

Universidad de Guadalajara

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



Estudio Citogenético de la Rata Negra (*Rattus Rattus*)
en Guadalajara, Jal.

N.M.V.Z. José Antonio Sánchez Rocha

XII Generación 75 - 80

A MIS QUERIDOS PADRES Y HERMANOS
POR SU APOYO.

CON RESPETO Y AGRADECIMIENTO A MI
ASESOR ROGELIO ALONSO, POR SU AYU
DA Y PACIENCIA Y AL HONORABLE JU-
RADO.

A MIS MAESTROS.

A MIS COMPANEROS Y AMIGOS.

A NUESTRA ALMA MATER.

POR NUESTRA SUPERACION.

I N D I C E

	<u>Pág.</u>
INTRODUCCION.....	1
MATERIAL.....	5
METODO.....	6
RESULTADOS.....	11
DISCUSION.....	19
RESUMEN.....	26
CONCLUSION.....	27
BIBLIOGRAFIA.....	28

ESTUDIO CITOGENETICO DE LA RATA NEGRA
(RATTUS RATTUS) EN GUADALAJARA

INTRODUCCION

La Rata Negra (*Rattus rattus*) está ampliamente distribuida por todo el mundo, y muestra variabilidad cromosómica geográfica debida a varios tipos de polimorfismos intrapoblacional tales como: fusiones robertsonianas, inversiones pericentricas y cromosomas supernumerarios, también se han hallado polimorfismos en los patrones de la banda "D". (9, 10)

Se han descrito 3 variantes geográficas fundamentales; la Rata Asiática (Número diploide $2n = 42$) la Rata de Ceylan ($2n = 40$) y la Rata Oceánica ($2n = 38$); se ha sugerido que la rata asiática es la forma ancestral y que las otras dos se han desarrollado por fusiones céntricas subsecuentes, se supone que la *Rattus rattus* de poblaciones europeas y con cariotipo oceánico fueron introducidos en América. De todos los especíme -

nes colectados en Argentina, Brasil, Chile, Ecuador y Venezuela han exhibido el mismo cariotipo ($2n = 38$). La ausencia de variabilidad cromosómica es característica de todas las poblaciones introducidas en Europa y Australia, Africa y América, sin embargo en muestras de Europa y Brasil se han encontrado polimorfismos debido a cromosomas supernumerarios o inversiones pericéntricas respectivamente (5, 6, 9, 10). Además se han sugerido que la forma $2n = 42$ puede haber emigrado a América pero los descendientes de tales stocks o bien no han sido descubiertos o han sido débiles colonizadores (7). Se han encontrado que un buen número de rearrreglos cromosómicos causan estados de infertilidad estando involucrados en mecanismos de especiación que tienden a limitar la capacidad reproductiva entre las poblaciones (2), parece ser que las distintas especies poseen diferentes grados de evolución cromosómicas, el orden de los roedores posee una de las más altas tasas de evolución (1).

Los problemas reproductivos de etiología cromosómica en el ser humano y los animales do-

mésticos están bien documentados aunque no se conoce bien como una forma anormal o supernumera -
ria de los cromosomas influye en la infertili -
dad, habiéndose sugerido disyunciones anormales
de cromosomas en los gametos, con una alta tasa
de muerte prenatal: aunque por otro lado se han
encontrado que tales rearreglos cromosómicos no
afectan ni la fertilidad, ni a la variabilidad -
de los sujetos, considerándose, un polimorfismo
natural (2,4).

El estudio de estos problemas reproducti-
vos en los animales domésticos y el hombre están
limitados por el tiempo relativamente grande de
los intervalos generativos, por lo tanto sería -
útil e interesante el empleo de modelos de anima
les de tasa reproductiva más corta y proliíca -
tales como los roedores, el empleo de éstos es -
cada vez más frecuente, induciéndose alteracio
nes cromosómicas en ellos mediante factores quí
micos y físicos a alto costo (8) otra posibili
dad es la de encontrar rearreglos espontáneos en
poblaciones naturales.

El objeto de este trabajo fue el de encontrar rearrreglos cromosómicos que pueden estar involucrados en problemas reproductivos y mecanismos de especiación en la especie *Rattus rattus* y evaluar la utilidad de esta especie como modelo de laboratorio para el estudio de los problemas reproductivos de índole cromosómico y contribuir para conocer la biología local de esta especie - que representa un serio problema como vector de enfermedades y competidor de alimentos para el hombre y los animales.

M A T E R I A L

- 1.- 10 ratas negras *Rattus rattus*.
- 2.- Jeringas de 5ml.
- 3.- Solución de colchicina.
- 4.- Estuche de disecciones.
- 5.- Solución hipotónica KCl. 0,075 molar.
- 6.- Estufa bacteriológica.
- 7.- Centrífuga.
- 8.- Pipetas diferentes tamaños.
- 9.- Tubos de ensayo.
- 10.- Fijador Carnoy.
- 11.- Pipetas Pasteur.
- 12.- Porta y cubreobjetos.
- 13.- Lámpara y foco 150w.
- 14.- Solución de giemsa.
- 15.- Cajas de Petri.

M E T O D O S

Se atraparon 10 especímenes (8 hembras, 2 machos) *Rattus rattus* en distintos puntos de la ciudad, trabajándose el mismo día de su captura. Efectuándose preparaciones cromosómicas usándose la técnica de cochicinado directo (3) usando médula ósea y bazo.

1. Inyectar intraperitonealmente (I.P.) 0.01-0.02ml/gramo de peso, de una solución de colchicina 2.666 mg/250c.c. de agua destilada a dosis de 0.01ml/gramo de peso corporal

2.- Dos horas después, el animal es sacrificado. A través de incisión abdominal, se toman los huesos largos, que se limpian de músculo. El número de huesos a utilizar varía con el tamaño del animal: desde ambos números, fémures y tibias a un único fémur en caso necesario, además de los huesos largos también puede utilizarse en escá-

pulas y huesos ilíacos.

- 3.- Se cortan los huesos largos en trozos de unos 2cm. de longitud, con una jeringa conteniendo 5ml. de solución hipotónica KCl. 0.075 molar a 37°C lavar el tapón medular a un tubo de centrífuga de 15ml.
- 4.- Se agita o se pipetea vigorosamente para lavar la médula de los restos óseos. En este momento la solución suele tener un color rojo pálido.
- 5.- Se incuba 20 minutos a 37°C.
- 6.- Se invierte el tubo lentamente, varias veces, dejar sedimentar los restos óseos y decantar el sobrenadante a un tubo limpio si es necesario este paso se repite varias veces, hasta eliminar todas las partículas y restos de tejido conectivo.

- 7.- Se centrifuga a 500-700 r.p.m. durante 5-10 minutos decantando el sobrenadante.
- 8.- Se añade lentamente 5ml. de fijador Carnoy (sol 3:1 metanol-ac. acético) sin romper botón celular.
- 9.- Se resuspenden las células. Dejando el fijador de Carnoy unos 5 minutos.
- 10.- Se hacen 2-3 cambios de Carnoy en la forma descrita en el último cambio se añade solamente la solución de Carnoy suficiente para llevar a cabo las preparaciones (0.25-1ml.) según el volumen de las células).
- 11.- Con una pipeta Pasteur, se dejan caer 2 gotas de suspensión celular sobre un portaobjetos limpio y desengrasado las gotas se extenderán por sí solas. Soplando suavemente sobre el porta para facilitar la extensión y dejando -

secar ante un foco de 150w.

12.- Se tiñe en giemsa, al 2% en un buffer sorensen pH 6.8

PREPARACIONES EN BAZO:

Las preparaciones directas de bazo se basan en los mismos principios que las de médula ósea. La técnica que se describe se refiere a animales previamente colchicinizados y puede también aplicarse a hígado o a intestino.

1.- En un animal colchicinado, se toma bazo y es colocado en una caja de petri conteniendo solución hipotónica a 37°C.

2.- Con unas tijeras de disección, se corta la pieza en pequeños trozos.

3.- Se cubre la caja de petri y se incuba 20 minutos a 37°C.

4.- Se decanta el triturado de bazo en un

tubo de centrífuga y se pipetea vigorosamente dejando sedimentar los trozos grandes de tejido, el sobrenadante se pasa a un tubo limpio y se centrifuga. En seguida se fijan las células y se realizan preparaciones cromosómicas como en la técnica anterior.

R E S U L T A D O S

Se encontró que el cariotipo de todas las ratas estudiadas correspondió a la variedad asiática ($2n = 42$) analizando la estructura cromosómica se encontró que el par 1 es subtelocéntrico y homomórfico en cambio, los pares 9, 11 y 13 - eran polimórficos con cromosomas telocéntricos o subtelocéntrico, los pares, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, X, Y fueron invariablemente telocéntricos. Asimismo los pares 14 a 20 fueron homomórficos meta céntricos (Fig. 1-5). Las características cromosómicas de 5 ratas analizadas se exhibe en la tabla 1. En las restantes 5 ratas la calidad de - las metafases no fue suficiente como para poder estudiar morfológicamente sus cromosomas.

En la Tabla 2, se muestra el sexo y el peso encontrado en cada rata estudiada.

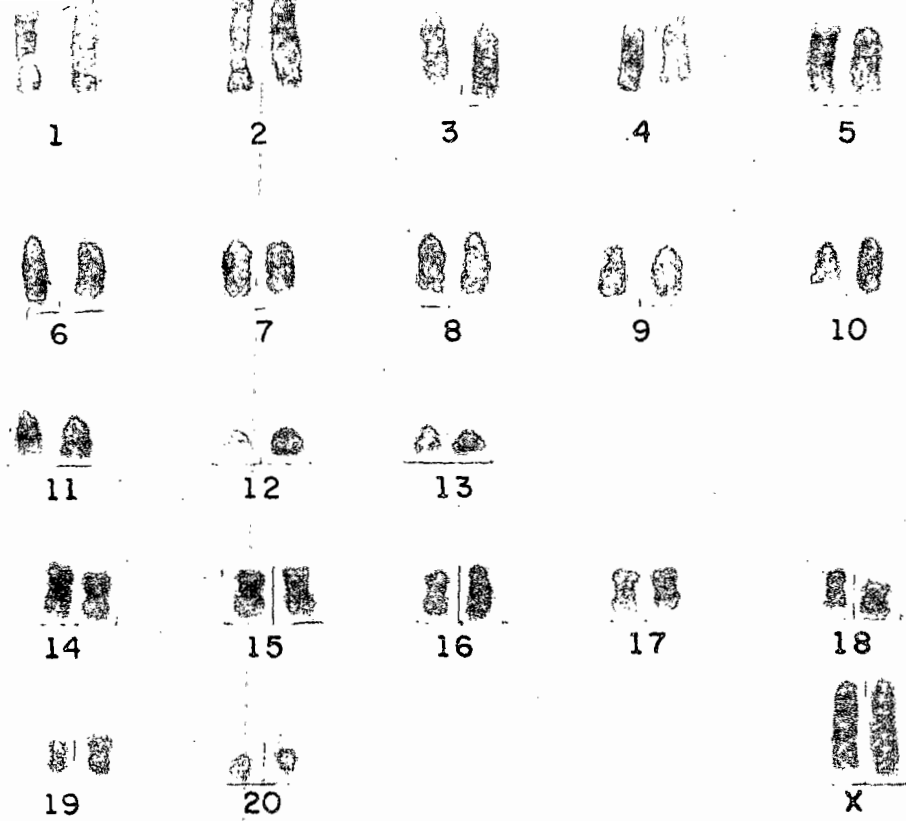


FIGURA 1.- CARIOTIPO DE LA RATA 1, 42, XX.
 CARACTERÍSTICAS POLIMÓRFICAS DE LOS PARES
 1: S/S, 9: T/S, 11: T/T, 13: T/T, (T=TELOCÉN-
 TRICO, S=SUBTELOCÉNTRICO),

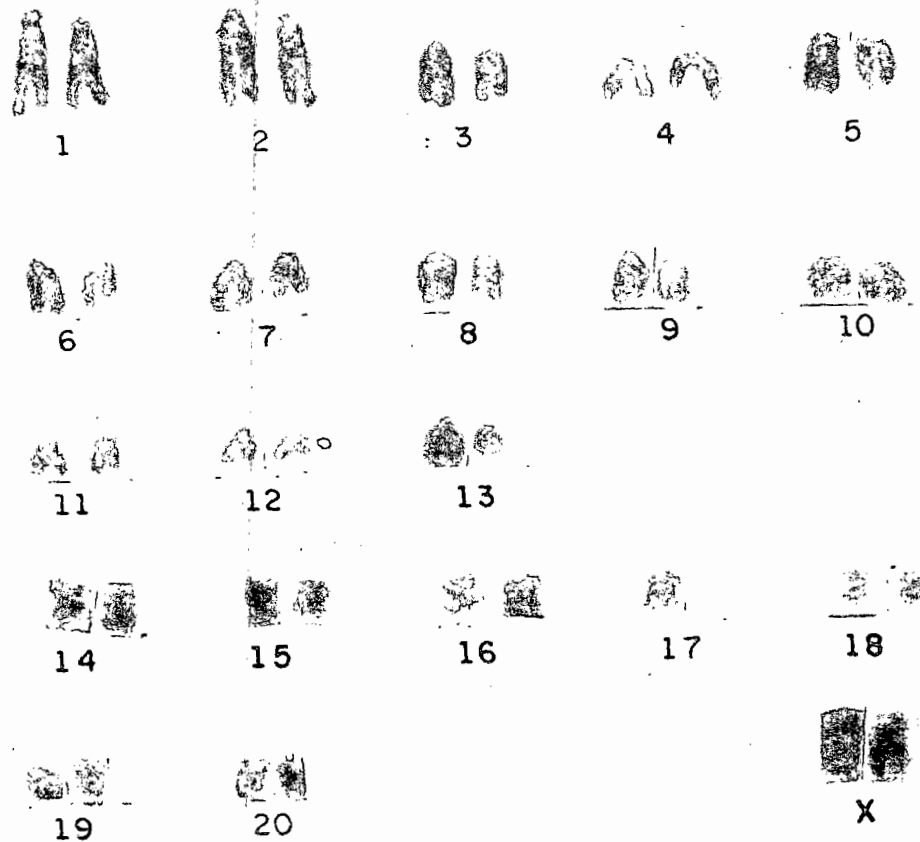


FIGURA 2. - CARIOTIPO DE LA RATA 2. 42,XX.
 CARACTERÍSTICAS POLIMÓRFICAS DE LOS PARES
 1:S/S, 9:T/T, 11:S/S, 13:T/S. (T=TELOCÉN-
 TRICO, S. SUBTELOCÉNTRICO).



FIGURA 3. - CARIOTIPO DE LA RATA 3. 42,XX.
 CARACTERÍSTICAS POLIMÓRFICAS DE LOS PARES
 1:S/S, 9:T/T, 11:S/S, 13:T/S. (T=TELOCÉN-
 TRICO, S=SUBTELOCÉNTRICO).



FIGURA 4.- CARIOTIPO DE LA RATA 4, 42,XX,
 CARACTERÍSTICAS POLIMÓRFICAS DE LOS PARES
 1:S/S, 9:S/S, 11:S/S, 13:T/S. (T=TELOCÉN-
 TRICO, S=SUBTELOCÉNTRICO).

TABLA 1.

POLIMORFISMO CROMOSÓMICO EN RATTUS RATTUS (2n=42)
MEXICO (5 ratas)

RATA	9		11		13	
	T	S	T	S	T	S
1	+	+	+	-	+	-
2	+	-	-	+	+	+
3	+	-	-	+	+	+
4	-	+	-	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+

Presencia (+) o ausencia (-) de telocentricidad (T) o subtelocentricidad (S) cromosómica.

TABLA No 2.

RATA no.	SEXO	PESO
1	HEMBRA	110 grs.
2	HEMBRA	120 grs.
3	HEMBRA	242 grs.
4	HEMBRA	281 grs.
5	HEMBRA	243 grs.
6	MACHO	278 grs.
7	HEMBRA	269 grs.
8	MACHO	293 grs.
9	HEMBRA	280 grs.
10	HEMBRA	116 grs.

D I S C U S I O N

Todas las ratas estudiadas por nosotros - presentaron complemento cromosómico de 42 cromosomas (tipo Asiático) siendo su origen probablemente oriental.

Las repetidas observaciones del mismo cariotipo ($2n = 38$) Océanico y la ausencia de ca-riotipos Asiáticos en la rata negra de Norte y - Sudamérica, han hecho suponer una ausencia de va-riabilidad cariotípica en estas poblaciones, au-nque recientemente en Brasil han reportado poli-morfismos en el cromosoma 8, debido a una inver-sión pericéntrica.

Las distintas invasiones hacia América de ratas negras a través de los transportes huma-nos, tanto desde Europa como del Asia, han hecho suponer que los descendientes de esta última ruta de inmigración no han sido aún encontradas o - que éstos han sido capaces de proliferar debido a su menor grado de adaptación, comparados con - el cariotipo Océanico.

La comparación de las características de este cariotipo en cuanto a su polimorfismo con los cariotipos Asiáticos, encontrados en distintos puntos del este Asiático se muestra en la ta bla No. 3.

Yosida (9) ha sugerido a partir de la amplia distribución del polimorfismo en el cro mo so ma 13, que la inversión de este cromosoma oc u r r i ó más tempranamente que las de los pares 1 y 9.

Las ratas encontradas por nosotros pre sen tan polimorfismos en los pares 13, 9 y 11, siendo para el 1 subtelocéntrico homomórfico.

Por lo tanto esta población debe haberse originado a partir de una variedad Asiática de cariotipo idéntico o sino tal vez de uno muy parecido que después ha evolucionado aisladamente en México.

Los cariotipos Asiáticos que más se parecen por su homología con los cromosomas 1, 9 y -

PRESENCIA DE CROMOSOMAS TELOCENTRICOS Y SUBTELOCENTRICOS
EN RATTUS RATTUS TIPO ASIATICO (2n=42).

CROMOSOMAS No.

PAIS	NOMBRE DE SUBESPECIE	1		9		13		OTROS
		S	T	S	T	S	T	
JAPON	TANEZUMI	+	+	+	+	+	+	3
KOREA	SUBESPECIE	+	+					
HONG-KONG	FLAVIPECTOS	-	+	+	+	+	+	
	SLADENI	+	-	+	+	+	+	4-6-7-11-12
FORMOSA	SUBESPECIE	-	+					
TAILANDIA	THAI	+	+					
MALASIA	DIARDII	+	+	+	-	+	+	
	JALORENSIS	+	-	+	-			11
	ARGENTIVER	+	-	+	-			
INDONESIA	ARGENTIVER	+	-	+	-			
FLIPINAS	MINDANENSIS (LUZON)	+	+	+	+	+	+	
	MINDANENSIS (MINDANAO)	+	-	+	+	+	+	
INDIA	SUBESPECIE	+	+	+	-	+	+	
	RATUS NORVERGICUS	+	-	-	+	+	-	3-11-12-X
MEXICO	SUBESPECIE	+	-	+	+	+	+	11

13 son: *Rattus rattus Mindanensis* encontrada en Mindanao, Filipinas y la *rattus rattus tanezumi* del Japón. Sin embargo la *Rattus rattus Mindanensis* y la *Rattus rattus tanezumi* de estas localidades no presentan polimorfismos en el par 11.

El polimorfismo del par 11 sólo se ha registrado en la *Rattus rattus Jalorensis* de la Malasia, la *Rattus norvegicus*. Sin embargo ella *Rattus rattus Jalorensis* no se ha registrado polimorfismo en los pares 9 y 13.

La *Rattus Sladeni* es polimórfica además - en los pares 4, 6, 7, y 12 la *Rattus Norvegicus* es a su vez polimórfica en los pares 3, 12 y el X y no lo es en el par 9.

Por lo tanto con la información actual es muy difícil asegurar cual es su origen de esta variedad de 42 cromosomas previamente no descrita en América requiriéndose mayor información para tener un entendimiento más claro sobre la frecuencia del polimorfismo cromosómico y su distribución geográfica por otras regiones de México.

Los resultados encontrados demuestran que la variedad local de ratas negras presentan un polimorfismo el cual está involucrado en mecanismo de especiación.

Esto es, se sabe (2) que intercambios entre cromosomas homólogos (crossin over) los cuales son heterocigóticos para inversiones pericéntricas conducen a la producción de cambios desbalanceados, portando cromosomas que han sufrido deleciones o duplicaciones de gametos (2). De tal manera que los heterocigóticos para las inversiones pericéntricas son los candidatos ideales para estudiar:

1.- La existencia de una reducción en la producción de gametos, si los que están desbalanceados perecen en la gametogénesis, tal vez se manifestaría como una reducción de células germinativas, tanto en los tubos semimíferos como en los ovarios.

2.- Si es que los gametos desbalanceados

no perecen durante su desarrollo y -
llegan a madurar, esto se traduciría
en una producción de productos con -
trisomias y monosomias parciales lo -
cual puede llevar a muertes prenata-
les o nacimientos de productos anorma-
les, siendo una manera de analizar co-
mo un material genético extra o defi-
ciente desarmoniza la organización -
normal en los mamíferos.

Por otro lado si comparamos las defi-
ciencias cariotípicas de las ratas -
norvergicus y la rata encontrada -
por nosotros, vemos que pueden dife-
rir en 5 pares de cromosomas, de es-
ta manera el cruzamiento entre estas
ratas, nos resultaría en la F2 en -
un total de 243 cariotipos diferen-
tes. Así mismo es posible obtener 32
líneas de ratas las cuales serían ho-
mocigóticas en sus pares, y nos po-
drían brindar al cruzarse entre sí he-
terocigóticas para un par cromosómico

específico.

Por lo tanto, esta especie puede ser un modelo apropiado para el estudio de problemas reproductivos de etiología cromosómica.

RESUMEN

Se estudiaron citogenéticamente 10 ratas negras (*Rattus rattus*) encontrándose que presentaban cariotipo asiático $2n = 42$ es el primer hallazgo del cariotipo asiático en América.

El análisis cromosómico reveló que el cromosoma 1 era subtelocéntrico en todas las ratas examinadas, por otro lado los cromosomas 9, 11 y 13 fueron polimórficos por la presencia de cromosomas telocéntricos y subtelocéntricos.

Se concluye que el origen de esta variedad es asiática. Así mismo se piensa que esta rata puede ser buen modelo experimental para el estudio de los problemas reproductivos de etiología cromosómica, debido a sus diferencias cromosómicas con la rata *norvegicus*.

C O N C L U S I O N .

Por conclusión en la información actual - es muy difícil asegurar cual es el origen de esta variedad de 42 cromosomas la cual no es descrita en América requiriéndose mayor información para tener un entendimiento más claro del polimorfismo y su distribución geográfica en otras regiones de México.

Por los resultados la variedad local de ratas negras presentan un polimorfismo el cual está involucrado con el mecanismo de especiación.

Y viendo las discusiones sacamos que esta especie puede ser un modelo adecuado para el estudio de problemas reproductivos de etiología cromosómica.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- BENGTTSSON, B.O. OF KARIOTIPES EVOLUTION
INPLACENTAL MAMINAL HEREDITAS.
P.P. 92 37 47 1980.

- 2.- BRUERE, AN THE DISCOVERY AND BIOLOGICAL
CONSEQUENCES OF SOME IMPORTANT CHOROMOSOME
ANIMALIES IN POPULATIONS OF DOMESTIC ANIMALS.
1.- CONGRESO MUNDIAL DE GENETICA APLICADA A
LA PRODUCCION GANAVERA TOMO I. ED. GARCI
MADRID, ESPAÑA. 1974.

- 3.- EGOZCUE, I.- TECNICAS EN CITOGENETICA.
ED. ESPAXAS BARCELONA, ESPAÑA 1971.

- 4.- GUSTAUSSON I.- CHROMOSOMAL POLYMORPHISM
1.- CONGRESO MUNDIAL DE GENETICA APLICADA A
LA PRODUCCION GANADERA TOMO I.

- 5.- KASAHARA, S; YONENAGA - YASSUDA, Y CHOROMOSOME
VARIABILITY IN BRAZILIAN SPECIMENES OF RATTUS
RATTUS ($2n = 38$).
EXPERIENTOA 37: 31 - 32 (1981).

- 6.- PRETEL, MA; DIAZ DE LA GUARDIA, G.R.
CHROMOSOMAL POLYMORPHISM CAUSED BY SUPERNUMERARY
CHROMOSOME IN RATTUS RATTUS ESP. FRUGIVORUS
(RATINUSQUE 1814) (RODENTIA, MURIDAE).

- 7.- REIG, O.A. PINCHERA, J.V. SPATARNO, A.O., AND
WALLER, P. NEW EVIDENCE OF 38 CHROMOSOMES
KARYOTYPE IN SOUTH AMERICAN POPULATIONS OF ROOF
RAT, RATTUS RATTUS (RODENTIA, MURIDAE).
EXPERIENTIA 28 (2) 225 - 227 (1974).

- 8.- WORSWORTHY CHROMOSOMAL ASPECTS OF MALE STERILITY
IN MAMMALS EDITED BY AG. SEARLE AND P. DE BOER
CYTOGENET 27: 201 - 215 (1980).

- 9.- YOSIDA, TH - FREQUENCIES OF CHROMOSOME
POLYMORPHISM IN PARIS No. 1, 9 AND 13 IN THREE
GEOGRAPHICAL VARIANTS OF BLACK RATS, RATTUS
RATTUS. CHROMOSOMA (BERL) 60 391 - 398 (1977)

- 10.- YOSIDA, TH - CYTOGENETICS OF BLACK RAT.
UNIVERSITY PARK PRESS BALTIMORE AND UNIVERSITY
OF TOKYO (1980).