	2 I	I			I
1q32 qter		I	6q t		
1p	I		7p		T
				P	
6		I	7p - 7 q i		C
		I		P	
		I			I
1q21 q31	I		7q t	T	
19p	T		8p	T	
	2 I			I	
					C
20q	I		8q	I	I
	T			T	
4q11 q22		I	9p - 9q p	T	
		I			I
7q11	I	L2			P
5q34 qter	2 I		9q i	I	
7q11	I		9q t	I	
21	T		10 p	T	
		I			I
3p12		I	10 q prox		
6q		I	10 q i - 10q t		P
		I			
		I			I
	T			T	
11p14.3 q23.2		I	11p		T
		I			
	I		P		
	I		P		
		I	11q		I



Tabla 14 (continuación). Comparación de isocoros H3+ y L1+ en *Homo sapiens* (HSA) y bandas CMA<sub>3</sub>+ y DAPI+ en *Ateles chamek* (ACH). Se resaltaron los isocoros/bandas que se corresponderían. En el caso de coincidir con una familia de isocoros de menor o mayor contenido en GC, se indica el mismo en la celda correspondiente.

HSA	H3+	L1+	ACH	CMA <sub>3</sub> +	DAPI+
13q	H1/H2		12p	C	
		I	12q		I
	T				
10p		L2	13p		I
2q32 q36	H1/H2		13q	P	
		I			C
		I			I
17	T		14p	T	
		L2			I
	P			P	
	I		14q		C
	T			T	
4q31.3 qter		2 I	15		
12p	T		16	T	
		I			T
X	H1/H2		Xp	I	
		I			P
	H1/H2		Xq	I	I
		I			
		I			I
	T		T		

Tabla 15. Comparación de isocoros H3+ y L1+ en *Homo sapiens* (HSA) y bandas CMA<sub>3</sub>+ y DAPI+ en *Aotus azarae* (ACH). Se resaltaron los isocoros/bandas que se corresponderían. En el caso de coincidir con una familia de isocoros de menor o mayor contenido en GC, se indica el mismo en la celda correspondiente.

Los signos de interrogación indican regiones cromosómicas sin homeología descripta.

HSA	H3+	L1+	AAZ	CMA <sub>3</sub> +	DAPI+
4q	H1/H2		1p	T	
	H1/H2	I 3 I		I	3 I
15q11 q13	H1/H2		1q	C	
5q22 q ter	I	I		I	I
	I	2 L2		I	2 I
7p21 p11		I	2p		
	I	P			P
2pter p11			2q	C	
	I	I			P
	I	I		I	
	I	L2			I
	I			I	
16p	T		3p	T	
	I				I
22q	2 I			1 I, 1 P	
10q		1 P	3q		P
	2 I, 1 T	2 L2		2 I, 1 T	2 I
6		L2	4p		I
	I	P		C	
	H1/H2	P	4q	I	
	H1/H2	I		I	
		I			I
		L2			I
	T		T		
10p		L2	5p		I
11q14.1 q22.3	H1/H2		5q	I	
	H1/H2	2 I		I	I
7q11	I			I	I
5q35	I				
	T		T		

Tabla 15 (continuación). Comparación de isocoros H3+ y L1+ en *Homo sapiens* (HSA) y bandas CMA<sub>3</sub>+ y DAPI+ en *Aotus azarae* (ACH). Se resaltaron los isocoros/bandas que se corresponderían. En el caso de coincidir con una familia de isocoros de menor o mayor contenido en GC, se indica el mismo en la celda correspondiente. Los signos de interrogación indican regiones cromosómicas sin homeología descripta.

HSA	H3+	L1+	AAZ	CMA <sub>3</sub> +	DAPI+	
21q	T		6p	T		
3p12		2 I			I	
1q21 q31	I		6q	C		
		L2			I	
	H1/H2			I		
		I			I	
15q14 q24	I	L2	7p		1 I	
	I			P		
14q11 q21	I	I	7q	P	I	
15q14 q24		L2				I
	2 I					I
14q11 q21	T	I		T		
?			8p			
12		L2	8q		P	
	I	L2		I	I	
		I				
		L2		I	I	
	2 I, T		T			
?			9p			
9q		L2	9q		I	
	I	I		I	I	
	I	L2		I	I	
	T			T		
?			10p			
1p	I	I	10q		P	
	H1/H2			I		
	2 I	I		I	I	
	I, T			T		
?			11p			
13q		L2	11q	I	I	
	H1/H2	2 I, L2		I	2 I	
	T			T		
8p	2 I		12p		T	
18q	H1/H2	I	12q	C		
	H1/H2	2 I		I	2 I	
	H1/H2			T		

Tabla 15 (continuación). Comparación de isocoros H3+ y L1+ en *Homo sapiens* (HSA) y bandas CMA<sub>3</sub>+ y DAPI+ en *Aotus azarae* (ACH). Se resaltaron los isocoros/bandas que se corresponderían. En el caso de coincidir con una familia de isocoros de menor o mayor contenido en GC, se indica el mismo en la celda correspondiente. Los signos de interrogación indican regiones cromosómicas sin homeología descripta.

HSA	H3+	L1+	AAZ	CMA <sub>3</sub> +	DAPI+
20	T	L2	13p		I
				C	
	2 I		13q	I	P
T		I			
2q21.1 q24.3		3 I			I
	2 I			T	
?			14p		
11	I		14q	I	P
	2 I	2 I			
	I	I, L2			2 I
	T			T	
?			15p		
8q		I	15q		I
	H1/H2	I		I	I
	T			T	
?			16p		
3q13.31 q26	I		16q	P	
		3 I			3 I
?			17p		
4p	T	I	17q	P	
	H1/H2	I		I	I
		L2			I
?			18p		
3p21 p12	2 I		18q	P	
		L2			I
		2 I			I
				T	
?			19p		
19	I		19q	P	
	I			I	2 I
	I, T			T	
?			20p		
17q	2 I		20q	P	
	H1/H2	2 L2		I	2 I
	T			T	

Tabla 15 (continuación). Comparación de isocoros H3+ y L1+ en *Homo sapiens* (HSA) y bandas CMA3+ y DAPI+ en *Aotus azarae* (ACH). Se resaltaron los isocoros/bandas que se corresponderían. En el caso de coincidir con una familia de isocoros de menor o mayor contenido en GC, se indica el mismo en la celda correspondiente. Los signos de interrogación indican regiones cromosómicas sin homeología descripta.

HSA	H3+	L1+	AAZ	CMA <sub>3</sub> +	DAPI+
?			21p		
2q32 q ter	H1/H2	2 I	21q	P	
		I			I
	I	L2		I	I
	T			T	
?			22p		
1q32 qter	I		22q	P	
	I	L2			I
		L2			I
16q22 qter	I				
	T			T	
?			24p		
5q11 q21	H1/H2		24q	P	
		2 I		I	I
15q26	H1/H2	L2		T	I
X		L2	X1p		I
		I			I
	H1/H2			P	
		L2	X1q		1 P
	3 H1/H2	3 I		3 I	3 I
	T			T	
?			X2p (23p)		
7p21 p11	I	I	X2q (23q)		P
	H1/H2	I		I	I
				T	