

Citogenètica de la Capra pyrenaica hispanica

M.P. Grao

Departament de Biologia Cel.lular. Facultat de Ciències. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra.

Abstract

A study of cytogenetic analysis of 3 males from Capra pyrenaica hispanica is reported below. The G-banding pattern shows a $2n=60$ chromosomal karyotype with 58 acrocentric autosomes, an X chromosome with extremely short p arms and a small sub-metacentric Y chromosome. Using G-banding techniques the centromeric regions of sex chromosomes are shown while those of autosomes remain unstained. On the other hand centromeric regions of autosomes are stained after C-banding process but sex chromosomes are C-banding negative. NORs are localized in telomeric regions.

Introducció

La família Bovidae és dins dels mamífers una de les més nombroses, amb 120 espècies i 45 gèneres (Corbet, 1978).

El gènere Capra està representat a la península ibèrica per una espècie (a part de la cabra domèstica, Capra hircus) Capra pyrenaica (Schinz, 1938) (cabra salvatge) de la qual s'han diferenciat quatre subespècies (Cabrera, 1914): Capra pyrenaica pyrenaica, Capra pyrenaica victoriae, Capra pyrenaica hispanica i Capra pyrenaica lusitanica (extingida).

Les tres subespècies actuals es distribueixen: C.p. pyrenaica en els Pirineus, concretament al Parc d'Ordesa; C.p. victoriae ocupa la zona central de la península, Serra de Gredos i la C.p. hispanica està present a la nostra fauna als Ports de Beceit, i també es troba a les Serres de Cazorla i Nevada (fig. 1).

Aquesta classificació, realitzada per Cabrera (1914) està basada en trets estrictament morfològics, com són la coloració del pel i la forma de les banyes; malgrat ser una classificació tan simplista ha estat acceptada de forma unànime i en l'actualitat s'utilitza en tots els treballs.

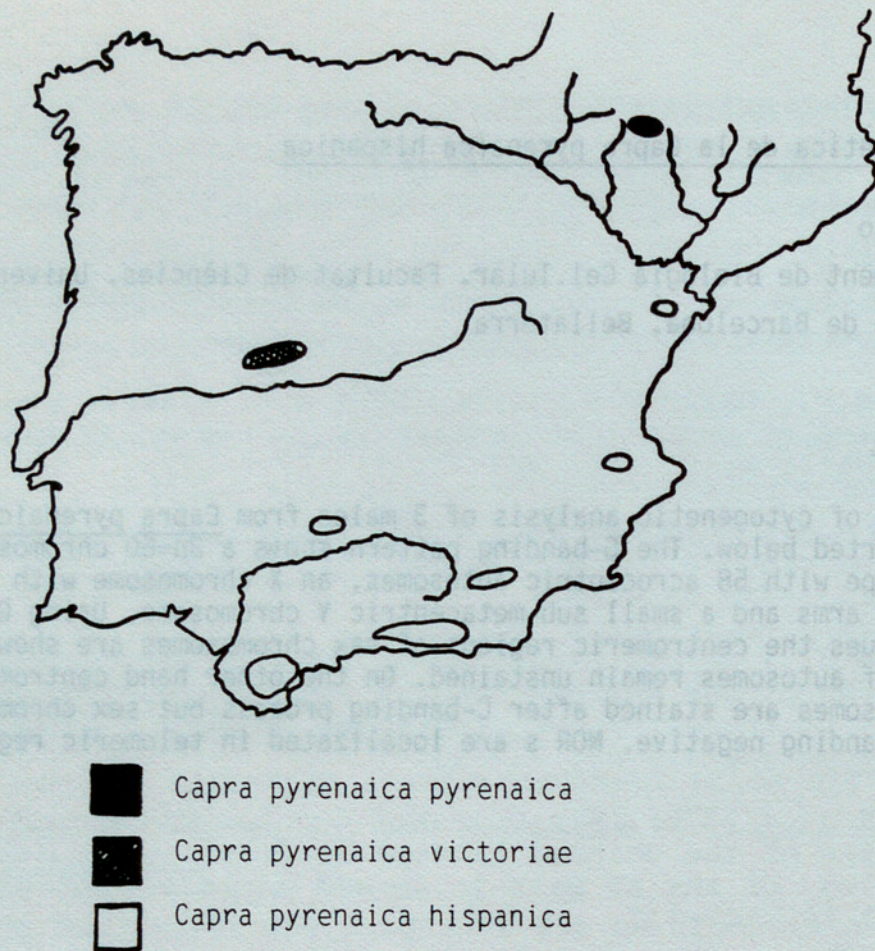


Fig. 1.- Àrea de distribució de l'espècie Capra pyrenaica.

Està clar que tot i acceptant aquestes teories, les cabres ibèriques tenen un tronc comú i que sota la influència de la selecció i les relacions amb el medi han aparegut formes amb afinitats evidents i diferències sutils. Chapman i Buck (1893) escriuen que "tan sols la talla diferencia a pyrenaica d'hispanica" i C. de Yebes (1953) afirma que partint de la forma de Gredos (victoriae) poden elaborar-se tota la gamma de possibles banyes.

A la vista d'aquestes semblances i que uns criteris fonamentalment morfològics no justifiquen, en part, una classificació, és pel què creiem necessari un estudi citogenètic de la cabra salvatge ibèrica, que ajudaria a discernir la seva taxonomia.

Des del punt de vista citogenètic s'han realitzat, durant els darrers quinze anys, i amb el desenvolupament de les tècniques de bandeig, treballs en el sentit d'esbrinar la filogènia dels bòvids (Wurster i Benirschke, 1968; Evans et al., 1973; Buckland i Evans, 1978); treballs dirigits la majoria cap a l'estudi d'espècies domèstiques (bou, ovella i cabra) i altres en un sentit més general, com el de Wurster i Benirschke, on s'estudia la morfo-

logia de 50 espècies de bòvids; tot i així, no existeix cap treball en concret sobre l'espècie Capra pyrenaica.

En aquest treball s'aporten el cariotip en bandes G, la localització de les bandes C i els NOR (regions organitzadores del nuclèol) resultat de l'estudi de tres mascles de l'espècie Capra pyrenaica hispanica.

Material i Mètodes

Les mostres de sang es van obtenir de tres mascles de C.p. hispanica del Parc Zoològic de Barcelona punxant la vena iugular amb xeringa estèril i heparinitzada.

Els cultius de limfòcits es van fer afegint 2 ml de sang perifèrica en 100 ml de medi F-10 suplementat amb 20% de New born, 5% d'heparina, 1.5% de Glutamina, 2% de penicil.lina/estreptomycina i utilitzant com estímuls fitohemaglutinina (3%) i Concanavalina A (2.5%). Després de 72 hores d'incubació a 37°C s'afegeix colcemid (0.6 ml/per 10 ml de medi) deixant-lo actuar de 15 a 30 minuts, passats els quals s'extreu el cultiu fent un tractament hipotònic (KCl 0.075M) durant 30 minuts a 37°C i posteriorment fixant amb Carnoy (metanol:acètic, 3:1).

Les bandes G s'han obtingut utilitzant la tècnica de Gallimore i Richardson (1973) modificada. Les preparacions cromosòmiques s'incuben de 15 a 30 minuts en 2xSSC (NaCl 0.03M, citrat sòdic 0.03M) a 65°C, es renten amb aigua i s'assequen, es posen de 5 a 8 segons en tripsina 0.1% en buffer Leishman, es tornen a rentar amb aigua i s'assequen, es tenyeixen amb colorant Leishman (Leishman 1: buffer Leishman 4) durant 5 minuts.

Les bandes C s'obtenen seguint el mètode de Summer (1972).

Per l'obtenció dels NOR s'ha seguit la tècnica de Bloom i Goodpasture (1976) modificada. Es prepara nitrat d'argent al 60% i s'afegeixen 4 gotes de formalina al 0.03%, 5 gotes d'aquest preparat es posen sobre el portaobjectes i es cobreix amb un cubreobjectes allargat i es deixen a l'estufa de 65°C de 1/2 hora a 1 hora tot controlant el grau de tinció amb el microscopi òptic. Es tenyeixen amb Leishman al 1% durant 7 minuts.

Resultats

Els tres individus estudiats presenten cariotip ($2n=60$).

El cariotip realitzat amb bandes G (fig. 2) ens mostra que tots els autosomes són acrocèntrics i s'ordenen segons la seva longitud del més llarg al més petit. En tots els autosomes no es tenyeix la regió centromèrica i

apareixen unes bandes que els identifiquen.

El cromosomes sexuals tenen banda G centromèrica, la qual cosa els distingeix dels autosomes, a més a més, el cromosoma X és el tercer més llarg i posseeix uns braços curts sempre molt petits i tenyits pàl·lidament. El cromosoma Y és dels 60 el més petit i és l'únic sub-metacèntric (Basrur i Stoltz, 1967).



Fig. 2.- Cariotip amb bandes G de la Capra pyrenaica hispanica.

Les bandes C (fig. 3) es corresponen amb zones d'heterocromatina centromèrica; s'aprecia que certs cromosomes tenen uns blocs d'heterocromatina més marcats que altres. Queda clar que cada banda C centromèrica equival directament a una regió pàl·lida (que no es tenyeix) amb les preparacions de bandes G.

Els cromosomes X i Y no es tenyeixen específicament amb les tècniques de bandes C; la tinció de la regió centromèrica no és gaire diferent que la de la resta dels braços.

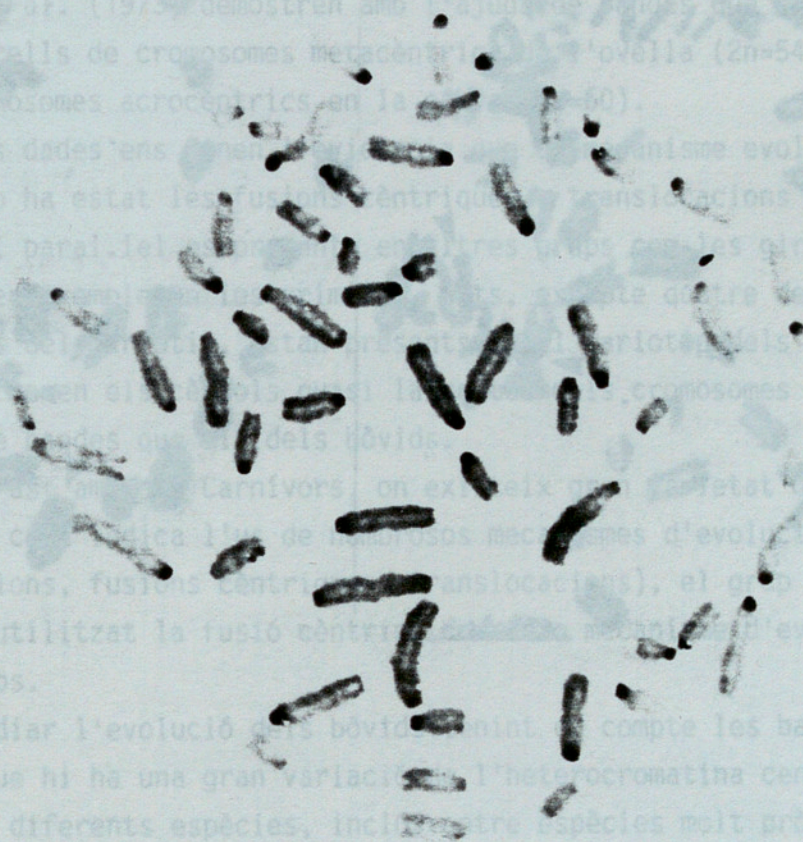


Fig. 3.- Metafase amb bandes C.

La tinció NOR (fig. 4 A i B) ens mostra la presència de 4 o 5 cromosomes amb NOR tots ells situats a la regió terminal del cromosoma.



Fig. 4.- Tinció amb nitrat d'argent mostrant la presència de 4 cromosomes portadors de NOR (A) o bé 5 cromosomes (B).

Discussió

L'estudi citogenètic d'altres espècies (Wurster i Benirschke, 1968) ha donat a conèixer el cariotip d'uns 50 bòvids; aquesta identificació individual i les grans semblances trobades amb l'aplicació de les tècniques de bandes G (Evans et al., 1973; Buckland i Evans, 1978) permet afirmar l'existència d'un cariotip primitiu $2n=60$ amb 58 autosomes acrocèntrics; aquest cariotip ancestral hauria evolucionat de manera que reduint el nombre de cromosomes acrocèntrics augmentaria el nombre de cromosomes metacèntrics i es mantindria el mateix nombre de braços (N.F.). Així trobem que en tota la família dels bòvids si bé el nombre diploide de cromosomes varia entre 30 i 60, el nombre fonamental es manté aproxim

madament constant, variant únicament entre 58 i 60.

Gustavsson (1966, 1969) en un estudi sobre polimorfisme cromosòmic en el bou (Bos taurus) troba el cariotip "normal" $2n=60$ en 1134 animals, en 129 individus troba $2n=59$ on un cromosoma metacèntric desaparellat apareix fer fusió de dos autosomes acrocèntrics, i en 4 animals troba $2n=58$ amb la presència de dos autosomes metacèntrics.

Evans et al. (1973) demostren amb l'ajuda de bandes que els braços de tres parells de cromosomes metacèntrics de l'ovella ($2n=54$) es presenten com cromosomes acrocèntrics en la cabra ($2n=60$).

Aquestes dades ens donen l'evidència que el mecanisme evolutiu d'aquest cariotip ha estat les fusions cèntriques o translocacions Robertsonianes. Un model paral·lel es presenta en altres grups com les girafes i els cèrvols; per exemple en les primeres, tots, excepte quatre dels braços cromosòmics del cariotip, estan presents en el cariotip dels bòvids; i d'igual forma en els cèrvols quasi la meitat dels cromosomes tenen el mateix model de bandes que els dels bòvids.

En contrast amb els Carnívors, on existeix gran varietat de cariotips, la qual cosa indica l'ús de nombrosos mecanismes d'evolució cromosòmica (inversions, fusions cèntriques, translocacions), el grup dels bòvids hauria utilitzat la fusió cèntrica com únic mecanisme d'evolució dels cariotips.

Al estudiar l'evolució dels bòvids tenint en compte les bandes C s'observa que hi ha una gran variació de l'heterocromatina centromèrica entre les diferents espècies, inclús entre espècies molt pròximes (Buckland i Evans, 1978b). D'aquesta manera semblaria que l'heterocromatina constitutiva seria quelcom molt variable i poc conservatiu en l'evolució dels cromosomes. Summer i Buckland (1976) en un treball sobre la quantitat de DNA en el bou, l'ovella i la cabra, diuen que a la vista de les similituts en les bandes d'aquestes tres espècies semblaria que la seva evolució estaria relacionada amb nombroses petites delecions i addicions intersticials de DNA, ja que la seva quantitat de DNA no és homòloga.

En el nostre cas s'hauria d'estudiar la distribució de les bandes C en les diferents subespècies (C.p. pyrenaica, C.p. victoriae i C.p. hispanica) ja que els resultats obtinguts per nosaltres només han estat d'una sola subespècie. Per tant es podria concloure que aquest seria un factor citogenètic a tenir en compte en la seva taxonomia. Així mateix el utilitzar les bandes G per realitzar el cariotip de les altres subespècies,

encara desconegut, i localitzar els NOR ens podria afavorir en el cas que existeixin altres mecanismes evolutius i també a trobar altres criteris de classificació.

Bibliografia

- BASRUR P.K., STOLTZ D.R. (1967). The Y chromosome of the goat. J. Hered. 58, 261
- BLOOM S.E., GOODPASTURE C. (1976). An improved technique for selective silver staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. Hum. Genet. 34, 199-206
- BUCKLAND R.A., EVANS H.J. (1978a). Cytogenetic aspects of phylogeny in the Bovidae. I G-banding. Cytogenet. Cell Genet. 21, 42-63
- BUCKLAND R.A., EVANS H.J. (1978b). Cytogenetic aspects of phylogeny in the Bovidae. II C-banding. Cytogenet. Cell Genet. 21, 64-71
- CABRERA A. (1914). Fauna Ibérica. Mamíferos. Madrid, Museo Nacional de Ciencias Naturales. XVIII, 309-325
- CHAPMAN A., BUCK W.J. (1910). Unexplored Spain. Londres, Gurney et Jackson, XX.
- CORBET G.B. (1978). The Mammals of the Palaearctic Region. A Taxonomic Review. British Museum (Natural History). Cornell University Press. London. pp 195-271
- COUTURIER A.J. (1962). Le Bouquetin des Alpes. Grenoble.
- EVANS H.J., BUCKLAND R.A., SUMNER A.T. (1973). Chromosome Homology and Heterochromatin in Goat, Sheep and Ox Studied by Banding Techniques. Chromosoma (Berl.). 42, 383-402
- GALLIMORE P.H., RICHARDSON C.R. (1973). An improved banding technique exemplified in the karyotype analysis of two strains of rat. Chromosoma 41, 259-263
- GUSTAVSSON I. (1966). Chromosoma abnormality in cattle. Nature 211, 865-866
- GUSTAVSSON I. (1969). Cytogenetics, Distribution and Phenotypic Effects of a Translocation in Swedish Cattle. Hereditas 63, 68-169
- HSU T.C., BENIRSCHKE K. (1969). An Atlas of Mammalian Chromosomes. Berlin Hiedelberg-New York Vol.3, 140
- SUMNER A.T. (1972). A simple technique for desmostrating centromeric heterochromatin. Expl. Cell Res. 75, 304-306
- SUMNER A.T., BUCKLAND R.A. (1976). Relative DNA contents of somatic nuclei of ox, sheep and goat. Chromosoma 57, 171-175
- WURSTER D.H., BENIRSCHKE K. (1968). Chromosome Studies in the Superfamily Bovoidea. Chromosoma (Berl.) 25, 152-171