

SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA

FILIAL DE L'INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS

COL·LOQUIS - X i XI

X

**GENÈTICA**

•

XI

**LÒGICA I CONFLICTE  
EN ÀREES DE SUPERPOSICIÓ  
DE METODOLOGIES DIVERSES**

BARCELONA

1978



**COL·LOQUIS  
DE LA  
SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA**

**X  
GENÈTICA**

•

**XI  
LÒGICA I CONFLICTE  
EN ÀREES DE SUPERPOSICIÓ  
DE METODOLOGIES DIVERSES**





**SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA**

**FILIAL DE L'INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS**

**COL·LOQUIS - X i XI**

**X**

**GENÈTICA**

**•**

**XI**

**LÒGICA I CONFLICTE  
EN ÀREES DE SUPERPOSICIÓ  
DE METODOLOGIES DIVERSES**

**BARCELONA**

**1978**

**ISBN 84-7283-017-9**

**Dipòsit legal: B. 41.714 - 1978**

***Tallers Gràfics A. Núñez - París, 208 - Barcelona***

*El dia 14 de febrer de 1974 tingué lloc el novè dels Colloquis de la SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA, el qual fou dedicat a la Genètica. La Sessió fou celebrada al Palau Dalmaes, a Barcelona, sota la presidència del DR. RAMON PARÉS i FARRÀS. En fou coordinador el doctor ANTONI PREVOSTI i PELEGRÍN.*

This One



4YHK-1TK-QH69



**X**

**GENÈTICA**



# INTRODUCCIÓ

per **ANTONI PREVOSTI**

Cap del Departament de Genètica. Facultat de Ciències.  
Universitat de Barcelona

Com a introducció a aquesta reunió sobre Genètica, unes poques paraules sobre l'estat actual d'aquesta ciència. Són unes impressions personals, poc preparades i que diré tal com em surtin; per tant no pretenen ser una anàlisi sistemàtica i completa; probablement em deixaré coses importants i en citaré d'altres que no ho són tant.

Per posar una fita precisa direm que des de la presentació del model de l'estructura de l'ADN, per Watson i Crick, l'any 1953, la Genètica ha ocupat un lloc preeminent entre les ciències biològiques. El desenvolupament de tècniques físiques i químiques ha permès d'obtenir coneixements sobre els àcids nucleics i les proteïnes que han servit per a contestar una sèrie de preguntes centrals per a la Biologia. Així va néixer un nou camp de la Genètica, la Genètica molecular. La història d'aquesta en els últims 20 anys constitueix un exemple modèlic de l'aplicació del mètode analític per a l'obtenció de coneixements científics. La conjunció de les tècniques de l'anàlisi genètica amb les de la nova bioquímica ha conduït a una rapidíssima successió de resultats espectaculars, ja que s'ha trobat un material biològic adequat per analitzar-hi els fenòmens més elementals i bàsics que ens planteja el fenomen de la vida. Aquest material han estat els organismes més senzills, és a dir, els procariotes, en especial el sistema que formen els bacteriòfags amb els bacteris. Pel que es refereix al que s'ha aconseguit en aquesta anàlisi, tenim el coneixement de la composició química i l'estructura del material genètic, l'ADN, i de les seves propietats biològiques principals, és allò que porta informació, que la pot transmetre i que la pot acumular en el procés de l'evolució. En gran part, a més, coneixem els mecanismes en què es basen aquests fenòmens. També la investigació dels processos d'actualització de la informació continguda en el material genètic ha estat font de notables descobriments. S'ha vist que aquesta actualització es fa amb un

procés intermediari, la transcripció de l'ADN en ARN, i que és aquest el que després es tradueix en proteïnes. La col·linearitat entre àcids nucleics i proteïnes s'ha pogut precisar definitivament en desxifrar-se la clau genètica i s'ha après molt sobre els mecanismes amb què els ribosomes, els ARNs missatger i de transferència i una sèrie d'equips enzimàtics realitzen la traducció del missatge genètic dels àcids nucleics al llenguatge de les proteïnes utilitzant el diccionari de la clau. En alguns casos, fins i tot tenim coneixements sobre els mecanismes que regulen, desencadenant-los o parant-los, els anteriors processos. El que sabem sobre els operons n'és un exemple.

Els treballs actuals estan perfilant els detalls i omplint els buits que queden en els coneixements anteriors. D'altra banda, les novetats més grans sembla que poden esperar-se, en aquest nivell, dels treballs de seqüenciació i d'hibridació dels àcids nucleics i dels experiments en enginyeria genètica.

És evident que són molts els detalls i fins i tot alguns punts importants que ens queden per desxifrar al nivell de coneixements anterior, però sembla que allò realment important ja està fet. De la mateixa manera que el desenvolupament de la teoria cromosòmica de l'herència, en els seus principals aspectes i conseqüències, es realitzà, en especial, amb els treballs de las dècades de 1920 i 1930 amb la utilització de la *Drosophila* com a material de treball, a les dues dècades darreres s'han obtingut els coneixements fonamentals sobre les bases moleculars de l'herència i, m'atreviria a dir, de la vida, utilitzant els organismes procarïotes. Actualment, les avançades de la investigació genètica estan dirigint els esforços vers nous problemes. Així, per exemple, les qüestions que es refereixen a com es regula el desenvolupament en els organismes superiors ocupen un lloc preminent. Aquest sembla ser l'objectiu que segueix en una seqüència lògica i que deu ésser assequible (encara que això ja fa uns quants anys que es pensa) partint dels coneixements que tenim sobre les bases moleculars dels fenòmens hereditaris. Potser la principal dificultat que es presenta en aquesta línia de treball és el desconeixement de l'estructura molecular real dels cromosomes. Aquest coneixement és indispensable per desxifrar els mecanismes de regulació del funcionament dels gens en els eucariotes, que deuen ser la base dels mecanismes que regulen la diferenciació cel·lular i el desenvolupament.

De moment no s'ha destacat cap organisme com a candidat especialment qualificat per a la investigació del control del desenvolupament. Alguns dels més utilitzats, com l'anur *Xenopus*, tenen l'inconvenient que gairebé no sabem res de la seva Genètica. Altres, com *Drosophila*, dels quals tenim els màxims coneixements genètics, han presentat fins fa poc altres inconvenients com, per exemple, la dificultat de cultivar els seus



teixits. És possible que la solució dels problemes del desenvolupament acabi essent el resultat de les contribucions obtingudes en diferents organismes. No obstant això, s'estan superant algunes de les dificultats del treball amb *Drosophila*, de manera que aquest organisme sembla que pot convertir-se en un dels materials clau pel futur de la Genètica del desenvolupament. Genètics moleculars, com Crick, el consideren l'organisme adequat per a l'anàlisi experimental dels mecanismes de regulació del funcionament dels gens en els eucariotes i diversos equips de treball tenen en curs projectes d'acord amb aquesta idea. D'altra banda, treballs com els de García Bellido i el seu equip estan demostrant les possibilitats que té aquest organisme per a l'anàlisi dels problemes de desenvolupament.

Un altre camp que actualment està en moviment ràpid és el de la citogenètica. Aquí la clau del progrés ha estat la introducció de les tècniques de bandeig, en les seves nombroses modalitats. Molts aspectes de la citogenètica només es podien estudiar, fins ara, en els organismes que, com *Drosophila*, tenen cromosomes gegants politènics. Amb les tècniques de bandeig, sense que es pugui arribar a una anàlisi tan minuciosa i exacta com en els cromosomes gegants, s'obre un camp d'investigació considerable en les espècies que, com l'home, no tenen aquell tipus de cromosomes. Es facilita, i moltes vegades es fa possible, la diferenciació dels elements del cariotip de morfologia i grandària semblants, l'establiment de homologies en les comparacions de cariotips d'espècies diferents, la detecció de canvis estructurals, com les inversions, moltes translocacions, delecions i duplicacions. Això, a part de la informació que algunes de les tècniques de bandeig aportaran sobre l'estructura dels cromosomes, distribució de la heterocromatina, etc.

La genètica del comportament és un altre dels centres d'interès actuals. Per una banda, continuen les inacabables controvèrsies sobre l'herència dels caràcters psíquics, principalment dels intel·lectuals, en l'home, com sempre tenyides d'intenció política. Es treballa també molt en genètica del comportament de mamífers, principalment de rates i ratolins, però la principal novetat en aquest camp és el progrés dels treballs de Benzer. Aquest ha abandonat el treball amb els bacteriòfags i ja fa alguns anys que ha iniciat una dissecció del comportament de *Drosophila* basat en l'estudi de mutants que afecten aquest comportament. La idea directriu d'aquest treball és paral·lela a la de Beadle i Tatum quan es varen proposar fer la dissecció del metabolisme de *Neurospora*, estudiant-hi els mutants bioquímics que bloquegen algun pas de les cadenes metabòliques. Així, p.e., en l'anàlisi de mutants sense fototactisme (mosques anormals que no es dirigeixen cap a la llum) es troba que poden dependre de diferents gens i aquests controlen diferents passos del procés

de resposta. L'estímul lluminós determina l'emissió d'una ona per part de les cèl·lules fotoreceptores, la qual en desencadena un altre a les cèl·lules adjacents de les vies visuals. Hi ha mutants en què no es produeix aquesta segona, mentres que l'emissió per part de les cèl·lules receptores és normal. En altres mutants és l'emissió d'aquestes la que és deficient.

Per acabar, i deixant-nos moltes coses, diguem quelcom de la Genètica de poblacions. En aquesta, l'anàlisi electroforètica de la variabilitat a les proteïnes, tot i les limitacions que té pel fet de no detectar les substitucions d'aminoàcids que no canvien la càrrega elèctrica de la molècula, ha obert noves vies d'anàlisi i ha quedat superada així la marxa lenta, un xic desesperant, que portava aquesta disciplina. Amb la comprovació que les poblacions presenten una considerable variabilitat genètica, manifesta en la variabilitat molecular, la discussió sobre quina quantitat de llast genètic poden suportar les poblacions ha canviat de cara. Ara el punt conflictiu és si la major part de la variabilitat a les proteïnes és neutra o quasi neutra des del punt de vista adaptatiu o bé té un valor selectiu. Els que sostenien que les poblacions no poden mantenir un llast genètic massa gran són ara els neutralistes, i com abans, fonamenten la seva posició en raons teòriques amb l'elaboració de models matemàtics que contradiuen la interpretació que la major part de substitucions d'aminoàcids a les proteïnes tenen valor selectiu. Els seleccionistes són els que fan treball experimental. Les seves proves provenen de l'anàlisi estadística d'experiments de laboratori i de l'observació de poblacions naturals. La dificultat rau en el fet que els dos bàndols aborden el problema lateralment i a un nivell des d'on no poden abraçar tota la seva complexitat. És possible que la solució vingui d'un altre enfoc, potser de l'anàlisi al nivell molecular i funcional de les proteïnes afectades. A part d'aquesta polèmica, l'anàlisi de la variabilitat al nivell molecular ha obert grans possibilitats d'investigació a la Genètica de poblacions. Ara les poblacions naturals de qualsevol espècie poden caracteritzar-se genèticament i, per tant, poden comparar-se des d'aquest punt de vista.

A més, tots els problemes d'estructura genètica de les poblacions poden començar a analitzar-se al nivell del que passa als *loci* individuals, mentre que fins ara només podien ser estudiats estadísticament a partir dels efectes que els genotips tenen al nivell fenotípic, en el qual, a més de no poder-s'hi individualitzar els efectes de cada gen, aquests es confonen amb els de l'ambient. Així, ara és possible, per exemple, veure quins al·lels de cada *locus* estan associats a les diferents ordenacions cromosòmiques produïdes per inversions, si els al·lels dels diferents *loci* presenten equilibri o desequilibri en el lligament i seguir com va canviant l'estructura del genotip en experiments de selecció.

## DISCUSSIÓ

PARÉS. — Està comprovat que l'avanç de les ciències marxa a ritme irregular, de tal manera que hi ha moments que, a pesar del gran nombre d'investigadors, va a poc a poc, sense furnir cap informació revolucionària, fruit d'una polèmica entre punts de vista contradictoris.

¿És possible, dintre de la panoràmica actual de la Genètica, veure punts de vista en conflicte, aspectes contradictoris?

PREVOSTI. — Efectivament, per exemple dintre de la Genètica de Poblacions hi són. Es tracta de la vella polèmica del llast genètic. Els estudis sobre polimorfismes a nivell molecular han demostrat que existia molta més variabilitat de la que es creia.

La controvèrsia actual està entre els teòrics que han elaborat models matemàtics que postulen valors selectius neutres i els experimentals que troben en aquests polimorfismes tenen un valor selectiu. Això és difícil de superar actualment, no sols per les idees, sinó també a causa de les dificultats experimentals ja que, per exemple, de molts enzims no sabem encara quina funció tenen.

Moltes vegades no són les idees el que ens manca, sinó que ens falta trobar la tècnica adequada per a resoldre els problemes. Així, per a la Genètica molecular, l'anàlisi dels sistemes virus-bacteri va ésser molt eficaç. Actualment, la genètica del desenvolupament està una mica encallada, potser perquè està tractant de resoldre els seus problemes imitant a la Genètica molecular, per això es treballa molt en cultius cel·lulars, però la clau possiblement estigui en altres línies de treball, com podria ésser l'anàlisi proposada per Crick per a *Drosophila*.



# NOVES PERSPECTIVES EN LA RECERCA DEL FACTOR S DE *C. INTERMEDIUM C3*

per J. JOFRE, J. GUINEA i R. PARÉS

Departament de Microbiologia. Facultat de Ciències.  
Universitat de Barcelona

Estudis portats a terme al nostre laboratori estableixen a la soca *Citrobacter intermedium C3* la presència d'un element de tipus episòmic el factor S, que es pot presentar en tres alternatives: integrat al cromosoma bacterià, autònom i absent. Segons el nostre model, condiciona l'excreció de glutamat al medi quan es troba en l'estat integrat (vegeu figura 1) <sup>6</sup>.

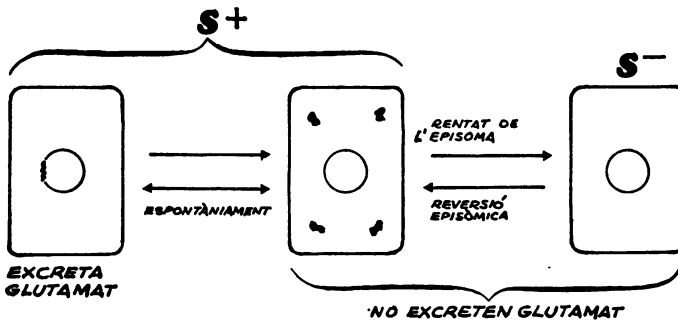


FIG. 1. — Model proposat per al factor S. Presenta tres possibilitats: integració, autonomia, absència. La seva acció sobre l'excreció de glutamat només té lloc quan es troba en l'estat integrat.

Un fet casual ens va proporcionar una via d'investigació que ens ha aportat molta informació nova sobre aquest factor S. A la tasca rutinària de comprovació de soques, després de tractament amb NTG per a l'obtenció de mutants auxotròfiques, varem trobar-nos amb la sorpresa

que, en fer l'estudi de l'excreció de glutamat d'unes mutants auxotrófiques per a la prolina, observàrem que cap de les colònies excretava glutamat.

Aquest tipus de mutants va fer que encaminéssim la nostra tasca a la recerca de noves mutants  $pro^-$  per tal de veure fins quin punt les peculiars propietats que trobàvem en aquella soca es repetien a totes les mutants  $pro^-$ , o bé si, en aquestes mutants que havíem aïllat, hi havia alguna altra mutació responsable d'aquesta manca d'excreció de glutamat i, en cas d'ésser així, fins quin punt i de quina manera devien estar relacionats els *loci* responsables d'aquesta mutació i el *locus pro* i els dos amb el factor S.

Després d'obtingudes unes quantes mutants auxotrófiques per prolina ens trobem amb els tres tipus següents.

El primer tipus és pràcticament idèntic a la soca salvatge de *C. intermedium C3*, almenys pel que es refereix als marcadors genètics que nosaltres utilitzem freqüentment.

El segon tipus és, potser, el més interessant i és el que va fer que ens dediquéssim a l'estudi de les mutants  $pro^-$  de *C. intermedium C3*. Són soques mutants per prolina i que mai excreten aminoàcids al medi, mentre que per totes les altres coses són idèntiques a la soca salvatge de

| SOQUES       | % sg + | O/F   | sf | lac |
|--------------|--------|-------|----|-----|
| S+(sg+ sg-)  | 60-70  | + / + | +  | +   |
| S-(Tipus I)  | 0      | + / - | -  | -   |
| S-(Tipus II) | 0      | + / + | +  | +   |
| S+ sg+       | 99-100 | + / + | +  | +   |

FIG. 2. — Propietats més característiques de diferents soques de *C. intermedium C3* segons la situació del factor S (sg=excreció de glutamat; o/F oxidació/fermentació i sf=sensibilitat al bacteriòfag F1; las=fermentació lactosa).

*C. intermedium C3*, a excepció del temps de generació en medi mínim M1. En iniciar el seu estudi ens va sorprendre molt aquesta semblança, ja que les soques S- (tipus I a la fig. 2) que teníem fins aleshores diferien molt de la *C3* salvatge i, per tant, d'aquesta soca (tipus II a la fig. 2).

Tenint en compte que el model elaborat per al factor S postula que, quant a l'excreció d'aminoàcids, només és actiu quan està integrat i que la seva influència té un lloc al cicle de Krebs a nivell de la iso-

critatdeshidrogenasa<sup>2</sup>, vàrem pensar en quatre possibilitats per a explicar el comportament d'aquestes soques i a la vegada vàrem plantejar tres experiments que havien de donar una solució a la nostra hipòtesi.

1. Que tingués inactivitat el sistema de la glutamat deshidrogenasa, és a dir, que el cicle dels àcids tricarboxílics funcionés igual que a la C<sub>3</sub> salvatge, però que no pogués passar a glutamat des de  $\alpha$ -cetoglutarat. En aquest cas, quant al factor S, que és el que a nosaltres ens interessa, serien soques normals. Si observem la fig. 3 es pot veure com creixent

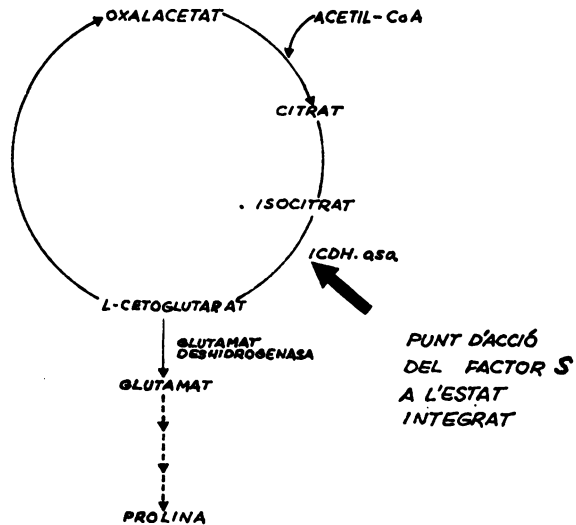


FIG. 3. — Lloc d'acció bioquímica del factor S.

sobre  $\alpha$ -cetoglutarat, l'excreció o no de glutamat ens hauria de donar resposta a aquesta primera possibilitat, que queda exclosa en comprovar que un 100% de les colònies excreten glutamat quan creixen sobre  $\alpha$ -cetoglutarat com a font de carboni.

2. Que tingués el factor S, però només en estat autònom, comportant-se, doncs, com a plàsmid. Això podria ésser si, juntament amb la mutació per prolina, hi hagués hagut algun canvi a la regió d'homologia on s'integra el factor S i per tant no es pogués integrar. D'ésser així, aquesta soca hauria d'ésser capaç de transferir el factor S a *Para-colobactrum intermedium* ATCC 11606 tal i com ho fa la soca salvatge de C<sub>3</sub><sup>2</sup>. Els resultats de l'experiència esquematitzada a la figura 4 ens indiquen que no hi ha transferència a *P. intermedium*.

3. La tercera possibilitat era que realment en aquestes mutants s'hagués eliminat el factor S i ens trobèssim davant de soques S<sup>-</sup>. Si es trac-

tava d'una soca S<sup>-</sup> hauria de rebre el factor S d'altres soques de *C. intermedium* C<sub>3</sub> i per tant tornar a adquirir la propietat d'excretar aminoàcids. Amb experiències de transferència, tal i com es pot veure a la figura 4, trobem una freqüència de l'ordre de 10<sup>-2</sup>. Tinguérem una

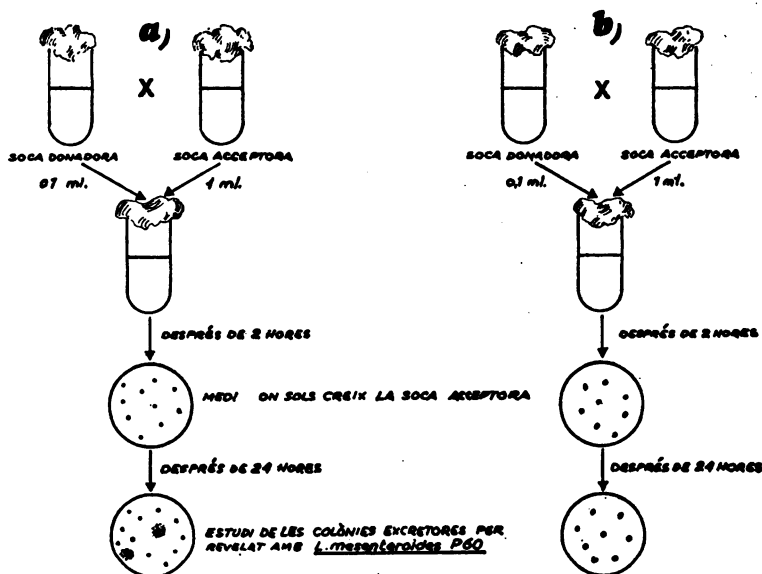


FIG. 4. — Experiències de transferència del factor S.

- a) Utilitzant com a donador una soca S<sup>+</sup> de *C. intermedium* C<sub>3</sub> i com acceptor la soca 3MA<sub>2</sub>.
- b) Com a donador la soca 3MA<sub>2</sub> (pro-) i com acceptor *P. intermedium* ATCC 11606.

nova sorpresa quan en agafar una d'aquestes colònies revertides per a estudiar el seu comportament trobàrem que hi havia un ràpid rentat de la seva capacitat d'excreció (veure fig. 5). Aquest fenomen, que podríem anomenar de reversió abortiva, ens indica que aquestes mutants tenen el sistema responsable de la duplicació del factor S a l'estat autònom danyat. Nosaltres pensem que la DNA-polimerasa pot ésser responsable de la duplicació plasmídica a causa de la proximitat dels *loci pol* (DNA polimerasas) i *pro* al mapa genètic de *E. coli*, encara que se sap que no és l'únic *locus* responsable de l'estabilitat dels episomes a l'estat autònom<sup>5, 3, 7, 9</sup>. Nosaltres direm a aquest *locus eps* (estabilitat del episoma). Per altra banda, aquest ràpid rentat ens dóna una prova molt contundent d'un *locus* d'integració del factor S molt inestable. Experiències segons l'esquema a de la figura 5 ens permeten calcular la velocitat



mínima de desintegració a aquest *locus*, que vindria a ésser de l'ordre de  $5 \times 10^{-2}$  per cèhula i per generació.

4. Per fi, es podria presentar alguna deficiència al factor S d'aquestes soques de manera que no es manifestés la seva presència ni a elles ni a

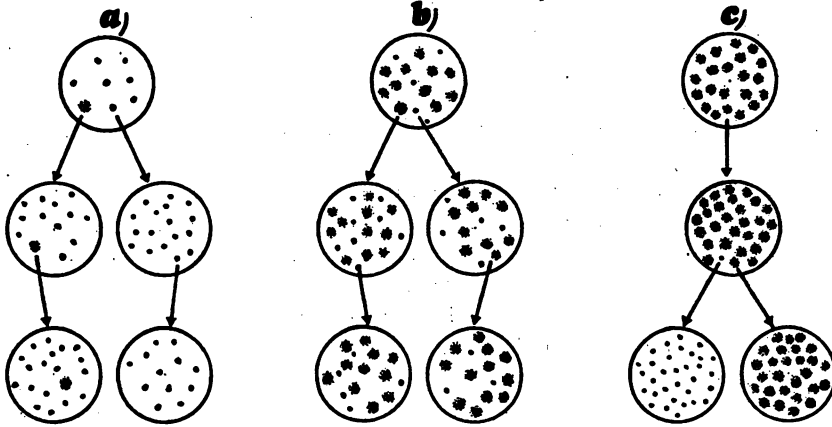


FIG. 5. — Estudi de l'excreció de glutamat a diferents soques de *C. intermedium* C3.

- a) A les soques que presenten reversió abortiva.
- b) A la soca salvatge
- c) A la soca pro-  $S^- sg^+$ .

*P. intermedium* en el cas que no hagués perdut la capacitat de transferir-se. Els resultats de l'experiència anterior eliminen aquesta hipòtesi.

El tercer tipus de mutants auxotròfiques per prolina (tipus  $S^+ sg^+$  fig. 2) pel que respecta a l'excreció de glutamat presenta pràcticament un 100 % de colònies excretors, o sigui que el factor S es trobaria quasi sempre en l'estat integrat. Com mostra l'esquema c de la figura 5, presenta una petita proporció, que no arriba a l'1 % de colònies no excretors, que tenen la peculiaritat que es mantenen no excretors en un 100 % i que, a més, fenotípicament es comporten igual que les soques  $s^-$  que a la figura 2 anomenem de tipus I. Aquest fet ens indica que aquestes soques també deurien tenir lesionat el sistema responsable de l'estabilitat epistèmica al seu estat autònom, i, per altra banda, que deurien tenir el factor S integrat a un *locus* estable diferent de l'esmentat anteriorment. Igualment, segons dades d'experiències del tipus I de la fig. 5, obtenim una velocitat mínima de desintegració de l'ordre de  $1 \times 10^{-4}$  per cèhula i per generació.

L'estudi d'aquestes soques ens aporta unes interessants conclusions que podríem resumir de la següent manera.

Troblem un nou tipus de soques  $S^-$  que fenotípicament difereixen molt poc de la soca salvatge de *C. intermedium* C<sub>3</sub> i que per tant són molt diferents de les soques  $S^-$  que havíem obtingut pels procediments usuals de rentat d'episomes. Cal recalcar, doncs, que tenim dos tipus de  $S^-$  perfectament definits i molt diferents, sense que trobem mai els tipus intermedis, cosa que fa pensar que hi deu haver alguna raó perquè això sigui així, la qual de moment ens és desconeguda.

Es confirma la presència de dos *loci* d'integració amb unes freqüències de desintegració definides que tindrien un valor mínim  $1 \times 10^{-4}$  per al *locus* estable i de  $5 \times 10^{-3}$  per a l'inestable. Pensem que aquest *locus* estable que hem vist a les soques  $pro^-S^+sg^+$  deu ésser el mateix que hom troba a les poblacions enriquides amb elements excretors, ja sigui amb taronja d'acridina o amb estreptomycina.

Tenim raons per pensar que l'obtenció dels dos tipus de  $S^-$  està relacionada amb l'existència d'aquests dos *loci* i que les soques  $S^-$  del tipus I, tan diferents de la soca salvatge de C<sub>3</sub>, s'obtindrien després de desintegració del *locus* estable, el qual alliberaria un veritable factor S'. Les del tipus II serien derivades després de la desintegració del *locus* inestable, del qual estudiis pets de la velocitat de canvi  $sg^+ \rightarrow sg^-$  indiquen que és el més freqüent en una població normal.

Segons les dades experimentals presentades ací es podria pensar que aquest tipus d'integració estable només es dona després de tractament amb agents químics, ja sigui taronja d'acridina, estreptomycina o NTG, però el fet que dintre d'una població natural per selecció amb el bacteriòfag F<sub>1</sub> es puguin obtenir soques  $S^-$  del tipus I ens indica que es troba a les poblacions naturals encara que sigui amb freqüències molt petites. Segurament, el fet que no es seleccionin aquestes formes es deu deure al fet que la integració-desintegració ràpida al *locus* instable té uns clars avantatges adaptatius.

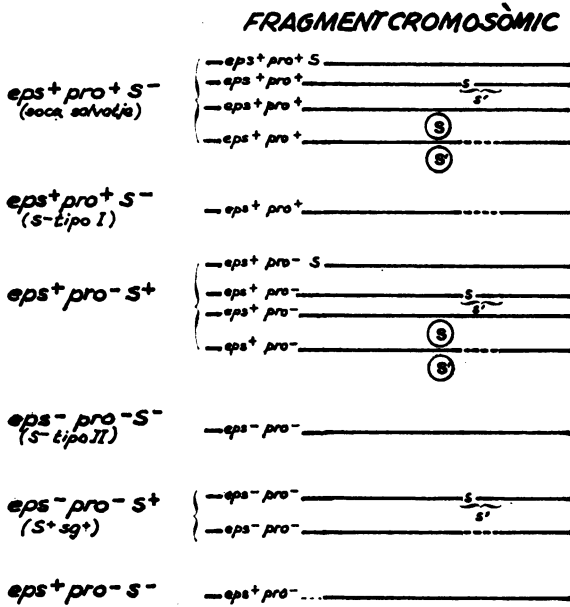
Hi ha algun mecanisme responsable de la duplicació del DNA episòmic a l'estat autònom diferent al responsable de la duplicació del cromosoma i de la duplicació del factor S a l'estat integrat.

Aquest *locus* responsable de la duplicació plasmídica el detectem a la majoria de mutants  $pro^-$ , però no a totes, la qual cosa ens indica que aquests dos *loci* presenten un elevat grau de commutació, encara que són independents.

Per altra banda veiem a les experiències de transferència abortiva que el factor S no tragina el sistema responsable de la seva duplicació, fet que també sembla que es dona en els altres plàsmids i episomes, és a dir, que el fet que una soca bacteriana determinada tingui o deixi de

tenir un plàsmid no depèn del fet que hagi tingut l'oportunitat d'adquirir-lo, sinó del fet que sigui capaç de mantindre-l al seu interior.

A manera de resum presentem l'esquema 1, on es poden veure els diferents genotips en allò que es refereix als seus gens *eps*, *pro* i al comportament del factor S a *C. intermedium* C<sub>3</sub>.



ESQUEMA I. Genotips que es poden presentar a *C. intermedium* C<sub>3</sub> pel que respecta als loci *eps* (responsables del manteniment del factor S) *pro* i al factor S.

El genotip de C<sub>3</sub> salvatge seria, doncs, *eps*<sup>+</sup>, *pro*<sup>+</sup>, S<sup>+</sup> amb un equilibri precís de formes amb el factor S integrat a dos loci diferents i formes amb el factor S autònom que en algun cas seria un veritable factor S'.

El genotip de les soques S<sup>-</sup> tipus I, seria *eps*<sup>+</sup>, *pro*<sup>+</sup>, S'<sup>-</sup>; juntament amb el factor S hauria perdut una part important del cromosoma.

El genotip *eps*<sup>+</sup>, *pro*<sup>-</sup>, S<sup>+</sup> seria en tot semblant a C<sub>3</sub> salvatge excepte pel que es refereix a l'auxotrofia per prolina.

El de les S<sup>-</sup> tipus II, seria *eps*<sup>-</sup>, *pro*<sup>-</sup>, S<sup>-</sup>; el factor S l'haurien perdut, pràcticament sol, sense arrossegar una part important del cromosoma.

Finalment, ens trobem amb el genotip de les soques *pro*<sup>-</sup>S<sup>+</sup>sg<sup>+</sup> que serien *eps*<sup>-</sup>, *pro*<sup>-</sup>, S<sup>+</sup> amb el factor S integrat a un locus estable i que quan es perd s'emporta un tros important del cromosoma bacterià.

Així, doncs, de totes les possibilitats que es poden presentar respecte a aquests dos loci i el factor S experimentalment, tan sols ens falta per trobar la *eps*<sup>+</sup>, *pro*<sup>-</sup>, S<sup>-</sup>. Experiències recents de transferència aco-

plada *Spro* d'elevada freqüència ens fan pensar que el factor S quan s'allibera del *locus* d'integració inestable deu arrossegar quasi sempre el gen *pro*. Aquest fet està d'acord amb el que passa algunes vegades al factor F d'*E. coli*. Aquesta identitat de *locus* d'integració entre el factor F d'*E. coli* i el S de *C. intermedium* podria induir a pensar en el factor S com un factor de sexualitat. De tota manera tenim resultats experimentals que indiquen que el factor S a *C. intermedium* C<sub>3</sub> no és equivalent a les Hfr d'*E. coli*.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BROOKS LOW, K. — *Escherichia coli* K-12 F-Prime Factors, Old and New. «Bacteriological Reviews», 36: 587-607 (1972).
2. GUINEA, J. i PARÉS, R. — *Transferencia interespecifica del factor episómico que condiona la segregación de glutamato en C. intermedium C<sub>3</sub>*. «Anales de la Estación Experimental Aula Dei». 9: 287-296 (1969).
3. GOEBEL, W. i SCHREMPF, H. — *Replication of the minicircular DNA of E. coli 15 is Dependent on DNA polymerase I but Independent of DNA polymerase III*. «Biochemical and Biophysical (Research Communications)». 49: 591-601 (1972).
4. HERNÁNDEZ, S. — *Segregación de Glutamato en Citrobacter intermedium C<sub>3</sub> como propiedad determinada por la presencia de un factor episómico*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona (1969).
5. KINGSBURY, D. T. i HELINSKI, D. R. — *DNA polymerase as a requirement for the maintenance of the bacterial plasmid colicinogenic factor Ex*. «Biochemical and Biophysical (Research Communications)». 41: 1538-1544 (1970).
6. PARÉS, R. — *El Factor S de Citrobacter intermedium C<sub>3</sub>*. Real Academia de Farmacia de Barcelona. Sesión Inaugural (1973).
7. TAYLOR, A. and TROTTER, C. — *Linkage Map of Escherichia coli Strain K-12*. «Bacteriological Reviews». 36: 504-524 (1972).
8. URGELL, J. — *Drenaje del ciclo del ácido cítrico por efecto de un factor episómico*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona (1970).
9. YAMAGATA, H. and UCHIDA, H. — *Chromosomal Mutations affecting the Stability of Sex-Factors in Escherichia coli*. «Journal of Molecular Biology». 73: 281-294 (1972).

#### DISCUSSIO

DOMINGO. — Quin és el control de seguretat de la puresa de cultiu?; es fa contínuament?

JOFRE. — Treballem sempre amb soques marcades per un parell de marcador cromosòmics.

PARÉS. — La manera absolutament crítica és marcar amb dos o tres marcadors cromosòmics les soques que s'utilitzen. No es pot pensar que tots tres mutin simultàniament al normal.

Potser seria interessant afegir que el factor S, quan està col·locat en el *locus* més estable, en separar-se'n s'emporta un tros gros de cromosoma; segons els estudis de Prieto, es troba, a més a més, una alteració en la proporció de bases. C/G.

JOFRE. — Varia de 56 a 46.

PARÉS. — Hi ha evidències de transducció fàgica en el factor S.

JOFRE. — Això ho trobo molt optimista.



**ESTUDIS SOBRE LA PERMEABILITAT DE  
LES PARETS CEL·LULARS A *SALMONELLA TYPHIMURIUM*  
I EL SEU EFECTE EN L'EXPRESSIÓ FENOTÍPICA  
DE MUTACIONS**

per R. GUERRERO, F. CARRETERO i E. HERRERO

Departament de Microbiologia. Facultat de Ciències.  
Nova Universitat Autònoma de Barcelona

La soca de *S. typhimurium* JLL301, posseïdora de la mutació *tmf*, té un requeriment molt elevat de timidina (20-40 µg/ml). Aquest requeriment és el mateix que el de la soca paterna, JLL205, mancada de la mutació anterior.

JLL205 presenta una paret cel·lular modificada, tal com semblen indicar els següents fets:

1. És resistent al bacteriòfag FO, que només ataca les soques amb paret normal i algunes amb paret modificada.
2. Cultius de JLL205 a la qual s'ha transduït el caràcter *thy*<sup>+</sup> presenten una absorbència a 252 nm molt més gran que la de la soca salvatge LT2, indicant una secreció anormal de bases nitrogenades i derivats.
3. Els mateixos transductants *thy*<sup>+</sup> creixent a plaques de Petri sense timidina permeten, a les mateixes plaques, el creixement de colònies satèl·lits *thy*<sup>-</sup>.

És possible que JLL205 sigui una soca del tipus «rough» amb una paret cel·lular diferent que permet la secreció anormal de timidina al medi. Possiblement aquesta secreció té un doble efecte: l'elevat requeriment de timidina i la manifestació del fenotip *tmf* a les soques mutants derivades.





# SELECCIÓ PER A LA LONGITUD DE L'ALA I VARIACIÓ DE LES FREQUÈNCIES GÈNIQUES ALS SISTEMES D'AL·LOENZIMS DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*

per M. AGUADÉ, J. CUELLO i A. PREVOSTI

Departament de Genètica. Facultat de Biologia.  
Universitat de Barcelona

En seleccionar per a la longitud de l'ala a *Drosophila subobscura*, Prevosti trobà una resposta més gran a les línies seleccionades per ales curtes que per ales llargues; al mateix temps observà que, respecte al polimorfisme cromosòmic, a les línies seleccionades per ales llargues s'afavoria l'heterozigosi mentre que a les d'ales curtes es produïa en realitat una selecció de homozigots per a unes ordenacions específiques, cosa que concorda perfectament amb el que acabem d'exposar respecte a l'aspecte quantitatiu de la resposta a la selecció. D'ací sorgí l'interès per a estudiar el que podria succeir durant la selecció a nivell de *loci* individuals. Aquesta comunicació constitueix una primera part d'aquests experiments.

## MATERIAL I MÈTODES

S'han estudiat quatre *loci* del tercer cromosoma responsable de quatre enzims diferents, atenent dos al·lels de cadascun d'ells que sempre anomenarem ràpid i lent, segons la seva mobilitat electroforètica relativa. Aquests enzims i la seva localització són:

|                                     | Cromosoma | Localització<br>en el mapa<br>genètic |
|-------------------------------------|-----------|---------------------------------------|
| Leucinaminopeptidasa-D (Lap-D)      | III       | 98,3                                  |
| Xantindeshidrogenasa (Xdh)          | III       | 56,6                                  |
| Esterasa-6 (Est-6)                  | III       | 36,8                                  |
| Fosfatasa alcalina larvaria (Aph-1) | III       | 46,3                                  |

Les poblacions estudiades han estat quatre, dues per al primer parell d'enzims i unes altres dues per als darrers.

Sempre s'ha partit de poblacions híbrides a les quals les freqüències inicials dels quatre al·lels eren iguals a 0,5. Per obtenir aquestes poblacions inicials s'utilitzaren soques homozigòtiques complementàries de forma que al creuar-les s'obtingueren heterozigots per als dos *loci*. Aquestes soques heterozigòtiques s'obtingueren mitjançant creuaments consanguinis o bé mitjançant el creuament amb soques de letals equilibrats i portadors de factors supressors de l'entrecreuament.

La PI per a les Lap-D i Xdh era una població híbrida obtinguda a partir de soques que ens va proporcionar el laboratori de Genètica de la Universitat d'Umea.

La PII per a les Lap-D i Xdh s'obtingué, al igual que la PI per la Est-6 i la Aph-1, d'una població capturada al Prat de Llobregat.

Per últim, la PII de Est-6 i l'Aph deriva d'una altra població capturada per a aquest fi a Blanes. Cal destacar que en tots els casos els heterozigots de la generació O ho eren en el que podríem dir posició trans, és a dir, totes les soques homozigòtiques que es creuaren per a obtenir els híbrids eren homozigòtiques per a l'al·lel ràpid d'un enzim i per al lent de l'altre.

Per cada una de les poblacions s'establiren dues rèpliques per a ales llargues i dues per a ales curtes, així com un control sense seleccionar.

La selecció practicada ha consistit a mesurar per a cada línia cent mascles i cent femelles desenvolupats a partir d'ous sembrats a cinc pots per línia i mantinguts a 17 °C. A cada pot es sembren 100 ous a fi de reduir al mínim la competència larvària i la seva influència sobre la mida de l'ala. D'aquests 20 mascles i 20 femelles mesurats per pot es seleccionaren els 4 mascles i les 4 femelles que presentaven les mides màximes o mínimes, segons es tractés de seleccionar per a ales llargues o per a ales curtes. Un cop seleccionats, es col·locaven els mascles i les femelles en pots ponedors per a recollir-ne els ous.

La pressió de selecció és, doncs, equivalent al 20 %. Les línies han estat seleccionades durant nou generacions. Les anàlisis dels aloenzims s'han fet a les generacions 3, 6 i 9, a més d'una altra després de 3 o 7 (segons els casos) generacions de selecció natural.

Els valors que donem corresponen a les freqüències obtingudes a l'anàlisi de 100 individus per cada enzim. Malgrat haver-ho estudiat sempre que ha estat possible, no s'ha trobat diferència significativa entre mascles i femelles.

## RESULTATS I INTERPRETACIÓ

La resposta correlacionada amb la selecció respecte a un caràcter quantitatiu, a nivell de *loci* individuals, pot ajustar-se a un dels quatre models següents:

a) Que sempre que es seleccioni per a un increment del caràcter augmenti la freqüència d'un al·lel, mentre que si es selecciona per a disminució del caràcter augmenta la freqüència de l'altre al·lel. En aquest cas es pot interpretar que el gen considerat té realment una influència sobre el caràcter seleccionat.

b) Que les respostes considerades a l'apartat a) es produeixin, però no sempre, és a dir, només en algunes línies, però no a totes, i que pugui fins i tot passar exactament el contrari d'altres. Això indicaria que a algunes poblacions en els blocs de gens seleccionats es troba algun al·lel del gen estudiat, però que aquest al·lel pot variar d'una població a l'altra. En definitiva, en aquest cas no es tractaria d'una selecció pel valor en sí mateix d'un determinat al·lel del sistema enzimàtic, sinó del seu arrosegament degut al lligament.

c) Pot passar que la resposta sigui sempre la mateixa (en el sentit que sempre sigui afavorit un mateix al·lel) tant en seleccionar per a augment com per a disminució així com també a les línies control. Això seria una evidència de selecció natural que actuaria malgrat la selecció practicada.

d) Per últim pot passar que les respostes siguin totalment arbitràries i no responguin a cap altra raó més que l'atzar.

En el cas de les Est-6 (quadre 1) sembla clar que es pot interpretar com del tercer tipus, és a dir, degut a selecció natural, ja que totes les línies, el control inclòs, presenten un increment de l'al·lel lent. Els resultats obtinguts no són molt llunyans de la freqüència 0,7 per a aquest al·lel, que KOJIMA i YARBOUGH troben a la majoria de casos a les seves caixes de poblacions i que atribueixen a selecció depenent de les freqüències gèniques.

En el cas de la fosfatasa alcalina larvària (quadre 2) el resultat és semblant, és a dir hi ha una disminució general de l'al·lel lent en benefici de la freqüència del ràpid. Com en el cas de la Est-6, això sembla estar d'acord amb les dades que tenim de poblacions naturals segons les quals són més abundants a aquestes poblacions els al·lells que precisament són seleccionats en el nostre experiment, cosa que corroboraria la interpretació que en aquests casos és la selecció natural la que actua.

També resulta interessant destacar la fixació de l'aHel ràpid produïda a les dues línies de selecció per ales curtes a la PII, com passa a les línies d'ales curtes de la PI per les Lap-D i amb les Xdh. És a dir, de sis línies en les quals s'ha produït fixació o quasi fixació, cinc són de selecció per ales curtes, el que vindria a dir que en aquestes línies es produeix homozigosi tot i que pel fet de no trobar-se el *locus* afectat dins d'una inversió és possible la recombinació.

En el cas de les Lap-D (quadre 3) a totes les línies —exceptuant les d'ales curtes de la PII— es produeix un increment del mateix aHel. Cal dir en aquest cas que la rèplica II hauria d'infectar-se, tal com ho indica el brusc increment de la freqüència de l'aHel ràpid de la generació 6 a la 9 i les mides de l'ala que presenten un destacable retrocés respecte al progrés aconseguit durant la selecció.

Quant a la Xdh (quadre 4), els resultats de PI i de PII són oposats, el que pel moment podríem considerar com un cas de la segona alternativa, es a dir, de l'efecte del lligament d'aquest *locus* enzimàtic amb d'altres gens directament responsables de la longitud de l'ala.

Si ens tornem a fixar en el cas de les Est-6 i l'Aph, resulta interessant el fet que a les línies control es conservin bastant iguals les freqüències dels aHels que als heterozigots de la generació base es trobaven al mateix cromosoma. A falta d'un estudi del desequilibri del lligament amb les noves dades que esperem obtindre, interpretem aquest resultat com una evidència del fet que a la selecció artificial, en especial per a ales curtes, es seleccionen recombinants la freqüència dels quals es mantindria baixa a les línies de control.

La primera conclusió general que sembla deduir-se de les dades presentades és que la resposta correlacionada a la selecció per a la longitud de l'ala, en la freqüència gènica dels sistemes d'alloenzims depèn de les característiques del genotip de la població seleccionada. Aquesta conclusió està basada en el comportament paral·lel de les dues rèpliques de la mateixa població, que s'observa en tots els casos. En general, i per les dades de què disposem fins ara, sembla que la selecció natural sigui el principal factor determinant de les variacions de les freqüències dels aHels estudiats, tot i que en un cas —el de les Xdh— sembla que el lligament amb d'altres gens sigui més important.

Per últim, cal destacar que no s'observa en cap cas la situació a), o sigui que la resposta correlacionada pugui explicar-se per un efecte directe de l'enzim estudiat sobre la longitud de l'ala. De fet, sembla lògic que sigui així, puix que aquesta situació només podria manifestar-se en el cas que l'efecte fos considerable. De no ésser així es pot esperar que el possible efecte quedi emmascarat per d'altres factors, com el lligament amb d'altres gens, la selecció natural, canvis aleatoris, etc.

QUADRE 1. — *Freqüències dels al·lels de la Est-6 a les línies seleccionades per a la longitud de l'ala.*

|     | SELECCIÓ PER A ALES LLARGUES |      |        |      |             |      |        |      | SELECCIÓ PER A ALES CURTES |      |        |      |             |    |        |    | CONTROL    |      |             |    |
|-----|------------------------------|------|--------|------|-------------|------|--------|------|----------------------------|------|--------|------|-------------|----|--------|----|------------|------|-------------|----|
|     | POBLACIÓ I                   |      |        |      | POBLACIÓ II |      |        |      | POBLACIÓ I                 |      |        |      | POBLACIÓ II |    |        |    | POBLACIÓ I |      | POBLACIÓ II |    |
|     | Rèp. 1                       |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1      |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1                     |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1      |    | Rèp. 2 |    |            |      |             |    |
|     | r                            | l    | r      | l    | r           | l    | r      | l    | r                          | l    | r      | l    | r           | l  | r      | l  | r          | l    | r           | l  |
| 0   | 50                           | 50   | 50     | 50   | 50          | 50   | 50     | 50   | 50                         | 50   | 50     | 50   | 50          | 50 | 50     | 50 | 50         | 50   | 50          | 50 |
| 3   | 28,5                         | 71,5 | 31,5   | 68,5 | 38,6        | 61,4 | 19,5   | 80,5 | 47,5                       | 52,5 | 50,8   | 49,2 | 33          | 67 | 38     | 62 | 44,5       | 55,5 | 29          | 71 |
| 6   | 35,1                         | 64,9 | 28,5   | 71,5 | 26          | 74   | 13     | 87   | 43,5                       | 56,5 | 36     | 64   | 13          | 87 | 41     | 59 | 34,5       | 65,5 | 27          | 73 |
| 9   | 33,4                         | 66,6 | 26     | 74   | 21          | 79   | 18     | 82   | 38                         | 62   | 32,5   | 67,5 | 37          | 63 | 58     | 42 | 35,9       | 64,1 | 23          | 77 |
| 9+7 | 36                           | 64   | 23     | 77   | 23          | 77   | 24     | 76   | 41                         | 59   | 37     | 63   | 42          | 58 | 45     | 55 | 46         | 54   | 31          | 69 |

QUADRE 2. — *Freqüències dels al·lels de la Aph-1 a les línies seleccionades per a la longitud de l'ala.*

|     | SELECCIÓ PER A ALES LLARGUES |      |        |      |             |      |        |      | SELECCIÓ PER A ALES CURTES |      |        |      |             |    |        |    | CONTROL    |      |             |    |
|-----|------------------------------|------|--------|------|-------------|------|--------|------|----------------------------|------|--------|------|-------------|----|--------|----|------------|------|-------------|----|
|     | POBLACIÓ I                   |      |        |      | POBLACIÓ II |      |        |      | POBLACIÓ I                 |      |        |      | POBLACIÓ II |    |        |    | POBLACIÓ I |      | POBLACIÓ II |    |
|     | Rèp. 1                       |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1      |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1                     |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1      |    | Rèp. 2 |    |            |      |             |    |
|     | r                            | l    | r      | l    | r           | l    | r      | l    | r                          | l    | r      | l    | r           | l  | r      | l  | r          | l    | r           | l  |
| 0   | 50                           | 50   | 50     | 50   | 50          | 50   | 50     | 50   | 50                         | 50   | 50     | 50   | 50          | 50 | 50     | 50 | 50         | 50   | 50          | 50 |
| 3   | 57,5                         | 42,5 | 51     | 49   | 85,5        | 14,5 | 87,5   | 12,5 | 61,5                       | 38,5 | 43,5   | 56,5 | 85          | 15 | 100    | 0  | 57         | 43   | 71          | 29 |
| 6   | 52,1                         | 47,9 | 55,5   | 44,5 | 61          | 39   | 80     | 20   | 69,6                       | 30,4 | 48,5   | 51,5 | 100         | 0  | 100    | 0  | 66         | 34   | 75          | 25 |
| 9   | 64,5                         | 35,5 | 68,1   | 31,9 | 74          | 26   | 83     | 17   | 55                         | 45   | 51,5   | 48,5 | 100         | 0  | 100    | 0  | 60,5       | 39,5 | 64          | 36 |
| 9+7 | 78                           | 22   | 48     | 52   | 54          | 46   | 79     | 21   | 44                         | 56   | 43     | 57   | 100         | 0  | 100    | 0  | 53         | 47   | 59          | 41 |

QUADRE 3. — *Freqüències dels ahels de la LAP-D a les línies seleccionades per a la longitud de l'ala.*

|     | SELECCIÓ PER A ALES LLARGUES |      |        |      |             |      |        |      | SELECCIÓ PER A ALES CURTES |    |        |      |             |      |        |      | CONTROL    |      |             |      |
|-----|------------------------------|------|--------|------|-------------|------|--------|------|----------------------------|----|--------|------|-------------|------|--------|------|------------|------|-------------|------|
|     | POBLACIÓ I                   |      |        |      | POBLACIÓ II |      |        |      | POBLACIÓ I                 |    |        |      | POBLACIÓ II |      |        |      | POBLACIÓ I |      | POBLACIÓ II |      |
|     | Rèp. 1                       |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1      |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1                     |    | Rèp. 2 |      | Rèp. 1      |      | Rèp. 2 |      |            |      |             |      |
|     | r                            | l    | r      | l    | r           | l    | r      | l    | r                          | l  | r      | l    | r           | l    | r      | l    | r          | l    | r           | l    |
| 0   | 50                           | 50   | 50     | 50   | 50          | 50   | 50     | 50   | 50                         | 50 | 50     | 50   | 50          | 50   | 50     | 50   | 50         | 50   | 50          | 50   |
| 3   | 61,8                         | 38,2 | 64     | 36   | 55          | 45   | 73,7   | 24,3 | 95                         | 5  | 64,6   | 35,4 | 57,1        | 42,9 | 48,5   | 51,5 | 58,9       | 41,2 | 51          | 49   |
| 6   | 76,8                         | 23,2 | 67,9   | 32,1 | 70,4        | 29,6 | 81,4   | 17,6 | 100                        | 0  | 77,2   | 22,8 | 17,2        | 82,8 | 19,3   | 80,7 | 58,9       | 41,2 | 51          | 49   |
| 9   | 77,5                         | 22,5 | 78,5   | 21,5 | 57,5        | 42,5 | 85     | 15   | 100                        | 0  | 90,2   | 9,8  | 17,5        | 82,5 | 79,3   | 20,7 | 71,3       | 28,7 | 67,2        | 32,8 |
| 9+7 | 74                           | 26   | 60,1   | 39,9 | 62          | 38   | 88     | 12   | 100                        | 0  | 93,4   | 6,6  | 34,5        | 65,5 | 69     | 31   |            |      | 53          | 47   |

QUADRE 4. — *Freqüències dels ahels de la XDH a les línies seleccionades per a la longitud de l'ala.*

|     | SELECCIÓ PER A ALES LLARGUES |      |        |      |             |      |        |      | SELECCIÓ PER A ALES CURTES |      |        |      |             |      |        |      | CONTROL    |      |             |    |    |
|-----|------------------------------|------|--------|------|-------------|------|--------|------|----------------------------|------|--------|------|-------------|------|--------|------|------------|------|-------------|----|----|
|     | POBLACIÓ I                   |      |        |      | POBLACIÓ II |      |        |      | POBLACIÓ I                 |      |        |      | POBLACIÓ II |      |        |      | POBLACIÓ I |      | POBLACIÓ II |    |    |
|     | Rèp. 1                       |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1      |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1                     |      | Rèp. 2 |      | Rèp. 1      |      | Rèp. 2 |      |            |      |             |    |    |
|     | r                            | l    | r      | l    | r           | l    | r      | l    | r                          | l    | r      | l    | r           | l    | r      | l    | r          | l    | r           | l  |    |
| 0   | 50                           | 50   | 50     | 50   | 50          | 50   | 50     | 50   | 50                         | 50   | 50     | 50   | 50          | 50   | 50     | 50   | 50         | 50   | 50          | 50 |    |
| 3   | 52,9                         | 47,1 | 60,6   | 39,4 | 41,5        | 58,5 | 41,5   | 58,5 | 33,9                       | 66,1 | 40,1   | 59,9 | 73,3        | 26,7 | 62,7   | 37,3 | 49,1       | 50,9 | 63          | 37 |    |
| 6   | 52,5                         | 47,5 | 70,1   | 29,9 | 28          | 72   | 11,5   | 88,5 | 22,1                       | 77,9 | 26,2   | 73,8 | 67,5        | 32,5 | 52     | 48   | 49,1       | 50,9 | 63          | 37 |    |
| 9   | 57,9                         | 42,1 | 73,7   | 26,3 | 30,5        | 69,5 | 41,4   | 58,6 | 12,6                       | 87,4 | 12,3   | 87,8 | 87,2        | 12,8 | 67     | 33   | 53,6       | 46,4 | 78          | 22 |    |
| 9+7 | 51                           | 49   | 89,6   | 10,4 | 35,5        | 64,6 | 34,4   | 65,6 | 22                         | 78   | 9,3    | 90,7 | 50,5        | 49,5 | 49,5   |      |            |      |             | 65 | 35 |

# FENÒMENS RÍTMICS EN POBLACIONS DE *DROSOPHILA SUBOBSCURA* CULTIVADA EN LABORATORI

per R. M. NOGUÉS

Departament de Genètica. Facultat de Ciències.  
Universitat de Barcelona

Presentem la descripció i anàlisi de les fluctuacions rítmiques que manifesten en el cultiu de laboratori les poblacions de *Drosophila subobscura*.

## MATERIAL I MÈTODES

Hem treballat amb les soques R. 68 i Prat de *D. subobscura*. Aquestes soques, provinents respectivament de l'Arrabassada (Barcelona) i del Prat del Llobregat, les cultivàvem en laboratori des de més de tres anys abans de començar les experiències que ací descriuim. D'aquestes soques hem cultivat particularment els mutants «ull cinabri» i «ales ondulades».

Fem servir una variant de la tècnica de cultiu en ampolles successives descrita per BUZZATI-TRAVERSO<sup>3</sup>. Hem usat ampollas de 250 cc de capacitat. El medi de cultiu és el descrit per MONCLÚS<sup>5</sup>. Les ampolles són mantingudes a  $17 \pm 0,5$  °C a l'interior d'una cambra il·luminada artificialment, seguint més o menys els ritmes de la llum solar. Fins a l'actualitat hem controlat prop de 3000 ampolles.

## CONSTATACIÓ DE FENÒMENS OSCIL·LATORIS SINGULARS

En cultivar les poblacions que hem presentat, hom observà oscil·lacions molt fortes i regulars en el nombre d'individus adults de la població.

Els límits d'oscil·lació estan indicats en la taula següent:

| Poblacions | <u>j</u> | <u>k</u> | <u>l</u> | <u>m</u> | <u>n</u> | <u>o</u> | <u>A</u> | <u>B</u> |
|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Màxim      | 3135     | 2885     | 2033     | 2394     | 1985     | 3188     | 3994     | 2705     |
| Mínim      | 46       | 71       | 40       | 40       | 34       | 72       | 118      | 102      |

De fet, sempre apareixen oscil·lacions en les poblacions de *Drosophila* en el laboratori, encara que no en els termes que ací comentem. Els fenòmens oscil·latoris en les poblacions són, d'altra banda, ben coneguts i descrits per a diverses situacions <sup>6</sup>.

En el nostre cas, però, creiem que es presenten singularitats que cal tenir presents.

De cara a concretar les causes d'aquestes oscil·lacions, variàrem algunes condicions de cultiu (grandària, composició del medi, ritme de canvi de la població) i les fluctuacions rítmiques seguiren manifestant-se en tots els casos amb les mateixes particularitats.

#### RITME DEPENDENT DE LA DENSITAT

Les repetides observacions varen anar manifestant que es tractava d'un ritme que es pot qualificar d'endogen a la població, en el sentit que només depèn de la densitat d'ella mateixa. En efecte, es veia que a les ampolles on hi havia hagut una població adulta molt nombrosa apareixen gran quantitat de larves, però, als pocs dies, apareixia també, concomitant amb la forta competència establerta entre les mateixes larves, una contaminació bacteriana i fúngica. El resultat era l'escàs nombre d'individus que arriben a adults en aquesta situació. En canvi, en ampolles on la població havia tingut un nombre reduït d'adults es produïa un creixement normal i sense contaminacions de manera que arribaven a néixer un nombre considerable d'adults. En altres paraules, en el cultiu es produïa una correlació inversa clara entre el nombre d'individus de la generació parental i el nombre d'individus que arriben a adults en la filial.

Per tal de comprovar directament aquest fenomen, independitzant-lo a més, de les possibles influències de les tècniques de canvi de la població, vàrem plantejar una prova concreta al marge del procés de les poblacions.

Es prepararen cultius de diferent densitat en el nombre de progenitors (50, 100, 200, 300, 400, 500, 700, 700). S'utilitzaren individus de la soca Prat + en condicions òptimes de posta d'ous. Les mosques es-



tigueren 4 dies en l'ampolla de posta, dies que coincidien amb els de posta òptima. Després foren retirades de l'ampolla i als 19 dies s'inicià el recompte dels descendents adults de cada cultiu. Es realitzaren 10 rèpliques a cada densitat excepte a 700 (9) i a 900 (7). Els resultats de la prova s'exposen en la taula següent:

|                          |       |       |       |       |      |      |      |      |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|------|
| Densitat parental:       | 50    | 100   | 200   | 300   | 400  | 500  | 700  | 900  |
| Mitjana de fills adults: | 440,6 | 370,6 | 216,5 | 124,9 | 91,8 | 71,4 | 37,3 | 14,2 |

El cas de densitat 900 és una excepció no significativa.

Observant la marxa de les poblacions es comprovà exactament el mateix fenomen de manera general. Aquest fenomen és diferent de les corbes obtingudes per a situacions similars en altres espècies de *Drosophila*.

#### CARACTERÍSTIQUES DEL RITME DEPENDENT DE LA DENSITAT

Entre les principals característiques del ritme que comentem podem assenyalar:

- El període d'oscil·lació del ritme és d'uns dos mesos aproximadament.
- El ritme manifesta una regularitat molt notable fins i tot en comparacions entre poblacions diverses iniciades simultàniament.
- De totes maneres sembla que la coincidència de ritme de poblacions diverses no és signe d'influències exteriors a les característiques de les poblacions, ja que poblacions que estaven en coincidència de fase en un moment donat, poden anar-se desfasant de mica en mica fins a estar en fase oposada.
- El ritme ací descrit presenta certes similituds amb el descrit per PUNTENER<sup>7</sup>, però el gran nombre de setmanes que abasta la nostra prova, ens permet dissentir d'algunes interpretacions d'aquest autor, el qual suposa que les oscil·lacions tendrien a l'equilibri a causa d'un progressiu amortiment i que el sentit ascendent del ritme per ell descrit pot ser degut a una adaptació, mentre que nosaltres creiem que les oscil·lacions no s'amorteixen, i que el sentit ascendent del ritme és més aviat un fenomen estacional, tal com veurem.

## MODIFICACIONS DE VARIABLES SEGONS L'ESTAT DE LA POBLACIÓ

Les fortes oscil·lacions són també la causa de les modificacions periòdiques d'altres variables:

- La velocitat de desenvolupament varia periòdicament en cada població en funció de la densitat. Com més individus adults apareixen en una ampolla, més tarden a néixer, més s'endarrereix el dia de màxima aparició i més es perllonga el temps de desenvolupament. Vegeu, per exemple, sis casos de la població «0»:

| N.º indiv. | 1.ª dia de naixença | Dia de màxima | Duració màxima del temps de desenvolupament |
|------------|---------------------|---------------|---|
| 223        | 18                  | 21            | 25  |
| 406        | 18                  | 21            | 39  |
| 479        | 21                  | 25            | 39  |
| 486        | 21                  | 25            | 35  |
| 911        | 24                  | 32            | 52  |
| 1310       | 25                  | 28            | 56  |

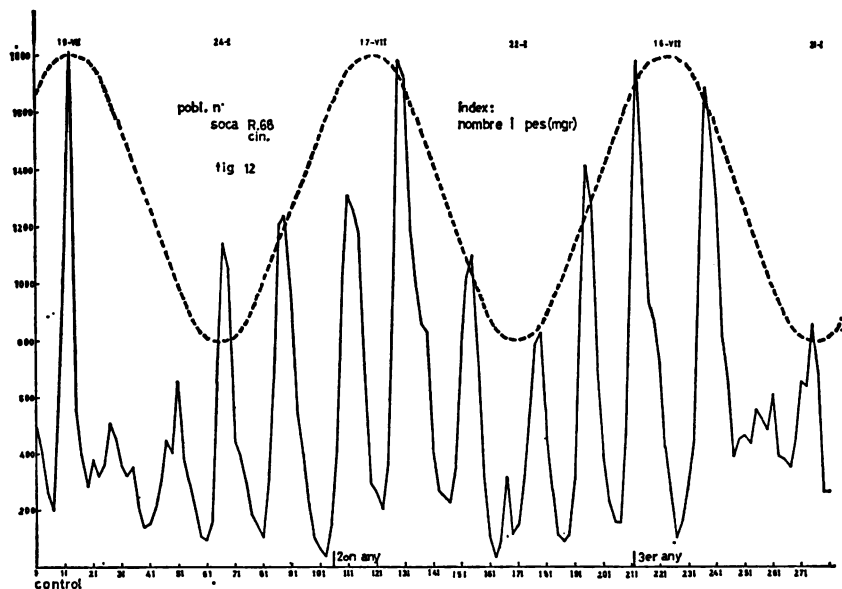
- Varia la relació entre el nombre d'individus i la biomassa, expressada pel pes total de la població en mg. El pes d'un individu adult està sensiblement centrat sobre 1 mg. Això fa que la mesura de la biomassa en mg. sigui comparable amb el nombre d'individus per aconseguir un índex de «fitness». S'observa en general que una població envellida, lògicament pesa més que una de jove. Generalment, el pes d'un individu és alt quan el nombre d'individus és baix, però no sempre és així. Sembla que hi té influència també l'època de l'any. Cap a l'estiu té tendència a créixer el pes per individu, encara que augmenti el nombre d'individus.

## RITME ESTACIONAL SOBREPOSAT AL RITME DEPENDENT DE LA DENSITAT

Al llarg de gairebé tres anys hem pogut arribar a la conclusió que la variació en els màxims del nombre d'individus de la població canvia segons l'època de l'any i està sotmesa també a un ritme que depèn de l'estació. No sembla, doncs, que la variació dels màxims respongui a una progressiva adaptació, com ho creu PUNTENER<sup>7</sup>.

Aquest ritme estacional presenta un màxim anual a l'estiu (juliol) i un mínim a l'hivern (gener).

La superposició d'ambdós ritmes dona lloc a una gràfica que recorda les imatges en fusos d'un oscil·lador. En la gràfica adjunta en veiem un exemple, que mostra, a més a més, les característiques generals que hem estat comentant. L'índex utilitzat és una mitjana per a cada moment



Variació de l'índex de *fitness* (nombre d'individus al que s'aplica un factor de correcció dependent del pes) de la població «n» durant 140 setmanes (280 controls).

entre el nombre d'individus adults de la població i el pes total d'aquesta població expressada en mg.

Sembla ser que aquest estil de fluctuació estacional no coincideix amb la fluctuació que aquesta espècie presenta en la naturalesa.

Finalment, volem indicar que per a la mesura del rendiment o «*fitness*» d'aquestes poblacions es pot recórrer a la grandària o magnitud mitjana —tal com ho fan p. ex. CARSON<sup>4</sup>, AYALA<sup>1</sup> o CANNON<sup>3</sup>— però caldrà tenir present que cal fer les comparacions entre períodes llargs i coincidents en l'època de l'any, o millor entre anys sencers, encara que això lògicament presenta l'inconvenient d'allargar molt les proves.

## BIBLIOGRAFIA

1. AYALA, F. J. — *Relative fitness of populations of Drosophila serrata and Drosophila birchii*. «Genetics» 51: 527-544 (1965).
2. BUZZATI-TRAVERSO, A. A. — *Evolutionary changes of fitness and other polygenic traits in Drosophila melanogaster populations*. «Heredity» 9: 153-186 (1955).
3. CANNON, A. M. — *The effects of heterozygosity and recombination on the relative fitness of experimental populations of Drosophila melanogaster*. «Genetics», 48: 919-942 (1963).
4. CARSON, H. L. — *Heterosis and fitness in experimental populations of Drosophila melanogaster*. «Evolution», 15: 496-509 (1961).
5. MONCLÚS, M. — *Distribución y ecología de los drosófilidos en España*. «Genética Ibérica», 16: 143-166 (1964).
6. NICHOLSON, A. J. — *The self adjustment of populations to change*. «Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.», 22: 153-172 (1957).
7. PUNTENER, W. — *Wachstum kleiner Laborpopulationen von Drosophila subobscura die sich nach Genotypischer und Karyotypischer Zusammensetzung unterscheiden*. «Genetica», 43: 148-171 (1972).

# DISTÀNCIA GENÈTICA I LA SEVA APLICACIÓ A L'ESTUDI DEL POLIMORFISME CROMOSÒMIC

per A. PREVOSTI, G. ALONSO i J. OCAÑA

Departament de Genètica. Facultat de Ciències.  
Universitat de Barcelona

## SUMMARY

### Genetic distance and its application to study chromosomal polymorphism

*Distances between populations of Drosophila subobscura based on differences in the frequencies of chromosomal arrangements have been estimated using data from 65 populations.*

*The main conclusion drawn from this analysis is that historical as well as adaptive factors are important in explaining the geographical distribution of chromosomal arrangements in D. subobscura.*

*In general isolated populations maintain primitive features in their chromosomal polymorphism. This is reflected in a tendency to similarity between these populations.*

*Also a very sharp effect of geographical barriers is detected in the distribution of chromosomal arrangements.*

*Two main factors are considered responsible for the strong effect that isolation has on geographical distribution of chromosome arrangements. These factors are the non-recurrence of rearrangements and the difficulty of establishing in one population the supergenes originated in another area, because of lack of coadaptation with the gene pool of the recipient population.*

La diferenciació de poblacions pel polimorfisme cromosòmic per inversions té característiques peculiars comparada amb la que depèn d'altres polimorfismes genètics. Són dos els factors que produeixen aquest fet:

1. Les inversions són canvis no recurrents.
2. Les inversions donen origen a supergens en els quals queden reunits gens més o menys coadaptats que fàcilment poden estar sotmesos a coeficients de selecció alts;

a més, això afavoreix el fet que es produeixi superioritat dels heterozigots basada en dominància composta.

En els polimorfismes originats per mutacions recurrents poden aparèixer —en poblacions diferents— al·lèls idèntics. En canvi, quan es troba la mateixa ordenació cromosòmica en poblacions distants, és que entre aquestes s'ha produït migració o flux genètic. Per tant, la distribució geogràfica del polimorfisme per inversions deu estar més influïda que la de gens aïllats per les barreres geogràfiques i dels factors històrics.

*Drosophila subobscura* és una espècie molt convenient per a estudiar aquestes característiques de la distribució geogràfica del polimorfisme cromosòmic. És una espècie comuna i està distribuïda per tot Europa, per sota dels 61° de latitud nord, pel nord d'Àfrica, Àsia occidental i les illes atlàntiques Canàries, Madeira i Açores. Ocupa, per tant, una àrea àmplia, de fisiogeografia complicada i de considerable varietat ecològica i de condicions climàtiques. A més, té polimorfisme per inversions a 5 dels seus 6 parells de cromosomes i són 65 les poblacions de les quals tenim dades. Tot això permet una anàlisi quantitativa del polimorfisme cromosòmic d'aquesta espècie.

Per a realitzar aquesta anàlisi s'ha utilitzat una distància genètica basada en les diferències entre les freqüències de les ordenacions cromosòmiques a les diferents poblacions. Aquesta distància ha estat discutida per PREVOSTI<sup>22</sup> i es calcula per la fórmula:

$$D = \frac{1}{2r} \sum_{j=1}^r \sum_{k=1}^{s_j} \left[ P_{1jk} - P_{2jk} \right]$$

on  $r$  és el nombre de cromosomes diferents considerats (5 en el nostre cas);  $s_j$  és el nombre de ordenacions diferents del cromosoma  $j$ ;  $P_{1jk}$  i  $P_{2jk}$  són les freqüències de l'ordenació  $k$  del cromosoma  $j$  a les poblacions 1 i 2 respectivament. Les dades utilitzades per a aquest treball han estat recollides per diferents autors, que indiquem a continuació:

Dröbak, Noruega (SPERLICH<sup>26</sup>)

Heriot i Dalkeith, Escòcia (KNIGHT<sup>10</sup>)

Gröningen, Holanda (KRIMBAS<sup>12</sup>)

Fontainebleau i Montpellier, França (PREVOSTI, no publicat)

Lagrasse, França (PREVOSTI<sup>17</sup>)

Zürich, Suïssa (BURLA I GÖTZ<sup>9</sup>)

Viena, Àustria (KUNZE-MÜHL *et al.*<sup>13</sup>)

La Corunya, Bilbao, Toro, Huelva i Eivissa, Espanya (DE FRUTOS<sup>5</sup>)

Màlaga i València (Espanya) (PREVOSTI<sup>19</sup>)

- Barcelona (PREVOSTI <sup>18</sup>)  
 Queralbs, Ripollès (PREVOSTI <sup>20</sup>)  
 Guia, Las Mercedes, Esperanza, Las Cañadas, Villaflor, Los Tilos,  
 El Cedro i El Pinar, Illes Canàries (PREVOSTI <sup>21</sup>).  
 Terreiro da Lutta i Curral das Freiras, Illa de Madeira (PREVOSTI,  
 1972)  
 Corte, Còrcega (PREVOSTI, no publicat)  
 Carasco i Alfano, Itàlia (PREVOSTI, no publicat)  
 Formia, Illa de Ponza i Illa de Ventotene, Itàlia (KUNZE-MÜHL i  
 SPERLICH <sup>14</sup>)  
 L'Alguer, Foresta di Burgos i Sette Fratelli, Sardenya (PREVOSTI, no  
 publicat)  
 Illes de Lípari, Itàlia (SPERLICH <sup>25</sup>)  
 Illa d'Ústica, Itàlia (SPERLICH i KUNZE-MÜHL <sup>27</sup>)  
 Fruška Gora, Iugoslàvia (ANDEJELKOVIC i SPERLICH <sup>1</sup>)  
 Tessalònica, Grècia (PENTOS-DAPONTE <sup>15</sup>)  
 Pindos i Parnàs, Grècia (KRIMBAS i ALEVIZOS <sup>12</sup>)  
 Antalya, Silifke, Tars, Bursa, Zonguldak, Samsun i Trebisonda, Tur-  
 quia (GÖTZ <sup>8</sup>)  
 Rasht, Chalus i Shahi, Iran (GÖTZ <sup>8</sup>)  
 Oranim, Israel (GOLDSCHMIDT <sup>6</sup>)  
 Gabés, Tunis (Orangerie i Belvedere), Tabarka i Ain Draham, Tuní-  
 sia (JUNGEN <sup>9</sup>)  
 Tànger, Marroc (GÖTZ <sup>7</sup>)  
 Asni, Essaouira i Agadir, Marroc (PREVOSTI <sup>23</sup>)

### *Efecte de la distància*

Les diferències més grans es troben entre les poblacions del nord d'Europa i les del límit sud de distribució de l'espècie. Amb l'excepció de Gabés (Tuníssia) i Oranim (Israel) (vegeu taula 1) les poblacions que tenen una distància genètica superior a 0,900 són sempre una del límit nord de distribució de l'espècie i l'altra del límit sud. Encara que l'àrea de distribució de *D. subobscura* és molt més dilatada en direcció est-oest, les diferències entre poblacions distants en aquest sentit són molt més petites que entre les distants en sentit nord-sud. Les màximes distàncies nord-sud passen poc dels 4000 kms., mentre que la distància entre les illes Canàries i el nord de l'Iran, que estan en el límit occidental i oriental respectivament, és superior als 6000 kms.

A la taula 2, es donen les distàncies genètiques entre les poblacions que estan separades per més de 4000 kms. Només entre Dröbak (Norue-

TAULA 1. — Poblacions amb distància genètica superior a 0,900

|                                       | Distància<br>genètica | Distància<br>geogràfica<br>(en km) |
|---------------------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| Dröbak (Noruega) - Etna (Sicília)     | 0,941                 | 2.465 *                            |
| Dröbak (Noruega) - Oranim (Israel)    | 0,938                 | 3.479 *                            |
| Dröbak (Noruega) - Tuníssia           | 0,942 *               | 2.605 *                            |
| Dröbak (Noruega) - Marroc             | 0,909 *               | 3.355 *                            |
| Dröbak (Noruega) - Illes Canàries     | 0,928 *               | 4.064 *                            |
| Heriot (Escòcia) { Oranim (Israel)    | 0,930 *               | 3.878 *                            |
| Dalkeith (Escòcia)                    |                       |                                    |
| Heriot (Escòcia) - Tuníssia           | 0,907 *               | 2.369 *                            |
| Gröningen (Holanda) - Oranim (Israel) | 0,906                 | 3.197                              |
| Gabés (Tuníssia) - Oranim (Israel)    | 0,914                 | 2.309                              |

\* Distància mitjana entre les poblacions de les àrees indicades.

TAULA 2. — Distància genètica entre poblacions que disten més de 4.000 kms.

|   |            |       |                         |
|---|------------|-------|-------------------------|
| Dröbak (Noruega) - Illes Canàries               |            | 930 * |                         |
| Heriot (Escòcia) { Nord de l'Iran               |            | 520 * |                         |
| Dalkeith (Escòcia)                              |            |       |                         |
| Gröningen (Holanda) - Shahi (Nord de l'Iran)    |            | 673   |                         |
| Fontainebleau (França) { Shahi (Nord de l'Iran) |            | 561 * |                         |
|   |            |       | Chalus (Nord de l'Iran) |
| Lagrasse (Llenguadoc) { Chalus (Nord de l'Iran) |            | 465 * |                         |
| Montpellier (Llenguadoc)                        |            |       | Shahi (Nord de l'Iran)  |
| Espanya - Nord de l'Iran                        |            | 600 * |                         |
| Huelva { Trebissonda                            | (Anatòlia) | 435 * |                         |
|   |            |       | Silifke                 |
|   |            |       | Tars                    |
|   |            |       | Samsun                  |
| Huelva - Oranim (Israel)                        |            | 670   |                         |
| Sud del Marroc - Anatòlia                       |            | 600 * |                         |
| Sud del Marroc - Nord de l'Iran                 |            | 760 * |                         |
| Sud del Marroc - Oranim (Israel)                |            | 750 * |                         |
| Madeira - Anatòlia                              |            | 540 * |                         |
| Madeira - Nord de l'Iran                        |            | 450 * |                         |
| Madeira - Oranim (Israel)                       |            | 670 * |                         |
| Illes Canàries - Anatòlia                       |            | 590 * |                         |
| Illes Canàries - Nord de l'Iran                 |            | 490 * |                         |
| Illes Canàries - Oranim (Israel)                |            | 650 * |                         |

\* Distància mitjana entre les poblacions de les àrees indicades.





FIG. 1. — Distàncies genètiques des de Las Mercedes (Illes Canàries).  
A fi de fer més curtes les xifres en el mapa, les distàncies s'han multiplicat per 1.000.

ga) i les illes Canàries el principal component de la distància geogràfica és nord-sud, i també només en aquest cas la distància genètica es de més de 0,900. En general, la distància genètica es de més de 0,900. En general, la distància genètica oscilla entre 0,500 i 0,700, encara que en dos casos (sud del Marroc-Oranim i sud del Marroc-nord de l'Iran), és de més de 0,700. Té interès assenyalar que les poblacions de Madeira i les Illes Canàries tenen una distància genètica inferior a 0,500 respecte a les poblacions del nord de l'Iran. Huelva i Antalya (Anatòlia) també tenen una distància genètica de menys de 0,500. El mateix es pot dir de Lagrasse i Montpellier respecte Chalus i Shahi al nord de l'Iran.

*Efecte de l'aïllament*

Segons PREVOSTI <sup>24</sup>, el polimorfisme cromosòmic de *D. subobscura* presenta característiques de primitivisme a les illes Canàries i a Madeira. Es considera que les poblacions d'aquestes illes són poblacions aïllades velles que conserven característiques del període en què varen quedar aïlla-

des. Per això és interessant comparar-les, utilitzant la distància genètica, amb altres poblacions que també hagin pogut estar aïllades.

En el mapa de la figura 1 es donen les distàncies genètiques entre la població de las Mercedes (Canàries) i les altres poblacions estudiades. Les distàncies genètiques entre les poblacions de les illes Canàries i Madeira són petites, mentre que són més altes entre les illes i el sud del Marroc. Això confirma, en termes quantitius, la conclusió de PREVOSTI<sup>24</sup> abans citada.

Les diferències entre les illes i el continent no poden explicar-se per deriva genètica, a causa de la gran semblança entre les illes, incloent-hi la de Madeira, respecte a les Canàries. A més, les poblacions del sud del Marroc presenten característiques africanes que no es troben a les illes. Això es confirma per les distàncies genètiques entre les poblacions del sud del Marroc i Tànger, i del sud del Marroc i Tuníssia. Aquestes distàncies són totes inferiors a 0,400 (vegeu taula 3), mentre que entre el sud del Marroc i les illes són superiors.

Aquesta manca de característiques africanes de les poblacions de les illes reforça la teoria que el seu origen és anterior a l'adquisició de les característiques actuals per les poblacions del continent.

En relació amb aquesta interpretació és interessant fixar-se en el fet que les poblacions més semblants a les de les illes atlàntiques són les de les illes del Mediterrani central. En primer lloc tenim les poblacions de Sicília i illes pròximes (Lípari i Ústica) i segueixen les de Sardenya. Per tant, les poblacions més similars a les illes atlàntiques són les d'una altra àrea aïllada, les illes del Mediterrani central, on la influència continental europea i africana sembla haver-hi arribat amb dificultat.

En altres àrees en les quals es pot esperar que hi hagi actuat l'aïllament, hom troba també una tendència a assemblar-se a les poblacions de les illes de l'Atlàntic. Això s'observa a les poblacions del nord de l'Iran, les quals segons GÖTZ<sup>8</sup>, poden ésser considerades com a marginals i aïllades, ja que presenten distàncies genètiques, respecte a les illes de l'Atlàntic, inferiors a les d'altres poblacions situades a una distància geogràfica més petita, com les de Tuníssia, Grècia, Anatòlia i Israel. També la distància genètica de les illes de l'Atlàntic a les poblacions escoceses és més petita que a les poblacions nord-europees i centre-europees en general, fins i tot incloent-hi la de Fontainebleau, a França.

### *Efecte de les barreres*

Ací discutirem algun cas demostratiu del fet que les barreres geogràfiques, ja siguin als mars o les muntanyes, tenen un efecte considerable en l'augment de la distància genètica entre les poblacions que separen.

TAULA 3.— *L'efecte de l'estret de Gibraltar*

|           | València              | Màlaga                | Huelva                | Tànger                | Asni                  | Essaouira             |
|-----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Màlaga    | 0,187<br>465<br>0,402 |                       |                       |                       |                       |                       |
| Huelva    | 0,202<br>612<br>0,330 | 0,104<br>228<br>0,456 |                       |                       |                       |                       |
| Tànger    | 0,314<br>625<br>0,502 | 0,285<br>160<br>1,781 | 0,296<br>193<br>1,534 |                       |                       |                       |
| Asni      |                       | 0,425<br>720<br>0,590 | 0,415<br>680<br>0,610 | 0,209<br>550<br>0,380 |                       |                       |
| Essaouira |                       | 0,392<br>810<br>0,483 | 0,383<br>810<br>0,532 | 0,215<br>650<br>0,331 | 0,123<br>189<br>0,650 |                       |
| Agadir    |                       | 0,443<br>900<br>0,492 | 0,428<br>825<br>0,518 | 0,228<br>750<br>0,304 | 0,064<br>182<br>0,351 | 0,133<br>135<br>0,992 |

Comparació de poblacions ibèriques amb poblacions del Marroc:

———— Poblacions pròximes a l'estret  
 ===== Poblacions d'un costat de l'estret pròximes a aquest, les del l'atre, llunyanes

Comparació entre poblacions del mateix continent:

———— Poblacions pròximes entre elles  
 ..... Poblacions allunyades entre elles

En aquesta taula i en la següent es donen tres xifres per cada comparació: 1.ª xifra=Distància genètica  
 2.ª xifra—Distància geogràfica en km; 3.ª xifra=Distància genètica × 1000

La correlació entre les distàncies geogràfiques i les distàncies genètiques, no és lineal. El quocient  $\frac{\text{distància genètica}}{\text{distància geogràfica}}$  decreix considerablement quan la distància geogràfica augmenta.

Actualment, estem estudiant aquesta relació, per la qual cosa de moment procurarem comparar distàncies genètiques entre poblacions separades per distàncies geogràfiques similars. Per a facilitar aquesta comparació, a les taules 3 i 4, a més de les xifres corresponents a les distàncies genètiques i geogràfiques en quilòmetres, també s'hi dona la relació  $\frac{\text{distància genètica}}{\text{distància geogràfica}} \times 100$ . Pel fet que no és lineal la relació entre aquestes distàncies, té poc sentit utilitzar-la per a comparar poblacions separades per distàncies geogràfiques diferents.

Les dades de la taula 3 il·lustren l'efecte de l'estret de Gibraltar. Tànger i les poblacions de Màlaga i Huelva a l'altre costat de l'estret, presenten distàncies genètiques entre 2 i 3 vegades més grans que les poblacions separades per distàncies geogràfiques similars, però del mateix continent (vegeu les distàncies Màlaga-Huelva, Asni-Essaouira, Asni-Agadir i Essaouira-Agadir). Si es comparen poblacions més distants, l'efecte de l'estret queda parcialment emmascarat. Això s'explica perquè aleshores aquest efecte s'afegeix a les diferències entre poblacions del continent. Si comparem, però, les distàncies Tànger-València i Màlaga o Huelva-Asni, Essaouira o Agadir per una part, amb Màlaga o Huelva-València i Tànger-Asni, Essaouira o Agadir per una altra, les distàncies genètiques entre les poblacions de diferent costat de l'estret són gairebé dobles.

Per analitzar una barrera de muntanya podem considerar, per exemple, la barrera pirenaica. Tenim dades sobre 4 poblacions situades als dos costats dels Pirineus. Dues poblacions, Queralbs al sud de la serralada i Lagrasse al nord, estan separades per uns 100 kms. Tenim altres dues poblacions, Barcelona uns 100 kms. al sud de Queralbs i Montpeller, aproximadament a 100 kms. al nord-est de Lagrasse (taula 4). La distància genètica és clarament més gran entre les poblacions separades per la serralada. Al costat sud és interessant notar que València, 385 kms. al sud de Queralbs, presenta una distància genètica només de 0,184 respecte a aquella població. També la distància genètica entre Barcelona i Montpeller, separades pels Pirineus, és més gran que entre Barcelona i València (separades 306 kms.) i que entre Montpeller i Fontainebleau (separades 541 kms.) que són respectivament de 0,123 i 0,211.

## DISCUSSIÓ

Hem de fer notar, especialment, que el treball de DOBZHANSKY i la seva escola en diverses espècies de *Drosophila*, tant en poblacions naturals com experimentals, ha acumulat un gran nombre de proves del fet que els polimorfismes cromosòmics a *Drosophila* tenen un valor adaptatiu. L'existència de clines en algunes ordenacions de *D. subobscura* (11, 18) és una indicació del fet que també en aquesta espècie té un valor adaptatiu. El fet que les distàncies genètiques siguin més grans entre poblacions del nord i del sud que entre les separades en sentit est-oest confirma aquesta conclusió. Per tant, en aquest aspecte, l'ús de la distància genètica només confirma una conclusió ja establerta.

Un fet fins ara menys documentat que es deriva de la present anàlisi és la importància dels factors històrics per a la distribució geogràfica del polimorfisme cromosòmic.

Segons s'ha dit a la introducció, només la consideració de l'origen de les ordenacions cromosòmiques fa pensar que els factors històrics han d'ésser importants. Les inversions són canvis pràcticament no recurrents que s'han produït en una sola població. La seva presència en altres poblacions requereix emigració o flux genètic i la situació de la població d'origen, així com les facilitats perquè es produeixi fluxe genètic o migració a altres poblacions, poden ser de gran importància per a la futura distribució geogràfica d'una nova ordenació.

A més, fins i tot, la significació adaptativa d'una ordenació està condicionada pel seu lloc d'origen. El supergen format per una inversió reuneix un conjunt de gens més o menys coadaptats que són eficaços a l'ambient de la localitat en què s'ha produït. Es pot esperar a més, que aquest conjunt de gens tingui influència en el destí futur i la distribució de les inversions. Per tant, consideracions teòriques ens indueixen a pensar que la interacció entre factors històrics i el valor adaptatiu de les ordenacions sembla ésser el principal determinant de la distribució de les ordenacions cromosòmiques.

Tant a les illes atlàntiques, com a les italianes del Mediterrani central, hi ha molta més semblança entre les illes que entre aquestes i els continents veïns. En un treball anterior <sup>24</sup> es va analitzar la situació a les illes atlàntiques i es concloué que a les seves poblacions s'han mantingut característiques primitives. Les comparacions realitzades en el present treball ens permeten donar un significat més general a aquelles conclusions, ja que trobem una situació semblant a les illes del Mediterrani central. La semblança entre les poblacions de les illes de les dues àrees es

una altra prova del primitivisme de les seves poblacions. Les distàncies genètiques, més petites entre les illes atlàntiques i Escòcia que entre les illes atlàntiques i poblacions menys distants de l'Europa continental, són una altra indicació de la mateixa tendència. Finalment, un altre cas reforça també la teoria que l'aïllament contribueix a conservar el primitivisme: la semblança entre les poblacions de les illes de l'Atlàntic i les del nord de l'Iran en el límit oriental de la distribució de l'espècie, les quals, segon Götz <sup>3</sup>, són marginals i estan aïllades.

El quadre general que s'obté de la present anàlisi és que existeixen 2 àrees principals de diferenciació a les poblacions de *D. subobscura* que corresponen a les àrees continentals europea i africana. En subàrees separades per barreres menys fortes es troben diferenciacions més locals, com a la Península Ibèrica o a Israel. Per altra banda, les àrees més aïllades mantenen un primitivisme i tendeixen a tenir ordenacions cromosòmiques més semblants que altres àrees igualment distants, però no aïllades.

La presència d'una inversió en una àrea geogràfica depèn de la probabilitat que apareixi *in situ*, i que arribi d'altres poblacions, però en els dos casos, a més, s'ha d'establir a la població.

Pel fet de tenir la superfície més petita, és menys probable que una ordenació nova apareixi a les illes que no pas al continent; també, la probabilitat que arribin ordenacions d'altres poblacions a les illes està disminuïda per l'aïllament. Lògicament, aquests dos factors deuen contribuir al conservadorisme de les poblacions insulars. No obstant, la consideració de les dades sobre els *Drosophilids* de les illes Hawai <sup>4</sup> fa sospitar que, a més de la poca superfície i l'aïllament, també les dificultats que troben per establir-se les noves ordenacions poden constituir un factor essencial del conservadorisme a les illes.

En els *Drosophilids* de les Hawaii, l'establiment d'inversions ha estat molt més freqüent que a les poblacions insulars de *D. subobscura*. A Hawaii, els factors d'aïllament i l'àrea petita es presenta igualment, i no hi ha raó per a suposar que la probabilitat que es produeixin noves ordenacions sigui més alta allí. En canvi, la biologia dels *Drosophilids* hawaians, especialment el nombre petit d'individus a les seves poblacions, així com la diferent fase evolutiva de les espècies d'aquesta illes comparades amb *D. subobscura* (aquesta és una espècie molt més vella), podria explicar que les noves ordenacions tinguin més probabilitat d'establir-se a Hawaii.

La probabilitat d'una inversió nova d'establir-se en una població vella i gran amb una estructura genotípica ja molt avançada en el procés de coadaptació és, possiblement, molt petita. Així sembla ser, especialment, quan una nova inversió arriba amb immigrants procedents d'altres poblacions. A les àrees continentals, l'establiment d'una nova inversió és més probable, ja que pot passar a poblacions veïnes per fluxe genètic mitjan-

çant un procés lent i continu, que pot permetre que la coadaptació es vagi produint gradualment. A les àrees aïllades, la manca d'aquest flux continu fa que la integració dels gens o supergens portats per immigrants sigui més difícil.

El descens de la viabilitat observat per PREVOSTI<sup>16</sup> a les F<sub>2</sub> de creuaments entre soques de diferent origen geogràfic és una prova experimental del fet que els conjunts de gens de poblacions separades geogràficament presentin una disminució de coadaptació.

Dades similars han estat obtingudes per altres autors en altres espècies<sup>2,28,30</sup>. Una conseqüència lògica d'aquesta disminució de coadaptació és que sigui difícil per a un supergen que s'hagi originat en una població determinada, establir-se en una altra a la qual arribi portat per immigrants. La dificultat d'establiment pot ésser més important que la restricció de la migració per explicar el fort efecte de barreres aparentment dèbils, com l'estret de Gibraltar o els Pirineus.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ANDJELKOVIC, M., SPERLICH, D. — *Inversion polymorphism in a Pannonian population of Drosophila subobscura*. «Egyptian J. Genet. and Cytol.», 2: 144-147 (1973).
2. BRNCIC, D. — *Heterosis and the integration of the genotype in geographic populations of Drosophila pseudoobscura*. «Genetics», 39: 77-88 (1954).
3. BURLA, H., GÖTZ, W. — *Veränderlichkeit des chromosomalen Polymorphismus bei Drosophila subobscura*. «Genetica», 36: 83-104 (1965).
4. CARSON, H. L. et al. — *The evolutionary Biology of the Hawaiian Drosophila*. In HETCH, M. K., STEERE, W. C. — *Essays in Evolution and Genetics in honor of Theodosius Dobzhansky*: 437-544. Amsterdam. North Holland Publ. Company (1970).
5. FRUTOS, R. DE — *Contribution to the study of chromosomal polymorphism in the Spanish populations of Drosophila subobscura*. «Genética Ibérica», 24: 123-140 (1972).
6. GOLDSCHMIDT, E. — *Chromosomal polymorphism in a population of Drosophila subobscura from Israel*. «J. Genet.», 54: 474-496 (1956).
7. GÖTZ, W. — *Chromosomales Polymorphismus in einem Muster von Drosophila subobscura aus Marokko, mit Darstellung der Heterozygotieverhältnisse als Heterozygotiediagramm*. «Z. Vererbungslehre», 97: 40-45 (1965).
8. GÖTZ, W. — *Untersuchungen über den chromosomalen Strukturpolymorphismus in kleinasiatischen und persischen Populationen von Drosophila subobscura Collins*. «Mol. Gen. Genetics», 100: 1-38 (1967).
9. JUNGENT, H. E. — *Inversionspolymorphismus in tunesischen Populationen von Drosophila subobscura Collins*. «Archiv. Julius Klaus-Stift», 43: 3-55 (1968).
10. KNIGHT, G. R. — *Structural polymorphism in Drosophila subobscura Coll. from various localities in Scotland*. «Genet. Res.», 2: 1-9 (1961).
11. KRIMBAS, C. B. — *The genetics of Drosophila subobscura populations. II. Inversion polymorphism in a population from Holland*. «Z. Vererbungslehre», 95: 125-128 (1964).

12. KRIMBAS, C. B., ALEVIZOS, U. — *The genetics of Drosophila subobscura populations. IV. Further data on inversion polymorphism in Greece. Evidence of micro-differentiation.* (Egyptian J. Genet. and Cytol.), 2: 121-132 (1973).
13. KUNZE-MÜHL, E., MULLER, E. i SPERLICH, D. — *Quantitative, qualitative und jahreszeitliche Untersuchungen über den chromosomal en Polymorphismus natürlicher Populationen von Drosophila subobscura in der Umgebung von Wien.* «Z. Vererbungslehre», 89: 635-646 (1958).
14. KUNZE-MÜHL, E. i SPERLICH, D. — *Vergleichende Untersuchungen über den chromosomal en Strukturpolymorphismus in Insel- und Festland-Populationen von Drosophila subobscura.* «Z. Vererbungslehre», 39: 237-248 (1962).
15. PENTOS-DAPONTE, A. — *Qualitative und quantitative Untersuchungen über den chromosomal en Polymorphismus natürlicher Populationen von Drosophila subobscura in der Umgebung von Thessolinki (Griechenland).* «Z. Vererbungslehre», 95: 129-144 (1964).
16. PREVOSTI, A. — *Viabilidad en cruces entre poblaciones de Drosophila subobscura de distinta urocedencia geográfica.* «Publicaciones Inst. Biol. Aplic.», XXVI: 53-60 (1957).
17. PREVOSTI, A. — *Tipos cromosómicos de Drosophila subobscura en una población de Lagrasse (Francia).* «Genet. Ibér.», 16: 1-19 (1964).
18. PREVOSTI, A. — *Chromosomal polymorphism in Drosophila subobscura populations from Barcelona (Spain).* «Genet. Res.», 5: 27-38 (1964).
19. PREVOSTI, A. — *Chromosomal polymorphism in Western Mediterranean populations from Drosophila subobscura.* «Genet. Res.», 7: 149-158 (1966).
20. PREVOSTI, A. — *Efecto de la cordillera pirenaica sobre la distribución geográfica de las ordenaciones cromosómicas de Drosophila subobscura.* «Pirineos», 79-80: 221-228 (1968).
21. PREVOSTI, A. — *Chromosomal polymorphism in Drosophila subobscura Coll. populations from the Canary Islands.* «Genet. Ibér.», 23: 69-84 (1971).
22. PREVOSTI, A. — *Chromosomal polymorphism in Drosophila subobscura populations from the Madeira Island.* «Genet. Ibér.», 24: 11-21 (1972).
23. PREVOSTI, A. — *La distancia genética entre poblaciones.* «Miscelánea Alcobé. (Public. Universidad de Barcelona): 109-118 (1974).
24. PREVOSTI, A. — *Chromosomal inversion polymorphism in the Southwestern range of Drosophila subobscura distribution area.* «Genética», 45: 111-125 (1974).
25. SPERLICH, D. — *Untersuchungen über den chromosomal en Polymorphismus einer Population von Drosophila subobscura auf den Liparischen Inseln.* «Z. Vererbungslehre», 92: 74-84 (1961).
26. SPERLICH, D. — *Chromosomale Strukturanalysen und Fertilitätsprüfung an einer Marginalpopulation von Drosophila subobscura.* «Z. Vererbungslehre», 95: 73-81 (1964).
27. SPERLICH, D. i KUNZE-MÜHL, E. — *Der chromosomale Polymorphismus einer Population von Drosophila subobscura auf der Inseln Ustica im Vergleich mit anderen Inseln und Festlandstanorten.* «Z. Vererbungslehre», 94: 94-100 (1963).
28. VETUKHIV, M. — *Integration of the genotype in local populations of three species of Drosophila.* «Evolution», 8: 241-251 (1954).
29. WALLACE, B. — *Interpopulation hybrids in Drosophila melonogaster.* «Evolution», 9: 302-316 (1955).



# CONTRIBUCIÓ A L'ESTUDI CITOTAXONÒMIC DE LA FLORA DE LES BALEARS. II

per M. ÀNGELS CARDONA i FLORIT

Departament de Botànica. Facultat de Ciències  
Universitat de Barcelona

## SUMMARY

Contribution to cytotaxonomic study of Balearic  
Flora: II.

*Chromosome numbers have been determined for some endemic taxa from the Balearic Islands and for two tyrrhenic species. The following are presumably studied for the first time: Daphne rodriguezii Teixidor,  $2n=18$ ; Phlomis italica L.  $2n=20$ ; and Scrophularia canina L. ssp. ramosissima (Lois.) P. Fourn. var. minoricensis, P. Monts.,  $2n=26$ .*

*The relation between the chromosomic number, the morphological affinities and the area of distribution of the taxa has been investigated.*

*The system of classification introduced by FAVARGER and CONTANDRIOPOULOS<sup>14</sup> is applied to the endemic taxa.*

## INTRODUCCIÓ

Amb el present treball prosseguim l'estudi citotaxonòmic de les plantes de les Balears, especialment de les espècies endèmiques, iniciat l'any 1973.

Una vegada més hem d'agrair a la doctora CONTANDRIOPOULOS, Maïtre de Recherches del C.N.R.S. de Marsella, les seves valioses orientacions i al senyor E. SIERRA, conservador de l'Institut Botànic de Barcelona, els dibuixos dels cromosomes i dels mapes.

Les poncelles que ens han servit per a portar a terme aquest estudi, foren fixades amb alcohol acètic (3:1) directament al camp, pel senyor M. AIZPURÚA i per mi mateixa a Menorca a la primavera i a l'estiu de 1973.

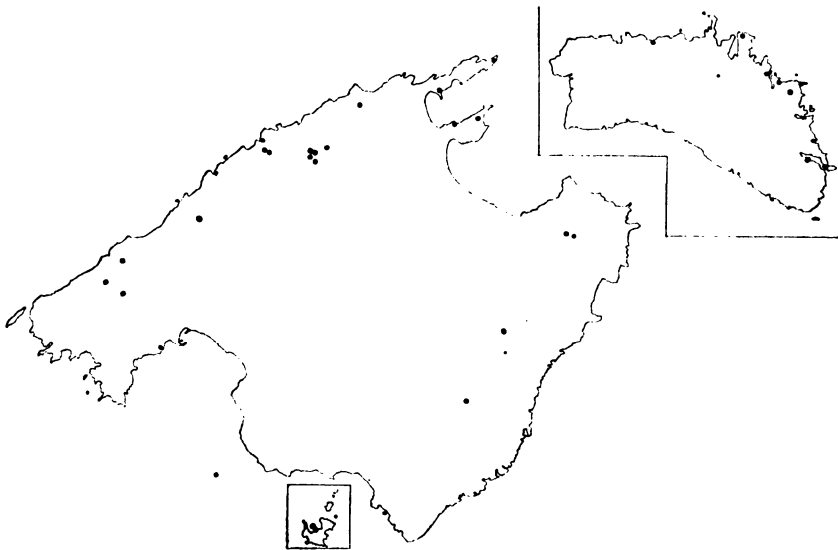
Les plantes testimoni són conservades a l'herbari de l'Institut Botànic de Barcelona.

La tècnica de coloració és la del *squash* al carmí acètic; com a mordents han estat utilitzats el carmí acètic i l'acetat fèrric.

#### RESULTATS CITOLÒGICS

*Astragalus balearicus* Chater (= *A. poteriumm* Vahl.)  $2n = 16$  (fig. 1,6)

*Astragalus balearicus* és una espècie endèmica de Mallorca i de Menorca i força estesa a totes dues illes (cf. mapa n.º 1). Té el seu òptim al *Teucrietum subspinosi*, comunitat formada per petites mates en forma



MAPA N.º 1. — Àrea de distribució d'*Astragalus balearicus* Chater, espècie endèmica de les Balears.

de coixinets espinosos, els «eixorba-rates», pròpia del lapiaz de muntanya de Mallorca i del litoral menorquí i mallorquí.

També trobem *Astragalus balearicus* a una altra comunitat, el *Lau-naetum cerviornis*, formada també per coixinets espinosos, els «so-carrells», però localitzada al litoral batut pel vent salat. En aquest cas,

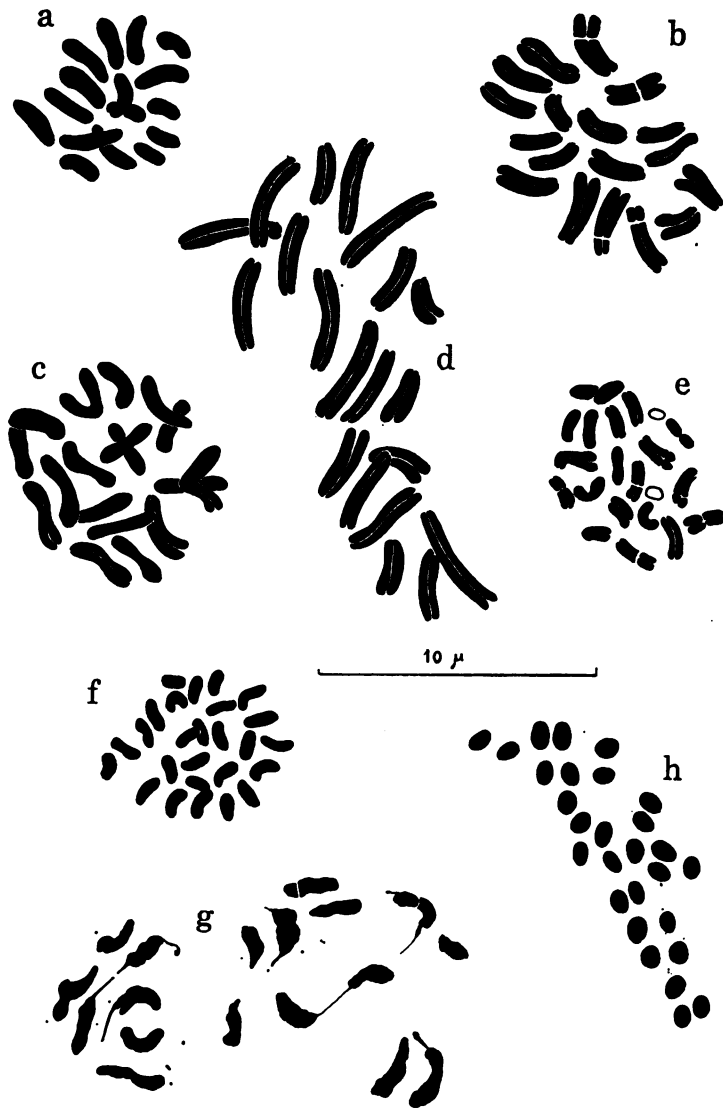


Fig. 1. a. *Astragalus balearicus* Chater  $2n=16$ . Metafase somàtica a l'ovari.  
 b. *Daphne rodriguezii* Teixidor  $2n=18$ . Metafase somàtica a l'ovari.  
 c. *Launaea cervicornis* (Boiss.) Font Quer et Rothm.  $2n=18$ . Metafase somàtica a l'ovari.  
 d. *Phlomis italica* L.  $2n=20$ . Metafase somàtica a l'ovari.  
 e. *Senecio rodriguezii* Willk.  $2n=20+2B$ . Metafase somàtica a l'ovari.  
 f. *Scrophularia canina* L. ssp. *ramosissima* (Lois) P. Fourn, var. *minoricensis* P. Monts.  $2n=16$ . Metafase somàtica a l'ovari.  
 g. *Bellium bellidioides* L.  $2n=18$ . Final de profase somàtica a l'ovari.  
 h. *Euphorbia pithyusa* L.  $2n=28$ . Metafase somàtica a l'ovari.

| ESPECIES, SUBESPECIES<br>I VARIETATS                                    | Distribució<br>geogràfica   | ORIGEN<br>Localitat                                     |
|---|---|---|
| <i>Astragalus balearicus</i><br>Chater<br>(= <i>A.poterium</i> Vabl.)   | End. Mallorca,<br>Menorca i<br>Cabrera  | Mallorca: Forme-<br>tor<br><br>Menorca: Cap<br>Favàritx |
| <i>Daphne rodriguezii</i><br>Teixidor                                   | End. N.E.<br>Menorca i illa<br>d'En Colom   | Illa d'En Colom<br>part occidental                      |
| <i>Launaea cervicornis</i><br>(Boiss.)<br>F.Q. et Rothm.                | End. Mallorca,<br>i Menorca   | Menorca: Cap<br>d'Artruix<br>Menorca: Cap<br>Favàritx   |
| <i>Phlomis italica</i> L.   | End. Mallorca,<br>i Menorca   | Menorca: Mun-<br>nya del Toro,<br>prop del cim          |
| <i>Senecio rodriguezii</i> Willk<br>ex Rodr.                            | End. Mallorca,<br>i Menorca   | Mallorca: Cap<br>Formentor                              |
| <i>Scrophularia canina</i> L.   | Nord.-Med.  | Menorca: Cap<br>Favàritx                                |
| <i>Scrophularia canina</i> L.<br>ssp. <i>ramosissima</i> (Lois)<br>P.F. | Microendèmica<br>de la costa Nord<br>de Menorca   | Illa d'En Colom<br>part oriental                        |
| var. <i>minoricensis</i><br>P. Monts.                                   |   |   |
| <i>Bellium bellidioides</i> L.  | Med.-tirrènica<br>(Balears, Còrsega<br>i Sardenya)  | Illa d'En Colom<br>part occidental                      |
| <i>Bellium bellidioides</i> L.<br>var. <i>nivale</i> Req.               | End. Còrsega  | Còrsega: Pozzì-<br>del Renoso                           |
| <i>Euphorbia pithyusa</i> L.  | Med.-tirrènica<br>(Balears, Còrsega,<br>Sud de França,<br>Sardenya, Sicília,<br>costa W d'Itàlia) | Menorca: Cap<br>Favàritx                                |
| <i>Euphorbia pithyusa</i> L.<br>var. <i>ovalifolia</i>                  |   |   |

QUADRE 1

| TERIAL<br>stació                                | n      | 2n             | AUTORS   | Testimonis |
|---|--------|----------------|--|------------|
|   |        | 16             | GUINOCHET 1972                                       | 6605300005 |
| apiatz litoral batut<br>l vent                  |        | 16             | CARDONA  | BC 607608  |
| l silfícic, litoral                             |        | 18             | CARDONA  | BC 611462  |
| roques calcàries, litoral                       |        | 18             | DAHLGREN, KARLSSON<br>i LASSEN 1971                  | MMF 827    |
| apiatz litoral batut<br>l vent                  |        | 18             | CARDONA  | BC 607585  |
| camp abandonat a la<br>dreta de la carretera    |        | 20             | CARDONA  | BC 607590  |
| penya-segat                                     |        | 20             | AFZELIUS 1967<br>DAHLGREN, KARLSSON<br>i LASSEN 1971 | MMF 232    |
| apiatz litoral, als re-<br>manets de les roques |        | 20 + 0-2B      | CARDONA  | BC 610522  |
|   |        | 26             | RODRIGUES 1953, 1956                                 |            |
|   |        | 22, 45, 51     |  |            |
|   |        | 52, 54, 55     | RODRIGUES 1956                                       |            |
|   |        | 56, 58, c. 112 |  |            |
|   | 12, 13 |                | VAARAMA et LEIKAS 1970                               |            |
| bl sorrenc                                      |        | 26             | CARDONA  |            |
| concavitats de les ro-<br>ques litorals         |        | 18             | NEGODI 1936<br>POGLIANI 1969<br>CARDONA              | BC 607591  |
|   |        | 18             | CONTANDRIOPOULOS 1962                                |            |
|   |        | 28             | PERRY 1943, DELAY 1947<br>CARDONA                    |            |
| apiatz litoral                                  |        |                |  | BC 607601  |
|   |        | 36             | HARRISON 1930  |            |
|   |        | 36             | D'AMATO 1939   |            |

*Astragalus balearicus* sòl situar-se a les bandes de vegetació més allunyades del mar, a la subassociació *Santolino-Anthyllidetosum hystricis*.

La preferència d'*A. balearicus* per la roca nua i pelada és força evident.

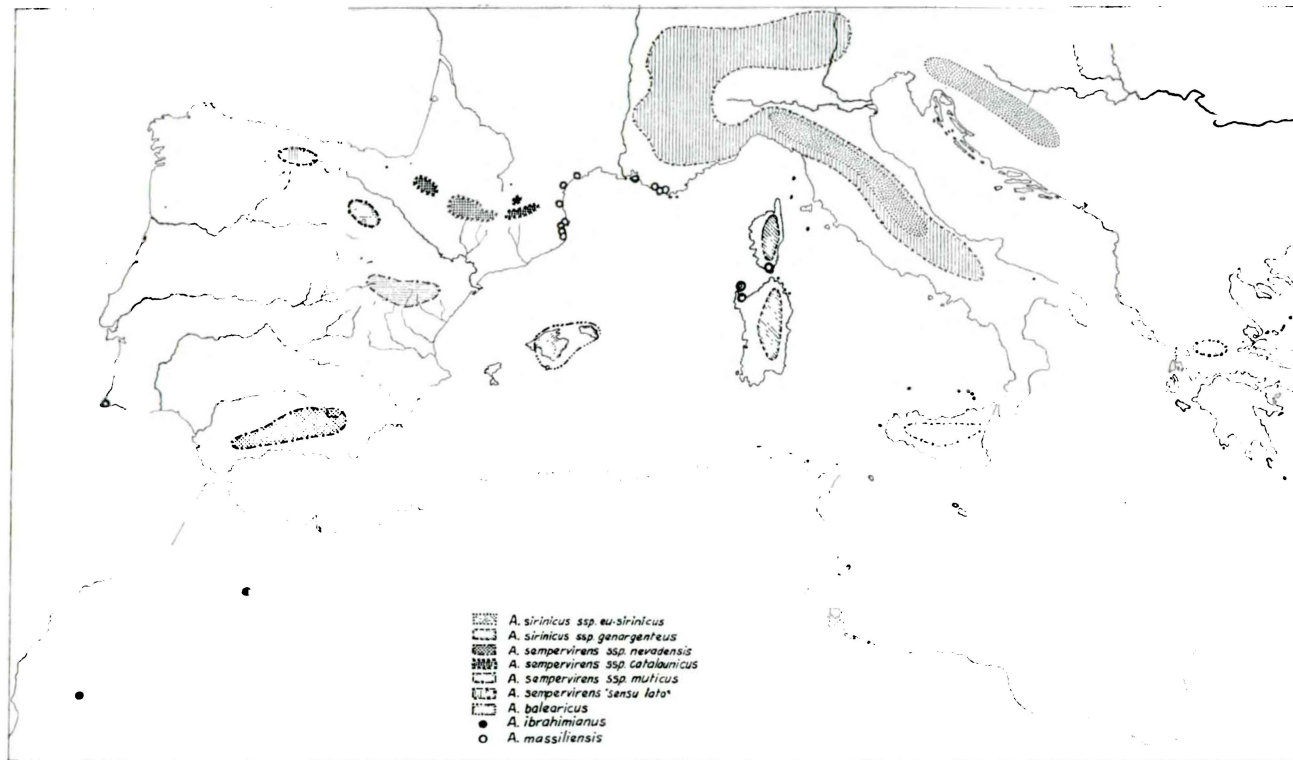
Pertany al subgènere *Cercidothrix* Bunge juntament amb d'altres astràgals del grup *Tragacantha*. Les espècies següents formen pulvínuls espinosos a les formacions xeroacàntiques de la part alta de les muntanyes mediterrànies:

- *Astragalus sempervirens* Lam. *sensu lato* (= *A. aristatus* L'Héri) dels Alps, Itàlia, Sicília, Grècia, Cefalònia.
- *A. sempervirens* Lam. ssp. *nevadensis* (Boiss.) P. Monts. de Sierra Nevada.
- *A. sempervirens* Lam. ssp. *catalaunicus* (P. Monts.) Lainz, dels Pirineus Orientals.
- *A. sempervirens* Lam. ssp. *muticus* (Pau) Rivas-Goday et Borja de les muntanyes ibèriques.
- A les muntanyes cantàbriques hom troba una altra forma pròxima a la ssp. *catalaunicus* però amb flors molt grans, raquis foliar fort i calze amb segments de 6-8 (10) mm. Caldria un estudi morfològic aprofundit per tal d'esbrinar la categoria taxonòmica d'aquesta forma.
- *A. sirinicus* Tem. ssp. *eusirinicus* dels Apenins, Dalmàcia i Montenegro.
- *A. sirinicus* Tem. ssp. *genargenteus* (Moris) Arcangeli, de Còrsega i Sardenya.
- *A. ibrahimiamus* Maire, del Gran Atlas.

Tots aquests tàxons poden ésser considerats com races vicàries.

D'altra banda, i força semblant des del punt de vista morfològic amb les espècies anteriors, tenim *A. massiliensis* Lam. (= *A. tragacantha*. L. pro parte), halòfit del roquissars del litoral mediterrani, on presenta una àrea força fragmentada i discontinua (Catalunya, Provença, Còrsega, Sardenya i Portugal meridional); hi ha, encara, d'altres cites dubtoses i que no hem pogut comprovar: Itàlia, Sicília, Tunísia i Egipte.

I, finalment, *A. balearicus* que, de fet, presenta alhora els dos tipus d'hàbitat anteriorment expressats donat que el trobem a l'alta muntanya mallorquina i a les roques i penya-segats litorals. Morfològicament també té una semblança notable amb els astràgals suara esmentats, especialment amb *A. massiliensis* i *A. sirinicus*. Al mapa n.º 2 hem dibuixat l'àrea de distribució dels tàxons esmentats, tot completant el mapa publicat per J. CONTANDRIOPOULOS <sup>12</sup>.



MAPA N.º 2. — Area de distribució dels diferents astràgals espinosos, segons CONTANDRIOPOULOS modificat.

Hem comptat  $2n = 16$  cromosomes sobre plantes recollides a Menorca, al cap de Favàritx, nombre que coincideix amb el comptat per GUINOCHE i LEFRANC<sup>22</sup> en mostres originàries de Mallorca (Formentor). De les altres espècies citades només coneixem el nombre cromosòmic —també  $2n = 16$ — d' *A. sempervirens* ssp. *catalaunicus*<sup>3</sup>, *A. sirinicus* ssp. *genargenteus*, *A. massiliensis* i *A. sempervirens*<sup>5</sup>.

La igualtat en el nombre cromosòmic i la semblança morfològica fan pensar en un avantpassat comú que s'hauria diferenciat en diversos tàxons estretament relacionats. D'acord amb la classificació dels endemismes establerta per FAVARGER i CONTANDRIOPOULOS<sup>15</sup>, *A. balearicus* pot ésser considerat com a espècie esquizoendèmica.

*Daphne rodriguezii* Teixidor  $2n = 18$  (fig. 1, b)

*Daphne rodriguezii* és un arbust petit, tortuós i poc lignificat, endèmic de la costa nord de Menorca i d'alguns illots veïns, particularment abundant a l'illa d'En Colom (cf. mapa n.º 3).



MAPA N.º 3. — Area de distribució de *Daphne rodriguezii* Teixidor, espècie endèmica de la costa nord de Menorca i d'alguns illots veïns particularment abundant a l'illa d'En Colom.

És una de les espècies característiques de l'*Aro-Phillyreetum*, màquia força particular de la costa menorquina, situada immediatament després de la banda de camèfits halòfils.

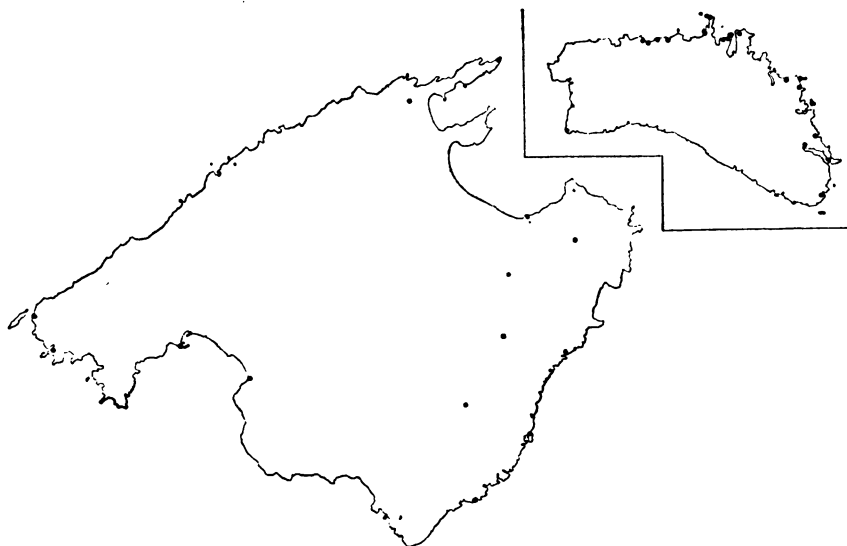
Força diferent des del punt de vista morfològic de les altres espècies del gènere, *D. rodriguezii* pot ésser considerat com una espècie força antiga i constitueix un paleoendemisme relictual.

*D. rodriguezii* és diploide amb  $2n = 18$  cromosomes, com a la major part de les espècies del gènere. Que nosaltres sapiguem, aquest és el primer comptatge fet per a l'espècie i fou efectuat en una mitosi ovàrica obtinguda de poncelles recollides a l'illa d'En Colom. Els cromosomes són grans i gruixuts, un parell és força més gran que els altres i un altre més petit.



*Launaea cervicornis* (Boiss.) Font Quer et Rothm.  $2n = 18$  (fig. 1, c)

*Launaea cervicornis* és un socarrell força dens i ramificat. Sembla que aquesta forma de coixinet espinós adoptada per *Launaea* i d'altres espècies és una protecció eficaç contra el vent. L'espècie és endèmica del litoral mallorquí i menorquí; hi és força abundant a la costa nord i més escadusserament a la resta (cf. mapa n.º 4).



MAPA N.º 4. — Area de distribució de *Launaea cervicornis* (Boiss.) Font Quer et Rothm., espècie endèmica de Mallorca i de Menorca.

*Launaea cervicornis* és una de les espècies característiques del *Launaeetum cervicornis*, associació de camèfits en coixinets espinosos que forma bandes de vegetació més o menys paral·leles a la costa batuda pel vent salat.

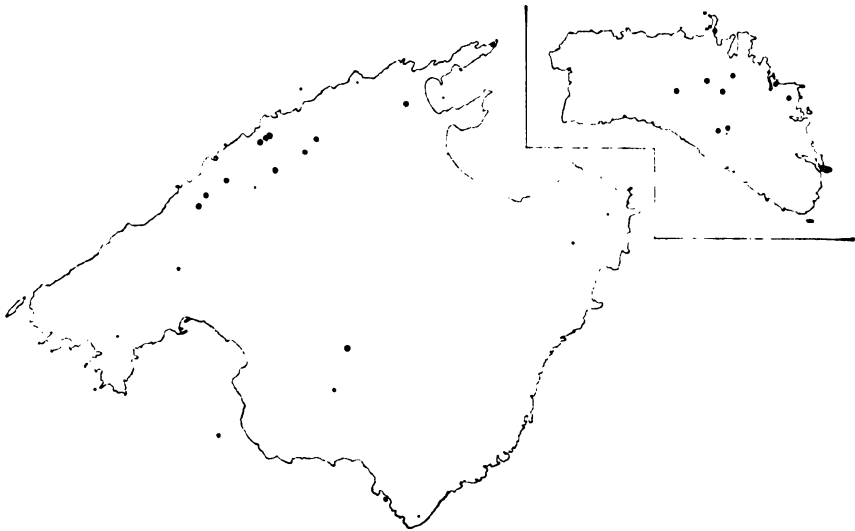
*Launaea cervicornis* té un nombre diploide de cromosomes,  $2n = 18$ , establert en una metafase somàtica a l'ovari. Les plantes estudiades foren recollides a Menorca, cap de Favàritx. Aquest nombre coincideix amb el comptat per DAHLGREN, KARLSSON i LASSEN<sup>13</sup>.

Els cromosomes són més aviat grans, i hom pot distingir-hi tres parells en bastó i sis parells de cromosomes metacèntrics.

Aquesta endèmica de les Gimnèsies és estretament emparentada amb dues *Launaea* més: *L. lanifera* Pau = *L. acanthoclada* Maire amb  $2n = 16$  cromosomes<sup>17</sup> i que s'estén pel SE d'Espanya, l'Àfrica del Nord, Aràbia i, possiblement, arriba a l'illa de Fuerteventura (Canàries) i *L. arborescens* (Batt.) Mur. amb  $2n = 14$ <sup>9,17</sup>, que es troba al SE d'Espanya, a la part occidental de l'Àfrica del Nord i a les illes Canàries. Sembla versemblant que la diferenciació d'aquests tres tàxons hagi anat acompanyada d'una displòidia.

*Phlomis italica* L.  $2n = 20$  (fig. 1, d)

*Phlomis italica* és una mata de rames dretes, cotonoses. Tota la planta és força pubescent, amb pèls llanosos estèhats a les fulles i a la corolla. Espècie endèmica de Mallorca i de Menorca, hi és relativament freqüent (cf. mapa n.º 5); troba el seu òptim als agrupaments de *Phlomis italica*



MAPA N.º 5. — Àrea de distribució de *Phlomis italica* L., espècie endèmica de Mallorca i de Menorca.

i *Poa bulbosa* propis dels sòls trepitjats i nitrogenats, especialment als llocs freqüentats pel bestiar i hi pot dominar. Morfològicament és afí de *P. purpurea* L. del sud, centre i sub-est de la Península Ibèrica i de *P.*

*fruticosa* L. de l'Est de la regió mediterrània fins a Sardenya (Albània, Creta, Grècia, Itàlia, Iugoslàvia, Sardenya i Sicília).

El nombre cromosòmic de *P. purpurea* ( $2n = 20$ ) fou determinat per WAGNER (1948)<sup>5</sup>. Nosaltres hem comptat el mateix, creiem que per primera vegada, sobre poncelles de *P. italica* recollides a Menorca (Muntanya del Toro). *P. fruticosa*<sup>29</sup> també té  $2n = 20$  cromosomes.

El gènere *Phlomis* és caracteritzat per una gran homogeneïtat de nombres cromosòmics; fins ara no s'ha trobat cap cas de poliploïdia. És difícil, doncs, de «classificar» aquest endemisme.

*Senecio rodriguezii* Willk.  $2n = 20 + 0-2 B$  (fig. 1, e)

*Senecio rodriguezii*, la camamià de la mar, és una petita composta de fulles crasses i flors lilacino-purpúries, endèmica de Mallorca i de Menorca. Hom el troba preferentment als replanets i concavitats de les roques i penya-segats litorals des del nivell del mar fins a 50 m d'altitud (cf. mapa n.º 6). És una de les espècies característiques del *Crithmo-Limonion*, primera banda de vegetació litoral.

Pertany al grup de *Senecio leucanthemifolius* Poir. juntament amb els següents tàxons:

- *S. leucanthemifolius* Poir. estès per les roques i sorres litorals del centre i de l'oest de la regió mediterrània.
- *S. crassifolius* Willd. de fulles força crasses i poc o gens lobulades, de l'oest de la regió mediterrània.
- *S. caroli-malvi* Horvatic de lígules molt poc desenvolupades, de les illes de Quarnero (Iugoslàvia).
- *S. pygmaeus* DC. de capitols força petits i flors no ligulades, de Sicília, Gozzo, Cominetto i Lampedusa.

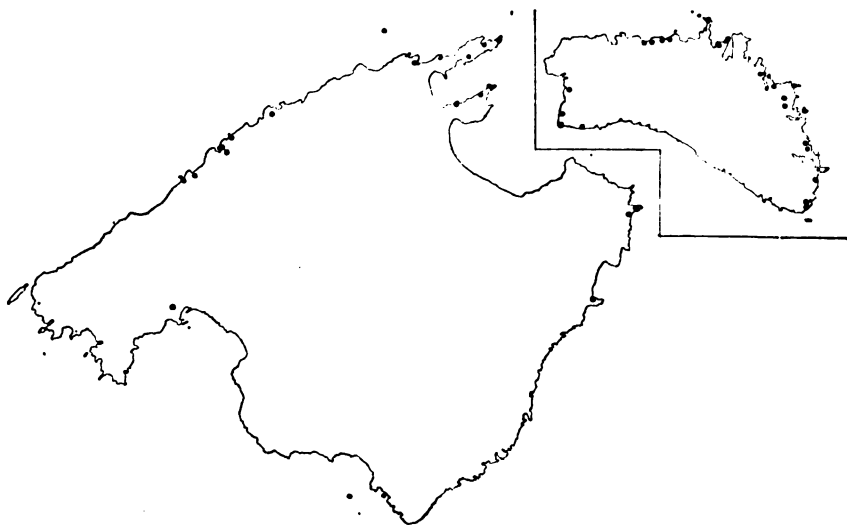
Tots els tàxons del grup *leucanthemifolius* tenen les lígules grogues tret de *S. rodriguezii*.

Pel que fa al nombre cromosòmic vàrem comptar  $2n = 20 + 0-2 B$  sobre poncelles de *S. rodriguezii* recollides a Menorca (cap de Favàritx). Aquest comptatge confirma l'establert anteriorment per AFZELIUS<sup>1</sup> i per DAHLGREN, KARLSSON i LASSEN<sup>13</sup>. Els cromosomes són més aviat petits i en diverses metafases somàtiques a l'ovari observàrem un o dos cromosomes B, per la seva talla clarament més petita, fàcilment diferenciables.

Dels altres tàxons del grup només hem pogut trobar els comptatges següents:

- *S. leucanthemifolius* Poir.  $2n = 20$  (FERNANDES i QUEIROS, 1971)<sup>22</sup>.
- *S. leucanthemifolius* Poir. var. *leucanthemifolius*  $2n = 20$  (FERNANDES i QUEIROS, 1970-71)<sup>22</sup>.

Si hom volgués provar de reconstruir la història d'aquests grups d'espècies caldria veure-hi dues etapes: una primera etapa durant la qual



MAPA N.º 6. — Area de distribució de *Senecio rodriguezii* WILLK., espècie endèmica de Mallorca i de Menorca.

s'hauria diferenciat *S. rodriguezii* el qual podria ésser considerat com un taxon esquizoendèmic de l'avantpassat del grup de *S. leucanthemifolius* i que, degut al seu isolament, hauria evolucionat diferentment. Cal assenyalar que CHODAT<sup>11</sup> considera *S. rodriguezii* com un endemisme de primer ordre.

La segona etapa, durant la qual s'haurien format una sèrie de petites espècies estretament emparentades que graviten al voltant de *S. leucanthemifolius*, és més recent.

*Scrophularia canina* L. ssp. *ramosissima* (Lois.) P. Fourm. var. *minoricensis* P. Monts.  $2n = 26$  (fig. 1, f)

*Scrophularia canina* ssp. *ramosissima* var. *minoricensis* és un microendemisme menorquí descrit per P. MONTERRAT (1970)<sup>8</sup>.

És una de les espècies característiques de l'associació *Ononido-Scrophularietum minoricensis*, comunitat pròpia dels llocs sorrencs de la costa nord de Menorca, especialment de les dunes poc mòbils més aviat allunyades del mar.

STIEFELHAGEN (1910) distingeix dins del gènere *Scrophularia* diferents seccions i subseccions basades en diferències morfològiques, confirmades després per observacions de tipus citotaxonòmic (cf. VAARAMA i HIIRSA-MI<sup>26</sup>).

Segons STIEFELHAGEN, *S. canina* pertany a la secció *Tomiophyllum* subsecció *lucidae*.

TUTIN<sup>27</sup> no diferencia pas seccions dins del gènere; considera *S. canina* sensu lato com un gran grup que inclou diferents espècies, entre elles *S. canina* (*s. stricto*) i *S. ramosissima*.

D'altra banda, BOLÒS, MOLINIER i MONTSERRAT<sup>8</sup> fan, amb *S. canina*, un gran grup que comprèn diverses subespècies, entre les quals la ssp. *ramosissima* amb la varietat endèmica de Menorca, la car. *minoricensis*.

Si bé la var. *minoricensis* sembla força estable com a nombre cromosòmic amb  $2n = 26$ , nombre que varem comptar sobre poncelles recollides a l'illa d'En Colom, no passa el mateix amb d'altres comptatges referents a *S. canina*. RODRIGUES hi ha comptat  $2n = 26$  cromosomes<sup>5</sup>, però també ha determinat tota una gamma de nombres cromosòmics diferents sobre meristemes radicals, a conseqüència de la mixoploidia per ell posada de manifest en aquesta espècie (RODRIGUES, 1956)<sup>5</sup>. Finalment QUEZEL<sup>24</sup>, en plantes d'Àfrica del Nord, dona per a la subespècie *ramosissima* un nombre cromosòmic de  $2n = 40$ .

*Bellium bellidioides* L.  $2n = 18$  (fig. 1, g)

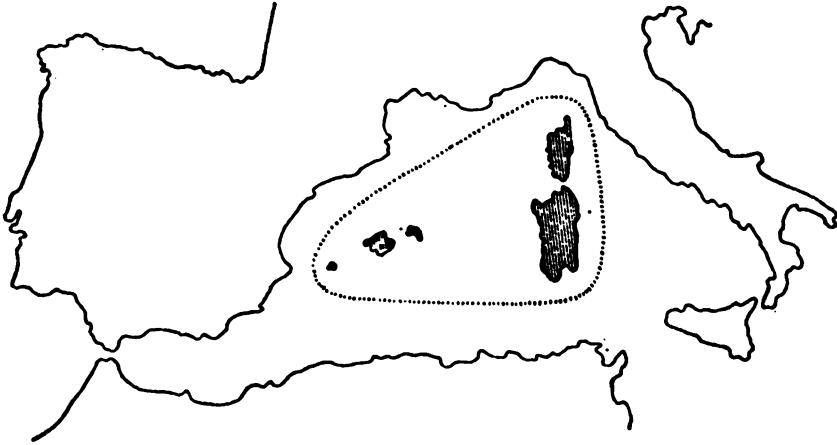
*Bellium bellidioides* és una petita composta perenne, fràgil i delicada; viu a les concavitats i replanets de les roques i penya-segats litorals i té una àrea de distribució tirrènica: hom el troba únicament a les Balears, a Còrsega i a Sardenya (cf. mapa n.º 7).

Les indicacions de la seva presència a la Península Ibèrica són probablement conseqüència de confusions amb una raça pigmea de *Bellis annua* L. del nord de Catalunya (l'Empordà), fet que CADEVALL ja assenyala a la seva *Flora de Catalunya*. Nosaltres creiem que aquest taxon només es troba a les illes tirrèniques, fet que BOLÒS<sup>8</sup> ja havia precisat.

Pel que fa a les afinitats de *B. bellidioides* amb d'altres espècies, creiem que cal pendre en consideració les que presenta amb *B. crassifolium* Moris de Sardenya, que també és perenne, si bé no té les fulles en roseta, ans

alternes; el capítols són més grans i les lígules i les bràctees més nombroses que a *B. bellidioides*.

CHODAT<sup>11</sup> assenyala també l'afinitat de *B. bellidioides* amb *B. crassifolium* de Sardenya i *B. minutum* L. de Limosa, Eubea, Creta i Rodes.



MAPA N.º 7. — Àrea total de distribució de *Bellium bellidioides* L., segons BOLÓS i MOLINIER<sup>7</sup>.

Al nostre parer, l'afinitat amb *B. minutum* és llunyana, ja que aquesta espècie és anual, té els capítols més petits i les fulles tenen el pecíol igual de llarg que el limbe, mentre que a *B. bellidioides* és força més llarg.

*B. bellidioides* és una espècie diploide amb  $2n = 18$  cromosomes. Aquest nombre fou establert sobre un final de profase, en poncelles recollides a l'illa d'En Colom i confirma els comptatges anteriors de NEGODI<sup>5</sup> (1935, 1936), CONTANDRIOPOULOS<sup>12</sup>, POGLIANI<sup>21</sup> i DAHLGREN·KARLEEON i LASSEN<sup>13</sup>.

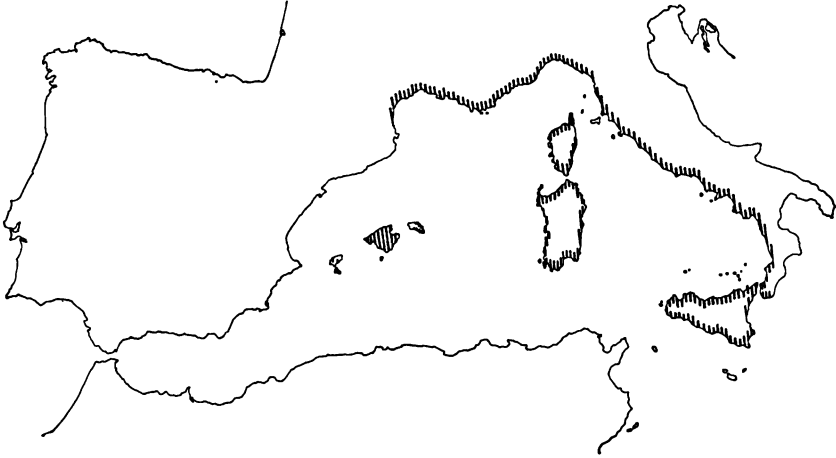
Pel que fa a les altres espècies, *B. crassifolium* és igualment diploide amb el mateix nombre cromosòmic, POGLIANI (1968·1969)<sup>23</sup>. No coneixem el nombre cromosòmic de *B. minutum*.

*Euphorbia pithyusa* L.  $2n = 28$  (fig. 1, h)

*Euphorbia pithyusa* és un camèfit que hom troba preferentment a les comunitats dels roquissars i sorres litorals (a Mallorca també a l'interior). La seva àrea de distribució és mediterràneo-tirrenica, localitzada a la conca

mediterrània nord-occidental: Balears, Còrsega, Sardenya, Sicília i litoral mediterrani des dels Pirineus orientals fins a Itàlia (cf. mapa n.º8).

*E. pithyusa* pertany al subgènere *Esula* Pers. secció *Paralias* Dumort. Segons BRIQUET i DE LITARDIÈRE<sup>10</sup> *E. pithyusa* presenta certes afinitats



MAPA N.º 8. — Area de distribució d'*Euphorbia pithyusa* L.

amb *E. cupani* de Còrsega, Sardenya i Sicília. Diuen aquests autors que: «hom pot distingir *E. cupani* d'*E. pithyusa* per les glàndules del ciati dues vegades més amples i prolongades en corns obtusos (i no reduïdes a una callositat)». No coneixem pas el nombre cromosòmic d'*E. cupani*.

Pel que fa al nombre cromosòmic, hem comptat  $2n = 28$  cromosomes sobre metafases somàtiques a l'ovari en plantes recollides a Menorca (cap de Favàritx). Aquest nombre confirma l'establert per PERRY (1943)<sup>5</sup> i DELAY (1947)<sup>5</sup> i difereix del determinat per HARRISON (1930)<sup>5</sup> i D'AMATO (1939)<sup>5</sup>,  $2n = 26$ . Val a dir que D'AMATO va establir el seu nombre a *E. pithyusa* var. *ovalifolia*.

Els cromosomes són petits i arrodonits.

Tenim, doncs, dues espècies tirrèniques: *Bellium bellidioides* i *Euphorbia pithyusa*; llur àrea de distribució evidencia l'afinitat de les Balears amb l'Orient.

## BIBLIOGRAFIA

1. AFZELIUS, K. — *Chromosome numbers in some Senecioneae*. «Svensk. Bot. Tidskr.», 61: 1-9 (1967).
2. BARCELÓ, F. — *Flora de las islas Baleares*. Palma (1879-1881).
3. BAUDIÈRE, A. i CAUWET, A. M. — *Sur quelques plantes inédites de la flore des Pyrénées-Orientales et des Corbières audoises*. «Naturalia Monspelienisia. Série Botanique», 19: 185-187 (1968).
4. BOISSIER, E. — *Voyage Botanique dans le Midi de l'Espagne. II*. París (1839-1845).
5. BOLKHOVSKIKH, Z., GRIF, V., MATVEJEVA, T. i ZAKHARYEVA, O. — *Chromosome number of flowering plants*. U.R.S.S. (1969).
6. BOLÓS, O. DE — *Grupos corológicos de la flora balear*. «Publ. Inst. Biología Aplicada», 27: 49-71 (1958).
7. BOLÓS, O. DE i MOLINER, R. — *Recherches phytosociologiques dans l'île de Majorque*. «Collectanea Botanica», 5: 699-863 (1958).
8. BOLÓS, O. DE, MOLINER, R. i MONTSERRAT, P. — *Observations phytosociologiques dans l'île de Minorque*. «Acta Geobotanica Barcinonensia», 5: 1-150 (1970).
9. BORGÉN, L. — *Chromosome numbers of vascular plants of the Canary Islands, with special reference to the occurrence of polyploidy*. Nytt. Mag. Bot., 16: 81-121. Oslo (1969).
10. BRIQUET, J. i LITARDIÈRE, R. DE — *Prodrome de la flore Corse*. París (1910-1955).
11. CHODAT, L. — *Contributions à la Géo-Botanique de Majorque*. «Univ. de Genève, Inst. de Botanique. Série 10». :6 Thèse 734. Genève (1924).
12. CONTANDRIOPOULOS, J. — *Recherches sur la flore endémique de la Corse et sur ses origines*. «Ann. Fac. Sciences Marseille» 32. Marsella (1962).
13. DAHLGREN, P., KARLSSON, TH. i LASSEN, P. — *Chromosome numbers in Balearic Angiosperms*. «Bot. Notiser», 124: 249-269 (1971).
14. DARLINGTON, C. D. i WYLJEIW, A. P. — *Chromosome Atlas of Flowering Plants*, London (1955).
15. FAVARGER, C. i CONTANDRIOPOULOS, J. — *Essai sur l'endemisme*. Bull. Soc. Bot. Suisse., 71: 384-408 (1961).
16. FERNÁNDEZ CASAS, J. — *Números cromosómicos de plantas españolas. I*. Cuad. C. Biol., 2 (1): 39-41. Granada (1973).
17. GAGNIEU, A., LINDER, R. i VOGENNREITER, V. — *Caryotypes de la flore insulaire de Tenerife*. Monogr. Biol. Canar., 4: 126-133. Las Palmas (1973).
18. KNOCHE, H. — *Flora Balearica*. Montpellier (1921-1923).
19. LAINZ, M. — *Aportaciones al conocimiento de la flora cántabro-astur*. V. «Bol. Inst. Estudios Asturianos», 10: 147-126 (1961).
20. LÖVE, A. — *I O P B Chromosome number reports*. Taxon, 21: 495-500 (1972).
21. MONTSERRAT, P. — *Plantas de los alrededores de Soria*. «Collectanea Botanica». II: 261-271 (1948).
22. MOORE, R. J. — *Chromosome numbers 1967-1971*, «Regnum vegetabile», 90: 1-539 (1973).
23. POGLIANI, H. — *Cariologia comparata fra, Bellium bellidioides e B. crassifolium Moris*. «Giorn. Bot. Ital.», 103: 628-632 (1969).
24. QUÉZEL, P. — *Peuplement végétal des hautes montagnes d'Afrique du Nord*. «Encyclopédie Biogéographique et Ecologique». 10 (137): 1-463 (1957).
25. RIVAS GODAY, S. i BORJA CARBONELL, J. — *Estudio de la vegetación y flórua del macizo de Gúdar y Javalambre*. An. Inst. Bot. A. J. Cavanilles», 19: 1-550 (1961).
26. RODRÍGUEZ FEMENÍAS, J. — *Flórua de Menorca*, Maó (1904).
27. TUTIN, X., HEYWOOD, Y. ET AL. — *Flora Europaea*. Cambridge (1964-1972).



28. VAARAMA, A. i HIIRSTLMI, H. — *Chromosome studies on some old world species of the Genus Scrophularia*. «Hereditas», 58: 333-358 (1967).
29. ZAFFRAN, J. — *Note sur le genre Launaea Coss. en Afrique du Nord et au Sahara*. Ann. Fac. Sc. Marseille, 39: 195-210. Marsella (1967).

### DISCUSSIÓ

PETITPIERRE. — Respecte als cromosomes B, hi ha alguns treballs on s'indica que sembla que tenen un valor en l'eficàcia adaptativa. Jo he trobat a *Timarcha* petites diferències en el nombre de cromosomes que potser es puguin atribuir a polisomia.

PARÉS. — En els meus primers treballs, sobre comptatges de cromosomes, en oliveres i diferents varietats hortícoles, trobava diferències en el nombre de cromosomes i ho atribuïa a polisomia.

PREVOSTI. — A les plantes, moltes vegades són cromosomes B i no pròpiament polisomia.



ELS COMPLEMENTS CROMOSÒMICS D'ALGUNES ESPÈCIES  
DEL GÈNERE *CHRYSOLINA* MOTS. (COLEOPTERA:  
*CHRYSOMELIDAE*)

per E. PETITPIERRE i VALL

Departament de Genètica, Facultat de Ciències,  
Universitat de Barcelona.

SUMMARY

Chromosomic complements of some species of the genus *Chrysolina* Mots.  
(Coleoptera: Chrysomelidae).

Ten species of the genus *Chrysolina* Mots. have been cytologically analyzed from wild adult individuals by tesis dissection and aceto-orcein squash. Chromosome counts were mainly made at meiotic metaphase I, and at mitotic metaphase secondarily. Six species, *C. americana* L., *C. cerealis* L., *C. femoralis* Ol., *C. gemina* Brullé, *C. menthastri* Suffr., and *C. polita* L., show  $2n=24$  chromosomes, and a sex-determining system of «parachute» type ( $Xy_2$ ) at metaphase I, which is the most typical system of Coleoptera Polyphaga. Two other species, *C. banksi* Fobr. and *C. obsoleta* Brullé have  $2n(\sigma)=23$  chromosomes, and the X-chromosome is unpaired at metaphase I. The principal features of some of these karyotypes evidence a close inter-relationship among these species, since all chromosomes are large or medium size metacentrics or submetacentrics. Presumably, the 23-chromosome species have derived from the 24-chromosomes species by loss of the y-chromosome, among other possible small chromosomal rearrangements. Two differences probably caused by pericentric inversions are detected by comparing the karyotypes of *C. obsoleta* and *C. banksi*. Two other species, *C. carnifex* Fabr. and *C. haemoptera* L., possess a diploid number of 40 chromosomes, many of them of acrocentric or telocentric shape, a fact which favours their probable karyological origin from the previous group by centric fissions as the most important chromosomal rearrangements. These cytological results on *Chrysolina* are in disagreement with some aspects of its current morphological systematics, because our ten species are classified into nine different subgenera. Besides this excessive splitting of the genus our karyological results fit on rather well with food-plant data. All the 23 and 24-chromosomes species, except *C. obsoleta*, feed on Labiatae plants while the high chromosome number species feed on plants belonging to different families. Therefore, the large chromosomal rearrangements evidenced in the origin of these latter species are indirectly correlated with their colonizing capacity on new food-plants.

## INTRODUCCIÓ

Els estudis sobre el nombre i la morfologia dels cromosomes proporcionen sovint dades de gran importància per a la sistemàtica i l'evolució d'espècies incloses dins de les categories taxonòmiques inferiors. Quasi tots els grups d'espècies presenten algun tipus de diferències citològiques que permeten separar-les entre sí. A més, moltes vegades també es poden establir les reordenacions cromosòmiques implicades en els processos d'especiació.

Amb aquesta perspectiva hem realitzat l'anàlisi cariològica de deu espècies del gènere *Chrysolina*, un dels gèneres més nombrosos dels *Chrysomelidae*, ja que conté més de 300 espècies<sup>1</sup>, cosa que ofereix un ampli camp de recerques cromosòmiques relacionades amb la microevolució del gènere.

Els *Chrysomelidae* són una de les famílies de Coleòpters de més gran heterogeneïtat quant al nombre de cromosomes. El valor més petit és de  $2n = 8$ , el més baix trobat fins ara en els Coleòpters<sup>2</sup>, i el més alt és de  $2n (\sigma) = 59$ <sup>3</sup>. Dins la subfamília *Chrysomelinae* a la qual pertanyen les *Chrysolina*, les variacions en el nombre cromosòmic són menys extremes, puix que van des de  $2n = 20$  en moltes espècies del gènere *Timarcha*<sup>3</sup>, fins a  $2n = 40$  a *Phytodecta*<sup>3</sup>, si fem excepció d'algunes *Calligrapha* poliploids que tenen 44 o 48 cromosomes<sup>4</sup>.

## MATERIAL I MÈTODES

En aquest treball hem examinat només exemplars mascles adults, agafats al camp i sacrificats al cap de pocs dies en el laboratori. Una vegada morts els dissecàrem les gònades i les desfèrem sobre un porta-objectes, on, prèviament, havíem posat unes gotes d'orceïna acètica. Finalment, deixàrem tenyir les cèl·lules durant uns quinze minuts i férem un aixafament. Els comptatges de cromosomes els realitzàrem principalment sobre metafases I de la meïosi i en segon lloc sobre metafases mitòtiques.

De les espècies analitzades, la seva procedència i el nombre d'exemplars examinats són els següents: *C. americana* L. (Garraf; 5 exs.), *C. cerealis* L. (Llac Llebrera, Ribagorça; 1 ex.), *C. femoralis* Ol. (La Garriga; Port de Toses i Vall de Llauset; 5 exs.), *C. gemina* Brullé (Tenerife, Canaries; 5 exs.), *C. menthastri* Suffr. (La Garriga; 4 exs.), *C. polita* L. (La Garriga; 2 exs.), *C. banksi* Fab. (El Prat del Llobregat; 4 exs.), *C. ob-*

*soleta* Brullé (Tenerife, Canàries; 2 exs.), *C. carnifex* Fab. (Alió i La Garriga; 6 exs.), i *C. haemoptera* L. (Collsuspina i Vall de Llauset; 3 exemplars).

#### RESULTATS I DISCUSSIÓ

De les deu espècies de *Chrysolina* examinades citològicament, sis espècies, *C. americana*, *C. gemina*, *C. femoralis*, *C. cerealis*, *C. menthastris* i *C. polita*, tenen 24 cromosomes a les metafases mitòtiques de les espermatogònies, i a les metafases I de la meiosi s'observen dotze bivalents que corresponen a la fórmula cariològica de  $11^{II} + Xy$ , amb els cromosomes sexuals associats en «paracaigudes». Les observacions sobre metafases mitòtiques de totes aquestes espècies, exceptuant *C. cerealis* de la qual no obtinguérem dades ens demostraren que tots els cromosomes són de mida gran o mitjana, i metacèntrics o submetacèntrics (figures 1 i 2).

Unes altres espècies, *C. banksi* i *C. obsoleta*, mostren 23 cromosomes a les metafases mitòtiques de les espermatogònies i una fórmula cariològica de  $11^{II} + X$ , és a dir, el cromosoma X no aparellat per manca de cromosoma y (fig. 3). Els cariotips de les dues espècies estan constituïts per cromosomes grans o mitjans, metacèntrics o submetacèntrics. Les úniques diferències cariològiques entre les dues espècies es poden explicar per inversions pericèntriques del parell n. 3 i del cromosoma X (fig. 4). Cal suposar que aquestes dues espècies han derivat de les anteriors per pèrdua del cromosoma y, a part d'altres possibles reordenacions estructurals de categoria semblant a les detectades entre elles. Per altra banda els sistemes de determinació sexual XO semblen no ésser rars entre els *Chrysolinae*, la subfamília que inclou les *Chrysolina*<sup>5, 6, 7</sup>. Les fortes similituds cariològiques entre les vuit espècies de 24 i de 23 cromosomes són, sens dubte, indicadores d'un estret parentiu genètic i també, probablement, d'una mateixa identitat d'origen.

Dues espècies, *C. carnifex* i *C. haemoptera*, tenen un nombre de cromosomes molt més alt que les anteriors, de  $2n = 40$ ; malgrat tot conserven el mecanisme de determinació del sexe típic dels Coleòpters. El  $Xy$ , com a les sis primeres espècies. Quasi tots els cromosomes de *C. carnifex* són telocèntric segons poguérem observar en unes poques metafases mitòtiques, el que sembla indicar que les fissions cromosòmiques han jugat un paper primordial a l'origen citològic d'aquesta espècie. En el cariotip de *C. haemoptera* s'observen un mínim de quatre parells de cromosomes acrocèntrics, mentre els altres són metacèntrics o submetacèntrics, tots ells de mida mitjana o petita com a *C. carnifex*. La morfologia cromo-

sòmica dels cariotips de *C. carnifex* i de *C. haemoptera* permet de separar perfectament les dues espècies, que a més es poden també diferenciar per la mida dels bivalents a les metafases I, ja que els de *C. carnifex* són més grans que els de *C. haemoptera* (figs. 5-7).

El conjunt de les observacions citològiques obtingudes en les deu espècies de *Chrysolina* no és corresponen amb el treball més recent sobre la sistemàtica morfològica i l'ordenació per grups d'espècies amb categoria de subgèneres<sup>1</sup>. De les deu espècies, nou s'inclouen en subgèneres diferents, cosa que segons les nostres dades cariològiques sembla una subdivisió exagerada.

Els coneixements ecològics sobre les *Chrysolina* ens donen, contràriament, indicacions molt útils per explicar la possible evolució citològica del gènere. Totes les espècies de 23 o de 24 cromosomes viuen sobre plantes de la família de les Labiades, segons es descriu en diversos treballs i hem pogut verificar a les nostres observacions de camp. L'única excepció és *C. obsoleta*, que s'alimenta de Ranunculàcies<sup>2</sup> i encara és possible que es tracti d'una adaptació secundària. Cal destacar, en canvi, que les espècies de nombre cromosòmic alt, *C. carnifex* i *C. haemoptera*, no mengen Labiades sinó *Artemisia* (Compostes) i Plantaginàcies, respectivament. Sembla, doncs, que l'adaptació cap aquestes plantes de diferent família pugui estar indirectament relacionada amb les profundes modificacions que manifesten els complements cromosòmics de les darreres espècies comparats amb els de les anteriors. De qualsevol forma, aquesta hipòtesi necessita una base més àmplia per poder-la definir amb certesa. Caldrà, doncs, analitzar més espècies de *Chrysolina* i comprovar si es mantenen aquestes correspondències.

#### CONCLUSIONS

Vuit espècies de *Chrysolina* estudiades citològicament tenen cariotips molt semblants de  $2n = 24$  o 23 cromosomes en els mascles. A part de petites diferències a la morfologia dels cromosomes, l'origen citològic de les espècies de 23 cromosomes implica la pèrdua del cromosoma y. Dues espècies es separen clarament d'aquesta uniformitat citològica comuna a les anteriors, pel fet de presentar un nombre diploid de 40 cromosomes. Aquest fet indica una forta variabilitat cromosòmica dins les *Chrysolina* que sembla poder explicar-se principalment per l'efecte de les dissociacions cromosòmiques. Així, les dues espècies de nombre cromosòmic alt, *C. carnifex* i *C. haemoptera* tenen, la primera, quasi tots els cromosomes telocèntrics. La segona, almenys quatre parells acrocèntrics, fet que abona la teoria del seu origen a partir de cromosomes sub o metacèntrics per mitjà

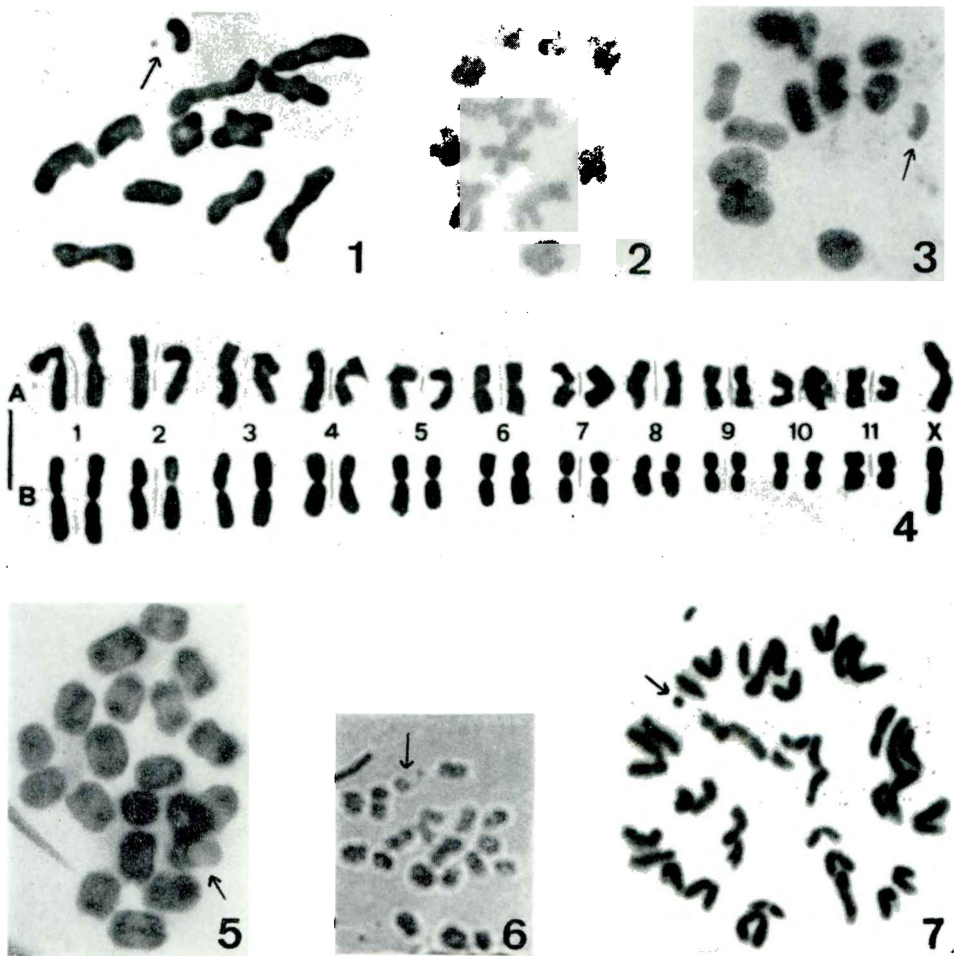


FIG. 1. Metafase I de *C. femoralis* on s'observen els dotze bivalents, entre els quals el sistema  $Xy_{-p}$  està indicat per la fletxa.

FIG. 2. Metafase II de *C. femoralis* que mostra dotze cromosomes metacèntrics grans.

FIG. 3. Metafase I de *C. banksi* amb dotze bivalents i el cromosoma X no aparellat (sistema XO).

FIG. 4. Cariogrames de *C. obsoleta* (A) i *C. banksi* (B) on es mostra la identitat de tots els cromosomes, excepte el parell n. 3 i els X que difereixen per la posició del centròmer.

FIGS. 5 i 6. Metafases I de *C. carnifex* i de *C. haemoptera* mostrant els vint bivalents. El sistema  $Xy_{-p}$  està indicat per la fletxa.

FIG. 7. Metafase mitòtica de *C. haemoptera* mostrant quaranta cromosomes, dels quals almenys quatre parells són acrocèntrics. El cromosoma hi està indicat per la fletxa. Totes les microfotografies estan ampliatades a  $2000\times$  excepte la 6, que ho està a  $1500\times$ .

La barra de la Fig. 4 equival a  $5\mu$ .





de fissions cèntriques. Per últim, les nostres observacions citològics no es corresponen amb la divisió més recent per subgèneres de les *Chrysolina*, però, pel contrari semblen concordar amb les afinitats tròfiques d'aquestes espècies. Totes les *Chrysolina* de 23 o 24 cromosomes, excepte una, viuen sobre plantes de la família de les Labiades, mentre les dues espècies de nombre cromosòmic alt ho fan sobre plantes de famílies diferents a l'anterior. Per tant, aquestes darreres adaptacions alimentàries deuen estar d'alguna manera correlacionades amb les fortes alteracions del cariotip, derivades de l'augment del nombre de cromosomes que ha tingut lloc a *C. carnifex* i *C. haemoptera*.

#### AGRAÏMENT

El doctor P. OROMÍ va tenir l'amabilitat d'enviar-nos les mostres de *C. gemina* i de *C. obsoleta*, de les illes Canàries, analitzades en el nostre estudi.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BECHYNE, J. — *VII Contribution à la connaissance du genre Chrysolina Motsch.* (Col. Phytophaga, Chrysomelidae). «Entomol. Arbeit. Mus. G. Frey», 1: 47-185 (1950).
2. JOLIVET, P. — *Notes écologiques préliminaires sur les Chrysomeloidea des Iles Canaries.* «Bull. Ann. Soc. Entomol. Belgique», 90: 73-82 (1954).
3. PETITPIERRE, E. — *Citotaxonomy and evolution of Timarcha Latr.* (Col. Chrysomelidae). «Genet. Ibérica», 22: 67-120 (1970).
4. ROBERTSON, J. G. — *The chromosomes of bisexual and parthenogenetic species of Calligrapha (Coleoptera: Chrysomelidae) with notes on sex ratio, abundance and egg number.* «Can. J. Genet. Cytol.», 8: 695-732 (1969).
5. SMITH, S. G. — *Chromosome numbers of Coleoptera.* «Heredity», 7: 31-48 (1953).
6. SMITH, S. G. — *Chromosome numbers of Coleoptera. II.*, «Can. J. Genet. Cytol.», 2: 66-88 (1960).
7. VIRKKI, N. — *On the cytology of some neotropical Chrysomelidae (Coleoptera).* «Ann. Acad. Sci. Fenn. ser A-4», 75: 1-25 (1964).
8. VIRKKI, N. i PURCELL, C. — *Four pairs of chromosomes: the lowest number in Coleoptera.* «J. Heredity», 56: 71-74 (1965).

#### DISCUSSIÓ

J. BABOT. — S'ha pensat a fer una anàlisi química de les Labiades i les Plantaginàcies paral·lelament en aquest estudi?

PETITPIERRE. — Fins ara no hem realitzat aquest tipus d'anàlisi en relació

amb les plantes-hoste de les *Chrysolina*, però, en canvi, fa uns anys vàrem estudiar aquestes semblances químiques a les *Timarcha*, un altra gènere de Crisomèlids. Moltes de les plantes que mengen les *Timarcha* presenten antraquinones, i aquestes mateixes substàncies també les trobarem en els nostres estudis sobre la naturalesa química del pigment de l'hemolinfa de les *Timarcha*. Cal pensar que aquests insectes utilitzen aquestes substàncies de les plantes i les incorporen a la seva matèria pròpia probablement amb certes modificacions estructurals. Aquest fet determina, sense dubte, l'afinitat química dels animals fitòfags cap a determinades plantes que tinguin els compostos químics necessaris per a aquests animals.

MARGALEF. — ¿Les espècies de nombres cromosòmics més alts viuen a llocs de muntanya?

PETITPIERRE. — No hi ha diferències en l'hàbitat d'aquestes espècies respecte a les anteriors. Una d'elles es troba predominantment en llocs de muntanya com el Montseny i els Pirineus, però també es troba a la plana, l'altra en canvi no viu a llocs de muntanya. A primer cop d'ull aquestes diferències es podrien explicar per una poliploïdia que permetés una superior capacitat d'adaptació a hàbitats muntanyencs, com passa sovint en alguns insectes, però la morfologia dels cromosomes de les espècies de nombre cromosòmic superior és molt diferent de la que hem trobat a les altres espècies, i per tant podem excloure en principi la possibilitat de poliploïdia.

## POSSIBLES LÍNIES D'EVOLUCIÓ CROMOSÒMICA EN CERTS PRIMATS DEL VELL MÓN

per A. RUBIO GODAY, M. R. CABALLÍN i J. EGOZCUE

Institut de Biologia Fonamental, Facultat de Ciències,  
Universitat Autònoma de Barcelona.

### INTRODUCCIÓ

És freqüent en la literatura especialitzada d'explicar canvis estructurals en els cariotipus d'una espècie o d'espècies properes mitjançant una sèrie de mecanismes reconeguts. Alguns trets cromosòmics especialment assenyalats ens han portat a gosar aplicar dites consideracions també a l'estudi de cariotipus de formes pertanyents a gèneres diversos i fins i tot a tàxons superiors (subfamílies i famílies) dins de l'ordre del Primats. El resultat és l'esquema-diagrama que presentem (vegeu fig. 1) i que té el caràcter d'una hipòtesi de treball orientadora dels estudis dels patrons de bandes que tenim en curs de realització.

### NOTA PRÈVIA

Per raons pràctiques no prenem en consideració el cas del Prosimis en un extrem, ni —per ja conegut— el dels Pòngids i *Homo* en l'altre. Quan parlem de «primats del Vell Món» en el títol, volem significar totes les espècies compreses en les famílies i subfamílies *Hylobatidae*, *Colobidae*, *Papinae* i *Cercopithecinae*. Totes elles les reunim sota el terme *Cercopithecoidea* (superfamília), d'acord amb les propostes de diferents autors en els últims anys i separant-nos, per tant, de la divisió clàssica que incloïa els Hylobàtids en la superfamília *Hominoidea*. El perill que el lector no donés la mateixa extensió que nosaltres al terme *Cercopithecoidea* ens ha fet preferir un títol més general per al present treball.

Així mateix acceptem la tendència a considerar només tres gèneres dins de la subfamília *Papinae* (*Macaca*, *Papio* i *Cercocebus*).

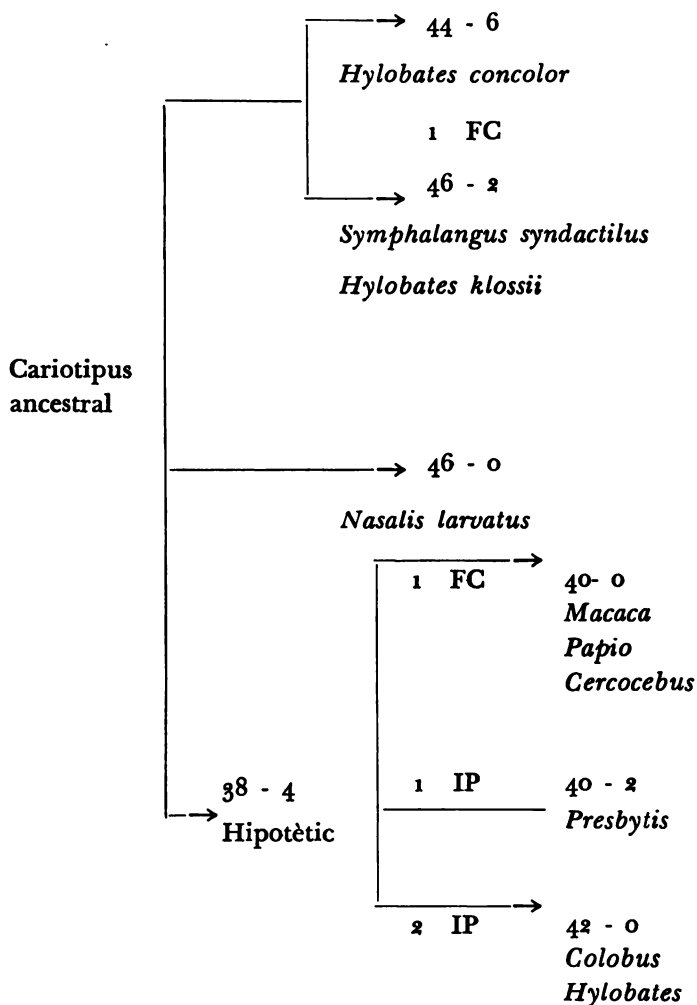


FIG. 1. Possibles mecanismes de derivació dels cariotipus de la Superfamília Cercopithecoidea.

FC=fusió cèntrica.

IP=inversió pericèntrica. Més explicacions en el text.

#### MATERIAL I MÈTODES

Els usuals d'obtenció de cariotipus per a cultiu de cèl·lules de sang perifèrica o d'altres teixits (ronyó, pell...), emprats arreu en els laboratoris de citogenètica. Les tincions: Giemsa normal i els processos avui àmplia-

ment difosos de diferenciació de bandes G, Q, etc., que s'expliquen en una altra comunicació publicada en aquest mateix volum.

## RESULTATS

De l'estudi individual i comparatiu de cariotipus dels citats simis són remarcables els següents resultats:

### 1. *Nombre de cromosomes.*

#### 1.1. *CERCOPITHECINAE*

Nombre molt variat de cromosomes per complement no sols segons les espècies (des de 58 del *Cercopithecus l'hoesti* a 72 del *C. mitis*), sinó presentant sovint un notable polimorfisme intraespecífic (el *C. l'hoesti*, per exemple, pot presentar nombres  $2n = 58$ ,  $2n = 60$ ,  $2n = 72$ ).

Així mateix hi ha gran variació entre les distribucions dels cromosomes en les dues gran categories de No-Acrocèntrics (N.A) i Acrocèntrics (A).

És per això que aquest grup presenta notables dificultats a l'hora de racionalitzar els nombrosos canvis estructurals dels seus cariotipus i, per ara, doncs el deixem de banda.

#### 1.2. *PAPINAE*

Tots els *Papinae* (dels tres gèneres *Macaca*, *Papio* i *Cercocebus*) presenten el mateix nombre cromosòmic diploid:  $2n = 42$  amb la mateixa distribució entre N-A = 40, A = 0 i els dos gonomosomes en totes les espècies.

Evidentment els fenòmens d'especiació en aquest grup no s'han recolzat en barreres estructurals cromosòmiques.

#### 1.3. *COLOBIDAE*

Els gènere *Presbytis* i *Colobus* mostren un  $2n = 44$ , mentre el *Nasalis* té un  $2n = 48$ , essent respectivament els nombre de N-A 40, 42 i 46.

#### 1.4. *HYLOBATIDAE*

Les diferents espècies d'*Hylobates* i *Symphalangus* ofereixen nombres cromosòmics de 44, 50 i 52 i es corresponen bé amb els subgèneres fets després de la reorganització de la família.

Aquests dos darrers grups presenten canvis (a diferència del 1.2), però no tan accentuats com els del grup 1.1.

## 2. Mida i nombre de cromosomes.

Dintre de cada grup es nota una tendència vers l'augment de mida en disminuir el nombre dels cromosomes dels cariotipus. Valgui com exemple, la comparació entre les dotacions de *Symphalangus syndactylus* ( $2n = 50$ ) i d'*Hylobates agilis* ( $2n = 44$ ). Ambdós són espècies de la mateixa família i el primer presenta cromosomes molt semblants als del segon, però d'una mida relativa clarament més petita.

## 3. Semblances entre cariotipus pertanyents a espècies de famílies diferents.

Comparant, per exemple, complements de *Cercocebus* ( $2n = 42$ , N-A = 40, A = 0), gènere que pertany a la subfamília *Papinae* de la família *Cercopithecidae*, amb complements de *Presbytis* ( $2n = 46$ , N-A = 40, A = 2) de la família *Colobidae*, i de *Papio gelada* ( $2n = 42$ , N-A = 40, A = 0) i *Nasalis larvatus* ( $2n = 48$ , N-A = 46, A = 0) de les mateixes famílies respectives, no solament hom veu confirmat el mateix fet del caràcter invers llargada/nombre de cromosomes, sinó com cariotipus de grups tan diferents són tan semblants que fins i tot s'han pogut emparellar cromosomes d'una dotació amb els de l'altra i aconseguir parelles molt poc estridents, essent en molts casos més paleses les semblances respectives que les diferències petites que, tot i ser-hi, queden com esmortèides. Gairebé no cal dir que on més notables són tals semblances és en el cas dels cromosomes marcats.

Tot això ha portat a construir un esquema que reculli els mecanismes adients per racionalitzar els canvis estructurals, no solament a nivell intraespecífic com era corrent, sinó a nivell més ample. Així suggerim una sèrie de possibles relacions entre els cariotipus dels simis estudiats. Entre el tipus de dotació cromosòmica d'*Hylobates concolor* ( $2n = 52$ , N-A = 44, A = 6) i la representada per la del *Symphalangus* i altres ( $2n = 50$ , N-A = 46, A = 2) advertim una diferència de 4 A i 2 N-A que creiem que pot ésser indicadora de una fusió cèntrica, cosa que, a més, estaria d'acord amb el possible origen de dit cariotipus per fusions cèntriques com manifestaria la major llargada dels seus cromosomes respecte dels de les espècies amb  $2n$  més petit.

De manera semblant i senzilla es poden relacionar altres dotacions, algunes d'elles representades per grups sencers (*Papinae*), fins a construir un cariotipus ancestral immediat, mitjançant una fusió cèntrica i una o dues inversions pericèntriques, essent com és que dits cariotipus demostren forta semblança entre ells. Cal dir que un tal esquema no pretén ésser filogenètic, sinó indicador de distàncies entre formes de cariotipus.

## DISCUSSIÓ

Els fets aportats i les comparacions establertes pateixen a primera vista d'ésser molt morfològiques. Ara bé:

1) les tècniques de bandes han permès de confirmar suposicions semblants postulades per als cariotipus de Pòngids i *Homo* fins a poder assenyalar la fusió de quins cromosomes del gènere *Pan* quedà reflexada en el cromosoma 2 humà, i així mateix altres 7 o 8 inversions pericèntriques en dits complements. És, doncs, congruent esperar que una cosa semblant pugui passar en els casos objecte d'aquesta comunicació. Més encara si tenim present:

2) que s'ha fet observar per part d'alguns autors que les bandes pròpies del cromosoma X en els Primats es mantenen d'una espècie a l'altra, suposant-se que dit cromosoma és un cromosoma «protegit» de l'intercanvi intercromosòmic; i més, sobretot:

3) donat que també per altres cromosomes (autosomes) hi ha una veritable conservació del patró de bandes en cariotipus de diferents Primats, cosa que ha permès fins i tot de comparar cromosomes humans amb determinats cromosomes de Primats no-humans com Pòngids per una banda, i *Papio sphinx*, *Cercopithecus talapoin*, *Cercocebus galeritus*, etc. d'un altra.

És per tot això que el diagrama presentat no solament ens sembla «il·lustrador» de vies possibles, sinó que creiem que forneix una bona hipòtesi de treball a comprovar mitjançant les tècniques de bandes. Evidentment, el quadre no ens diu res de problemes més fins de reorganització cromosòmica (canvi de tipus de cromosomes N-A,...) que demanen d'altres mecanismes reestructuradors com poden ésser les translocacions centríques, inversions paracèntriques, etc. Esperem que l'estudi de bandes il·luminarà també aquest punt.

Finalment ens sembla que del fet de la no concordància de les dades cromosòmiques de diferents espècies amb les dades d'anàlisis quantitatives d'ADN, no se'n pot treure cap argument contra la hipòtesi establerta, puix que el mateixos estudis sobre ADN de Primats fets per autors diferents han portat a resultats internament contradictoris.





# ANOMALIES MEIÒTIQUES COM A POSSIBLE CAUSA D'INFERTILITAT EN L'ESPÈCIE HUMANA

per C. TEMPLADO, S. MARINA i J. EGOZCUE

Institut de Biologia Fonamental, Universitat Autònoma de Barcelona  
i Fundació Puigvert.

## INTRODUCCIÓ

Els estudis de la meiosi en l'espècie humana daten del 1956. L'aparició, però, de tècniques més senzilles per a l'estudi dels cromosomes humans va fer deixar de banda els estudis meiòtics, d'interpretació més complexa.

En casos d'infertilitat humana, els estudis de la meiosi han estat limitats a la sèrie publicada per KJESSLER<sup>2</sup> i a articles aïllats sobre anomalies precises. La major part de les alteracions descrites es refereix a l'estudi dels aspectes meiòtics d'anomalies somàtiques, com són les translocacions D/D, D/G i G/G. Tant sols s'ha descrit un tipus d'anomalia específica de les cèl·lules germinals: la disgregació de quiasmes<sup>3</sup> que hauria d'anomenar-se, més pròpiament, desinapsi.

En el present treball es descriuen els resultats obtinguts en una sèrie de 80 casos d'homes infèrtils.

## MATERIAL I MÈTODES

Les preparacions cromosòmiques varen ésser obtingudes de biòpsies testiculars (50) o d'ejaculats (30) procedents, tots ells, de la Fundació Puigvert. Es va emprar, en tots els casos, una tècnica modificada de la d'EVANS i COH.<sup>1</sup> Els malalts varen ésser seleccionats per anomalies de l'espermio-grama o per alteracions de llurs nivells hormonals (FSH i LH).

## RESULTATS

Un 10 per cent de biòpsies i un 20 per cent d'ejaculats presentaren anomalies de la meiosi, que poden ésser classificades en tres grups d'anomalies absolutes i en dos grups d'anomalies relatives.

### ANOMALIES ABSOLUTES:

1) *Pulverització cromosòmica*, és la més freqüent de les alteracions observades. Es presenta en tres fases successives: a) Augment de l'adhesivitat dels bivalents; b) Trencaments cromosòmics, i c) Pulverització.

2) *Desinapsi*, que comporta la pèrdua d'aparellament dels homòlegs i la seva separació en monovalents (fig. 1).

3) *Hiperploïdia*, poc freqüent, ha estat observada tant sols en dos casos. Consisteix en la presència d'un bivalent de més, el qual presenta sovint connexions amb un altre bivalent, cosa que fa pensar en la possible presència d'una translocació recíproca.

### ANOMALIES RELATIVES

- 1) *Translocacions entre bivalents*, no presents en cèl·lules somàtiques.
- 2) *Anellament de bivalents*.

## DISCUSSIÓ

El gran interès de les alteracions descrites es deu al fet que no poden ésser detectades més que per l'estudi de la meiosi, i no es reflexen en les cèl·lules somàtiques. L'única dada de laboratori comuna a tots els casos és un baix nivell de LH.

El gran nombre d'anomalies observades en la sèrie motiu d'estudi es justifica amb el fet que es tracta d'una mostra seleccionada per l'existència d'altres aspectes patològics (infertilitat, anomalies d'espermatogènesi, alteració de nivells hormonals).

Totes les anomalies absolutes descrites poden ésser causa directa d'infertilitat. En cada cas, els gàmetes produïts seran genèticament desequilibrats i, en cas de concepció, és dubtós si l'embrió podria mantenir-se més enllà d'uns pocs dies o setmanes.

Es desconeix en l'actualitat si les alteracions descrites són de tipus primari, cas en el qual el seu tractament seria impossible, o secundari,

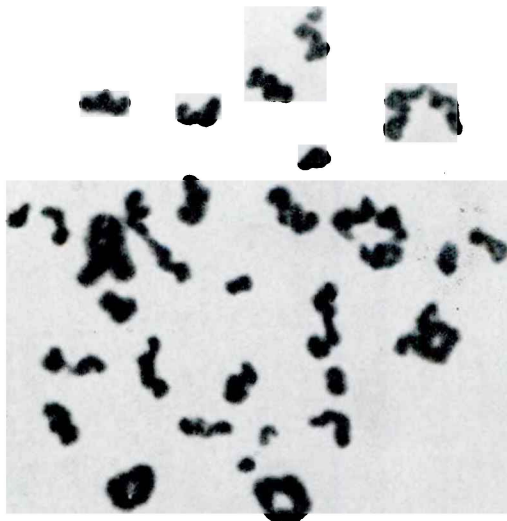


FIG. 1. — Diacinesi mostrand baixa freqüência de quiasmes.



a causa de les alteracions dels nivells hormonals. L'estudi en curs pretén esclarir aquest dubte.

#### BIBLIOGRAFIA

1. EVANS, E. P. BRECKON, G. i FORD, C. E. — «Cytogenetics», 3: 289-294 (1964).
2. KJESSLER, B. — *Karyotype, Meiosis and Spermatogenesis in a Sample of Men Attending an Infertility Clinic*. Karger, Basel, 1966.
3. PEARSON, P. I., ELLIS, J. D. i EVANS, H. J. — «Cytogenetics», :9 460-467 (1970).

#### DISCUSSIÓ

PRATS. — Aquests individus que vénen a la consulta per casos d'esterilitat tenen un espermatograma uniforme en tots ells o és molt divers en nombre o mobilitat, per exemple?

EGOZCUE. — Generalment, hi ha o una oligoespèrmia o oligoastenoespèrmia. O sigui poden haver-hi alteracions d'un tipus o de tots dos tipus. A part d'això és molt freqüent que hi hagi una heterospèrmia, dobles cues, caps en massa, dobles caps. El que també es repeteix molt és que el percentatge de cèl·lules de descamació d'espermatogènesi és molt superior al normal.

PRATS. — Heu fet anàlisis en la població normal per veure si també es troben anomalies d'aquest tipus?

EGOZCUE. — Obtenir aquests materials és molt més difícil en una població controlada que en una de malalts que ja vénen per a això, sobretot tenint en compte una qüestió: nosaltres utilitzem ejaculats perquè és molt més fàcil, puix resulta difícil convèncer una persona sana que es faci una biòpsia testicular, ara bé, el nombre de divisions en els ejaculats és més petita i fer un estudi de meiosi en ejaculats representa moltes hores de treball, mentre que un estudi de biòpsia és molt més ràpid. Fer les fotografies representa aproximadament una hora o una hora i mitja.

PREVOSTI. — S'han observat casos com aquest que tenia un cromosoma de més, en cèl·lules que no siguin meiosi, però de la línia germinal?

EGOZCUE. — Aquest estudi encara està en el seu començament, però vàrem decidir ja fa un temps que en casos de biòpsia testicular es posarien en cultiu túbuls, perquè les cèl·lules somàtiques del túbul crei-

xessin i es poguessin estudiar els cromosomes mitòtics. En els pocs casos que s'ha fet no hi ha hagut anomalies, de tota manera s'ha de tenir en compte que l'origen embriològic de les cèl·lules somàtiques i germinals és diferent.

PREVOSTI. — I a les gònies?

EGOZCUE. — Aquí el problema en que ens trobem és el següent: quan posem un túbul en cultiu, les divisions tant de les gònies, com dels oocits durant molt poc temps, per això és més pràctic anar a la preparació directa i immediatament el que comença a créixer és el fibroblast, i és clar, en estudiar les divisions de les gònies, s'ha de tenir una sort impresionant; de vegades hi ha divisions somàtiques en quantitat. Hem arribat a fer les bandes Giemsa amb divisions de gònia, i en canvi altres vegades quasi no se'n troben i igual amb les segones divisions meiòtiques, si en aquell individu haguèssim trobat un bon nombre de segones divisions meiòtiques ja tindríem el problema mig solucionat; no se n'hi varen trobar, però en canvi hi havia primeres divisions en quantitat.

# LA CITOGENÈTICA A LA CLÍNICA HUMANA

per J. PRATS

Departament de Pediatria. Facultat de Medicina.  
Nova Universitat Autònoma de Barcelona.

Les grans fites en el desenvolupament de la citogenètica humana es poden resumir en:

- a) Troballa del nombre definitiu de cromosomes de l'espècie humana, per Tjio i LEVAN el 1956.
- b) La comprovació, per TURPIN i LEJEUNE, que el mongolisme té per causa una trisomia.
- c) L'aplicació de les tècniques de fluorescència mitjançant quinaquina, descobertes per CASPERSSON el 1968.

Amb els mètodes clàssics es reconegueren una sèrie de cromosomopaties que afectaven els autosomes i els gonosomes. Les alteracions que es podien detectar eren numèriques mixoploïdiques i estructurals. En moltes era difícil atribuir l'anomalia a un cromosoma concret, tot i que l'estudi autoradiogràfic amb timidina permetia en molts casos identificar de manera grollera i lenta el cromosoma afectat; la identificació era encara més difícil, moltes vegades impossible, quan es tractava d'anomalies estructurals.

Actualment, la utilització de les tècniques convencionals, les de fluorescència i les derivades d'aquestes (Bandes Q, G, C i d'altres) permeten resoldre la majoria dels problemes d'identificació en els casos dels desequilibris cromosòmics.

En clínica humana ens trobem amb problemes molt diversos. Cada centre de citogenètica s'ocupa d'alguns problemes específics amb preferència a d'altres i per això les troballes són, de vegades molt disperses d'uns centres a uns altres.

Un dels estudis elementals és el de la cromatina de Barr o corpuscle sexual X que, com és sabut, es troba a la interfase de les cèl·lules somàti-

ques en nombre igual al de cromosomes X disminuït en una unitat. Aquesta determinació, senzilla i ràpida, hauria de ser una pràctica de rutina, en tots els individus que presenten retard mental, trastorns importants de la conducta o anomalies del desenvolupament sexual. També és veritat que només ofereix informació sobre el nombre de cromosomes X, però la freqüència de les anomalies numèriques en aquests síndromes justifica la pauta que proposem. Podem detectar també, gairebé amb la mateixa facilitat, el nombre de cromosomes Y mitjançant l'aplicació de la fluorescència.

Dins del grup d'individus subnormals podem observar fórmules XXY (Klinefelter) i polisomies X (XXX, XXX...) o bé la fórmula XYY en el cas d'alguns individus agressius i alts.

Les anomalies en els casos d'alteracions del desenrotllament sexual són més àmplies i complexes i necessiten gairebé sempre un estudi més aprofundit. Canvis numèrics estructurals o mixoploïdes dels gonosomes els podem sospitar en tot individu que tingui genitals ambigus i també, encara que no presentin aquest símptoma en aquelles femelles que presentin signes tals com talla baixa, hèrnies inguinals bilaterals (possibilitat d'un síndrome de Morris), amenorrea primària o secundària molt precoç, coartació d'aorta o edemes persistents a la primera època de la vida (aquests elements poden donar la pista de les disgenèsies gonadals). En el cas del mascle seran una criptorquídia, uns testicles petits o una azoospermia, els signes que poden plantejar la possibilitat d'un síndrome de Klinefelter.

Una mateixa anomalia dels gonosomes podem observar-la procedent de camps clínics diferents; així, per exemple, un individu amb una constitució XXY pot tenir com a única manifestació una esterilitat i en canvi, en un altre amb la mateixa constitució aquest símptoma passa a segon terme i crida l'atenció el seu retard mental. És evident que en els pacients procedents d'un servei contra l'esterilitat es detectaran casos sense alteració mental mentre que en els procedents d'un centre per a subnormals l'esterilitat passarà fàcilment desapercibuda. El lloc de procedència dels malats és, doncs, un aspecte fonamental a considerar quan adscriuim una patologia a una anomalia cromosòmica determinada.

Les gonosomopaties, com podem veure, no tenen sempre una traducció a l'esfera sexual de llurs símptomes. De vegades, petites anomalies del fenotip han servit per a detectar-ne algunes. En un dels casos que hem estudiat fou la troballa d'uns ossos toscos i d'una sinostosi radio-cubital la que ens permeté descobrir una polisomia X (penta X).

Una altra via propícia a les troballes de cromosomopaties, és l'estudi d'aquells individus que presenten signes típics d'alguna de les cromosomopaties clàssiques. En aquests casos la funció del citogenetista és do-



ble: per una banda confirmar la sospita clínica, per una altra conèixer la forma citogenètica de la cromosomopatia per tal que, mitjançant l'estudi dels progenitors es pugui donar, en alguns casos, un pronòstic pel que fa a un possible descendent nou. Dins d'aquest apartat tenim la trisomia 21 en les seves diverses formes: les unes corresponents a no disjuncions primàries i les altres associades a translocacions, aquestes segones més probables com més jove sigui la mare. Les trisomies 13 i 18 són quadres clínics que comencen a ser diagnosticats pel metge pràctic i en ells cal considerar els mateixos paràmetres que per al mongolisme.

Igual passa amb les anomalies estructurals del cromosoma 5 (5p—, anomenat també síndrome del miol) o la deleció dels braços curts o dels llargs del cromosoma 18.

Formes menys conegudes pel clínic són la trisomia 8, en la qual predomina un retardament mental i uns plecs molt pronunciats als palmells i a les plantes dels peus, la trisomia 10 que es manifesta en una cara arrodonida acompanyada de microcefàlia o trisomies parcials com la 1q+ i la 4p+. Totes aquestes formes presenten clara individualitat en llurs manifestacions i ben aviat llur detecció serà factible clínicament tal com passa amb les cromosomopaties clàssiques.

L'aplicació de les últimes tècniques citogenètiques ha permès la detecció d'anomalies que abans passaven totalment desapercbedes o que eren impossibles de classificar.

Els últims grups descrits mostren que hi ha quadres que condueixen el clínic a sospitar algun tipus d'anomalia cromosòmica i d'altres en els quals el diagnòstic de la cromosomopatia s'ha degut exclusivament a un estudi sistemàtic de grups de població que presenten alguna alteració clínica difícilment classificable. Entre aquestes últimes tenen de constituir causa de sospita els retards mentals d'etiologia desconeguda i els estats malformatius majors o menors no catalogables; les anomalies dermatològiques acompanyen sovint aquests signes, com també unes orelles d'implantació baixes. En casos com els que acabem de descriure s'han trobat alteracions cromosòmiques petites com ara trisomies parcials i delecions *minor* i, amb el temps, podran constituir quadres clínics ben definits.

L'exploració citogenètica és d'utilitat en el estudi de l'esterilitat i dels avortaments habituals en els quals poden aparèixer alteracions equilibrades dels cromosomes (tant autosomes com gonosomes).

Capítol a part mereixen els avortaments espontanis, especialment els produïts a primera fase de la gestació, en els quals s'ha trobat una incidència de cromosomopaties a l'embrió o fetus (o resta de les membranes) que oscil·la entre un 20 % (CARR) i un 50 % (THERKELSEN).

L'estudi del líquid amniòtic des del punt de vista citogenètic és un element fonamental del diagnòstic prenatal en aquelles famílies en què

es dona un risc elevat de cromosomopatia. En un futur pròxim arribarà a ser una pràctica habitual.

Els polimorfismes citogenètics de la població normal tenen interès, no solament per conèixer les seves variacions, sinó fins i tot com una tècnica més en investigacions legals.

Amb les ratlles precedents hem exposat els principals camps d'aplicació de la citogenètica a la clínica humana. A mesura que les tècniques noves es vagin perfeccionant i estenen llur aplicació clínica, i possiblement terapèutica, s'engrandirà. Esmentarem únicament el camp de la hibridació cel·lular, tècnica que encara no és d'aplicació clínica, però que molt probablement ho serà en un futur pròxim. A mesura que el clínic s'acostumi a aquest nou instrument de diagnòstic, no solament arribarem a conèixer més bé les cromosomopaties consagrades, sinó també formes noves que actualment ni tan sols sospitem.

### DISCUSSIÓ

EGOZCUE. — Heu fet tècniques de bandes en algun dels casos?

PRATS. — No, és un estudi que ja fa 4 anys que es va acabar i llavors no teníem les bandes. El que interessaria seria tornar a prendre la població i fer l'estudi citogenètic amb la tècnica de bandes.

EGOZCUE. — Les preparacions antigues no marxen.

PRATS. — Abans també ens passava que, de vegades, els cultius no sortien molt bé i pràcticament s'esgotava tot el cultiu. Un cop tenyit aquest, destenyir i fer la preparació de bandes no crec que sortís bé.

EGOZCUE. — Nosaltres ho hem provat i ens va molt malament.

PRATS. — Com que ens vénen individus de centres molt diversos, recollir altra vegada tota aquesta gent és difícil, però seria molt interessant, perquè hi havia aproximadament 30 casos de disgenesi gonadal i fora bonic fer un estudi de bandes.

EGOZCUE. — Sobretot per veure quants d'aquests suposats isocromosomes ho eren de veritat.

PRATS. — Alguns d'aquests isocromosomes han estat estudiats segons la timidina tritiada.

EGOZCUE. — Com que és un mètode poc fi no se sap si és completa o no la duplicació. Jo crec que en més d'un cas ens trobarem que semblen isocromes i no ho són, per això interessa estudiar una mostra una mica ampla.

PREVOSTI. — En casos en què es detectin anomalies cromosòmiques en el líquid amniòtic, és legal en el nostre país la interrupció de l'embaràs?

PRATS. — No, no és legal.

PREVOSTI. — Hi ha molts països en què ho és.

PRATS. — Nosaltres no fem l'estudi del líquid amniòtic per dues raons. Normalment les mostres que ens arriben són per problemes de Rh, en segon lloc perquè, si es fa l'estudi i no es pot arribar a la conclusió lògica no val la pena fer-lo. En aquests casos el que fem es posar en coneixement de la família les possibilitats que hi ha.



## LA TRISOMIA 13

per E. SARRET i GRAU

Clínica Infantil de la Seguretat Social.  
Passeig Vall d'Hebron. Barcelona.

Des de la descripció d'aquesta síndrome l'any 1960 per PATAU i cols. hi ha hagut un allau de publicacions que han anat perfilant llurs aspectes clínics, etiopatogènics, evolutius i histopatològics. El nom primerament emprat de síndrome de PATAU, trisomia D o trisomia 13-15 ha anat essent substituït pel de trisomia 13, ja que hom tendeix a abandonar els epònims i per altra banda és clar avui que la trisomia afecta sempre el cromosoma 13.

Ara es tracta de resumir i presentar l'experiència recollida durant 28 mesos pel Departament de Genètica Humana de la Clínica Infantil de la Seguretat Social de Barcelona, amb l'aportació de la sèrie dels 15 casos allí observats.

D'aquests casos esmentats, tretze corresponien a trisomies regulars, un era un mosaic —línia cel·lular trisòmica i línia cel·lular normal— i l'altre era un translocació desequilibrada 13/D.

Les dades clíniques dels malalts no ofereixen cap novetat si les comparen amb les sèries publicades a la literatura. Remarquem una certa variabilitat en l'expressió fenotípica i també que no hi ha cap cas lliure d'anomalia cardíaca. El malalt tipus presentava: holoprosencefàlia, llavi fes, fisura palatina, microftalmia, cardiopatia, defectes cutanis del cuir cabellut, polidactília, peus convexos amb calcani prominent, etc. Gairebé tots els casos han estat diagnosticats —o almenys hom ha sospitat fermament la diagnosi— abans de l'estudi citogenètic.

Hem investigat la presència de prolongacions nuclears i anormalitats de lobulació en els polinuclears neutròfils de la meitat aproximadament dels nostres malalts. La presència d'aquestes anomalies va ésser citada per primera vegada per HUEHNS i altres (1964). Ens sembla que aquesta és una exploració senzilla i útil que cal practicar en tots els casos sospitosos. Nosaltres la trobarem positiva en tots els pacients estudiats.

Dels nostres 15 casos, 9 corresponen a nadós procedents de la Residència Maternal annexa a la nostra Clínica Infantil. Considerant el nombre de naixements produïts en el període esmentat abans (28 mesos), la freqüència de la síndrome és de 1/5000. Aquesta xifra és força semblant a la que han trobat altres autors.

La supervivència dels nostres malalts s'ha mogut dins un màxim de 2 mesos i un mínim de 6 hores, amb una xifra mitjana de 16,5 dies.

La durada de la gestació dels pacients no se separa significativament de les xifres normals per a la població general.

L'edat mitjana de les mares dels malalts ha estat de 30 anys.

La distribució sexual mostra que hi ha 6 mascles i 9 femelles, que és una diferència no significativa.

L'estudi de les autòpsies fetes en els nostres 15 casos demostra una distribució lesional politòpica, no havent-li gairebé cap territori del cos indemne. Les dades més destacables han estat: cardiopatia a tots els casos, holoprosencefàlia a gairebé tots, melses supernumeràries a la meitat dels malalts, gran freqüència d'anomalies renals macro i microscòpiques i també, gran freqüència d'anormalitats en els genitals interns de les femelles.

### DISCUSSIÓ

EGOZCUE. — El cas de translocació, era únic?

SARRET. — Era un sol cas i era *de novo*, els pares eren normals.

# NOVES TÈCNiques CITOGÈNÈTIQUES PER A DESCOBRIR LES CROMOSOMOPATIES HUMANES \*

per J. ANTICH i FEMENIAS

Institut Provincial de Bioquímica Clínica.  
Diputació de Barcelona. Fundació Joan March.

Amb les tècniques habituals es va veure que es podien reconèixer una sèrie de síndromes citogenètics molts d'ells amb reconeixement clínic. La identificació dels cromosomes es basava en criteris morfològics ja preestablerts i citats en la conferència de Chicago el 1966<sup>6</sup>. Però quedaren molts problemes per resoldre. Un d'ells, el principal, era la total i definitiva identificació dels cromosomes, especialment els del grup C,F i G. L'autorradiografia va permetre arribar a identificar-ne per les seves característiques patrons de replicació de l'ADN.

Però amb les tècniques habituals moltes vegades no es solucionaven els següents problemes:

- Dificultats per identificar un cromosoma anormal i establir una relació amb el fenotipus del pacient.
- Identificar petites anormalitats cromosòmiques no visibles fins ara.
- Identificar petites parts d'un mateix cromosoma.

Per tant, la citogenètica humana va restar, per espai d'uns anys, estancada com si no hi hagués noves perspectives d'expansió i de diagnòstic.

Però heus aquí que l'any 1968, CASPERSSON i el seu grup<sup>4</sup> de l'Institut Karolinska d'Estocolm, publicaren una sèrie de treballs veritablement revolucionaris. En el seu primer treball, descriuen les observacions fetes sobre l'aspecte dels cromosomes del *Chinese Hamster* tenyits per un colorant fluorescent (la mostassa quinacrínica) i la seva visualització amb el microscopi de fluorescència i il·luminació amb llum ultraviolada.

\* Tots els estudis citogenètics on s'han aplicat les noves tècniques d'identificació per a obtenir bandes han estat fets al Departament de Genètica Humana de l'Institut Provincial de Bioquímica Clínica, Diputació de Barcelona. «Fundació Joan March».

Això permeté observar una sèrie de bandes amb unes quantitats variables de fluorescència al llarg de cromosomes. Aquesta distribució era constant a cada parell de cromosomes, de manera que reflectia diferències en la composició química de les desiguals parts del cromosoma i per tant en la diferent composició de les bases al llarg de l'ADN.

La tècnica de la fluorescència era emprar un fluorocrom, la mostassa quinacrínica o el hidrocloreur de quinacrina. La tècnica en sí és senzilla: es renten les preparacions amb aigua destil·lada o bé una solució tamporada i tot seguit es tenyeix amb quinacrina durant uns minuts, es munta la preparació i ja pot observar-se al microscopi de fluorescència.

Els tintatges amb mostassa quinacrínica o hidrocloreur de quinacrina són tècnicament tant senzills com poden ésser els mètodes de tintatge habituals de la sang, com pot veure's perfectament en la següent metafase (fig. 1).

Aquesta tècnica permet, a més, d'identificar amb tota exactitud el cromosoma Y per la seva peculiar fluorescència i també a les cèl·lules en interfase d'un baró pot veure's un corpuscle fluorescent petit i brillant que s'anomena corpuscle Y<sup>15</sup>, que constitueix la cromatina Y.

Igualment es podien observar en els altres cromosomes una sèrie de bandes fluorescentes que feien possible la identificació de tots els cromosomes i, per tant, la descripció detallada del cariotip humà, descripció que es va adoptar en la Quarta Conferència Internacional de Genètica Humana sobre actualització de la terminologia en citogenètica (Paris 1971) com a norma internacional<sup>18</sup>. (fig. 2).

El descobriment que tots els cromosomes humans normals, poseïen un espectre de bandes de fluorescència específica i reproducible, feia possible identificar les anomalies cromosòmiques amb molt més detall que fins al present; així s'establiren uns patrons normals d'identificació i, a la vegada, unes variants comunes en els cromosomes que els poden transmetre d'una forma mendeliana, per exemple, la fluorescència brillant en un cromosoma D, la regió pericèntrica del 3, el braç llarg del cromosoma 4, que pot mostrar una banda brillant a nivell del centròmer; finalment en els cromosomes acrocèntrics s'observen els satèl·lits o els braços curts més brillants en especial una regió centromèrica brillant en el 13.

Els cromosomes supernumeraris es poden identificar d'una manera més específica en lloc d'ésser simplement assignats a un determinat grup de cromosomes.

Les petites anomalies, no passen desapercibudes amb tanta facilitat i pot aclarir-se amb molta major exactitud la naturalesa de les anomalies estructurals.

Així mateix, el diagnòstic citogenètic o cromosòmic més exacte ens permet un estudi més detallat de la correlació entre el genotipus i el



fenotipus en els casos de subnormalitat, intersexes o altres trastorns que cursen múltiples malformacions congènites.

Amb aquest mètode s'han pogut definir les trisomies, 21, 18 i 13; s'ha arribat a identificar una nova síndrome, el de la trisomia 8 en individus amb un C supernumerari, i s'han detectat anormalitats estructurals fins ara no identificables, tals com el cromosoma Filadelfia que ara es reconeix com a pertanyent al parell 22.

Una altra gran aplicació es produeix en el cas de les translocacions i, finalment, en els casos d'intersexes per a identificar el cromosoma Y.

La introducció de la tècnica de la fluorescència ha obert noves perspectives, ja que es poden identificar tots els cromosomes i les seves parts, però aquesta tècnica no és aplicable en aquells centres o laboratoris que no disposin d'un microscopi de fluorescència.

D'aquí va venir que comencessin a aparèixer altres noves tècniques d'identificació dels cromosomes, tècniques que es basaven en tractaments previs dels cromosomes amb solucions alcalines a diferents temperatures i temps, en digestions enzimàtiques dels cromosomes i que donaven unes bandes superposables en ocasions a les obtingudes per fluorescència.

Una de les primeres que aparegué fou la descrita per PARDUE i GALL<sup>12</sup>, els quals desenrotllaren tècniques d'hibridització del RNA en els cromosomes de la rata, i observaren que les regions centromèriques es tenyien intensament mentre que la resta dels cromosomes tenyien dèbilment. ARRIGHI i HSU<sup>2</sup> modificaren aquesta tècnica, l'aplicaren als cromosomes humans i observarem que en tots ells unes àrees properes als centròmers es tenyien més intensament. En general, aquesta àrees corresponien a les constriccions secundàries dels cromosomes 1, 9 i 16, a algunes parts del cromosomes 3 i 4, als acrocèntrics i també al cromosoma Y, que mostraven un tintatge intents a nivell de la part dels seus braços llargs (fig. 3).

Una variant d'aquesta tècnica és l'aportada per BOBROW i MADEN<sup>3</sup> els quals empen una dilució al 1/50 de Giemsa en una solució de pH 11 ajustada amb NaOH. Amb aquesta tècnica obtenen un tintatge més intens a nivell d'alguns centròmers, 1q, 5q, 7q, 9q, 10q, 17q i 20q i en ocasions 4p i 3. També els braços curts de tots els acrocèntrics, la part distant de l'Y i el seu centròmer.

Tot seguit aparegueren algunes modificacions d'aquesta tècnica dels centròmers que sotmetin els cromosomes a processos de desnaturalització i renaturalització mitjançant tractaments previs amb solucions salines a temperatures i temps donats; després del tintatge apareixien una sèrie de bandes superposades moltes vegades a les obtingudes per la fluorescència de la quinacrina.

Igualment va passar en sotmetre els cromosomes a digestió enzimàtica

amb pronasa o amb tripsina<sup>17</sup>. El tractament amb tripsina dona unes bandes molt marcades de forma molt espectacular (fig. 4).

Totes aquestes tècniques no són necessàriament alternatives, poden ésser complementàries, de vegades la descripció completa d'un cariotipus precisa l'ús de més d'una d'elles. La major part dels laboratoris han desenvolupat les seves pròpies variants, ja que les condicions de treball són diferents d'un laboratori a l'altre.

Era d'urgència i indispensable unificar totes aquestes tècniques i els patrons de bandes que s'hi havien obtingut.

Per tal de poder donar un criteri d'uniformitat a les publicacions que apareguessin amb l'aplicació de les noves tècniques es va establir en l'últim Congrés Internacional de Genètica Humana celebrat a París<sup>18</sup> una nova nomenclatura per designar les tècniques més recents i uns nous sistemes de representació de les anormalitats cromosòmiques. La nomenclatura depèn fonamentalment de quatre tècniques que mostren cadascuna d'elles uns patrons de bandes característiques (quadre I).

Les bandes obtingudes per tenyit amb quinacrina i examen per fluorescència es varen anomenar *bandes Q*. A les bandes obtingudes després de tractaments previs i tenyits amb Giemsa se'ls dona el nom de *bandes G* (bandes G que apareixen després del tractament previ amb solucions salines citratades o amb tripsina).

Dins de les bandes G tenim les següents tècniques:

1. *Tècnica ASG* en la qual s'obtenen unes bandes similars a les bandes Q, però es diferencia en el fet que les regions de les constriccions secundàries dels cromosomes 1 i 16 mostren una fluorescència dèbil i amb la tècnica ASG mostren uns tenyits més remarcables. El cromosoma Y mostra una fluorescència intensa amb la quinacrina i es tenyeix poc amb el Giemsa. Els cromosomes 11 i 12 mostren una regió poc tenyida<sup>18</sup>.
2. *Tècnica del Giemsa 9*, que és difícil d'aconseguir, en la qual s'empra Giemsa diluït i a un pH de 9. Segons el temps d'actuació obtenen uns patrons de bandes similars als de les bandes Q<sup>14</sup>.
3. *Tècniques de desnaturalització i renaturalització*, se n'han descrit unes quantes que donen uns patrons similars als que le bandes G, però tenyeixen la part distal de l'Y més intensament<sup>16, 8</sup>.

Després hi ha les *bandes C*, que són les que tenyeixen les zones d'heterocromatina dels centròmers<sup>2</sup> i les *bandes R* que s'obtenen per tractament amb calor i que donen unes bandes que són les recíproques de les bandes G o Q<sup>10</sup>.

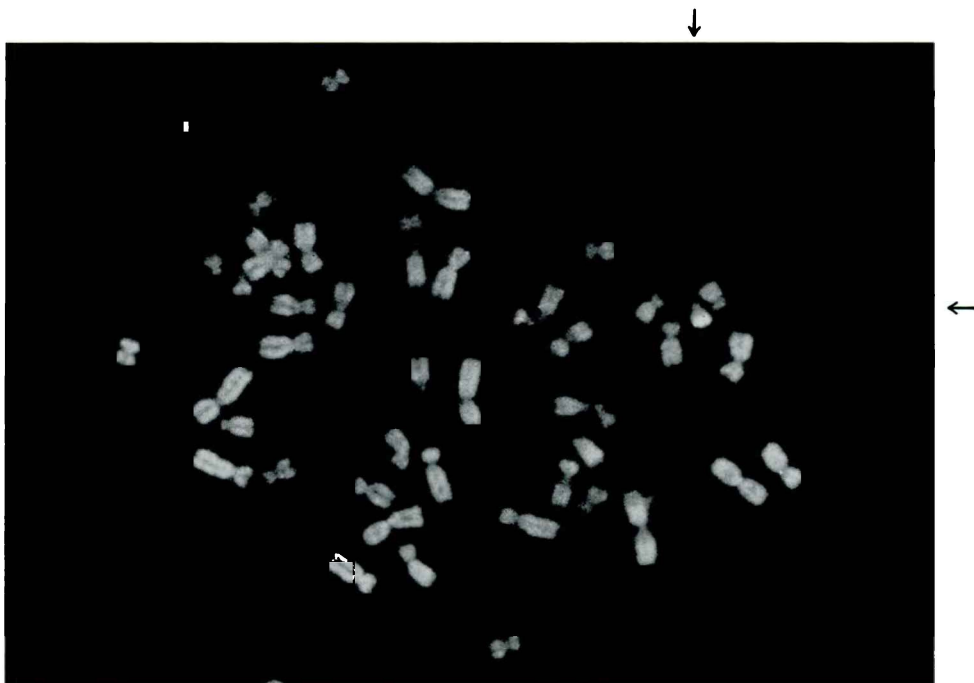
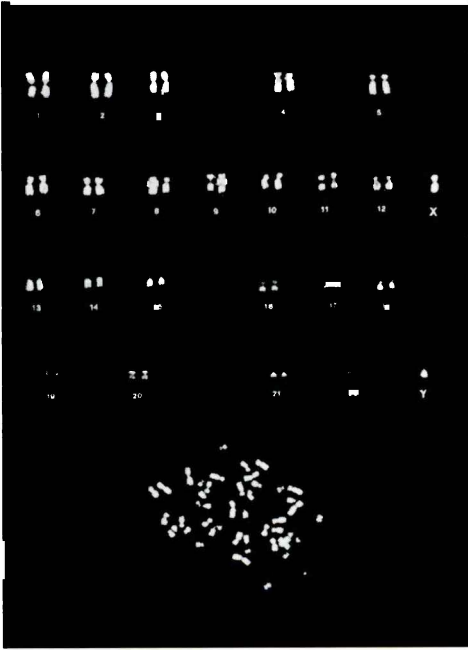
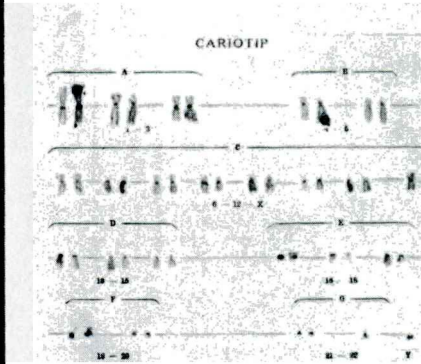


FIG. 1. Metafase d'una cèhula masculina tenyida amb quinacrina a on es pot veure la fluorescència brillant del cromosoma Y, situat a la dreta de la fotografia a l'angle senyalat per les dues fletxes.





2



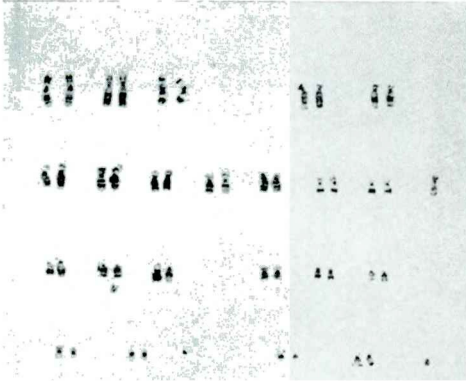
3

FIG. 2. Cariotip d'una metafase d'un baró 46XY tenyida amb quinacrina. Es poden observar els patrons de bandes a cada parell de cromosomes i la fluorescència brillant de la part distal dels braços llargs del cromosoma Y.

FIG. 3. Cariotip d'una metafase d'un baró 46XY tenyit amb el patró de bandes C.



4



5

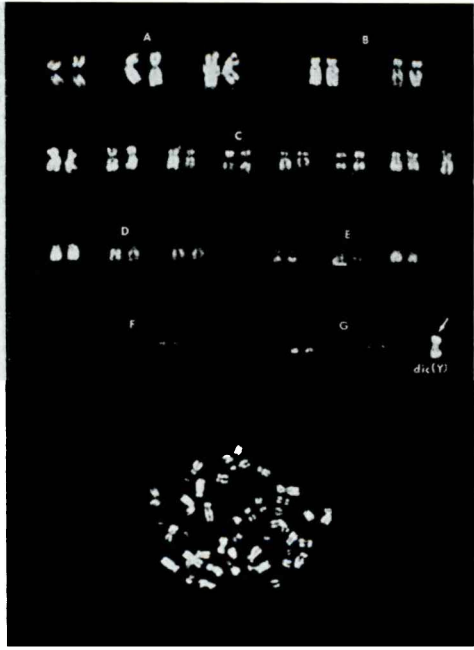


FIG. 4. Cariotip d'una metafase d'un baró 46XY després del tractament amb tripsina i tinció amb Giemsa mostrant les característiques bandes G.

FIG. 5. Cariotip mostrant la fluorescència simètrica dels dos braços del cromosoma Y dicèntric.





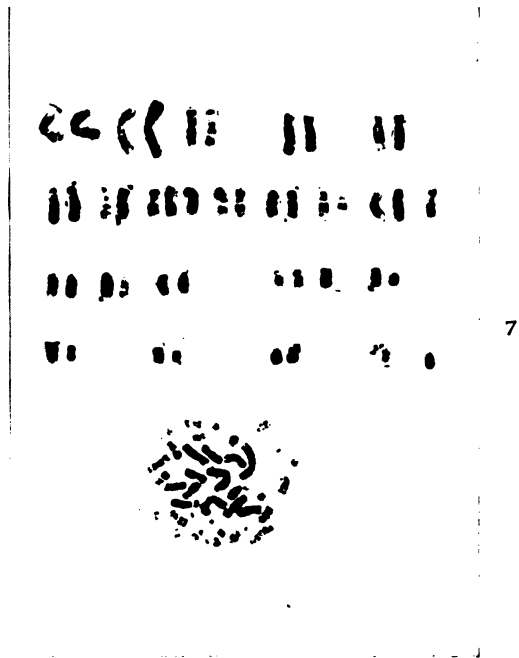
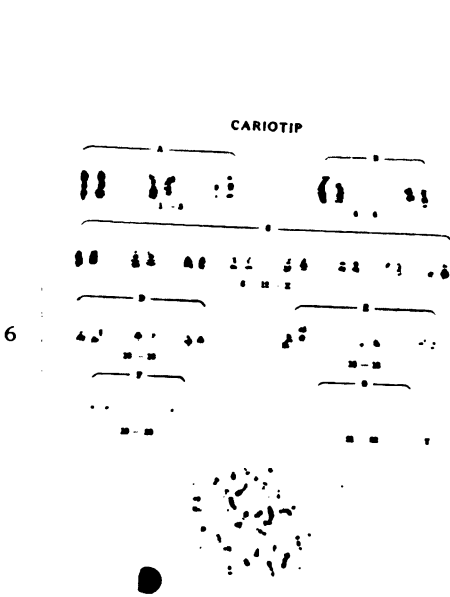


FIG. 6. Cariotip de la mare portadora de la translocació 14;16.

FIG. 7. Cariotip del malalt afecte de trisomia 8, identificat amb el patró de bandes G.



## QUADRE I. — NOVES TÈCNiques D'IDENTIFICACIÓ CROMOSÒMICA

|                                     |  |  |
|-------------------------------------|--|--|
| BANDES Q.                           | Tinció 10 minuts amb solució aquosa de quinacrina o de M.Q. Microscopi de fluorescència.   | CASPERSON, LOMAKKA i ZECH <sup>6</sup>                 |
| BANDES C.<br>Tècnica<br>Giemsa-11   | 0,2 N HCl, 30 minuts; RNasa 37 °C, 1 h; 0,2 N NaOH, 2 minuts; 10 minuts a 2×SSC a 65 °C. Tinció en Giemsa. Tenyir 10 minuts en Giemsa diluït 1/50 en tampó a pH 11.  | ARRIGHI i HSU <sup>3</sup><br><br>BOBROW i MADAN       |
| BANDES G                            |  |  |
| 1-Tècnica<br>ASG                    | 1 hora a 2×SSC a 65 °C, tinció amb Giemsa.   | SUMMER i EVANS <sup>16</sup>                           |
| 2-Tècnica<br>Giemsa-9               | Tinció amb Giemsa en solució tampó a pH 9.   | PATIL, MERRICK i LUBS <sup>14</sup>                    |
| 3-Desnaturalització-<br>realització | 0,07 N NaOH, 2 minuts.<br>a) SCHNELD: 24 hores en fosfat tampó a 59 °C pH 6,8. Tinció amb Giemsa.<br>b) DRETS i SHAW: 72 hores a 65 °C en 12×SSC. Tinció amb Giemsa. | SCHNELD <sup>16</sup><br><br>DRETS i SHAW <sup>8</sup> |
| 4-Tècnica de<br>Tripsina            | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10-50 volums, 5-10 minuts; solució tripsina-EDTA al 0,02 % màxim, 1 minut. Tinció amb Giemsa.  | SEABRIGHT <sup>17</sup>                                |
| BANDES R.                           | 0,02 M fosfat tampó, pH 6,5 a 87 °C, 10 minuts; refredar lentament a 70 °C. Tinció amb Giemsa.   | DUTRILLEAUX i LEJEUNE <sup>10</sup>                    |
| BANDES T.                           | Fosfat tampó pH 6,7 a 87 °C. Tinció amb Giemsa, 5 hores i mitja. Destenyir, tenyir amb taronja d'acrinina, microscopi fluorescència.                                 | DUTRILLEAUX <sup>9</sup>                               |
| BANDES N.                           | 5 % àcid tricloroacètic a 85-90 °C, 30 minuts; 0,1 N HCl 30-45 minuts a 60 °C. Tinció amb Giemsa.  | MATSUI i SASAKI <sup>11</sup>                          |
| ANTI A.                             | 1 hora en 95 % formamida a 65 °C. Tinció amb antiguanosina o antiadenosina. Microscopi fluorescència.  | DEV i COH. <sup>7</sup>                                |

Per altra banda s'han descrit uns altres tipus de bandes i així tenim les *bandes T*<sup>17</sup> en les quals són tenyides les zones terminals o telemèriques dels cromosomes i les *bandes N* que donen lloc a un tenyit diferencial dels satèl·lits dels cromosomes humans<sup>19</sup>. Finalment, una altra tècnica consisteix en la utilització d'*anticossos fluorescents*, com és l'*antiguano-*

sina (anti-G) o l'antiadenosina (anti-A)<sup>17</sup>. Les bandes de fluorescència que s'observen en els cromosomes tenyits amb anti A són molt similars a les obtingudes per la quinacrina.

Aquests mètodes que tenyeixen una regió en particular, permeten d'establir un nou sistema d'identificació i representació dels cromosomes i de les seves anormalitats, que consisteix fonamentalment en dos sistemes: el simplificat i el detallat<sup>13, 17</sup>. En el sistema simplificat s'identifica les bandes o regions on han tingut lloc els trencaments. En el sistema detallat, ultra identificar el tipus de canvi estructural, es defineix cada cromosoma anormal en termes de la composició de les seves bandes.

Els dos sistemes no s'exclouen i poden emprar-se ensems per a completar-se.

L'anotació emprada per identificar els canvis estructurals i mètodes per especificar els punts de trencament o ruptura són comuns per a ambdós sistemes.

Aquests es basen en el fet que el braços curts (p) i els braços llargs (q) es divideixen en una sèrie de regions i cada regió a la vegada en sèries de bandes. Les bandes i les regions s'identifiquen per números consecutivament des del centròmer al llarg de cada braç cromosòmic fins arribar al seu extrem distal.

La regió adjacent al centròmer es designa amb el n.º 1, la més llunyana com a n.º 2, i així successivament; de la mateixa manera es fa amb les bandes. Per tant, per designar cada banda calen quatre elements: cromosoma, el seu braç, regió i banda dins la regió. Així 5q3 significarà la part distal dels braços llargs del cromosoma 5. La 5q34 significarà banda 4 des de l'extrem centromètric de la regió 5q3.

A continuació s'exposen alguns casos en els quals hem aplicat aquestes tècniques perquè puguin veure la seva utilitat en el diagnòstic cromosòmic i clínic\*.

#### 1. CROMOSOMA Y DICENTRIC EN UN PSEUDOHERMAFRODITISME MASCULI

L.M.P.R., de 10 anys d'edat, admès a l'hospital de Sant Joan de Déu perquè presentava una sèrie d'anomalies genitals consistents en:

- Escrot enfonsat.
- Criptorquídia bilateral, no es palpen testes, tant en bosses com en el canal inguinal.
- Membre minúscul.
- Hipospadies escrotal.
- La resta de l'exploració física normal.

La naturalesa de l'alteració estructural i els punts de ruptura mitjançant l'estudi citogenètic va posar de manifest que el frotis bucal i tinció amb orceïna acètica no demostraven cap corpuscle de Barr. Cromatina X negativa: Amb la tinció amb quinacrina i examen al microscopi de fluorescència s'observaren un cos Y fluorescent i en alguna cèl·lula dos cossos Y fluorescents. L'estudi dels cromosomes en sang perifèrica demostrà una població cel·lular uniforme de 46 cromosomes i s'observarà un cromosoma Y anormal amb dos braços simètrics units a un segment que mostrà dos centròmers i suggeria l'existència d'un cromosoma Y dicèntric.

Amb la finalitat de poder confirmar aquesta possibilitat i identificar el cromosoma Y anormal, aplicarem les tècniques de les bandes Q (de fluorescència) i les tècniques de les bandes C (del tenyit diferencial de la heterocromatina).

Amb la tècnica de la fluorescència, observarem que la meitat distal d'ambdós braços d'aquest cromosoma anormal mostrà una fluorescència intensa brillant corresponent cada una d'elles a la fluorescència observable en la part distal del cromosoma Y normalment. Es tractava per tant d'un cromosoma Y dicèntric (fig. 5).

Mitjançant la tècnica del tenyit diferencial de l'heterocromatina d'ARRIGHI i Hsu<sup>2</sup> per a aconseguir les bandes C observarem que aquest cromosoma anormal mostrava també a cada braç una zona d'heterocromatina que es tenyia més intensament.

Per tant, per les característiques morfològiques obtingudes amb les tècniques habituals, amb les tècniques de fluorescència i la tècnica de les bandes C, es pogué concloure que aquest cromosoma Y anormal no era res més que un cromosoma Y dicèntric la fórmula cromosòmica del qual era de 46, X, dic (Y).

## 2. TRISOMIA 14 PARCIAL EN UN NEN MALFORMAT

Nen de 7 mesos d'edat, vist en la consulta de Genètica Mèdica de l'Institut de Bioquímica Clínica perquè presentava múltiples malformacions congènites.

La història familiar descobria l'antecedent de dos avortaments anteriors.

A l'exploració s'observava: microcefàlia, front ample, orelles d'implantació baixa, displàsiques, grans i prominents, micrognàtia i fisura palatina. A les mans, dit índex encavalcat sobre el dit tercer, punys tancats amb dificultat a l'extensió, peu en perxa, cavus amb dosiflexió del dit gros.

L'aspecte clínic recordava una mica el de la síndrome d'Edwards o de trisomia 18. L'estudi citogenètic demostrà un cariotipus de 47 cromosomes, amb un cromosoma supernumerari amb unes característiques morfològiques que recordaven un del grup G (21-22), com si es tractés d'una trisomia G. Però l'aspecte del pacient anava en contra d'una síndrome de Down per trisomia 21.

Practicàrem estudis per fluorescència i aquests descartaren l'existència de doble Y. La fluorescència que mostrava el cromosoma supernumerari tampoc corresponia a la del 21.

Aleshores férem un estudi citogenètic dels pares, el qual va mostrar els següents cariotipus: El pare tenia una fórmula cromosòmica normal de 46 XY, mentre que la mare mostrava en el seu cariotipus dos cromosomes anormals, un cromosoma D delecionat i un cromosoma 16 més gran. Així trobàrem que la mare era portadora d'una translocació entre un cromosoma D i un cromosoma 16.

Amb aquestes troballes suposàrem que el fill havia heretat el cromosoma D delecionat de la mare. Interessava llavors arribar a una identificació dels cromosomes afectats.

Amb la tècnica de la fluorescència i de les bandes G (tripsina-Giemsa) arribàrem a la conclusió que es tractava d'una translocació a nivell de la banda 3 de la regió 1 dels braços llargs del cromosoma 14 i de la banda 3 de la regió dels braços curts del 16, que amb el nou sistema de identificació i d'expressió podríem manifestar-ho de la següent manera (fig. 6).

- la mare era: 46, XX, 14q—, + t (14q16p)  
 pel sistema simplificat: 46, XX, del (14) (q13), + t (14; 16) (q13 p13)  
 pel sistema detallat: 46, XX, del (14) (pter → q13), + t (14; 16) (14qter → 14q13 : 16p13 → 16pter)
- i el fill era: 47, XY, + (14q—)  
 pel sistema simplificat: 47, XY, + (14q—)(q13)  
 pel sistema detallat: 47, XY, del(14)(pter → q13)

És a dir, que el fill presentava una trisomia 14 parcial.

### 3. TRISOMIA 8 AMB MOSAICISME

J.C.F., de 8 anys d'edat i de sexe masculí, amb un marcat retard psicomotor. A l'exploració física presenta unes orelles d'implantació baixa i sobresortides, retrognatia, defectes de posició dentària, tòrax estret i allargat, asimetria d'extremitats, plec palmar bilateral.

L'estudi citogenètic demostrà una doble població cel·lular constituïda per 46 i 47 cromosomes. Les cèl·lules del primer tipus mostraven un cariotipus masculí normal amb una fórmula cromosòmica de 46,XY; les se-gones presentaven un cromosoma supernumerari del grup C. Mitjançant la tècnica de la tripsina-Giemsa, s'ha pogut identificar aquest cromosoma extra com pertanyent al parell 8<sup>o</sup> (fig. 7).

Es tracta, per tant, d'una trisomia 8 amb mosaïcisme i amb una fórmula cromosòmica de 46,XY/47,XY,+8.

## BIBLIOGRAFIA

1. ANTICH, J. — Actualización de la terminología en citogenética humana. «Med. Clin.», 61: 173-179 (1973).
2. ARRIGHI, F. E. i HSU, T. C. — Localization of heterchromatin in human chromosomes. «Cytogenetics», 10: 81-86 (1971).
3. BOBROW, M. i MADAN, K. — A comparison of chimpanzee and human chromosomes using the Giemsa-11 and other chromosome banding techniques. «Cytogenetics Cell Genet.», 12: 107-116 (1973).
4. CASPERSSON, T., FARBER, S., FOLEY, G. E., KUDYNOWSKI, J., MODEST, E. J. SIMONSON, E., WAGH, U. i ZECH, L. — Chemical differentiation along metaphase chromosomes. «Experimental Cell Research», 49: 219-222 (1968).
5. CASPERSSON, T., LOMAKKA, G. i ZECH, L. — The 24 fluorescence patterns of the human metaphase chromosomes-distinguishing characteres and variability. «Hereditas, Genetisk Arkiv», 67: 89-102 (1971).
6. CHICAGO CONFERENCE: STANDARDIZATION IN HUMAN CYTOGENETICS. BIRTH DEFECTS. «Original Articles Series, II»; 2. The National Foundation, New York (1966).
7. DEV, V. G., GREWAL, M. S., MILLE, D. J., MILLER, D. A., ERLANGER, B. F. i BEISER, S. M. — Consistent pattern of binding of anti-adenosine antibodies to human metaphase chromosomes. «Exp. Cell. Res.» (1972).
8. DRETS, M. E. i SHCW, M. W. — Specific banding patterns of human chromosomes. «Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America», 68: 2073-2077 (1971).
9. DUTRILLEAUX, B. — Nouveau système de marquage chromosomique: les bandes T. «Chromosoma» (Berl.), 41: 395-402 (1973).
10. DUTRILLEAUX, B. i LEJEUNE, J. — Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. «Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences», 272: 2638-2640 (1971).
11. MATSUI, S. E. i SASAKI, M. — Differential staining of nucleolus organisers in mammalian chromosomes. «Nature», 246: 147-150 (1973).
12. PARDUE, M. i GALL, J. G. — Chromosome localization of mouse satellite DNA. «Science», 168: 1356-1358 (1971).
13. PARIS (ORLY) CONFERENCE 1971: STANDARRIZATION IN HUMAN CYTOGENETICS. BIRTH DEFECTS. «Original Article Series». The National Foundation-March of Dimes, New York (1972).
14. PATIL, S. R., MERRICK, S. i LUBS, H. A. — Identification of each human chromosome with a modified Giemsa stain. «Science», 173: 821-822 (1971).
15. PEARSON, P. L. — A fluorescent technique for identifying human chromatin in a variety of tissues. «Bulletin of the European Society of Human Genetics», 4: 35-38 (1970).

16. SCHNEDL, W. — *Analysis of the human karyotype using a reassociation technique.* «CHROMOSOME», 34: 448-454 (1971).
17. SEABRIGHT, M. — *Rapid banding technique for human chromosomes.* «Lancet», 2: 871-972 (1971).
18. SUMMER, A. T., EVANS, H. J. i BUCKLAND, R. A. — *New Technique for distinguishing between human chromosomes.* «Nature New Biology», 232: 31-32 (1971).

### DISCUSSIÓ

SARRET. — ¿Quan creu oportú el doctor Antich utilitzar tècniques especials per a la clínica i quines?

ANTICH. — Per exemple, en el cas que es diagnòstiqui un mongolisme clínicament, s'hauria de fer un estudi cromosòmic llevat que la mare fos jove, ara bé, en casos de trisomia 13, molt coneguts clínicament, no val la pena fer tècniques de bandes; en tots els altres malalts que presentin subnormalitats o un quadre d'intersexe és interessant fer aquest estudi. Les tècniques depenen dels cossos.

La fluorescència és fàcil de fer i es pot aplicar d'una manera rutinària per tal de detectar l'existència d'un doble cromosoma Y i també per fer diagnòstics d'intersexe.

Per les tècniques de bandes, jo crec que cadascú ha d'emprar la que li surti més bé. Nosaltres emprem la de la tripsina, que és la que ens va millor. També intentem les tècniques de bandes G; són molt bones, però a nosaltres encara no ens surten bé del tot.

En els casos de translocacions també s'haurien d'emprar les bandes R i les bandes T.

EGOZCUE. — Les bandes R no em convencen gaire, són poc definides; jo crec que potser són per a qui hi té molta pràctica; però em sembla que els francesos les utilitzen més a causa del seu clàssic chauvinisme que no pas per altre motiu.

ANTICH. — Potser les bandes T, si surten bé, sobretot quan s'utilitzen amb taronja d'acrinina, deuen ser més definitives que les bandes R; jo trobo molt difícils de fer les bandes R.

EGOZCUE. — Són poc definides. Les G són molt pràctiques.

ANTICH. — Les de tripsina i Giemsa són molt informatives.



**XI**

**LÒGICA I CONFLICTE EN ÀREES  
DE SUPERPOSICIÓ DE METODOLOGIES DIVERSES**



*El desenvolupament històric independent, la diversitat de mètodes i els nivells de referència o atenció no coincidents, han fet que uns mateixos problemes biològics presentin un aspecte diferent segons sigui l'enfocament. Les dificultats semàntiques que s'originen no tenen gaire interès, però l'anàlisi dels aspectes que aparentment estan en conflicte porta a una síntesi que s'ha de fer dintre d'un marc més ampli o d'un nivell superior que condueixi a un enriquiment del pensament científic. Independentment de la possibilitat d'assolir el fi indicat, el fet d'intentar-ho dona lloc sempre a un intercanvi d'idees estimulants i suggeridor. En tot cas pot servir per reunir, entorn d'un interès comú, persones que es dediquen a especialitats diverses. Amb aquest objecte s'escollí com a tema de reunió "Lògica i conflicte en àrees de superposició de metodologies diverses". Dintre aquesta delimitació més aviat àmplia, el temari hagué de ser restringit, i hom s'ocupà del contrast entre els mètodes tradicionals i els mètodes més recents i preferentment quantitius en la delimitació i estudi de comunitats d'organisme i d'espècies, de l'harmonització de diferents punts de vista dintre la genètica i de com es poden combinar diversos enfocaments en l'estudi de poblacions i ecosistemes. La reunió tingué lloc al Monestir de Poblet, els dies 17 i 18 de maig de 1975.*



## INTRODUCCIÓ

per RAMON PARÉS i FARRÀS

Cap del Departament de Microbiologia de la Facultat de Biologia  
de la Universitat de Barcelona.

Aquest RECAP fou plantejat l'any passat, com la resta del programa del present curs. Segurament per això me'n sento —i se me'n fa— responsable, més o menys indirecte. La naturalesa peculiar del RECAP potser encara serveix per exagerar aquest sentit de responsabilitat. Potser per això se m'ha brindat fer-ne la introducció i per això vull recordar breument la intenció que portava quan vam començar a pensar en aquesta reunió.

Alguns coneixements biològics, fins i tot grans línies del pensament biològic, poden quedar tancades dintre de la petita societat dels biòlegs i, en el millor dels casos, d'una part dels científics, sense que arribi a amalgamar-se amb el que podríem dir-ne la cultura pròpia de l'època. Altres coneixements i idees de la Biologia s'incorporen aparentment al coneixement comú i cristallitzen dintre d'un àmbit cultural amb una gran força expansiva, fins i tot quan el mateix desenvolupament científic ja els ha sobrepassat amplament. Em va semblar que seria interessant parlar de les perspectives de la biologia d'avui que podrien tenir ressò a la cultura de la nostra època, tant com de les perspectives de la biologia d'avui o d'ahir que realment en tenen o n'han tingut. D'aquesta manera sortiren els temes: evolucionisme, conductisme i etologisme, mecanicisme i vitalisme, ecologisme i futurologia biològica. També se'ns suggeria que aclaríssim les idees biològiques implícites en el marxisme, en els moviments religiosos d'avui, el conflicte de la biologia amb l'un i amb els altres.

Un programa com aquest semblava poder presentar atractius per a tots els sectors de la Societat Catalana de Biologia i fins i tot per a molts d'altres de la nostra àrea cultural. Per altra part, permetia pensar de seguida en algunes persones que tots nosaltres sabem per endavant que poden dir-nos coses estimulants sobre tots aquests punts.

Cal reconèixer també que el programa assenyalat era massa ambiciós. Si més no, després de diverses vicissituds, no ha pogut reeixir en la seva

forma original. Afortunadament, ha caigut en el moment oportú a les mans d'en Margalef i aquest, com sempre, hi ha sabut donar una orientació eficaç que, sense perdre la direcció de la motivació inicial, es concreta en uns aspectes molt més lligats a la problemàtica nostra de cada dia i dels quals probablement podrem dir-ne coses de les que es mereixerà més guardar-ne memòria. Jo crec que es manté ben viva l'esperança inicial que, en aquesta ocasió com en d'altres de semblants que l'han precedit, les idees i discussions que en resultin ens interessaran a tots i ens deixaran aquell inefable regust de l'autèntic divertiment intel·lectual.

Jo vull creure que el fet que se m'encomanés la introducció no significa quedar postergat a portar a terme una tasca mancada de vigor, purament formal. Al contrari, estic convençut que em permet quedar bé com a promotor —salvar el rostre— tot estalviant-me l'obligació que inicialment tenia de participar activament en alguna ponència. Però la veritat és que jo no em quedo tranquil i voldria trobar una posició intermèdia tot completant el meu paper amb l'exposició d'algunes de les idees que tenia recollides per a aquest cas i que no m'ha vagat poder elaborar en llur totalitat. M'agradaria que precisament elles fossin una bona introducció als temes i les discussions que després seguiran.

La realitat, el que les coses són, l'esforç continuat de referir no tan sols la nostra experiència, sinó fins i tot les nostres vivències a quelcom exterior i independent ens pot conduir a quatre nivells diferents: l'ontològic, el lògic, el públic i el psicològic.

La realitat ontològica, el que les coses deuen ser absolutament fora de nosaltres, és un postulat de la nostra consciència del món exterior, derivat principalment del fet que s'escapa a la nostra voluntat: nosaltres som alguna part d'una realitat absoluta que ens trascendeix. El monisme radical vol fer referència a aquesta realitat ontològica que no admetria un coneixement fraccionari ver, perquè qualsevol part de les coses està lligada a la resta i la veritat total sobre una part implica el coneixement absolut del tot. És evident que el coneixement de la realitat ontològica no és pas a l'abast de l'home.

Que una cosa sigui i que sigui així formalment i no d'altra manera, amb propietats definides, pot ser una veritat lògica en el sentit que sigui absurd admetre el contrari. La realitat lògica ens trascendeix en la mesura que té un extrany poder públic, és a dir, que pot fer-se explícita fàcilment per a moltes persones, malgrat que no impliqui la necessitat d'ultrapassar el pur domini intel·lectual. Els coneixements científics, i de vegades també els filosòfics, corresponen a realitats lògiques, com a mínim en gran part de la seva extensió. Potencialment, el caràcter públic del coneixement científic és gairebé absolut, no així el del filosòfic. No sabem quina és la relació d'aquesta realitat lògica amb la realitat ontològica,

però pel que fa referència al coneixement científic, sí que tenen el mateix ordre causal. D'ací que el coneixement científic sigui el tipus de coneixement més explícitament objectiu.

Hi ha un nivell de realitat pública que necessàriament no és una realitat lògica ni absoluta. Tot el relatiu al *consensus gentium*, que moltes vegades constitueix el segell més característic de cada cultura, i a la religió es troba fonamentalment en aquest nivell.

Tots els tipus de coneixement tenen una realitat psicològica, purament personal i que mai és completament abraçada en els nivells lògic i públic. Sovint es troba totalment fora d'ells.

En rigor, tots els nivells de realitat deuen ser inclosos en l'ontològic, però no podem pas establir-ne les connexions.

La realitat pública es dona com un fet exterior independent de la voluntat, com una tempesta o un clar de lluna. Oposar-s'hi manca de significat, només porta a ser qualificat pejorativament en un o altre sentit i no valen bones raons ni experiència de cap tipus. La veritat pública pot estar totalment fora del pla lògic. Forma part de la realitat psicològica de la majoria. Afortunadament, és mudable, canvia, en l'espai i en el temps i hom pot emigrar a d'altres terres o asseure's i esperar tranquil·lament que canviï la direcció del vent. El coneixement científic, en canvi, és sempre potencialment públic i conserva la seva coherència al llarg del temps. Llavors hom es pregunta: per què, fins ara, ha profunditzat tant poc en el pla de la realitat psicològica i fins i tot de la pública?

La realitat pública és capritxosa, però possiblement inclou el que en podríem dir el signe dels temps. ¿Cal pensar que deu ocupar algun lloc en algun ordre de coses?

En determinades circumstàncies i dintre d'uns definits grups humans, hom ha pogut pensar que la intersecció entre realitat pública i realitat científica augmentava fins a poder creure que s'arribaria a comprendre una en l'altra. Però, inexplicablement, com en un eclipsi parcial, la intersecció es va fent més petita. En aquest sentit jo em pregunto si avui la ciència com a realitat pública està passant de moda. Dins del mateix clima de la investigació científica, fa deu o quinze anys hom es sentia més pròxim al centre de gravetat de la realitat pública que avui dia. Això no vol pas dir que no quedin en aquesta última determinats coneixements científics que s'hi incorporen i hi queden petrificats, independents de l'evolució del propi context científic que els suportava. ¿No ha passat això una mica amb l'evolucionisme? ¿No passarà quelcom de semblant amb l'ecologisme i amb el conductisme?

Quan la intersecció del coneixement científic amb la realitat pública s'ha iniciat i ha crescut, han coincidit determinades característiques socio-culturals: comunitats responsables i emancipades, és a dir, en certa ma-

nera, comunitats burgeses i comunitats relativament petites molt lligades a la directa explotació de determinats recursos com a base d'una economia expansiva. Des de les colònies gregues a l'Àsia Menor a l'Europa i l'Amèrica de l'última revolució científica, passant pel Renaixement i per l'època de la reina Anna d'Anglaterra.

Hom pot preguntar-se: ¿hi ha estructures socials favorables i desfavorables al desenrotllament de la consciència religiosa com a fenomen col·lectiu? També: ¿és que hi ha estructures socials favorables al desenrotllament del coneixement científic i, sobretot, a la seva penetració dintre de la realitat psicològica del comú? ¿És que n'hi ha de clarament desfavorables i fins i tot contràries? Estem entrant en una d'aquestes etapes?

A mi em sembla que la filosofia dels grecs revela en tots els seus estadis la influència del dualisme com a peça fonamental de la realitat lògica del món, i conseqüentment, d'un nombre creixent de dualismes. Cal reconèixer que aquesta fórmula intel·lectual ha continuat formant part de la realitat lògica fins avui, no solament en el terreny de la filosofia sinó també en el de la ciència. Potser el descobriment del dualisme mateix té lloc en la distinció entre el veritable i el fals. Si més no, aquest té una gran força en el pensament clàssic que posa com a derivats d'ell els dualismes del bé i el mal, de l'harmonia i la discòrdia. Relacionat també amb el primitiu dualisme del veritable i el fals hi ha el de l'aparença i la realitat. Altres dualismes molt importants que han arribat fins avui són el de l'esperit i la matèria, el de la llibertat i el deure i, més conecats amb l'evolució del pensament científic, el de la unitat i la multiplicitat i el de la simplicitat i la complexitat. També el dualisme de l'ordre i el caos i el del limitat i l'il·limitat.

Jo voldria assenyalar que, a part de l'enorme repercusió de tots els antics dualismes en tot el nostre pensament, inclòs el científic, ha estat també extraordinàriament fructífera la manera particular com els dualismes foren atacats pels primers filòsofs: una escola estudia un aspecte d'un dualisme concret adoptant-ne un extrem, després una altra fórmula crítiques i adopta el punt de vista oposat; finalment, una tercera arriba a una mena de compromís que destrona els dos punts de vista anteriors a la vegada que els comprèn.

HEGEL, com abans LEIBNITZ i SPINOZA, rebutja tota forma de dualisme, i això no obstant, un dels punts potser més interessants de la seva filosofia és el cèlebre mètode dialèctic, el qual assenyala la profunda intuïció d'una manera particular d'operar del nostre propi pensament. El coneixement de l'home prospera freqüentment de forma dialèctica i el coneixement científic no n'és una excepció. L'establiment del dualisme i el seu procés ulterior constituïrien els estadis propis del desenrotllament intel·lectual.



Potser un bon exemple el tenim en el vitalisme i el mecanicisme. Després d'una llarga història veiem avui que la realitat lògica i pública pot estendre el domini de les relacions causals de manera il·limitada sense establir diferència entre el món material i el viu. D'altra banda, el món no viu té cada cop més aspectes que abans hom només veia en el món dels éssers vius.

La filosofia de BERGSON s'oposà als monismes idealistes i materialistes del segle XIX i tornà a una concepció dualista del món. Certament retorna a DESCARTES, però les dues parts de l'Univers no són les mateixes; com en aquell, una és la matèria, però l'altra és l'*elan vital*, diferent del domini intel·lectual del món racionalista. Ell torna a ROUSSEAU, que considerava que la intel·ligència afegida a l'instint és una calamitat. En tant que el racionalista la mira com un principi d'alliberament, aquests el veien com un principi d'esclavitud. ¿És dintre d'aquest context que entenen els filòsofs encara avui l'evolució? ¿No és possible que sigui entesa altrament una concepció lògica operativa que ha arribat a poder ser reduïda a dades d'anàlisi d'un nivell inferior d'organització?

El domini intel·lectual del món racionalista és semblant a la realitat lògica del coneixement científic. En aquest hi ha conceptes estrictament operatius i d'altres que s'han deduït per l'anàlisi de fets. Els primers poden fins i tot arribar a ésser contradictoris, no així els segons. Això no obsta perquè en l'un i l'altre cas les relacions causals que se'n derivin hagin de ser rigorosament vàlides. No són processos d'aquest tipus la termodinàmica i l'atomística, com la genètica i la bioquímica. El mètode dels models operatius ha demostrat ser vàlid quan s'ha desenrotllat fins a un punt on fa possible establir el nexa amb un nivell inferior on és possible la via analítica.

Consideracions com les precedents permeten aclarir una perspectiva de cara a l'objectiu que inicialment jo buscava per a aquest RECAP. La influència de la ciència sobre la cultura d'avui és potser molt més aparent que real. ¿Qui sap si encara estem mastegant les idees de fa més de dos mil anys? Vull dir que potser els televisors, els automòbils i els reactors són tan estranys en el món actual com ho serien si de cop i volta els haguéssim posat a la Roma del segle II. Si la pregunta cabdal era de quina influència ha tingut el pensament biològic en la cultura contemporània, és que podem concloure que no n'ha tingut cap?

La meua hipòtesi és que la realitat pública és sempre antropocèntrica. Es rebutja la creixent intersecció amb la ciència quan hom sent la frustració d'un coneixement de la natura que ultrapassa el coneixement comú de com pot ser utilitzat aquell en benefici de la nostra pròpia supervivència i per al millorament de la qualitat de les nostres vides.



# LA PROBLEMÀTICA DE L'ESTUDI DE LA VEGETACIÓ

per O. DE BOLÒS

Director de l'Institut Botànic de Barcelona.  
Cap del Departament de Botànica de la Facultat de Biologia  
de la Universitat de Barcelona.

D'ençà de temps antics els geòlegs han comprès que per tal de conèixer plenament les propietats de la superfície terrestre cal estudiar els materials que la componen atenent llur disposició en diversos nivells d'integració. Tots sabem que les roques són agregats naturals de minerals i que no és pas fàcil de deduir les propietats d'una roca a partir de la simple consideració de les dels minerals que la integren. Per això, si volem conèixer el caràcter d'un terreny no en tenim prou amb la llista dels minerals que s'hi troben, ens cal saber quines roques hi ha. Mineralogia (estudi dels minerals), litologia (estudi de les roques) i morfologia (estudi de les formes del paisatge geològic) són branques autònomes de les ciències geològiques, que es complementen entre elles, a desgrat que totes estudien els mateixos objectes; ho fan, però, a nivells d'integració diferents.

L'estudi de la vegetació s'ha de plantejar d'una manera anàloga i així ho ha apreciat la intuïció del poble, el qual, almenys distingeix dos nivells d'integració: el de les plantes (espècies) i el de les comunitats vegetals. Mots populars tan arrelats com *bosc*, *bosquina*, *bardissa*, *garriga*, *brolla*, *prat*, etc., corresponen inequívocament a comunitats vegetals definides amb més o menys precisió. Però en el terreny científic la distinció dels diversos nivells d'integració amb prou feines ha estat reconeguda fins fa poc temps. Encara la generalitat dels botànics de camp de la darrereria del segle passat eren simples recollectors de plantes, incapaços d'apreciar el sentit dels conjunts de vegetals. Quan els diccionaris catalans confonen la *bardissa* —comunitat vegetal complexa— amb l'*esbarzer* (*Rubus ulmi-folius*) —un dels seus components més freqüents—, reflecteixen aquesta deficiència de la ciència tradicional i cauen en una error que, per un seguit, no cometem els pagesos, els quals distingeixen entre bardissa i es-

barzer i no confonen *garrigar* (població de garric, *Quercus coccifera*) amb *garrica* (comunitat complexa que pot existir fins i tot allà on manca el garric, per exemple, a una gran part de l'illa de Mallorca).

Si no prenem en consideració els precursors, l'existència dels quals interessa sobretot a l'erudit, podem dir que l'estudi científic de les comunitats de plantes (la fitocenologia o fitosociologia), és a dir, la consideració d'un primer nivell d'integració per damunt del de la planta particular (de l'espècie o del tàxon), és iniciat en els darrers decennis del segle XIX i només agafa amplitud en el segle actual. La consideració d'un altre nivell d'integració més elevat, el del paisatge vegetal (objecte de la fitotopografia) és encara ara a les seves fases inicials.

Des del primer moment, l'estudi de les comunitats vegetals ha estat orientat de maneres diverses per escoles més o menys independents entre elles. Recordem, entre les principals i més antigues, l'escola escandinava de R. HULT (1857-1899) i G. E. DU RIETZ (1895-1967), de tendència acusadament estadística; l'escola nord-americana de H. C. COWLES i F. E. CLEMENTS (1874-1945), que atén en primer lloc al dinamisme de la vegetació, i l'escola mediterrània, que, en la seva modalitat principal, sigmatista (S.I. G.M.A., sigla de la Station Internationale de Géobotanique Méditerranéenne et Alpine), dirigida sobretot pel suís J. BRAUN-BLANQUET (n. 1884), s'ha esforçat per tal d'aconseguir una expressió detallada de la variació espacio-temporal de la vegetació.

Als Països Catalans l'activitat fitocenològica s'inicià durant el decenni 1920-1930. PIUS FONT i QUER entrà en contacte epistolar amb JOSIAS BRAUN-BLANQUET, el capdavanter de la S.I.G.M.A., l'any 1922 i, amb la seva opció, determinà l'orientació futura dels estudis de vegetació a la nostra terra i, probablement, a tota la Península Ibèrica. L'any 1934 la S.I.G.M.A. elegí Catalunya com a camp d'una de les seves campanyes col·lectives i això permeté de bastir els fonaments del coneixement de la nostra vegetació, encara sòlids a hores d'ara. En aquell temps un home molt notable, sovint oblidat, EMILI HUGUET i SERRATACÓ (Granollers, 1871-Rabat, 1951), més conegut com a HUGUET DEL VILLAR, elaborà independentment una doctrina personal, que, si bé no ha estat fructífera com la de BRAUN-BLANQUET, merescué la consideració dels geobotànics d'arreu del món.

Després de 1939 BRAUN-BLANQUET continuà les seves activitats a Catalunya, primerament sol i després secundat per les noves generacions de botànics catalans que, havent de triar entre el mètode d'HUGUET, aleshores gairebé imposat pels representants de la ciència oficial, tot i que HUGUET era a l'exili, i la metòdica de BRAUN, s'inclinaren decididament per la segona, molt més operativa.

Deixant de banda les altres escoles, tractarem ací d'aprofundir una

mica els criteris que presideixen la metòdica sigmatista i discutirem algunes de les objeccions principals que ha suscitat aquest sistema.

La metòdica de la S.I.G.M.A. per a l'estudi de la vegetació té caràcter eminentment *empíric* i *inductiu*. Es basa en l'observació del nombre més gran possible de fets concrets i en l'elaboració *a posteriori* de les dades obtingudes; a partir de l'estudi comparatiu dels casos particulars hom ascendeix a conceptes abstractes, de significació general.

L'operació primària en l'estudi de la vegetació és la presa de mostres, els anomenats *inventaris*. Un inventari (al. *Aufnahme*, angl. *stand*, fr. *relevé*) consisteix en l'estudi intencionalment exhaustiu de la vegetació d'una petita parcel·la de terra. No solament hom anota la llista completa de les espècies existents i indica la quantitat aproximada en què apareix cadascuna d'elles, sinó que descriu la totalitat dels caràcters de l'ambient (clima local, sòl, etc.), la fisionomia i estructura de la vegetació, etc. Un inventari és un document de base vàlid per ell mateix sempre que compleixi les condicions següents:

1. *Homogeneïtat de la superfície*. — Hom no pot reunir en una mateixa llista, com si convisquessin, plantes que en realitat corresponen a ambients diferents. A la pràctica no hi ha mai homogeneïtat absoluta. Segons el grau d'exigència de cada autor en aquest aspecte, la descripció resultant serà més fina o més grossera.

2. *Àrea mínima*. — Per sota d'una determinada extensió mínima, un inventari no és representatiu, car no hi ha possibilitat material que la superfície estudiada contingui en la seva totalitat el conjunt d'espècies normal de la comunitat. L'àrea mínima, més fàcil de definir en la pràctica que com a concepte teòric, és, naturalment, més gran per a una selva de grans arbres que per a un pradell de petites herbes anuals.

Aquestes dues condicions defineixen l'ordre d'extensió de les superfícies d'inventari: no inferiors a l'àrea mínima (sovint 100 m<sup>2</sup> o més a les comunitats forestals) ni gaire superiors a aquesta àrea, car en augmentar l'extensió de la mostra la seva homogeneïtat sol disminuir. Evidentment, un inventari només és acceptable si inclou totes les espècies presents almenys de les categories taxonòmiques considerades) i si no conté errors d'identificació dels tàxons. Totes aquestes condicions exigeixen un esforç, àdhuc si l'autor de l'inventari és una persona experimentada.

L'examen comparatiu d'un gran nombre d'inventaris ens porta a una conclusió que resulta igualment de l'observació directa de la vegetació. És la següent: si bé no hi ha mai dos inventaris exactament iguals entre ells, moltes de les combinacions d'espècies que observem es repeteixen insistentment amb poques variacions, de manera que si agrupem els in-

ventaris segons llur grau de similitud, se'ns distribueixen en un nombre no gaire gran de tipus fonamentals.

A fi de comparar els inventaris entre ells hom els reuneix en *taules*, en les quals cada columna vertical és un inventari i cada rengle horitzontal correspon a un taxon o a un factor ambiental o caràcter. Hom inclou en una mateixa taula tots els inventaris que són molt semblants entre ells per les espècies que els componen. Les taules són significatives quan mostren un grau d'homogeneïtat suficient (en general, apreciat subjectivament per l'autor). En principi hom concedeix la màxima importància, per a la distinció dels tipus de vegetació, als *caràcters florístics qualitius*, és a dir, a la presència o absència dels taxons. Les *espècies característiques* (amb òptim net dins un tipus de vegetació, nul·les o rares als altres) i les *diferencials* ( presents al tipus de comunitat A, absents o rares al tipus B) són emprades com a elements de valor diagnòstica particularment elevada.

Cadascun dels tipus bàsics de vegetació que hom pot reconèixer, expressió del qual és una taula d'inventaris homogènia i ben diferenciada de les altres, rep el nom d'*associació*. Les associacions són, doncs, tipus de vegetació abstractes, definits en primer terme per una combinació d'espècies característica i més o menys constant. Pertanyen a una mateixa associació totes les poblacions vegetals concretes que reuneixen els caràcters essencials expressats a la taula corresponent.

En una fase ulterior, les associacions afins poden ésser reunides en *unitats superiors* (aliances, ordres, classes) i cada associació pot ésser subdividida en *unitats inferiors* (subassociacions, variants, fàcies).

L'establiment d'un sistema tipològic de la vegetació no és pas l'objectiu principal de la recerca, però constitueix una base important per a l'estudi estructural, ecològic, etc. de les unitats reconegudes i facilita l'exposició didàctica dels coneixements.

L'aplicació coherent dels criteris damunt dits ha permès d'assolir, en pocs anys i partint gairebé del no-res, un nivell de coneixements realment elevat sobre la vegetació d'Europa i de la regió mediterrània. Els participants en la gran empresa de descripció de la vegetació, que encara és molt lluny del seu acabament, han pogut descobrir, com si fossin nous, els mateixos elements del paisatge que foren contemplats, però no descrits ni interpretats, per les generacions precedents, les quals no estaven preparades per a captar la riquesa de significats i de relacions que es revelen progressivament amb l'ajut dels nous mètodes de treball.

Però, la controvèrsia sobre la licitud dels mètodes de BRAUN-BLANQUET ha estat molt intensa i, en certs ambients, encara es manté.

Hi ha raons, lertament que expliquen la posició crítica d'alguns investigadors en relació amb la fitocenologia. És evident, per exemple.

que les comunitats vegetals són objectes relativament difícils de definir i molt més làbils que les roques o que els sòls: un home amb una destrala o amb una teia pot alterar profundament l'estructura d'una comunitat en pocs moments. Per altra banda, la tardana desclosa de la fitocenologia, en temps que el sentit crític i les exigències metodològiques són més agudes que quan es formaren moltes de les ciències paral·leles, contribueix a explicar que allò mateix que és admès per tothom en altres especialitats, sigui objecte de discussió aferrisada en la ciència de la vegetació.

Es indiscutible també que alguns dels adeptes a l'escola sigmatista han caigut en excessos o en inexactituds que han influït desfavorablement sobre l'opinió de les persones que esguardaven de lluny l'evolució de la Geobotànica. La tendència a voler veure en la comunitat una mena de superorganisme i a insistir sobre el paral·lisme, no gaire real, entre la classificació taxonòmica dels organismes, de base filogenètica, i la sistematització de les comunitats, una simple tipologia, ha estat abandonada ja per la majoria dels autors actuals, alguns dels quals empren encara, de tota manera, expressions de significat equívoc com «sintaxonomia», que valdria més que desapareguessin. La nomenclatura de les comunitats, inspirada en molts d'aspectes en la nomenclatura taxonòmica, resulta força revessa i poc agradable a l'oïda. El fet d'indicar el nom de l'autor de la primera descripció de cada tipus, per una banda és convenient, car ajuda a precisar el sentit original i precís de les unitats, però afavoreix la vanitat personal i ha influït evidentment en la inflació d'unitats que assenyalen amb raó alguns crítics.

A part aquestes crítiques marginals, sovint justificades, hom ha fet objeccions més profundes a la validesa del mètode, entre elles les següents:

Ha estat posada en qüestió la mateixa existència de les comunitats vegetals. Enfront de la teoria organísmica, que voldria veure en la comunitat un superorganisme, s'alça la teoria individualística, difosa sobretot als països anglosaxons, segons la qual la comunitat no és més que una reunió fortuïta d'espècies independents entre elles, les quals coincideixen totalment o parcialment en llurs requeriments ecològics. En les seves formes extremes aquesta teoria no considera la importància que tenen les interaccions entre organismes i, en particular, la competència, que, a nivell de població, és efectiva en totes les comunitats estabilitzades, àdhuc en les més obertes. Prescindeix també del fet de la coevolució, que ha conduït a notables adaptacions recíproques dels organismes. Una posició intermèdia entre aquestes dues teories extremes és la que es basa en la consideració de les propietats dels diversos nivells d'integració, de la qual ja hem dit alguna cosa.

La qüestió de la continuïtat o discontinuïtat de la variació de la vegetació preocupa també els investigadors actuals. Hom disposa encara de poques recerques efectuades amb mètodes matemàtics adequats, però alguns dels estudis que han estat fets semblen favorables a una interpretació que veu la vegetació constituïda per *nodes* que passen dels uns als altres per intermedis de gradient variable. De vegades les variacions són força brusques, altres vegades, però, el canvi és progressiu i continu. De tota manera, encara que en molts de casos la variació de la vegetació fos realment contínua, en una descriptiva pràctica no hi hauria cap més remei que descompondre aquest continu en segments ben delimitats (pensem en les roques, en els temps geològics, en l'espectre, que descomponem en colors, etc.).

Hom ha criticat també el subjectivisme del mètode sigmatista. Es subjectiva l'elecció de les superfícies, l'apreciació de llur homogeneïtat, la de l'homogeneïtat de les taules, la delimitació de les unitats, etc. Però aquest subjectivisme afecta més els límits dels tipus que la descripció de llur mateixa constitució, que pot ésser feta amb garanties d'objectivitat suficients. Per altra banda, un subjectivisme semblant existeix inevitablement a la majoria de les altres ciències descriptives. La descripció fitocenològica feta pels mètodes sigmatistes pot ésser més comparada al dibuix que a la fotografia, però, de moment, cal que ens conformem amb el dibuix, com ho ha fet la humanitat durant milers d'anys, fins al moment que els mètodes fotogràfics de reproducció objectiva han estat a punt.

Hom ha parlat també del dogmatisme de l'escola sigmatista. El mètode de treball exposat no té gairebé res de dogmàtic i el sistema tipològic resultant és completament obert i modificable en qualsevol moment. Pràcticament l'únic postulat de base que admeten els fitocenòlegs sigmatistes és el de la possibilitat d'establir una tipologia basada en criteris florístics i encara no és pas un postulat admès *a priori*, sinó recolzat en una llarga experiència.

La sistemàtica de les comunitats ha estat criticada perquè només expressa les relacions principals entre les unes i les altres, en un esquema dendroide. Alguns autors han proposat esquemes reticulars que reflecteixen les afinitats de cada comunitat en els diversos sentits (relacions pluridimensionals). Però la gran complicació d'aquests darrers esquemes els fa poc apropiats per a una visió sinòptica. La descripció de les afinitats secundàries pot restar reservada als textos on són descrites amb detall les propietats de cada comunitat.

Hi ha qui troba poc convenient la reunió de les associacions en unitats superiors i qui considera inútil la subdivisió de les associacions. Però les unitats superiors donen una visió general dels grans trets de la vegetació: les aliances són precisament les unitats més fàcils d'apreciar en el



paisatge, fins al punt que una certa coneixença de les principals hauria d'ésser considerada un element de la cultura general indispensable, igual com ho és un cert coneixement de les roques o dels estils arquitectònics. Les unitats inferiors, normalment de significació només local, són útils sobretot per diferenciar matisos ecològics que poden tenir interès pràctic (silvicultura, pràcticultura, etc.).

En conclusió, si tenim en compte els fruits obtinguts amb l'aplicació del mètode sigmatista i el pes de les objeccions que han estat fetes als seus principis, no creiem que hi hagi motiu de canviar els mètodes de treball que hem emprat fins ara. En el moment present la introducció dels ordenadors, el desenvolupament de la teoria de la informació, etc., obren noves perspectives a les vies d'aproximació matemàtica, que cal explorar a fons. No creiem, però, que els esquemes establerts empíricament en resultin afectats gaire profundament. Així ho pensen la majoria dels botànics de l'Europa mitjana que, des d'Holanda i Bèlgica a Polònia i Romania, apliquen els mètodes de BRAUN-BLANQUET d'una manera general i fan servir, pràcticament sense excepció, en la pràctica quotidiana, les unitats de vegetació reconegudes. A l'Europa meridional, de Portugal a Grècia, també predomina amplament a hores d'ara la metòdica sigmatista, però la presència de grups amb inquietuds metodològiques hi és palesa. A Escandinàvia i a la URSS, la descripció de la vegetació sol ésser feta d'acord amb mètodes particulars, bé que a Escandinàvia hi ha intents seriosos d'aproximació al mètode de BRAUN-BLANQUET. La resistència a aplicar aquest mètode és encara molt general als països anglosaxons, on, això no obstant, existeixen ja alguns grups de geobotànics d'orientació sigmatista.



## L'ÚS DE LA MATRIU DE MARKOV EN EL RECONeixEMENT DE FORMES

per JORDI FLOS i BASSOLS

Departament d'Ecologia. Facultat de Biologia.  
Universitat de Barcelona.

Sota el títol de «reconeixement de formes» (o «*patterns*») hom admet gran quantitat de coses diverses. Per un costat tenim els que tracten del reconeixement de formes sensorials, principalment formes visuals i auditives. Els psicòlegs i psicofisiòlegs analitzen quines són les formes discernibles i el perquè unes ho són i d'altres no, així com el procés mental involucrat. Per un altre costat hi ha els que tracten, des d'un punt de vista matemàtic, les distribucions naturals d'espècies en l'espai. En aquest camp es poden fer models matemàtics que donguin lloc a funcions de distribució estadística que s'amotllin, en molts casos força bé a la matriu original. La majoria de vegades, però, no expliquen res, puix que fins i tot models contradictoris poden portar a distribucions semblants o estadísticament idèntiques.

Al costat de tot això hi ha el problema del discerniment de formes visuals i auditives fora de tota psicologia. El problema que s'intenta resoldre és el de trobar la manera de caracteritzar al màxim una forma per tal que una màquina la pugui reconèixer. La idea de parlar als ordenadors i de fer que parlin és ja vella.

En el nostre cas concret, el nostre material de treball són fotografies en color de bentos sobre fons rocós, i el reconeixement de formes té dos caires: un és el de reconèixer les fotografies «pictòricament» semblants, l'altre és el de reconèixer les comunitats i ecosistemes semblants.

En el cas de la fotografia aèria o de satèl·lit el problema acostuma a reduir-se a la caracterització de les diferents taques a fi de treure'n un mapa temàtic (quan no es tracta de reconèixer carreteres, trens, soldats,...). Un mètode directe consisteix en fer una *cluster* anàlisi, de la qual surten una sèrie de grups (tonalitats de grisos per exemple), seguida d'una

anàlisi discriminat, adjudicant cada punt a un dels grups. En el cas de fer una classificació supervisada, es pren com a representants ideals dels grups que es volen fer una sèrie de zones limitades i de textura aparentment constant dins de cada una d'elles. Paral·lelament, es prenen mostres sobre el terreny i es qualifiquen aquestes zones (blat, ordi, patates, pins,...). S'obté llavors un mapa temàtic.

En el nostre cas podríem dir que la fotografia en color és un «mapa temàtic» instantani que s'ha d'interpretar. La interpretació es pot portar a dos nivells: en el primer es tracta de reconèixer grups d'espècies o d'individus diferents. En l'altre nivell es tracta de reconèixer, per la forma, la comunitat o fàcies.

El primer nivell es resol, després de digitalitzada la imatge amb un densímetre adequat, fent una classificació (supervisada o no) dels diferents tons que es troben. Aquest nivell queda pobre si després d'això el resultat és simplement un mapa temàtic que novament s'ha d'interpretar en el segon nivell. Per l'altre costat és possible que ens puguem saltar, en part, el primer nivell, i passar directament al segon. El sistema consisteix a digitalitzar la fotografia, i sobre la matriu de dades, buscar una sèrie de variables discriminants mesurades sobre la imatge que ens permeti, en un primer pas, de classificar les diferents fotografies en diferents grups. La hipòtesi de treball és, doncs, una que ve a dir que «*sobre fotografies en color de bentos rocós, la distribució, forma, grandària, orientació i diversitat de les taques, així com la presència o absència d'algunes característiques, permet discriminar les diferents comunitats bentòniques*». Darrera d'aquesta hipòtesi hi ha una altra d'implícita, i és que «*el funcionament des del punt de vista ecològic d'un sistema, està íntimament relacionat amb l'estructura espacial d'ell mateix*». Per entendre'ns: està relacionat amb la grandària, freqüència i distribució espacial dels seus individus o subsistemes.

A primer cop d'ull, un biòleg de bentos acostumat a veure el fons submarí és capaç de classificar força bé les fotografies segons el tipus d'ecosistema al qual pertanyen. O sigui que el cervell humà entrenat «veu» variables discriminants evidents. L'interès que té llavors l'intent de fer-ho mecànicament resideix en el fet d'anar provant variables que ens permetin reconèixer formes o *patterns*, no només pictòrics, sinó d'altres que facin referència o estiguin relacionats directament amb les propietats d'ordre ecològic del sistema representant en la fotografia.

Aquí es presenta, encara que superficialment, les possibilitats que ofereix l'ús de la matriu de transició d'un procés de Markov per veure l'orientació i pes específic de les diferents taques d'una fotografia. El sistema consisteix a fer una sèrie d'escombrats sobre la matriu de dades (es treballa amb la imatge digitalitzada i amagatzemada a l'ordenador) en

angles diferents. Dins de cada escombrat es calcula, independentment per a cada transecte, la matriu de probabilitats de transició. Els colors possibles (quantitat establerta per l'analista) adjudicats a cada un dels elements de imatge, són els possibles «estats». Cada transecte és un «procés». Sobre la matriu de probabilitats es calcula una variable aleatòria que és funció de les probabilitats de transició, i que no és més que la probabilitat d'una sèrie de trajectòries. Simbòlicament:

$a$  és l'angle d'escombrat, que pren valors de 0 a 180 graus.

Els possibles estats són:

$$T_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, n \quad j = 1, 2, \dots, n$$

Per cada transecte,  ${}_k U$ , es té una matriu de probabilitats:

$$({}_k U_{ij}) \quad i = 1, 2, \dots, n \quad j = 1, 2, \dots, n \quad a \text{ on}$$

$$\sum_{j=1}^n {}_k U_{ij} = 1 \quad \text{sent això la suma de les probabilitats de transició d'un estat } i \text{ a qualsevol altre } j.$$

Per cada angle  $a$  es té  $k_a$  transectes, i per cada probabilitat  $P(T_{ij}) = U_{ij}$  es té  $k_a$  valors.

La forma de les variables aleatòries és del tipus:

$$X = P(T' \text{ ó } T'' \text{ ó } T''')$$

Això s'ha provat sobre matrius de  $60 \times 40$  elements, fetes amb uns i dosos (dos estats). Les imatges analitzades han estat creades amb programes que utilitzen números a l'atzar i unes certes estratègies per fer que surtin les taques amb orientacions preestablertes (veure les figures).

Per la construcció de les variables aleatòries s'ha de tenir en compte què es vol posar en evidència: si es tracta, per exemple, de veure l'orientació de taques d'«uns» sobre «dosos» ens interessarà sobretot la distribució de la variable aleatòria que faci referència a la transició  $T_{11}$ . La probabilitat  $U_{11}$  serà la de passar a un 1 en el següent pas, estant ja en un 1. Per a figures compactes pot servir aquesta variable, però si les taques són una mica difuses s'haurà de fer servir variables d'un ordre més elevat, o sigui que representin probabilitats de trajectòries més llargues com per exemple:

$T_{111}$ ,  $T_{121}$ ,  $T_{211}$ ,  $T_{112}$  en les quals, de tres posicions seguides n'hi ha dues que són 1. La probabilitat de la unió de les quatre trajectòries seria una variable com les utilitzades en els exemples dels gràfics:

$$X_1 = U_{22}^2 + U_{21} U_{12} \circ T_{122} \circ T_{212} + U_{21} U_{12} = P (T_{222})$$

$$X_2 = U_{22}^3 + U_{12} [U_{22}^2 + 2 U_{21} U_{12} U_{12} = P (T_{222} \circ T_{1222} \circ T_{2122} \circ T_{2212})$$

Les imatges utilitzades en aquest treball estan molt lluny de les imatges (fotografies de bentos) que l'han provocat. Aquestes diferències es poden resumir en un parell de punts:

1. — Les imatges tractades aquí amb aquest mètode consten de dos estats (indicats per uns i dosos), mentre que les fotografies de bentos en presenten tants com permeten el mètode de digitilització (precisió) i l'analista.
2. — Les formes de les taques de les fotografies de bentos són rarament tant senzilles com les tractades aquí.

La matriu de les probabilitats de transició permet fàcilment l'extensió del cas de dos estats a més de dos. Es poden estudiar taques formades per un o més estats, sobre un fons de diversos estats indiferenciats, ja que la matriu permet calcular sense dificultat les probabilitats de les trajectòries interessants que constituïran la variable aleatòria.

La variable escollida es distribuirà de manera diferent segons l'angle d'escombrat. Si agafem una figura semblant a la de la fig. 1 o 1 bis, veu-

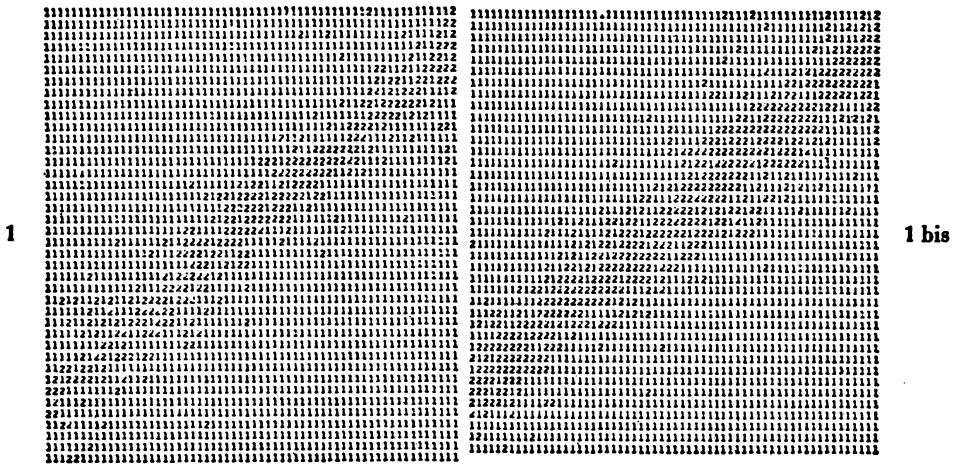


FIG. 1. — Els dosos estan col·locats amb probabilitat decreixent perpendicularment a una recta obliqua, segons una exponencial negativa.

FIG. 1 bis. — El mateix que la fig 1, però les probabilitats són més altes. El resultat és una taca més densa.

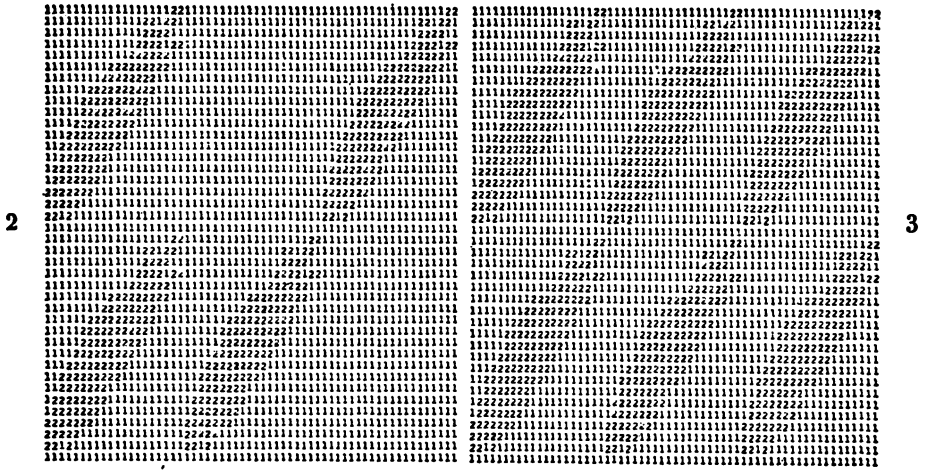


FIG. 2. — Taca repetida quatre vegades. En aquest cas la taca s'inicialitza en un punt central d'una matriu de 20 x 20 i els altres dosos es posen per iteració d'una subrutina que fa que la probabilitat que s'hi afegeix un dos en un punt és o si no n'hi ha cap al costat, que sigui màxima en la direcció obliqua i menor en la perpendicular a aquesta.

FIG. 3. — La mateixa taca de la figura 2 repetida 6 vegades.

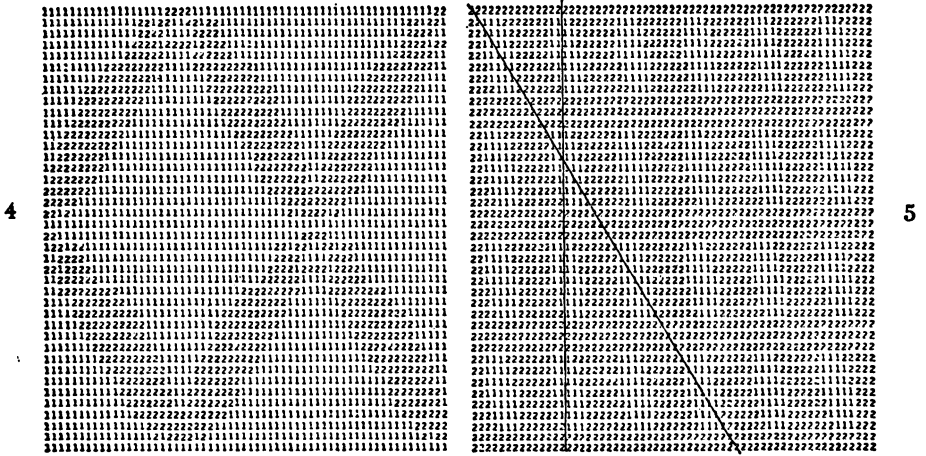


FIG. 4. — La mateixa taca: 3 del dret i 3 girades 90 graus. Apareixen dues direccions creuades.

FIG. 5. — 24 el·lipses col·locades regularment, girades 60 graus cadascuna (eix gran=8, eix petit=4).

rem que pels transectes que vagin en la direcció de l'eix gran de la taca la variable prendrà o bé valors molt alts, o bé valors molt baixos. En les altres direccions prendrà valors semblants. L'histograma de la figura 6 representa dues distribucions imaginàries: una bimodal que correspondria a un angle d'escombrat en direcció de l'eix principal i un altre unimodal per una direcció perpendicular a l'anterior.

### *Explicació de les figures*

Totes les figures són matrius de  $60 \times 40$  elements formades per uns i dosos. La sortida per impressora de l'ordenador fa que la distància entre dos elements sigui més petita horitzontalment que verticalment, i que quedin afectats els angles.

### *Explicació dels gràfics*

Sent la imatge rectangular i discreta ( $60 \times 40$  elements), el número de transectes i la seva longitud (considerats com processos, en número d'estats) dependrà de l'angle d'escombrat. Per un angle de 0 graus tindrem 40 transectes de longitud 60, i per un angle de 90, 60 transectes de longitud 40. Pels angles intermedis la cosa es complica i la longitud dels transectes varia molt. En el cas de  $\alpha = 45$  graus, tindrem 99 transectes, dels quals 2 seran de longitud 1, que no es poden considerar pròpiament processos. Els transectes més llargs seran de  $60/\cos 45$  estats i d'aquests n'hi haurà 20 només.

Per cada transecte es calcula la matriu de probabilitats de transició i de retruc el valor de la variable associat. Per un procés de longitud 2, només hi haurà un transició i la seva probabilitat serà 1. Aquesta diversitat de longituds dels transectes, fa que la distribució de la variable aleatòria es vegi molt falsejada pels valors deduïts de transectes curts. Per tant, a l'hora de calcular un paràmetre que caracterizi la distribució, hem prescindit d'aquells valors deduïts de transectes de longitud més curta de 21, i hem perdut una informació indesitjable sobre les cantonades del rectangle.

Els càlculs s'han fet tots a l'ordenador IBM-1130 de l'Institut de Investigacions Pesqueres de Barcelona.

El paràmetre que s'ha fet servir per caracteritzar les distribucions és

$$V = (\text{mitjana dels 5 valors màxims-mitjana total})^2$$

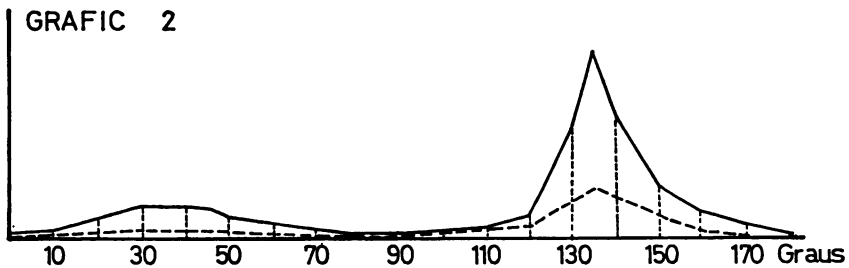
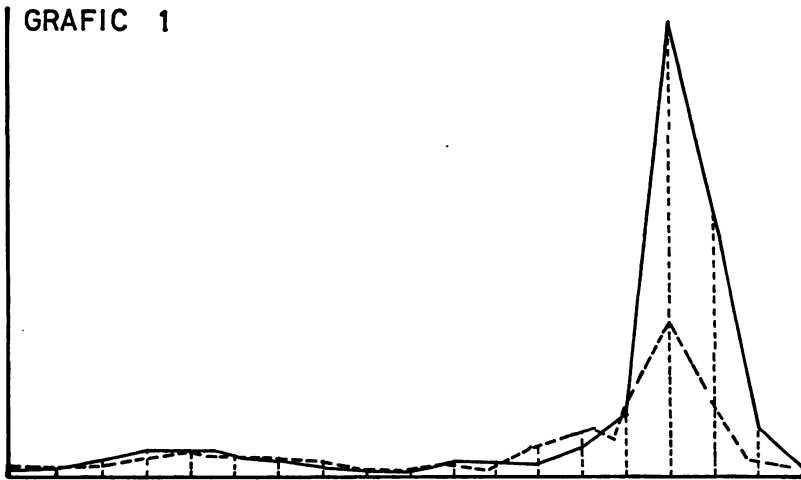
Aquest paràmetre ben senzill s'ha mostrat útil a l'hora de posar en evidència les direccions de les taques, presentant pics quan l'angle d'escom-



brat coincideix amb la direcció de l'eix gran de la taca. El que ens donarà més informació serà, però, el nombre de pics i la seva forma (amplada, forma arrodonida o punxeguda,...).

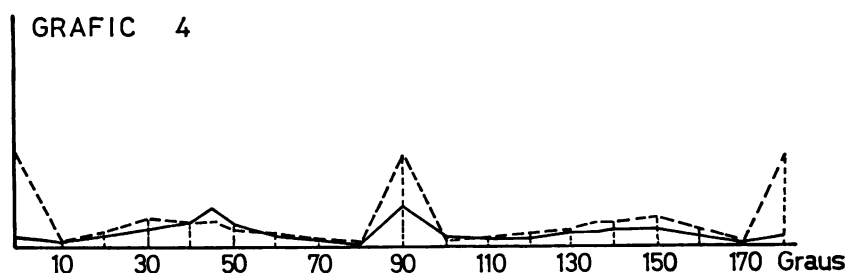
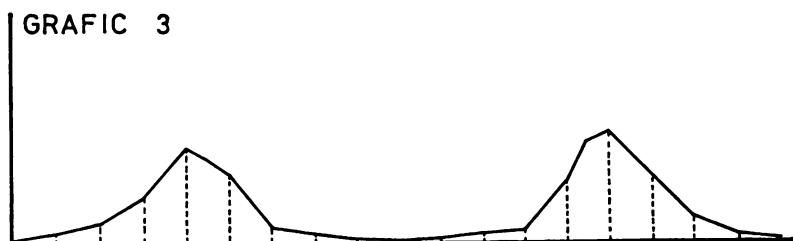
### Conclusions

Amb variables successives de diferents ordres sembla ser que es pot posar en evidència la densitat de les taques.



GRAFIC 1. — La variable és  $X_3$  (tercer ordre) per la imatge de la fig. 1 (línia discontinua), i amb  $X_3$  també per la imatge de la fig. 1 bis (línia contínua).

GRAFIC 2. — Utilitzant  $X_1$  per les imatges de la fig. 2 (discontinua), i fig. 3 (contínua).



GRÀFIC 3. — Utilitzant  $X_1$  per la imatge de la fig. 4. Queden en evidència les dues direccions, amb els pics desplaçats 5 graus respecte als 45 i 135 originals que eren d'esperar.

GRÀFIC 4. — Utilitzant  $X_1$  per la imatge de la figura 5 (contínua) i per una figura similar, però formada per circumferències de radi 4 en lloc d'el·lipses (discontínua). En el cas de les el·lipses hi ha dos pics: a 90 i 45 graus (angles marcats sobre la figura), i no es posa en evidència l'orientació de 60 graus de cada el·lipse. En el cas de les circumferències els pics es presenten a 0 i 90 graus.

Sembla ser que l'estudi de la forma dels pics (que no hem fet aquí) pot donar informació sobre la regularitat dels contorns, la importància de la superfície de la taca respecte a la total, i l'elongació. Possiblement escollint algun altre paràmetre per a caracteritzar les distribucions (potser del tipus de quartils), es podrien fer càlculs més precisos.

Els resultats amb les figures de les el·lipses i les circumferències mostra clarament que el nostre sistema, tal com l'hem fet servir, posa en evidència una estructura d'un cert nivell. Les estructures locals (orientació de les el·lipses) podrien posar-se en evidència reduint la superfície escombrada. En aquest últim cas, es podria utilitzar una estimació del la mitjana del diàmetre petit de la taca (o taques) per tal de fixar la superfície per escombrar. Tenim un programa que fa una estimació d'aquest tipus.

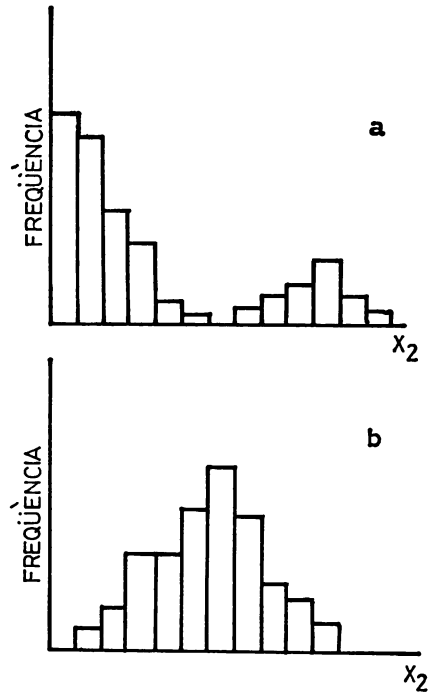


FIG. 6. — Exemples de distribució esperada de la variable  $X_2$  en dos escombrats d'una figura formada per una taca allargada com la de les figures 1 i 1 bis. a) Direcció d'escombrat paral·lel a l'eix principal de la taca. b) Direcció d'escombrat perpendicular a l'eix principal de la taca.

A la pràctica el que s'haurà de fer és fixar las variables aleatòries, els paràmetres per calcular la forma de la distribució d'aquestes i les transformacions (fruit de l'estudi dels pics) que donin els valors de les variables discriminants. L'estimació d'una «mitjana del diàmetre petit de les taques» donaria lloc a una altra variable discriminant.



# APLICACIÓ D'UN «TEST» HIPERGEOMÈTRIC A L'ESTUDI DE LA HETEROGENEÏTAT D'UN INVENTARI LINEAR

per JOSEP M. CAMARASA i MICHEL GODRON

Departament de Botànica. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona

i

Centre d'Études Phytosociologiques et Écologiques Louis Emberger (C.N.R.S.)  
Montpellier.

Tal com ja assenyalà en la seva ponència el doctor Bolòs, un dels problemes cabdals de l'estudi de la vegetació és el de l'homogeneïtat de les mostres. En aquesta comunicació abordarem aquest problema des d'un altre punt de vista: el de la localització i, en certa manera, la mesura de la possible heterogeneïtat d'una mostra, en aquest cas un inventari lineal.

L'ús d'inventaris linears és actualment prou difós, en particular entre aquelles escoles que propugnen l'ús de mètodes estandaritzats que permetin quantificar les observacions i llur explotació. En els inventaris linears hom estudia, sovint en termes de presències o absències en segments o quadrats successius, les espècies que apareixen al llarg d'un línia o d'una banda estreta.

Inventaris d'aquesta mena permeten explotacions molt diverses. Hom ha estudiat, per exemple, espectres de diversitat al llarg d'inventaris linears l'eix dels quals ha estat escollit en relació amb algun gradient<sup>3</sup>. Hom, per la seva part, ha discutit també àmpliament l'interès i la utilitat d'aquesta mena d'inventaris tot insistint molt particularment en la importància de l'observació, sobre inventaris constituïts per una successió de segments (o de quadrats) de la freqüència de les diferents espècies presents a l'inventari<sup>4</sup>. En aquests casos, més que la homogeneïtat de la mostra, hom preten, tal com dèiem al començament, posar de manifest i, d'alguna manera, mesurar, llur possible heterogeneïtat.

En inventaris com els preconitzats por donar-se, però, el cas que la distribució de les presències o de les absències al llarg d'una línia de seg-

ments (o de quadrats) sembli molt uniforme i, aparentment, no resulti practicable el càlcul de l'heterogeneïtat mitjançant proves específiques com les que proposava un de nosaltres<sup>3</sup>. En aquests casos pot ser interessant aplicar el mètode que hem proposat<sup>5</sup>, a partir d'experiències obtingudes en el tractament de dades procedents del Puci del Mas del Juge (Montpellerès) i de Solonge (Orleanès)<sup>2</sup>.

En resum, el mètode consisteix simplement en el càlcul de la probabilitat de la freqüència local de cada fragment de  $N$  segments consecutius, veure si es significativament baixa i estimar en quin grau.

Imaginem una línia de  $S$  segments (o quadrats) en  $F$  dels quals (freqüència absoluta) és present una espècie determinada. Si la distribució de les presències —i les absències— d'aquesta espècie fos a l'atzar, en prendre un fragment qualsevol de  $N$  dels  $S$  segments, la probabilitat de trobar  $A$  presències i  $N-A$  absències fora comparable a la d'extreure d'una urna de Bernouilli, en una extracció a l'atzar de  $N$  boles sense retorn de les extretes (és a dir extretes totes d'un plegat)  $A$  boles blanques i  $N-A$  boles negres. Aquesta probabilitat segueix una llei hipergeomètrica, d'acord amb l'expressió:

$$P_A = \frac{C_F^A \cdot C_{S-F}^{N-A}}{C_S^N}$$

Ara bé, és indubtable que les presències i les absències d'una espècie difícilment poden distribuir-se a l'atzar, sinó en relació amb factors ambientals, històrics, etc. Pot ser interessant, doncs, mesurar fins a quin punt la presència (o absència) d'una espècie en un determinat segment s'aparta significativament de la distribució a l'atzar.

Considerem, per exemple, una espècie present en vuit dels segments d'una seqüència de setze i absent en els altres vuit. Si prenem un fragment de 4 segments consecutius situats en qualsevol indret de la seqüència, hi ha una possibilitat de cada quatre de trobar dues presències; una possibilitat de cada quatre de trobar dues absències i dues possibilitats de cada quatre de trobar una presència i tres absències o tres presències i una absència; cap d'aquestes tres possibilitats pot ser considerada «extraordinària», és a dir, molt inesperada. Només la possibilitat de trobar quatre absències o quatre presències és relativament improbable (3 possibilitats de cada 100). A l'extrem contrari imaginem el cas en què sobre una seqüència de 32 segments només hi ha 3 presències de determinada espècie i encara agrupades en un extrem. Amb aquesta freqüència absoluta ( $F = 3$ ) la probabilitat de trobar dues presències en un fragment de dos segments és molt baixa (0,006) i per tant els fragments on això passi es

desvien significativament de la distribució aleatòria, i encara se'n desvia més, no cal dir-ho, l'únic fragment de tres segments que agrupa les 3 presències ( $P_3 = 0,0002$ ).

Així, doncs, és possible establir el grau de significació de cada situació concreta en un fragment d'una seqüència donada a condició de calcular-ne la probabilitat hipergeomètrica. Això és possible fer-ho, dins de seqüències de segments no excessivament llargues (per sota del centenar), mitjançant un programa relativament senzill que un dels autors redactà en col·laboració amb P. DAVID en FORTRAN II<sup>2</sup>.

#### BIBLIOGRAFIA

1. CELOT, G. — *Cours de statistique descriptive*. «Dunod, ed.». París (1969).
2. CAMARASA, J. M. — *Notes sur deux méthodes nouvelles pour l'étude de la structure de la végétation*. «Rapp. D.E.A., Univ. Sci. Tech. Languedoc», Montpellier.
3. GODRON, M. — *Essai d'application de quelques éléments simples de la théorie de l'information à l'étude de la structure et de la homogénéité de la végétation*. «C.E. P.E.», Montpellier (1965).
4. GODRON, M. — *Essais sur une approche probabilistique de l'écologie des végétaux*. «Thèse doc. Sci. Nat., Univ. Sci. Tech. Languedoc», Montpellier (1971).
5. GODRON, M. i CAMARASA, J. M. — *Untest hypergéométrique pour analyser l'hétérogénéité d'un échantillon linéaire*. «Oecologia Plantarum», 12 (1): 87-88 (1971).
6. LAMOTTE, M. — *Initiation aux méthodes statistiques en Biologie*. «Masson & Cie., ed.», París (1963).
7. RENYI, A. — *Calcul de probabilités*. «Dunod, ed.». París (1966).
8. SEMINARIO DE ECOLOGÍA MATEMÁTICA: «Investigación Pesquera», 34 (1): 70 Barcelona (1970).





# TAXONOMÍA TRADICIONAL Y TAXONOMÍA NUMÉRICA

per RAFAEL ALVARADO

Jefe del Departamento de Zoología. Facultad de Ciencias Biológicas.  
Universidad Complutense. Madrid.

El problema de la distinción de grupos diversos en el mundo de los seres vivientes lleva implícitos dos aspectos filosóficos generales, subyacentes en cualquier teoría de la sistemática biológica. Esos dos aspectos se refieren a la capacidad y posibilidad de *comparar* lo que es igual o equivalente, para *diferenciar* a su vez lo que es distinto; por otra parte la distinción de discontinuidades nos permite la agrupación de las *partes del discontinuo* en «categorías» o clases. Ese fundamento filosófico del proceso de «clasificar» nació con ARISTÓTELES, pero fue precisado como una de las bases de la ciencia moderna, por el filósofo francés A. COMTE.

Desde muy antiguo, no sólo las observaciones científicas sino las más vulgares llevaron al hombre a distinguir clases diferentes de organismos.

ARISTÓTELES empleó los términos *genós* (equivalente a estirpe) y *eidós* (aspecto o forma) que dieron origen a las palabras *género* y *especie*, que a partir de LINNÉ se aplicaron a categorías taxonómicas concretas y hoy seguimos utilizando. Pero los términos género y especie eran, en la nomenclatura aristotélica, algo equivalente a las «grandes» categorías, con las que más que una verdadera sistemática biológica, se fundamentaba un *sistema*.

La sistemática biológica, tal como hoy la entendemos, nació entre los siglos XVII y XVIII. Su gran desarrollo tuvo lugar a partir de la segunda mitad del siglo XIX.

La clasificación de los organismos en diversas categorías fue considerada por los autores de la época linneana como una ordenación práctica, necesaria a causa de la gran variedad de seres vivos que los zoólogos y botánicos eran capaces de distinguir. Para LINNÉ y sus seguidores las especies constituían grupos de origen natural, ya que procedían de sus progenitores. Los restantes grupos o «categorías» taxonómicas serían de origen «metafísico», algo semejante a ideas platónicas.

A la sistemática, considerada en la época linneana una mera ordenación práctica de los seres vivos, se la idealizó a partir de DARWIN como expresión resumida de las teorías filogenéticas. Con este cambio de enfoque los grupos taxonómicos se contemplan como unidades de evolución, pero nace con ello la gran polémica del grado de «realidad» o de «abstracción» de las categorías taxonómicas. (Hay que hacer notar que, de modo estricto, *abstracto* no es opuesto a real.)

La expresión común de que en la naturaleza sólo se presentan individuos descansa en un concepto puramente «sensorial» o «tangible» de lo real. Si prescindimos de lo exclusivamente anatómico, para incluir la «realidad» fisiológica (parentesco o consanguineidad) entonces plantearemos el problema auténtico de la *realidad en biología* (forma-función).

Ante la sistemática filogenética los biólogos han adoptado actitudes muy diversas, que podemos agrupar del modo siguiente:

1. Las categorías taxonómicas (la especie, el género, el orden, etc.) son *reales* (NAEGELI, 1865).

2. Únicamente el TRONCO o «tipo de organización» —como representación de una estirpe evolutiva—, es real (HAECKEL).

3. Solamente tienen existencia real las especies, ya que agrupan individuos cuyo parentesco genético es patente y directo. Este es el punto de vista que, con más o menos distingos, han adoptado la mayor parte de los biólogos, como el zoólogo PLATE o el botánico WETTSTEIN durante el primer tercio del siglo actual, o MAYR, el genético DOBZHANSKY, el paleontólogo SIMPSON, y otros muchos autores en tiempos recientes.

4. Los individuos son reales, las categorías taxonómicas son abstractas. Este punto de vista, que manifestó taxativamente el botánico LOTSY (1916) es seguido en la actualidad por unos pocos autores, como BLACKWELDER (1952) y GROSS (1943), entre otros.

La idea de que podemos reconocer propiedades o caracteres, que fragmentan el continuo en «clases» ya vimos más arriba que había sido fundamentada filosóficamente por COMTE. La distinción en dichas clases de categoría jerárquica introduce en la clasificación una calidad de abstracción conceptual, que ha sido calificada de *nominalismo* o «*platonismo*». Esto quiere decir, en el plano del conocimiento filosófico, que un concepto es meramente idea «platónica» (no «real»), o bien que es un mero «nombre».

¿Qué significado tiene esto para la sistemática biológica? Es evidente que no nos debe llevar a la conclusión de que únicamente hay individuos, ya que los que agrupamos en *especies* (sobre la base de sus caracteres y relaciones genéticas) constituyen una unidad biológica. Pero, ¿qué ocurre con los taxones supraespecíficos?

Si considerásemos a las especies como productos de sendos actos de «creación» y entes inmutables, es decir, bajo el concepto de lo que se ha llamado «fijismo» (teoría fixista o fijista, de CUVIER y sus seguidores, que se oponían al «transformismo» lamarckiano), entonces la agrupación de especies en otros varios grupos podría considerarse un mero artificio. Ahora bien, desde el momento en que admitimos una evolución de los organismos, debemos deducir que el parecido de los grupos es un resultado de su parentesco. Por tanto, la agrupación de especies en géneros, de géneros en familias, de familias en órdenes, etc., es una expresión sumaria de sus relaciones evolutivas o *filogenéticas*.

Es evidente que la filogenia tiene un componente teórico, que escapa a cualquier posibilidad experimental. De ahí proceden la mayor parte de las críticas contra la sistemática tradicional, fundamentada en su mayor parte durante el último tercio del siglo pasado, bajo el influjo de las teorías evolutivas de HAECKEL y sus seguidores. La gradación jerárquica ha sido tildada de *subjetiva*, frente a lo *objetivo* de los datos que se obtienen del estudio concreto de los individuos.

Con la finalidad de «objetivar» los conocimientos taxonómicos SNEATH y SOKAL introdujeron el concepto de «taxonomía numérica». En su obra *Principles of Numerical Taxonomy*<sup>7</sup> desarrollaron extensamente los conocimientos expuestos, en infinidad de artículos y simposios durante aquellos años, sobre el nuevo enfoque de la sistemática. De hecho la idea de una «nueva» taxonomía, de tipo cuantitativo, se debía a SOKAL y a MICHENER, en un artículo publicado algunos años atrás<sup>8</sup>. La literatura científica sobre el tema ha crecido ininterrumpidamente durante el último decenio.

Por supuesto, la idea de aplicar métodos cuantitativos en biología no es nueva. La biometría y la bioestadística gozan ya de una larga tradición. Lo que sí resulta nuevo es la crítica directa de las bases formales de la sistemática «tradicional» o «clásica», que por sus fundamentos filogenéticos es considerada «subjetiva», frente a una nueva sistemática «objetiva», basada en los caracteres de los individuos, esto es, en sus *fenotipos*, por lo que la taxonomía numérica se ha llamado *fenética* (como opuesto a lo filogenético).

Los partidarios de esa nueva sistemática fenética han multiplicado sus esfuerzos para aportar un cuerpo de doctrina coherente y resultados demostrativos a sus puntos de vista. Según ellos, la taxonomía actual no debe apoyarse sobre inferencias basadas en la filogenia, sino que debe intentar establecer las relaciones (*fenéticas*) sobre la única realidad de la naturaleza: el individuo. Según ellos, la taxonomía numérica llevada a sus últimas consecuencias dará origen a una sistemática *fenética*, que debe sustituir a la *filogenética*.

En el sentir de los partidarios de la taxonomía numérica la afinidad es función de la semejanza de los caracteres que se comparan y no presupone un significado filogenético de los mismos, ya que, por principio, a cada carácter de los utilizados se le concede el mismo valor.

La afinidad analizada según esos supuestos caracteres «objetivos» —ya que en ellos no presuponemos un significado filogenético «subjeto»—, nos permiten establecer «dendrogramas» del conjunto de los caracteres, lo cual define al llamado OTU (*operational taxonomic unit* = unidad taxonómica operativa). La estimación de semejanzas entre OTUs sirve para establecer coeficientes de asociación, coeficientes de correlación, o bien distancias taxonómicas.

Los *coeficientes de asociación* han sido tomados por la taxonomía numérica de los que se usan para establecer medidas de la afinidad ecológica entre diferentes grupos de un biotopo; sirven para expresar afinidades entre caracteres que sólo son posibles en dos estados (presencia-ausencia).

Con los datos obtenidos en el análisis de OTUs se construyen los sistemas taxonómicos numéricos, utilizando técnicas descriptivas, que ya se venían usando en ecología (v. gr., el sombreado diferencial de la matriz de semejanza) o técnicas de la estadística multivariada (v. gr. el análisis factorial) cuyo empleo es posible gracias a las computadoras.

Al primer entusiasmo de los creadores de la taxonomía numérica, que algunos ya llaman, más modestamente, «clasificación numérica»<sup>3</sup> ha seguido un sentimiento más pragmático, que debe rendir sus frutos en el campo de la taxonomía a nivel de especie y, sobre todo, en el análisis infrasubspecífico.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ALVARADO, R. — *La especie biológica y la jerarquía taxonómica*. Jn. M. Crusafont, B. Meléndez, E. Aguirre. «La Evolución» (2.ª ed.), 497-537. Editorial BAC, Madrid (1974).
2. ALVARADO, R. i DÍAZ COSÍN, D. J. — *Taxonomía y Nomenclatura*. Publ. Departamento de Zoología. Fac. C. Biológicas. Univ. Complutense. Trab. n.º 6, 76 págs. Madrid (1975).
3. CLIFFORD, H. T. i STEPHENSON, W. — *An Introduction to Numerical Classification*. Acad. Press. London-New York-San Francisco, XII, 229 págs. (1975).
4. MICHENER, C. D. i SOKAL, R. R. — *A quantitative approach to a problem in classification*. «Evolution», 11: 130-160 (1957).
5. SOKAL, R. R. — *Numerical Taxonomy. Mathematical thinking in behavioral sciences*. (Scientific American). Ed. David M. Messick, págs. 174-184, Freeman, San Francisco (1968).
6. SOKAL, R. R. i MICHENER, C. D. — *A statistical method for evaluating systematic relationships*. «Univ. Kansas Sci. Bull.», 38: 1409-1438 (1958).
7. SOKAL, R. R. i SNEATH, P. H. — *Principles of Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco. XVI, 359 págs. (1963).

# CONSIDERACIONS SOBRE LA METODOLOGIA DE LA GENÈTICA I DE LES CIÈNCIES BIOLÒGIQUES EN GENERAL

per ANTONI PREVOSTI

Cap del Departament de Genètica. Facultat de Biologia.  
Universitat de Barcelona.

A una reunió com aquesta en què l'objecte és obrir un col·loqui el més ampli possible, ens ha semblat adient presentar un tema referent a la metodologia de la biologia en general, però que es pot plantejar clarament analitzant alguns aspectes dels desenvolupaments recents de la genètica.

Sovint, en tractar d'aspectes metodològics i de filosofia de la biologia, es nota una forta influència de la física. Aquesta ciència, històricament ha estat la capdavantera i actualment continua sent la que té un coneixement més complet i profund del seu camp. Per aquests motius és freqüent que es tendeixi a identificar la filosofia de la ciència amb la filosofia de la física i, com a conseqüència, que els requeriments metodològics de la física s'estenguin sense un examen crític a les altres ciències. En el cas de la biologia, que ens interessa ací, això pot donar lloc a dues postures que són inadequades per al seu desenvolupament.

És evident que l'adquisició de coneixements biològics té uns requeriments que són generals per a tot coneixement científic i, per tant, que coincideixen amb els dels coneixements físics. No obstant, els fenòmens biològics tenen unes característiques pròpies que han de tenir-se en compte quan volem analitzar-les des de un punt de vista científic. Això no es té en compte a la primera de les postures a què ens hem referit, és a dir, quan s'assimilen indiscriminadament i sense criteri els mètodes de la física a la biologia. La conseqüència pot ser el plantejament de problemes i la utilització de vies per solucionar-les poc adequats en vista a aconseguir el progrés dels coneixements biològics. Aquesta postura es troba freqüentment entre els biòlegs, principalment entre els que procedeixen d'altres branques de la ciència; també és la d'alguns filòsofs de la ciència.

La segona postura actualment és rara entre els biòlegs, però es troba en alguns filòsofs de la ciència, principalment de formació exclusivament filosòfica. Parteix del fet que en els fenòmens biològics s'observa, realment, quelcom diferent que en els físics, i aleshores per a entendre'ls es planteja el problema en termes no científics. Per exemple, en llibres de filosofia actual s'utilitzen freqüentment conceptes bergsonianos o aristotèlics en analitzar el fenomen de la vida.

Possiblement, les diferències principals que existeixen entre la física i la biologia, consisteixen en que la física estudia sistemes senzills, mentre que la biologia els estudia complexos. Una de les principals línies de progrés de la física ha consistit en el descobriment de sistemes progressivament més senzills que estan per sota dels que detectem directament amb els nostres sentits. Així s'han arribat a trobar les que semblen ser partícules elementals, que ja no serien sistemes. En l'estudi d'aquestes partícules han sorgit dificultats que semblen insuperables, com ara és la de precisar la velocitat i la posició d'un electró simultàniament. Això ha conduït als físics a renunciar a aquest tipus de coneixement i a accontentar-se amb la formulació de teories operants. La condició que han de tenir aquestes es poder-se utilitzar per tal de manejar els fenòmens u objectes als quals es refereixen, sense pretendre un coneixement del que aquests realment són. En el cas que no sigui possible una altra cosa, com és en realitat actualment en algunes qüestions físiques, aquesta posició em sembla excel·lent i la més honorada que pot adoptar un científic. En canvi, generalitzar-la a tot tipus de coneixement científic, com es fa amb freqüència, em sembla inadmissible, tant des d'un punt de vista objectiu com subjectiu. Objectivament, em sembla que hi ha coneixements científics que contribueixen a la formació de la nostra visió del món i per tant, que ens aporten quelcom més que la possibilitat de manejar aquest món. Pel que es refereix a la biologia, aquest punt serà tractat amb més extensió després. D'altra banda, si bé és important el desenvolupament de la tècnica, cosa a la qual condueix el fet de disposar d'un «coneixement operant», molts científics no és això el que busquen, sinó una aproximació al coneixement del món.

És més el valor del coneixement en si, que el de la seva utilització, el que els mou. Per a la societat humana en general, despullar la ciència del seu valor com a coneixement és un aspecte més de la tendència a considerar com a únic valor l'«eficàcia».

Centrant-nos en el cas concret de la biologia, aquesta s'ocupa de sistemes més, i sovint molt més complicats que els físics. En el coneixement d'aquests no s'ha arribat als límits com passa en la física. És més, potser en l'estudi dels sistemes biològics, la barrera que s'ha trobat en el dels físics no existeixi. A la història recent de la Biologia es troben exem-

ples de línies de treball que podríem considerar «poc operants a causa de que han conduït a coneixements «només operants», ja que per altres vies d'investigació s'ha arribat a un coneixement del mateix fenomen que m'atreviria a qualificar de real. L'exemple del concepte de cistró, proposat per BENZER l'any 1955, és adient per precisar el que diem més amunt. BENZER, analitzant la regió rII del bacteriòfag T<sub>4</sub>, arriba experimentalment al concepte de cistró com a substitut del concepte clàssic de gen, el qual amb el desenvolupament de la genètica, principalment dels microorganismes, resultava totalment inadequat.

Tractant de resumir la història tant com sigui possible, diguem que a la genètica dels anys 20 i 30, es considerava el gen com a la unitat de mutació, de recombinació i de funció. Però el descobriment del fenomen al qual se'n va dir pseudoal·lisme, demostrà que la recombinació es produeix també dins de les unitats que es consideraven com a gens. A més, això és degut al fet que dins d'una d'aquestes unitats poden produir-se mutacions en diferents punts, les quals són les que es poden recombinar. Quan aquesta recombinació es produeix es posa de manifest un fenomen que rep el nom d'efecte cis-trans. Vegem en quina cosa consisteix i com s'explica aquest fenomen d'acord amb els coneixements actuals. Un gen és un segment d'ADN que porta informació a través d'una cadena polipeptídica concreta (hi ha gens dels quals l'informació només s'aprofita per formar ARN, però això, ací no fa el cas). Aquest segment és una seqüència lineal de nucleòtids que constitueix un missatge amb senyals indicadors d'on comença i on acaba. Actualment, alguns gens han estat totalment seqüenciats i es coneix, per tant, la seva seqüència de nucleòtids, així com la seqüència d'aminoàcids de la proteïna a través de la qual porten la informació. Les mutacions són substitucions d'un nucleòtid per un altre o canvis en la seva seqüència que en traduir-se el missatge que porta el gen a la proteïna corresponent fan que aquesta presenti canvis en els seus aminoàcids. Aquests canvis en molts casos tenen per conseqüència que la proteïna no funcioni o ho faci malament.

Com és sabut, molts organismes porten regularment o ocasionalment 2 al·lels de tots o d'alguns dels seus gens. En aquest cas pot ser que cada al·lel tingui una mutació diferent ( $m_1$  a l'al·lel 1 i  $m_2$  a l'al·lel 2, fig. 1 a). Si l'efecte d'aquestes mutacions és que la proteïna que es sintetitza, amb la informació d'aquests gens, no funcioni bé, el resultat serà que l'organisme no tindrà aquesta proteïna funcional. La manca de la funció d'aquesta proteïna determinarà que l'organisme presenti alguna anomalia manifestada al nivell del fenotip, és a dir, que sigui mutant. Ara bé, en reproduir-se organismes d'aquesta constitució genètica, per recombinació (fig. 1 b) poden donar a la descendència cromosomes amb els 2 mutants o amb cap mutant (fig. 1 c). Aleshores els individus que tinguin un cromosoma

soma de cada un d'aquests tipus, com a la fig. 1 c, poden ser individus fenotípicament normals. En efecte, en un cromosoma tenen un gen doble mutant, que regirà la formació d'una proteïna no funcional, pel fet de presentar les dues alteracions condicionades per les mutacions; el gen de l'altre cromosoma porta la informació normal, per la qual cosa regirà una proteïna normal i, per tant, funcional. La presència d'aquesta pro-

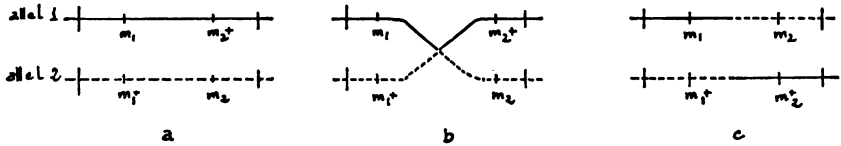


FIGURA 1. — a) L'al·lel 1 té el mutant  $m_1$ , però és normal al punt  $m_2^+$ . L'al·lel 2 és normal al punt  $m_1^+$  i mutant a  $m_2$ . Els mutants estan en posició trans. b) Es produeix recombinació quan es trenca el cromosoma dintre del gen i es torna a soldar la part de l'esquerra de l'al·lel 1 amb la de la dreta del 2 i recíprocament. c) Resultat de la recombinació. Tenim 2 al·lells formats per part del 1 i part del 2 originals, dels quals un té els 2 mutants  $m_1$  i  $m_2$ , mentre que l'altre és totalment normal  $m_1^+$  i  $m_2^+$ . Els mutants estan en posició cis.

teïna normal permet el desenvolupament del fenotip normal. Tenim, doncs, una situació on els dobles heterozigots, pels 2 mateixos mutants, quan aquests estan en cromosoma diferent, és a dir, en posició *trans*, donen lloc a un fenotip mutant (color anormal dels ulls a *Drosophila*, falta de síntesi d'arginina a *Escherichia coli*, etc.); en canvi quan els mutants estan en el mateix cromosoma, posició *cis*, el fenotip és normal. Aquest fenomen és anomenat efecte *cis-trans*.

L'anàlisi més completa i profunda d'aquest fenomen el realitzà, com hem dit abans, BENZER l'any 1955. Aleshores, ja des de feia uns anys, principalment les dades experimentals demostratives de l'efecte *cis-trans* feien insostenible la teoria clàssica del gen, com a unitat de recombinació de mutació i de funció. D'altra banda, la metodologia de la genètica clàssica (creuaments entre soques amb caràcters diferents i anàlisi de la seva descèndencia), principalment amb els treballs de BENZER, havia arribat als límits de les seves possibilitats de donar respostes a la pregunta, què és un gen? Per això BENZER proposà una definició «operant» de les unitats de la herència, a les quals, a més, donà els noms de *mutó* a la unitat de mutació, *recó* a la de recombinació i *cistró* a la de funció. Aquesta última, a la qual ens limitarem, la defineix com «el segment màxim de mapa genètic dintre del qual es produeix l'efecte *cis-trans*». Això no obstant, el propi BENZER<sup>1</sup> diu que el cistró resulta ser una estructura molt sofisticada i que serà fascinant tractar de traduir la topografia d'un cistró



a la d'una estructura fisiològicament activa, com una cadena polipeptídica plegada, formant un enzim.

El concepte de cistró és un exemple bonic del que pot aconseguir-se en l'anàlisi científica quan no és possible utilitzar un mètode de coneixement directe. No obstant, el propi BENZER indica, com acabem de citar, la possibilitat d'obtenir un coneixement del que és un cistró, a un nivell més directe que el purament operacional aconseguit amb l'anàlisi genètica clàssica. El fet és que, com hem indicat abans, actualment sabem bé què és un gen i això s'ha aconseguit amb la col·laboració de les tècniques genètiques i bioquímiques. Conèixer que un gen és un segment definit d'ADN, portador d'informació en forma d'un missatge que utilitza 4 símbols, que aquests són els 4 nucleòtids del ADN, que de l'ordre en què estan aquests símbols depèn la informació portada pel missatge, que en el missatge hi ha senyals precisos de començament i de final, que la informació que conté és en molts casos per la síntesi de proteïnes específiques, de manera que la seqüència de nucleòtids de l'ADN es tradueix en una seqüència d'aminoàcids a la proteïna d'acord amb un codi d'equivalències definit, etc., és quelcom més que un coneixement simplement operant. El coneixement del que són els gens, de les seves propietats i significat, en aquest nivell, ha ampliat la nostra concepció científica i m'atreveria a dir no solament científica, sinó general del món. El fenomen de la vida queda situat ara, almenys en alguns dels seus aspectes més fonamentals, fora del camp de les especulacions, adquirint al mateix temps una magnitud i unes dimensions pròpies, dintre dels fenòmens naturals del món físic. Em sembla evident que en aquest cas, en l'anàlisi del que és un gen, hauria estat totalment fora de lloc que els biòlegs s'haguessin acontentat com un coneixement només operant. Pel nivell que els gens ocupen dintre de la jerarquia de sistemes del món físic, era possible un coneixement directe del gens, mitjançant la combinació de les tècniques genètiques amb les bioquímiques.

No obstant això, potser per l'enlluernament de la física, és freqüent l'opinió que a la biologia i a la ciència en general, tenim que contentar-nos amb un coneixement operant. Em sembla que el coneixement científic ha de ser operant. Si no ho és podem dir que no passa la prova necessària per ser científic, però moltes vegades pot ser quelcom més i aquest quelcom més omple un aspecte de les necessitats de l'home, sense el qual el progrés tècnic pot perdre valors positius que indubtablement té. En el cas de la biologia és possible que, a causa del nivell que ocupen els sistemes biològics dintre dels sistemes del món físic o natural, els seus coneixements puguin obtenir-se sense necessitat d'acontentar-nos amb el fet que siguin només operants. Almenys, de moment no hem arribat a aquest límit. En realitat, en la biologia, les dificultats vénen de la complexitat

dels sistemes biològics, i, per tant, són més grans en els nivells superiors de les poblacions i dels ecosistemes. Això no obstant, no sembla que aquestes dificultats hagin de ser insuperables, com les que troben els físics en els sistemes que estan en el límit de la simplicitat. La utilització del mètode analític, seguit d'una síntesi dels coneixements amb ells obtinguts, permet augurar que en el futur s'aconseguirà un coneixement satisfactori. En l'aspecte analític, el que ara manca és un millor coneixement dels sistemes més senzills que constitueixen els elements integrants dels sistemes més complexos. Per a la integració posterior es necessita el desenvolupament de tècniques matemàtiques adequades per a la formulació dels models explicatius d'aquests sistemes complexos. En els camps de gran complexitat potser es trobi un altre límit de la nostra capacitat de conèixer, al nivell del gran sistema que és l'Univers, però aquest, principalment, també es un problema dels físics.

Pel que fa a la utilització de les matemàtiques a la biologia tenim un altre exemple de com és d'insuficient per al biòleg viure de les rendes del que li subministra el físic. La història de l'estadística és un exemple de com el biòleg ha hagut de desenvolupar mètodes adequats per als seus problemes. Els treballs de GALTON, PEARSON i FISHER, entre altres, en són exemples. Per trobar l'instrument matemàtic adequat per tractar els seus problemes, el biòleg, a més de considerar el que li ofereix la física, ha d'explorar directament les formulacions abstractes dels matemàtics i, si cal, caminar pel seu compte.

L'anàlisi seguida de síntesi, que acabem de indicar com el camí del progrés de la biologia, requereix passar de nivells inferiors a superiors i viceversa, de forma que es produeixi una interacció entre els coneixements dels diversos nivells. Això ho veiem en el desenvolupament recent de la genètica. La problemàtica resolta per la genètica molecular havia estat plantejada de dalt a baix, des del nivell superior a l'inferior, és a dir, analíticament. El genètic clàssic partint de l'organisme, l'analitzava en caràcters, i del comportament d'aquests en els creuaments, deduïa les propietats de les unitats genètiques elementals, els gens. A part de les limitacions que ja s'han comentat abans, a aquesta via d'anàlisi li han calgut les característiques fonamentals dels processos hereditaris, individualitat de les unitats de l'herència o els gens, característiques de la seva transmissió, localització i disposició dintre de la cèl·lula, existència del fenomen de la mutació i les seves peculiaritats, etc. Tot això ha servit per comprendre la importància bàsica que té el fenomen de l'herència dintre del fenomen de la vida en general i ha menat l'atenció dels bioquímics a fer-se les preguntes, la contestació de les quals ha donat origen a la genètica molecular. Aquesta, com hem dit abans, ha aportat un coneixement directe d'alguns aspectes essencials de la genètica, als quals la

metodologia clàssica no podia arribar, com, per exemple, al que són els gens.

Els coneixements de la genètica molecular han tingut una retroacció sobre els nivells superiors d'integració d'aquesta ciència. Així, el coneixement que els gens tenen com a primer efecte genotípic la síntesi d'una proteïna específica, ha obert un nou camp d'estudi de la variabilitat genètica: la variabilitat a les proteïnes. Amb la utilització de les tècniques d'electroforesi, l'anàlisi d'aquesta variabilitat es realitza rutinàriament en poblacions nombroses. L'impacte produït a la genètica de poblacions i, per tant, a la teoria de l'evolució, per aquesta possibilitat i pels resultats ja obtinguts, ha estat considerable. Excepte en casos més aviat excepcionals, a la genètica de poblacions li era impossible estudiar el comportament dels gens individuals. Excepte en el cas dels gens amb efectes patològics, que tenen poca importància per a l'evolució, i en els pocs casos en què es troben aHels d'un mateix gen determinant vaariabilitat discontinua en caràcters normals del fenotip extern, els gens que determinen la variabilitat a les poblacions tenen efectes petits que, combinats amb els d'altres gens i amb l'efecte de l'ambient, no poden detectar-se individualment i donen lloc a la variabilitat contínua o quantitativa. Per això, l'anàlisi de l'herència d'aquests caràcters es fa en termes purament estadístics, calculant mitjanes, variàncies, distribucions de freqüències, etc. En poder-se detectar les proteïnes controlades pels gens d'efectes petits, no només s'ha obert una nova dimensió de la variabilitat dels sistemes biològics, sinó que s'ha fet possible el coneixement directe i precís d'aspectes de la genètica de poblacions, com el càlcul de la quantitat de variabilitat genètica existent en una població, el nivell d'homozigosi o heterozigosi que es produeix en una població quan s'hi aplica selecció, creuaments consanguinis, etc., quin significat té el lligament en diferents processos evolutius i moltes coses més. Totes aquestes són qüestions que planteja des de fa temps la genètica de poblacions. Les respostes que ja està començant a donar-hi l'anàlisi de la variabilitat al nivell molecular estan obrint nous punts de vista, cosa amb la qual, als nivells d'integració superiors de la genètica de poblacions i la teoria de l'evolució es formulen nous models matemàtics, els quals al seu torn plantejen noves preguntes a contestar a nivell analític de l'estudi de la variabilitat a les proteïnes. És a dir, es produeix com hem dit abans una interacció contínua de nivell superior a inferior i viceversa.

Un exemple d'aquesta interacció el tenim en el següent cas, estudiat recentment al Departament de Genètica de la Facultat de Biologia de Barcelona. La distribució estadística de l'estatura de l'home, de la grandària general del cos en molts organismes i de les dimensions molt correlacionades amb aquest, molt freqüentment presenta una clara asimetria

negativa. La longitud de l'ala a *Drosophila melanogaster* és un caràcter d'aquest tipus amb distribució asimètrica negativa. M. AGUADÉ, J. CUELLO, L. SERRA i J. XUFRE han realitzat experiments de selecció de la longitud de l'ala a *Drosophila melanogaster*. Començant a la mateixa població s'han establert línies de selecció per ales llargues i ales curtes, utilitzant exactament la mateixa pressió de selecció, és a dir, seleccionant a les línies d'ales llargues a cada generació, el 20% de individus amb ales més llargues i a les línies d'ales curtes el 20% d'individus amb ales més curtes. Malgrat això, la selecció resulta més eficaç a les línies d'ales curtes, aconseguint-se un canvi més gran en el promitg de la longitud de l'ala. És a dir, començant simultàniament a partir de la mateixa població inicial, línies seleccionades per ales llargues i línies seleccionades per ales curtes, la resposta a la selecció és totalment asimètrica (fig. 2). En els experiments que estem considerant s'han analitzat, a més, diversos sistemes d'alloenzims, amb la qual cosa s'ha pogut obtenir informació sobre com la selecció per la longitud de l'ala afecta l'estructura del genotip. Així, s'ha vist que la selecció per ales curtes augmenta molt més la homozigosi que la selecció per ales llargues, d'acord amb experiments anteriors<sup>2</sup> en els quals el que s'analitzà foren les ordenacions cromosòmiques. Per tant, les ales curtes depenen de genotips més homozigots i les ales llargues de genotips més heterozigots. Aquest fet explica, almenys en part, la resposta asimètrica a la selecció i, també, l'asimetria negativa que sol trobar-se en la distribució de la longitud de l'ala.

En aquest exemple es veu com la descripció purament estadística del fenomen de la variació a la longitud de l'ala a *Drosophila melanogaster* en relacionar-lo amb un nivell inferior, el molecular, passa a tenir una explicació, encara que només parcial.

L'anàlisi del fenomen exclusivament des del nivell en què es manifesta, és a dir, al d'un fenotip morfològic i reduïble, per mida a quantitatiu, no permetia anar més enllà d'una descripció estadística: dir que el fenomen s'adapta a un model de distribució que s'aparta de la normal per una tendència a la asimetria negativa. Aquest model comporta que el caràcter, la longitud de l'ala, depengui de molts factors d'efectes relativament petits, els efectes dels quals donen lloc a aquest tipus de distribució. Les estructures del genotip i de les interaccions entre aquest i l'ambient, que poden explicar la distribució observada son nombroses. Pot pensar-se en efectes de homozigosi i heterozigosi amb superioritat o sense dels heterozigots, en interaccions més o menys complicades entre els diferents gens no al·lèls, en variacions de la homeostasi del desenvolupament o canalització relacionades amb els diferents genotips presents a la població i amb les interaccions d'aquests amb l'ambient, etc. És a dir, amb l'estudi del caràcter al nivell del fenotip morfològic, utilitzant les tècniques de creua-

LONGITUD  
DE L'ALA

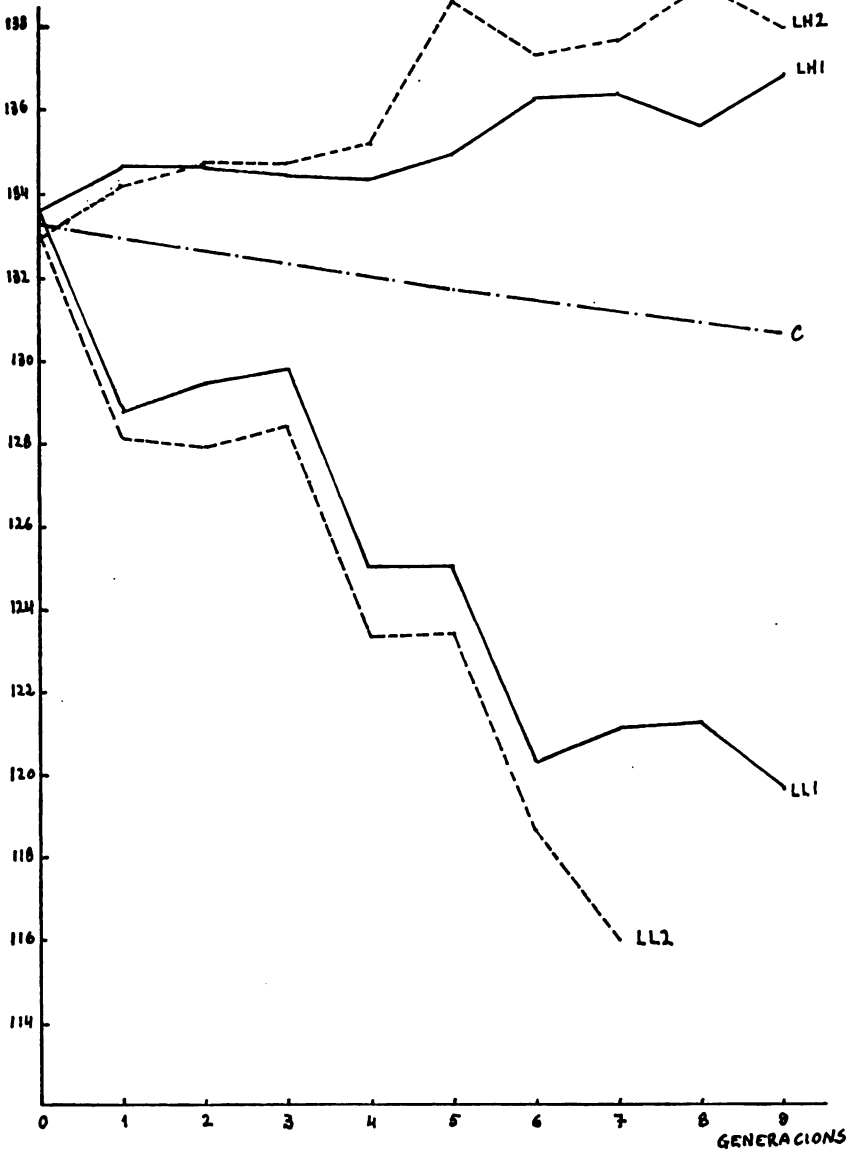


FIGURA 2. — Exemple dels resultats de la selecció per ales llargues i ales curtes. Les línies LH són seleccionades per ales llargues, les LL seleccionades per ales curtes i la C és una línia control. La longitud de l'ala es dona en unitats del micròmetre (1 unitat micròmetre 0,01754 mm). La diferència entre la línia control i les línies seleccionades correspon a l'efecte aconseguit amb la selecció.

ments de la genètica clàssica, no es pot sortir d'una indeterminació en allò que es refereix al coneixement de quina estructura de factors genètics i ambientals determina realment la situació que s'observa al nivell del genotip morfològic. No és possible discriminar entre diverses alternatives que poden explicar les dades que tenim. De fet, la línia seguida en aquest cas parteix d'un nivell superior per a induir la situació que la determina en un nivell inferior. L'anàlisi directa d'aquest nivell inferior, l'estructura del genotip, és actualment possible amb l'estudi de la variabilitat a les proteïnes. Aquesta situació és general a la biologia. Els diversos nivells dels fenòmens biològics tots són analitzables directament o és de preveure que puguin ser-ho en el futur. La biologia és una ciència que es mou en un nivell intermedi en relació al que tendeix a infinitament petit i a infinitament gran, on es troben els límits del coneixement amb què topa la física. En canvi, la biologia troba les dificultats en la gran complexitat dels fenòmens biològics, però cada nivell d'aquesta complexitat sembla que pot ser assequible a un anàlisi directa. Per tant, no sembla que els coneixements biològics hagin de trobar-se en situacions límit com les de la física, almenys no s'hi troben actualment.

La interacció entre els coneixements obtinguts a diferents nivells és la base de la superació de les situacions en les quals semblava que s'havia arribat a una indeterminació. En l'exemple que hem posat, l'anàlisi a nivell del fenotip morfològic havia posat de manifest una sèrie de possibilitats respecte a l'estructura del genotip que determina la longitud de l'ala. Això ha servit per plantejar unes preguntes adequades i planejar experiments per contestar-les i conduir a l'anàlisi directa d'aquesta estructura mitjançant l'estudi de varios sistemes d'enzims. Les respostes obtingudes amb aquesta anàlisi, permeten entendre millor certs aspectes del nivell superior. Per exemple, el fet que la grandària petita estigui relacionada amb l'homozigosi, fa pensar que vagi acompanyada de petites deficiències metabòliques. Això suggereix experiments al nivell de l'anàlisi de fenotip morfològic, com subministrar diverses substàncies en l'alimentació de soques seleccionades per ales curtes, a fi de veure si tenen un efecte sobre la grandària. En cas d'obtenir-se resultats positius amb algunes substàncies, podria estudiar-se el seu metabolisme i el genotip que controla aquest metabolisme, a fi d'obtenir proves directes de que realment presenta deficiències i veure quina base genètica tenen. Amb això hauríem tornat als nivells inferiors per contestar les qüestions sorgides a l'estudi dels superiors. D'aquesta manera, passant successivament d'un nivell a l'altre (evidentment no necessàriament d'una manera alternativa tant regular com suposem en aquest exemple) es van obtenint uns coneixements biològics que són quelcom més que operants.

BIBLIOGRAFIA

1. BENZER, S. — *The elementary units of heredity*, In, «The Chemical basis of Heredity» (Eds. Mc. Elroy, W. D. i Glass, B.). The John Hopkins Press. Baltimore (1957).
2. PREVOSTI, A. — *Inversion heterozygosity and selection for wing length in Drosophila subobscura*. «Genetical Research», 10: 81-94 (1967).





**SISTEMÀTICA I EVOLUCIÓ**  
**EN EL MÓN DELS PROCARIOTES :**  
**DADES APORTADES PER L'ESTUDI DELS ÀCIDS NUCLEICS**  
**DELS BACTERIS DEL GRUP *BDELLOVIBRIO* \***

per FRANCESC TORRELLA i MATEU

Departament de Microbiologia, Facultat de Ciències,  
Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

**INTRODUCCIÓ**

L'ordenament sistemàtic de les estirps bacterianes s'ha realitzat durant molt de temps seguint les mateixes pautes i tenint en compte les mateixes limitacions teòriques que dirigeixen el treball del sistemàtic dels organismes eucariòtics. Una idea bàsica ha estat agrupar els procariotes sota un nom genèric i un altre d'específic, de manera que la unitat formada tingués el mateix sentit que l'espècie en el món dels eucariotes. La sistemàtica dels éssers superiors unicel·lulars o pluricel·lulars atén sobre tot a les característiques fenotípic-morfològiques dels individus un cop s'han esgotat les possibilitats genètiques de diferenciació i d'agrupament (anàlisi de la reproducció, cariotip, etc.). La importància de les dades fenotípiques, sobretot les de base morfològica, queda minimitzada quan es considera la sistemàtica bacteriana. Podria dir-se que el nivell d'organització procariòtic es distingeix de l'eucariòtic pel fet que l'eficàcia biològica dels

\* **ADVERTIMENT:** Encara que l'estructura d'aquest escrit sigui la d'un article científic, el contingut i la discussió dels resultats s'han exposat amb la idea d'esperonar la discussió més que no pas d'establir conclusions fermes. Crec que aquesta va ser la idea del RECAP-75 a Sta. M.<sup>a</sup> de Poblet i he procurat ésser fidel totalment a aquest esperit.

Fora el meu desig que el lector considerés aquest treball amb punts de vista crítics oberts. No pretenc afirmar coses i tancar discussions. Només plantejo fets i dificultats d'interpretació en un camp; l'evolució dels bacteris, molt poc conegut i, per tant, objecte de moltes hipòtesis i especulacions. Si les dades que presento i el seu tractament serveixen per confirmar o despertar nous punts de vista en algun dels lectors, em donaré per satisfet.

eucariotes es fonamenta en gran part en la seva capacitat de diversificació morfològica. Ben al contrari, l'èxit biològic dels bacteris es basa en la seva capacitat d'adaptació bioquímica. Donada una morfologia, la diversitat fisiològica dels bacteris que la poseeixen és sorprenent.

Tanmateix, la diversificació morfològica dels bacteris no es pot subvalorar. De fet, la consideració de les morfologies bacterianes ha demostrat ser una base ferma per a l'establiment d'alguns grups bacterians. Els caràcters fenotípic-morfològics en la classificació dels bacteris poden fer-se servir a aquest nivell, però la seva escassetat no permet avançar sistemàticament molt més enllà de l'ordenament en grans grups.

Els bacteris, com a grup, ofereixen els caràcters fenotípics a nivell bioquímic més que no pas morfològic. Un cert nombre d'aquests caràcters bioquímics, d'arrel fisiològica la majoria de les vegades, poden ésser estudiats al laboratori. Però aquesta anàlisi de caràcters bioquímics és un arma enganyosa. Per una banda sembla que l'estudi de la base química d'un caràcter d'un ser viu és l'anàlisi més fina del genotip de l'individu i, per tant, d'un valor objectiu més gran. Però per altra banda, la capacitat fisiològica d'un bacteri per metabolitzar cert producte pot dependre d'un sol gen. En canvi, un caràcter morfològic és conseqüència de diversos gens. És a dir, la consideració d'un tret morfològic equival a l'anàlisi d'una considerable massa de genoma, mentre que l'anàlisi d'un caràcter bioquímic pot donar-nos informació només d'un petit fragment de genoma. Naturalment, en aquest tipus de comparacions de trets morfològics s'ha de tenir cura de no confondre caràcters semblants a causa de la convergència amb d'altres que reflecteixen un parentiu genètic.

De tot l'anterior es dedueix que per a obtenir una informació global acceptable del genoma d'un bacteri mitjançant proves bioquímiques cal analitzar el fenotip de molts gens. Aquesta és una tasca llarga i tediosa en el treball de laboratori. Per altra banda quan en la determinació i classificació d'un bacteri no es poden fer servir caràcters morfològics distintius, les proves bioquímiques poden conduir a classificacions que agrupin microorganismes amb els àcids nucleics molt diferents<sup>2</sup>. Immediatament, a l'investigador se li planteja el dubte de si haurà agrupat, basant-se en uns pocs trets fenotípic-bioquímics, una sèrie d'organismes sense cap parentiu filogenètic (1).

Tanmateix, les classificacions de base bioquímica són útils des d'un punt de vista operatiu en molts camps de la microbiologia i el microbiòleg molts cops no pretén més que obtenir una ordenació útil als seus propòsits. MANDEL<sup>12</sup> ho reflecteix ben bé en aquesta frase: «*Igual que amb*

<sup>1</sup> Sempre que en aquest escrit utilitzo els termes «relacions naturals entre organismes» ho faig en el sentit de «relacions derivades d'un parentiu filogenètic».

les cigarretes, una bona espècie i una bona classificació son aquelles que satisfan».

Després d'establir els grups d'éssers vius, el sistemàtic intenta d'ordenar-los segons una classificació natural. En l'estat actual del coneixement del món procariòtic pot ser aventurat de parlar de filogènia bacteriana i per tant de «classificació natural» de bacteris. El coneixement més complet dels sistemes de transmissió genètica en els bacteris pot conduir a una idea ben diferent del que és una classificació natural en els bacteris i en els éssers eucariòtics. Els estudis de laboratori ens indiquen que l'estabilitat d'un genoma bacterià en una població mixta a la natura pot ser molt relativa. Com a factors determinants de canvis en el genoma no solament figuren les mutacions sinó els sistemes de transmissió genètica d'efectes molt més dràstics. La realitat de la conjugació, transformació i transducció bacterianes, i el paper dels prófags i plàsmids invita a considerar el genoma dels bacteris com a una molècula de DNA amb un elevat «turnover genètic» des d'un punt de vista evolutiu. Fa uns anys, les consideracions d'aquest tipus participaven d'una elevada dosi de teoria. Tanmateix, els esforços que actualment es porten a terme a fi de verificar la transmissió d'informació genètica a la natura han arribat a resultats positius <sup>11, 16, 30</sup>.

És indubtable que la clasificació dels bacteris es necessària sigui o no filogenètica. Al llarg dels anys seixanta s'han desenvolupat una sèrie de tècniques per a l'estudi dels àcids nucleics que tenen molt d'interès per a la sistemàtica bacteriana. Aquests mètodes permeten el càlcul del % molar de guanina i citosina (% GC) del DNA, de la semblança en la seqüència de bases entre dues molècules de DNA o entre una de DNA i una altra de RNA (homologia d'àcids nucleics) i de la grandària del genoma dels bacteris. SNEATH <sup>24</sup> resumeix així les principals dades de les quals pot disposar en l'actualitat un sistemàtic bacterià:

1. *Aspectes fenotípics:*

- Característiques morfològiques.
- Característiques bioquímiques i genètiques.

2. *Aspectes fenètics:*

- Reaccions de tipus serològic entre proteïnes.
- Mesura de l'homologia entre els àcids nucleics.

3. *Aspectes genotípics:*

- Seqüenciació dels aminoàcids de les proteïnes.
- Seqüenciació de les bases dels àcids nucleics.

El treball que s'exposa a continuació tracta la taxonomia d'un grup de bacteris, els bdeHovibrions, i es discuteixen els resultats en el context general de les classificacions de bacteris i de l'evolució en el món procariontic.

Els bdeHovibrions són bacteris parasítics agrupats en el gènere *Bdellovibrio* que parasiten altres bacteris. Són aerobis estrictes, gramnegatius, de morfologia vibriHar, amb un flagell polar provist d'una beina que envolta el cos central del flagell i es continua amb la paret del bacteri. Els *Bdellovibrio* que s'aïllen de la natura (sòls, aigües dolces, mar, etc.) depenen d'un hoste (un altre bacteri) per a la seva existència i per això són anomenats en anglès *host dependents* (HD). Al laboratori s'han seleccionat soques que poden viure en medis de cultiu rics sense necessitat d'infectar un hoste. Aquestes soques reben el nom de *host independents* (HI). L'acció parasítica dels bdeHovibrions es limita a altres bacteris gramnegatius, puix que no són certes les dades referents a bdeHovibrions que ataquen els bacteris grampositius. La figura 1 mostre el cicle vital d'un bdeHovibrió parasític. Aquest cicle comprèn una fase lliure (forma vibrillar), l'atac pròpiament dit (adsorció i digestió de la paret de l'hoste), creixement del paràsit dins l'espai periplasmàtic del bacteri hoste (fase espiriHar), segmentació de l'espiral del bdeHovibrió i síntesi del flagell, i finalment trencament dels restes de l'envoltura cel·lular del bacteri hoste (bdeHoplast) i alliberament dels bdeHovibrions fills infectius. Les figures 2 i 3 són dues micrografies electròniques que mostren la morfologia d'un *Bdellovibrio* típic (fig. 2) i el moment de l'atac del paràsit a l'hoste (fig. 3). El lector interessat en altres detalls de la biologia dels bdeHovibrions pot consultar les revisions de STARR i HUANG<sup>25</sup> i de STARR i SEIDLER<sup>26</sup>.

Per la seva mateixa naturalesa parasítica manca en els bdeHovibrions una part important de la maquinària biosintètica habitual en un eubacteri. Generalment falten molts enzims utilitzats per la degradació dels sucres, la síntesi de les bases dels àcids nucleics i d'altres. Això determina la impossibilitat de fer estudis complets amb les proves bioquímiques d'ús habitual al laboratori. SEIDLER, MANDEL i BAPTIST estudiaren<sup>22</sup> la sistemàtica del grup *Bdellovibrio* mitjançant les homologies entre els àcids nucleics d'algunes soques. Fruit d'aquest treball va ser la distinció de tres espècies acceptades a la vuitena edició del Manual Bergey's de Determinació Bacteriològica<sup>3</sup>.

Totes les soques de *Bdellovibrio* aïllades fins avui dia presenten una identitat quasi absoluta quant a morfologia, estructura i cicle vital. En algun cas, com a *Bdellovibrio* W<sup>4</sup> s'ha descobert que el paràsit pot enquistar-se quan infecta altres bacteris. Això no es coneix d'altres bdeHovibrions, però pot molt ben ser que no s'hagi buscat o no s'hagi trobat

encara la soca hoste adequada. Hi ha alguna altra diferència relativa a l'especificitat de l'hoste, puix que unes soques ataquen preferentment els pseudomonas i d'altres els enterobacteris gramnegatius. Els estudis dels

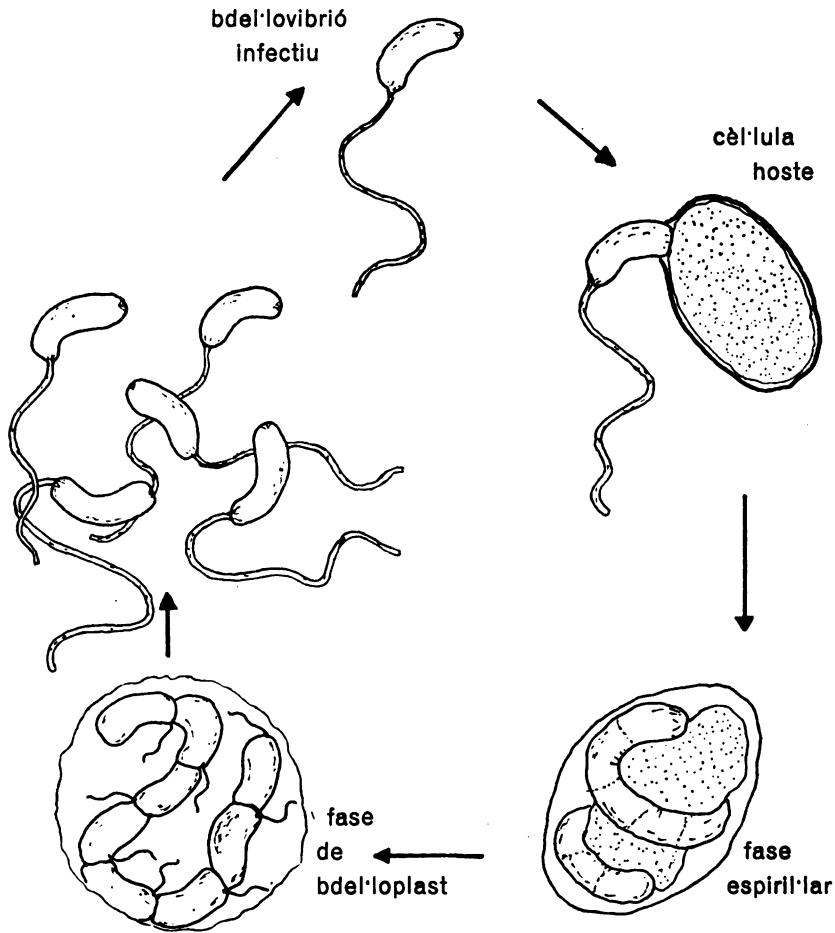


FIG. 1. — Cicle infecciós d'un *Bdellovibrio* HD. Les fases de l'atac es descriuen amb detall al text.

àcids nucleics van revelar que el grup dels bdellovibrions no era tan homogeni com feien suposar la seva morfologia, estructura i cicle vital. En el present treball s'exposen els resultats de l'estudi de les homologies, el % GC i la grandària del genoma de soques ja estudiades i d'altres

aïllades de nou. Els resultats posen de manifest la dificultat de l'estudi de la filogènia bacteriana, àdhuc tenint a les mans les dades de les homolo-

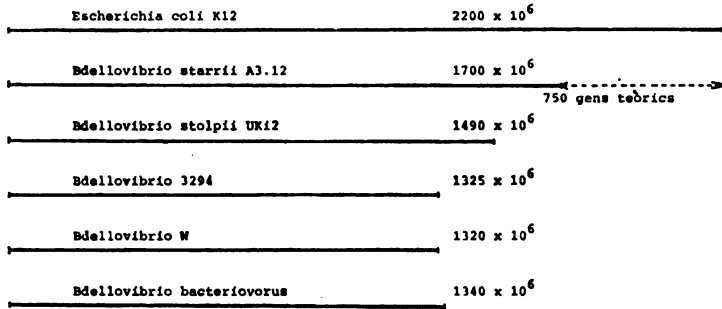


FIG. 4. — Grandària del genoma d'*Escherichia coli* comparat amb el de diverses soques de *Bdellovibrio*.

1 gen ~ 1000 parells de nucleòtids.

Pes molecular mitjà d'un nucleòtid = 331.

(- - -) = diferència de grandària entre genomes.

gies entre els àcids nucleics de les soques comparades. D'altra banda, aquestes dades augmenten el coneixement de la diversitat genotípica dels bacteris del grup *Bdellovibrio*.

## MATERIAL I MÈTODES

### Microorganismes estudiats

Soques de *Bdellovibrio* independents d'hoste (HI): *Bdellovibrio* 100; 109D; W; UK12; A3.12; 3294; 3293. Soques dependents d'hostes (HD): *Bdellovibrio* SP-1; S3; S2; C1; C3; C4. *Escherichia Coli* WP-2; *Spirillum serpens* MW5.

### Lloc d'aïllament de les soques

*Bdellovibrio* 100; 109 i A3.12 foren aïllades de sòls a Califòrnia (USA); *Bdellovibrio* UK12 procedeix de Kentucky (USA); *Bdellovibrio* W fou aïllada a Alemanya; *Bdellovibrio* 3294 i 3293 procedeixen d'aiguamolls de les costes del Japó; *Bdellovibrio* SP-1 fou aïllada per l'autor d'un sòl de conreu de Valls (Alt Camp) i *Bdellovibrio* S2; S3; C1; C3 i C4 d'aigües residuals de Valls.

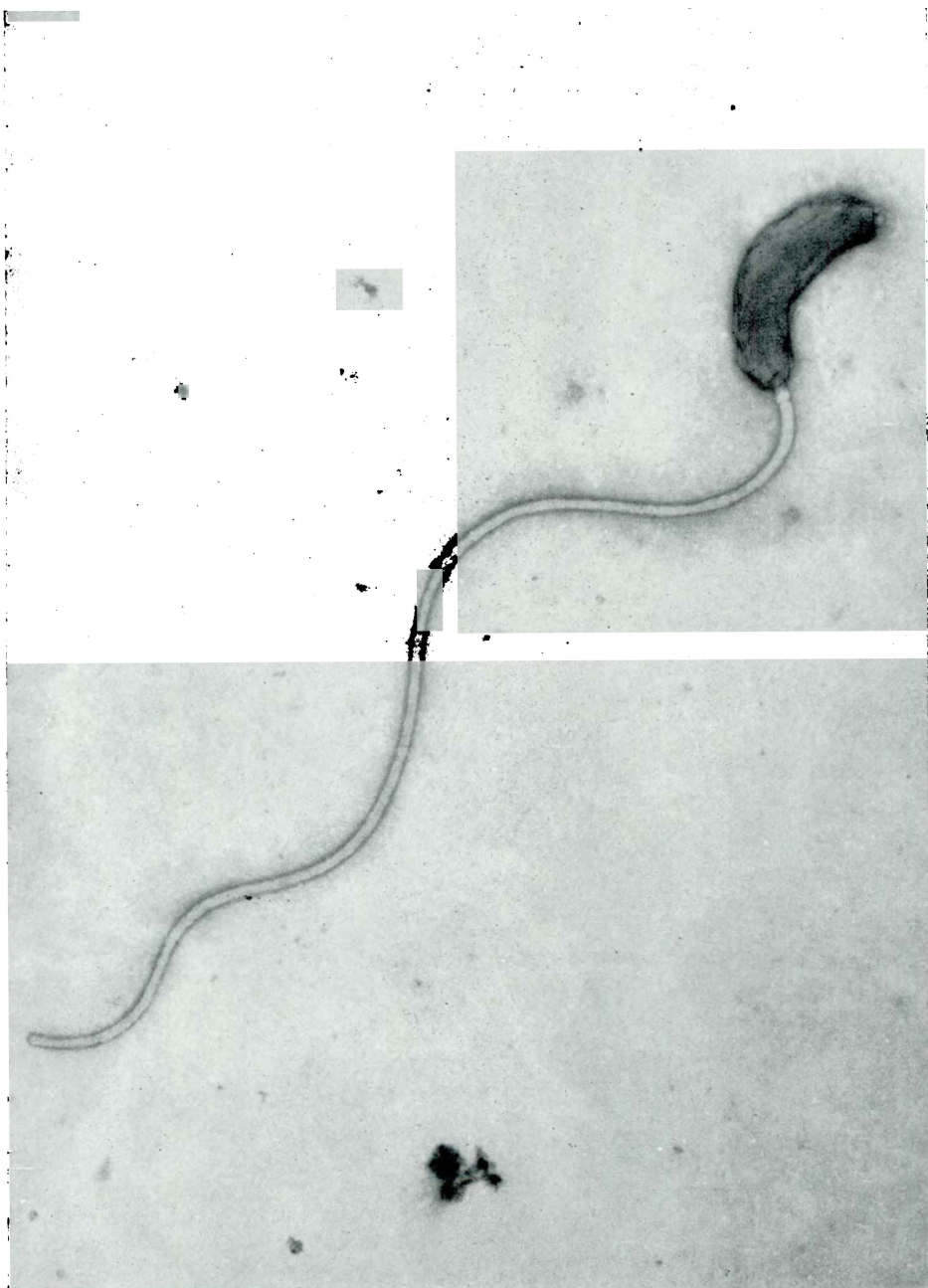


FIG. 2. — Morfologia típica d'una soca de *Bdellovibrio* aïllada d'aigües residuals. Tinció negativa amb acetat d'uranil al 0,5 % ( $\times 37000$ ).







FIG. 3. — AtaBc d'un *Bdellovibrio* a una cèl·lula d'*Escherichia coli*. Tinció negativa amb àcid fosfotúngstic al 1 % ( $\times 38.000$ ).



### *Cultius cel·lulars*

Les soques de *Bdellovibrio* independents d'hoste, *Escherichia coli* i *Spirillum serpens* foren cultivades en mitjà PYE líquid a 30 °C<sup>19</sup>. Les soques dels bdeHovibrions dependents d'hoste varen créixer sobre *Spirillum serpens* en medi NB-10<sup>18</sup> fins que l'observació al microscopi mostrava la destrucció completa de las cèHules del bacteri hoste.

### *Extracció i purificació del DNA*

Les cèHules d'*Escherichia coli* i de *Bdellovibrio* un cop rentades amb tampó foren lisades amb dodecilsulfat de sodi al 2 %. El DNA s'obtingué i purificà mitjançant la modificació del mètode de MARMUR<sup>14</sup> utilitzada per SEIDLER i col·laboradors<sup>21</sup>.

### *Determinació del % molar del GC*

La concentració de guanina i citosina es va determinar per l'obtenció del punt mitjà de fusió (T<sub>m</sub>) de l'àcid nucleic<sup>15</sup>. La fusió del DNA es portà a terme en tampó SSC diluït deu vegades i fent servir com estàndard intern DNA d'*Escherichia coli* WP-2 amb un % GC conegut i igual al 51. Per al càlcul final de la T<sub>m</sub>, la lectura de la densitat òptica a cada temperatura es corregí tenint en compte la dilatació de les cubetes. La fórmula emprada per al càlcul final del % GC fou la de MANDEL et al.<sup>13</sup>.

### *Reassociació del DNA (homologies i grandària del genoma)*

La reassociació es va fer en tampó 3xSSC amb un 20 % de dimetil-sulfòxid (DMSO) segons la tècnica descrita per SEIDLER i MANDEL<sup>21</sup>, mesurant la disminució de la densitat òptica a la cubeta de reacció. El DNA utilitzat es trencà amb una premsa de French a 15 000 psi. Després la mostra es va passar per un filtre de nitrat de cel·lulosa (Millipore de 0,45 µm de porus mitjà i va dialitzar-se durant 24 hores en el tampó esmentat.

Les fórmules emprades per a l'obtenció de l'homologia i de la grandària del genoma així com altres detalls tècnics es troben a SEIDLER i MANDEL<sup>21</sup>. Cal dir que la reacció es va realitzar a una temperatura de T<sub>m</sub>-25 °C. A aquesta temperatura dues cadenes senzilles de DNA poden aparellar-se encara que les seqüències de bases no coincideixin exactament. En canvi, a T<sub>m</sub>-15 °C, temperatura més restrictiva, només les cadenes senzilles de DNA que són idèntiques en seqüència poden arribar a apa-

rellar-se. D'això es dedueix que una manca d'aparellament (reassociació) a  $T_m-25$  °C indica una falta d'homologia entre dos DNA molt més important que el mateix fet a  $T_m-15$  °C.

### RESULTATS

La taula 1 indica el % GC i la nomenclatura taxonòmica de les soques de *Bdellovibrio* estudiades. El % GC varia des de 37 fins 51. El límit inferior està representant per soques aïllades al Japó (37-38 % GC).

TAULA 1. — % GC de les soques de *Bdellovibrio* estudiades i nomenclatura taxonòmica acceptada fins l'any 1972

| Soca de <i>Bdellovibrio</i> | % GC  | Altres autors <sup>1</sup><br>% GC | Taxoespècie acceptada             |
|-----------------------------|-------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 109D                        | 51    | 51,5                               | <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> |
| SP-1                        | 50,05 | —                                  | —                                 |
| S <sub>2</sub>              | 48,09 | —                                  | —                                 |
| S <sub>3</sub>              | 48    | —                                  | —                                 |
| C <sub>1</sub>              | 47,9  | —                                  | —                                 |
| C <sub>3</sub>              | 47,9  | —                                  | —                                 |
| C <sub>4</sub>              | 47,9  | —                                  | —                                 |
| W                           | 43,7  | —                                  | —                                 |
| A <sub>3,12</sub>           | 43,46 | 43,5                               | <i>Bdellovibrio starrii</i>       |
| UKi <sub>2</sub>            | 41,77 | 41,8                               | <i>Bdellovibrio stolpii</i>       |
| 3294                        | 37,38 | —                                  | —                                 |
| 3293                        | 38,46 | —                                  | —                                 |

<sup>1</sup> Seidler et al. (1972).

TAYLOR et al.<sup>20</sup> han aïllat alguns *bdeHovibrions* marins amb un % GC semblant. Hi ha un altre grup de *bdeHovibrions* amb un % GC de 41,5 a 44. Un tercer grup ben definit inclou soques amb un % GC de 49,5 a 51. Algunes de les soques aïllades a Catalunya tenen un % GC lleugerament inferior i igual a 48.

La figura 1 mostra la grandària del genoma de les diferents soques de *Bdellovibrio* comparat amb el d'*Escherichia coli*. El genoma més gran correspon a la soca A<sub>3,12</sub>. Aquest resultat coincideix amb les dades d'altres autors<sup>22</sup>. En conjunt, la grandària del genoma dels *bdeHovibrions* és més

petita que el d'*Escherichia coli*, com correspon a un bacteri parasític en el qual manquen molts enzims de biosíntesi de metabolits cel·lulars.

La taula 2 expressa l'homologia detectada entre DNA de parells de soques de *Bdellovibrio*. Els valors de % GC escrit a la dreta de la mateixa taula posen de manifest que dos DNA amb un % GC igual o molt semblant poden no presentar homologia.

TAULA 2. — Tant per cent d'homologia entre els DNA de diverses soques de *Bdellovibrio*

| Parells de soques<br>a / b<br>de <i>Bdellovibrio</i> | % d'homologia<br>entre el DNA<br>de a i b | % d'homologia<br>segons altres<br>autors <sup>1, 2</sup> | % de GC dels DNA<br>de a i b |
|--|---|--|------------------------------|
| A <sub>3</sub> /12W                                  | 23  | —  | 43,5/43,7                    |
| UKi <sub>2</sub> /W                                  | 28,5                                      | —  | 41,8/43,7                    |
| A <sub>3</sub> .12/UKi <sub>2</sub>                  | 14  | 16   | 43,5/41,8                    |
| A <sub>3</sub> .12/3294                              | 0   | —  | 43,5/37,4                    |
| UKi <sub>2</sub> /3294                               | 37  | —  | 41,8/37,4                    |
| W/3294   | 32  | —  | 43,7/37,4                    |
| 100/A <sub>3</sub> .12                               | —   | 1  | 50/43,5                      |
| 100/UKi <sub>2</sub>                                 | —   | 0  | 50/41,8                      |
| 100/109D   | —   | 103  | 50/51                        |

<sup>1</sup> Seidler et al. (1972).      <sup>2</sup> Seidler et al. (1969).

## DISCUSSIO

D'acord amb les dades del % GC (taula 1), el grup dels bdeHovibrions podria ésser dividit en tres subgrups diferents. Cadascun d'aquests subgrups estaria caracteritzat pel seu % GC. En aquest cas 49,5 % a 51 % (primer grup), 42 % a 44 % (segon grup) i 37 % a 38 % (tercer grup). Si el nostre estudi dels àcids nucleics s'hagués aturat en aquest punt, la formació dels tres subgrups sembla una conseqüència lògica. Però, com hem dit abans, la igualtat en % GC no suposa la homologia en la seqüència de bases en el DNA (taula 2). En canvi, una diferència important del % GC entre dos DNA permet predir poca o gens homologia entre els dos àcids nucleics. SUEOKA (1961) estima que una diferència d'un 10 % entre els % GC del DNA de dos bacteris suposa l'existència de molts pocs fragments amb el mateix contingut de guanina i citosina i, per tant, és d'esperar molt poca homologia. Més tard DELEY<sup>5</sup> ha calculat que dos DNA

que difereixin en un 16 % GC poden tenir en comú com a màxim un 4 % de les seves seqüències de nucleòtids.

Així, doncs, ja sense fer les homologies dels DNA de *Bdellovibrio* 3294 (37 % GC) i de *Bdellovibrio* 109D (51 % GC), podem saber que la semblança serà molt magra o no existirà en absolut. Les soques *Bdellovibrio* 100 (50 % GC) i 109D (51 % GC) presenten un 100 % d'homologia com varen demostrar SEIDLER et al.<sup>22</sup>. Aquest resultat s'ajusta a l'esperat entre dos bacteris amb el mateix contingut de GC i morfologia i cicle vital idèntics. La conclusió no es pot estendre a tots els casos. Així, *Bdellovibrio* A3.12 (43,5 % GC) i *Bdellovibrio* UK12 (42 % GC) solament tenent un 16 % d'homologia i en canvi els % GC són quasi iguals. És a dir, els percentatges de guanina i citosina molt diferents poden ésser útils per separar soques. Pel contrari, els % GC molt semblants no poden fer-se servir per establir grups dintre un conjunt de soques idèntiques en estructura i proves bioquímiques.

Segons les dades del % GC i homologies presentades en aquest treball, les tres espècies de *Bdellovibrio* descrites per SEIDLER et al.<sup>22</sup>: *Bdellovibrio bacteriovorus*, *Bdellovibrio starrii* i *Bdellovibrio stolpii*, s'haurien d'ampliar en dues més. Aquestes noves espècies estarien representades per les soques 3294 i W a les quals caldria posar noms específics. Encara no hem mesurat l'homologia de les soques que hem aïllat a Catalunya amb altres de semblant % GC, per exemple *Bdellovibrio* 109D de Califòrnia. Potser hi trobarem molta semblança, però no podem predir res encara, vist el resultat obtingut amb les altres soques del Japó i Alemanya.

Però proposant només noves espècies podem quedar-nos curts. Així BRENNER et al.<sup>2</sup> treballant amb enterobacteriàcies fixen la xifra de 70 % d'homologia per poder incloure dues soques dins un mateix gènere de bacteris. En el cas dels bdellovibrions i seguint aquestes indicacions hauríem de formar nous gèneres i separar-los de *Bdellovibrio*, puix molts cops les homologies entre soques no arriben ni al 30 %. Seguint l'ortodòxia vigent i l'esperit del *ego sum*, la «lleï» em protegiria pel fet d'establir diversos gèneres dins una família de bacteris que en podríem dir «Bdellovibrinàcies». No crec que sigui aquest el camí per aportar quelcom de positiu a la classificació dels bacteris.

En el cas de *Bdellovibrio* i en d'altres que exposarem més endavant, crec que hem arribat a un punt en què cal preguntar-se el significat dels estudis d'homologia d'àcids nucleics i si realment aquests tipus de mesures poden aclarir una mica les classificacions bacterianes. Un fet és evident: l'estudi de l'homologia entre dos àcids nucleics ens dóna una imatge prou bona per poder comparar les seqüències de bases en els DNA i els RNA. Això sens dubte té un gran valor per a l'estudi fi de dos genomes bacterians. Però... fins a quin punt poden fer servir aquestes dades

per ordenar els bacteris en una classificació el més filogenètica possible?

Quan parlem d'un 0% d'homologia entre dos DNA no vol dir que els àcids nucleics siguin completament diferents quant a seqüència de bases. Com ja s'ha dit en la introducció, les tècniques emprades estan a un nivell fenètic i no estrictament genotípic. Per tant, un 0% d'homologia només vol dir una poca semblança molt acusada.

El caràcter haploide del genoma bacterià (deixem a part alguns artefactes de laboratori) i la no repetició dels seus cistrons, excepte alguns pel rRNA i algun altre<sup>10</sup> fan que un canvi en la molècula del DNA dels bacteris representi una modificació més important en el conjunt del genoma que no pas el mateix canvi en l'àcid nucleic d'una cèl·lula eucariòtica. El genoma d'un eucariota com a mínim és diploide i en ell molts cistrons estan repetits moltes vegades. En altres paraules podríem dir que el genoma d'un eucariota està molt més tamponat que el d'un bacteri envers els canvis de bases o de fragments de DNA.

Suposem per un moment que les dades d'homologia entre DNA ens donen una idea ferma del parentiu filogenètic entre dos bacteris des d'un punt de vista evolutiu, el cas dels bdel·lovibrions i d'altres de ben coneguts, com els dels bacils esporulats grampositius inclosos en el gènere *Bacillus*, podria ser un exemple de convergència evolutiva. La forma de vida tipus «bdel·lovibrió» seria el resultat de l'evolució fins al parasitisme intracel·lular de diverses formes bacterianes genèticament allunyades. És a dir, d'entre la gran diversitat de bacteris aerobis primitius, algunes línies haurien arribat en el curs de l'evolució a un tipus de vida «bdel·lovibrió». Les formes actuals amb un contingut i seqüència de bases molt diferents provindrien de línies independents.

Des d'un punt de vista d'evolució en els éssers vius eucariotes, aquesta sembla ser una conseqüència lògica si considerem les semblances en l'estructura cel·lular i el cicle vital dels bdel·lovibrions d'una banda i les diferències en el DNA de l'altra. El grup de *Bacillus* amb un % GC de 32 a 62 és tant o més divers que el dels bdel·lovibrions, segons va demostrar TAKAHASHI et al.<sup>27</sup> amb experiments d'hidridació de DNA. No crec que en bacteriologia tots els casos que semblen poder-se interpretar com a convergències ho siguin en realitat. Penso que hi ha una altra possibilitat per explicar la semblança morfològica i la diversitat genòmica que es troba en soques de bacteris molt semblants. Com hem dit a la introducció, les possibilitats de canvis, fins i tot dràstics, del genoma dels bacteris semblen cada dia més evidents. Imaginem-nos per un moment que les seqüències de bases en el DNA d'un cistró poden variar mentre els canvis no afectin la funció de la proteïna codificada, però siguin suficients per impedir l'aparellament de les cadenes del DNA en els experiments

d'homologia. Si això és veritat, les mesures d'homologia haurien de donar uns tants per cents molt baixos, puix l'aparellament de les cadenes senzilles de DNA depèn de la semblança global en la seqüència de bases dels fragments que interaccionen. Vegem en dos exemples la possibilitat d'aquesta situació.

Per tal de digerir les proteïnes de l'hoste, els *Bdellovibrions* sintetitzen i segreguen fora de la cèl·lula molts tipus de proteases, entre elles, serin-proteases. Malhauradament no es coneixen les seqüències d'aminoàcids d'aquests enzims a *Bdellovibrio*, però si les d'algunes serin-proteases de membres del gènere *Bacillus*. SMITH et al.<sup>23</sup> varen analitzar les seqüències de la serin-proteasa (subtilisina) de dues soques de *Bacillus subtilis*. Els resultats indicaren que la subtilisina de *Bacillus subtilis* BPN era molt diferent de la de *Bacillus subtilis* Carlsberg. A causa de la composició diferent d'aminoàcids, aquests tipus d'enzims són separables mitjançant electroforesi. Així s'ha fet en el cas de les serin-proteases de *Bdellovibrio*<sup>7</sup> que també donaren motilitats electroforètiques diferents. Això fa suposar que les seqüències d'aminoàcids de les serin-proteases dels *Bdellovibrions* també siguin diferents. És a dir, mentre la funció de l'enzim, en aquest cas una proteasa, no resulti perjudicada, la constitució nucleotídica del segment de DNA codificada pot experimentar modificacions que condueixin a aminoàcids diferents en la cadena polipeptídica.

En el cas dels citocroms, AMBLER et al.<sup>1</sup> comprovaren que dins d'una espècie de gènere *Pseudomonas*, les diferències d'aminoàcids en un determinat citocrom eren més grans que les que s'observen a la mateixa proteïna entre diferents animals i plantes.

Alguns autors pensen que hi ha parts del DNA més estables i rebeques als canvis. Això s'ha comprovat en els cistrons que codifiquen la síntesi del rRNA. El conjunt d'aquests cistrons, tot i que alguns estan repetits de sis a deu vegades en el genoma d'un bacteri, no representa més del 4 % del total del DNA. DOI et al.<sup>6</sup>, MOORE et al.<sup>17</sup> i d'altres trobaren que la seqüència de bases en els cistrons del rRNA era la mateixa quan es comparen espècies bacterianes de gèneres diferents. Tanmateix, aquest fet no és general, puix TAKAHASHI et al.<sup>20</sup> treballant amb *Bacillus* i SEIDLER et al.<sup>22</sup> treballant amb *Bdellovibrio* han trobat que la seqüència de bases dels cistrons que codifiquen el rRNA no és la mateixa fins i tot en soques bacterianes incloses dins un mateix gènere. Si en sentit filogenètic acceptem els *Bacillus* i els *Bdellovibrio* com a grups naturals de bacteris podem concloure que al llarg de l'evolució dels microorganismes els fragments de DNA que codifiquen el rRNA no han quedat «congelats» i presenten variabilitat àdhuc entre soques de bacteris molt semblants. Així, doncs, no tots els rRNA, per fer la seva funció a



nivell de ribosoma, necessiten tenir la mateixa seqüència de nucleòtids. De primer moment sembla que pel fet d'ésser el ribosoma un òrganul tan uniforme quant a estructura i funció, el RNA ribosòmic hauria de tenir la mateixa seqüència de nucleòtids en tots els bacteris actuals. S'ha suggerit la possibilitat que podrien existir en una mateixa cèl·lula diversos tipus de ribosomes amb funcions diferents encara que sempre per a sintetitzar proteïnes. Això de moment no s'ha comprovat i per tant cal pensar en la uniformitat d'estructura i funció dels ribosomes. Actualment hom creu, amb bons fonaments, que el rRNA no actua com a missatger per les mateixes proteïnes del ribosoma. En cas que el rRNA fes de mRNA per aquestes proteïnes, la seva informació no abastaria a codificar la síntesi de totes elles, sinó solament d'una quarta part. La funció del rRNA sembla més «enzimàtica» o «estructural» que no pas codificadora. Per tant és possible imaginar fragments d'aquest rRNA molt necessaris per a la funció de la molècula i d'altres trossos on els canvis de bases no tinguin tanta transcendència.

Així, doncs, veiem que, en el món dels procariotes, la variabilitat de bases en el DNA quan es comparen bacteris molt semblants es dona no solament en els cistrons de proteïnes enzimàtiques, sinó fins i tot en els que codifiquen el rRNA. A part d'aquestes diferències de bases d'acció directa sobre la constitució de les proteïnes, també pot haver-hi diferències degudes a la degeneració del codi genètic.

Amb aquestes evidències i des d'un punt de vista evolutiu queda plantejada la dificultat de la interpretació de les dades d'homologia entre àcids nucleics de bacteris. ¿No serà que així com a les plantes i animals superiors hi ha taxònoms que van darrera les formes per a descriure noves entitats sistemàtiques a nivell d'espècie, en els bacteris el biòleg molecular té un mecanisme —les homologies entre DNA—, per a descriure infinitat de noves espècies? De tot això es deduiria que la mesura de l'homologia entre genomes bacterians pel que respecta a la classificació no pot tenir el mateix valor que l'homologia entre DNA d'éssers superiors. Crec que en els bacteris les dades d'homologies no tenen tant de valor per a establir classificacions naturals com alguns autors volen donar-los-hi. Si ho acceptem així, les diferències en les homologies de DNA de bacteris molt semblants foren una prova de les possibilitats de diversificació dels genomes bacterians tot i conservant-se les mateixes estructures i funcions.

Potser la resposta a l'alternativa convergència envers diversificació es troba en la valoració del nombre i importància dels caràcters que es comparen (acció evidentment subjectiva). De fet, si agafem el concepte de convergència evolutiva en el nivell morfològic en els eucariotes també podem aplicar-lo a certes semblances entre grups de bacteris. Per exemple, molts bacteris que viuen adherits a sòlids a les aigües tenen una

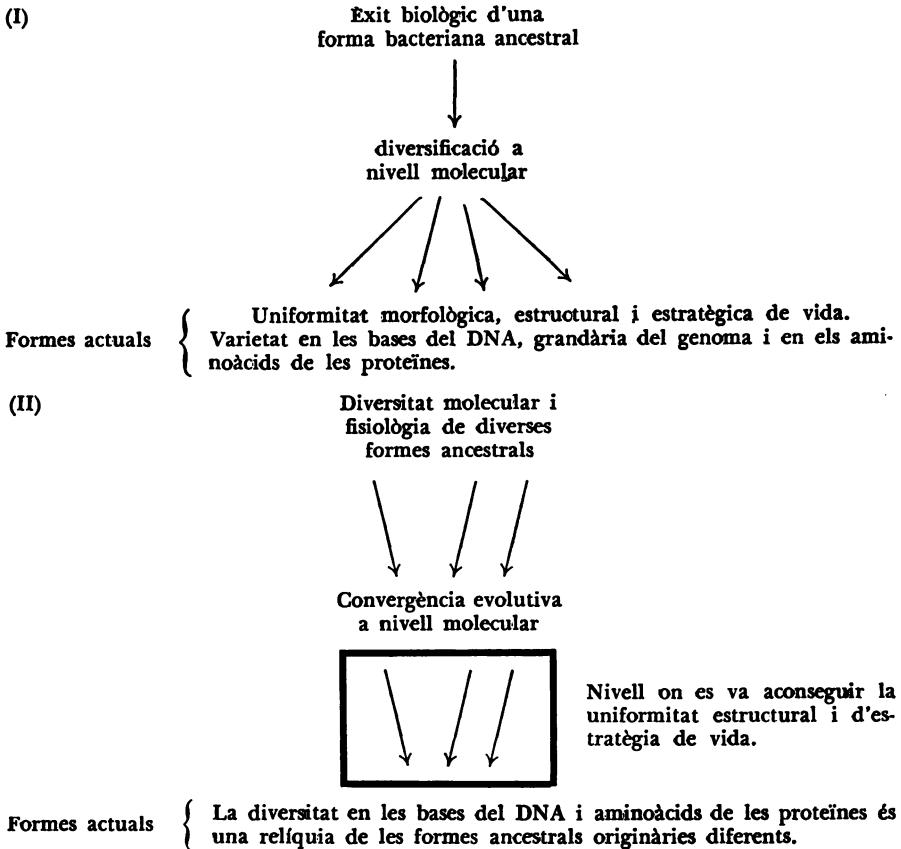
estructura, la prosteca, que els subjecta al substrat. Aquesta estructura, tot i acomplint la mateixa funció, és produïda per grups de bacteris molt llunyans genèticament. Així, doncs, podem considerar aquest exemple com un cas de convergència en la funció de subjectar el bacteri al substrat. Un altre exemple el constitueixen tots els bacteris que en un moment del seu cicle vital produeixen una estructura útil a la propagació de l'espècie i més o menys resistent a la deshidratació: les espores i els cists bacterians. En aquestes estructures fins i tot hi ha semblances molt notables (nombre i disposició de les capes que constitueixen el cist o l'espore), però la semblança mai no arriba a una identitat absoluta de la naturalesa química de les macromolècules que constitueixen les diferents capes. Així per exemple, alguns bacteris oxidadors del metà produeixen unes espores extraordinàriament semblants a les dels *Bacillus*, però hi manca l'àcid dipicolínic, constituent típic i universal de les espores dels *Bacillus* aïllats a la natura<sup>31</sup>.

Queda com a una incògnita si en el món bacterià les convergències varen arribar a igualar no solament les funcions, sinó també la bioquímica íntima de les estructures macromoleculares (membranes, parets, tipus de flagell) que sostenen aquestes funcions. Això hauria passat en el cas dels *Bdellovibrio* i dels *Bacillus*. Si en lloc d'usar el terme «convergència», que pot tenir un cert regust lamarckià, utilitzem el de «coincidència», potser no es podrà negar que, del conjunt infinit de bacteris ancestrals, moltes línies en llocs diferents arribessin al llarg dels milions d'anys i de generacions a «coincidir» exactament en la mateixa bioquímica estructural i funcional. Aquesta és una possibilitat difícil de comprendre potser, però que no es pot negar.

Vegem un altre aspecte en l'estudi dels genomes bacterians. La grandària del genoma dels bacteris s'ha fet servir també per separar espècies. En el cas dels *Bdellovibrions* trobem un conjunt de soques amb un DNA de pes molecular mitjà igual a  $1330 \times 10^6$  uma (*Bdellovibrio* 3294, W i 109D). El DNA de la soca *Bdellovibrio* UK12 pesa  $1490 \times 10^6$  uma i el de *Bdellovibrio* A3.12  $1700 \times 10^6$  uma. Entre el genoma més gran i el més petit hi ha una diferència de  $370 \times 10^6$  uma. Aquesta és una xifra considerable, però BRENNER et al.<sup>2</sup> analitzant la grandària del genoma de moltes soques d'*Escherichia coli* de diferent origen obtingueren diferències de fins  $670 \times 10^6$  uma. En els bacteris, molts elements cromosòmics tipus plàsmid tenen pesos moleculars de  $70 \times 10^6$  uma i més<sup>3</sup>. Per exemple, el plàsmid ColVBtrp té un pes molecular de  $107 \times 10^6$  uma i correspon a un 5% de cromosoma de l'hoste (*Escherichia coli*). Se sap que molts d'aquests elements es poden integrar en el cromosoma dels bacteris i ésser transferits a la natura i al laboratori d'unes cèl·lules a les altres. Així, doncs, l'origen d'una diferència de pes molecular considerable pot ser explicada si

es pensa en la possibilitat que un cromosoma bacterià hagi intercanviat i incorporat diversos fragments de DNA al llarg de l'evolució. Dintre de certs límits, les diferències de grandària de genoma no semblen barres infranquejables des d'un punt de vista evolutiu.

FIG. 5. — Esquema de dues possibilitats d'evolució en els bacteris (situació idealitzada).



A la figura 5 s'han caricaturitzat les dues possibilitats extremes d'evolució en el món bacterià discutides més amunt. És possible que totes dues s'hagin donat en una mateixa línia de descendència al llarg dels milions d'anys des que els bacteris aparegueren a la terra. La hipòtesi de la diversificació (I) recolza en les possibilitats de variació del material genètic, l'antiguitat dels bacteris i les possibilitats d'isolament. En aquest cas, la mutació es veu com a font de diversificació mentre que l'intercanvi de

trossos grans de DNA entre bacteris que conviuen en un mateix lloc seria una força que tendiria a la uniformització dels genomes. En el cas dels bdeHovibrions podem pensar en isolaments deguts al macrohàbitat «inorgànic» (bdeHovibrions del sòl, d'aigües salobres, d'aigües dolces, del mar, etc.), però també en isolaments deguts al microhàbitat «orgànic», és a dir, a l'especialització d'hoste. Per exemple, les soques tipus A<sub>3.12</sub> solament ataquen els pseudomones i no ho fan amb els enterobacteris.

Si acceptem la hipòtesi de la convergència (II) a l'hora de pensar en un arbre filogenètic, les homologies entre els DNA de bacteris indicarien d'una manera quasi bé absoluta el parentiu ancestral entre dos bacteris. Així, doncs, recolzant-nos en les dades d'homologies podríem dir que els bdeHovibrions actuals provenen de línies evolutives separades. Són polifilètics.

Si pensem en l'ordenació sistemàtica dels bacteris mitjançant l'estudi d'hibridacions d'àcids nucleics i acceptem la hipòtesi de la convergència funcional, el futur de les classificacions bacterianes de base filogenètica és prou fosc. És possible que apareixin tantes línies evolutives diferents com soques de bacteris estudiats aïllats de llocs geogràfics llunyans. En canvi si s'accepta que les possibilitats de diversificació que afecten les bases moleculars del genoma en una línia bacteriana poden ésser importants, la significació de les homologies per a establir parentiu natural no serà tan gran. En aquest cas, homologies diferents indicarien manca de contacte entre línies bacterianes més que no pas l'origen polifilètic de les soques. El gènere de bacteris estaria format per grups de soques amb caràcters morfològics, estructurals (incloent-hi la composició i arquitectura bioquímica de parets i membranes) i fisiològics que conjuntament constituïren l'estratègia de vida d'aquests bacteris. Dins d'aquest tipus de grup natural de soques les homologies d'àcids nucleics podrien variar des d'un 0% a un 100%.

Des del meu punt de vista crec que la situació que presenten els bdeHovibrions, els *Bacillus* i d'altres bacteris no esmentats s'adapta més a un model tipus I (diversificació del genoma) encara que no veig com es pot negar absolutament la possibilitat representada pel model tipus II (convergència estructural i funcional).

Però mentre alguns grups de bacteris es presten a aquests tipus de discussions, altres com les enterobacteriàcies no ofereixen una situació tan clara, puix que les diferències de morfologia i estructura són quasi inexistent. Per aquest motiu el valor que alguns bacteriòlegs donen a les homologies en aquest grup és molt gran i donen per segur que l'aparellament entre dos DNA és una bona dada de base filogenètica. Crec que en aquests grups de bacteris s'ha d'anar molt amb compte abans de donar un valor filogenètic a les dades d'homologies entre àcids nucleics.

Encara que la situació en *Bacillus* i *Bdellovibrio* pot ésser pensada com un cas concret en el món dels bacteris, sens dubte constitueix un model que pot donar llum a la comprensió dels mecanismes evolutius en el nivell d'organització procariòtica.

**AGRAÏMENTS:** Vull agrair al Prof. Ricard Guerrero, del Dept. de Microbiologia de la Facultat de Ciències de la Universitat Autònoma de Barcelona tot l'encoratjament i ajuda que m'ha donat. Sota la seva direcció porto a terme estudis sobre l'ecologia dels bdellovibrions. També dec la meva reconeixença al Prof. R. J. Seidler per la seva amabilitat durant la meva estada al seu laboratori a la Universitat de l'Estat d'Oregon (USA), on s'ha fet part d'aquest treball. Els comentaris al manuscrit fets pels meus companys Carles Cases, del Dept. de Microbiologia, i Ferran Rodà del Dept. d'Ecologia de l'Universitat Autònoma han estat de molta utilitat.

#### BIBLIOGRAFIA

1. AMBLER, R. P. i WYNN, M. — *Species differences in the aminoacid sequences of bacterial proteins*. In: Chemotaxonomy and Serotaxonomy, ed. J. G. Hawkes, pp. 57-64. London: Academic Press (1968).
2. BRENNER, D. J., FANNJNG, G. R., SKERMAN i FALKOW, S. — *Polinucleotide sequence divergence among strains of Escherichia coli and closely related organism*. «J. Bacteriol.», 109: 953-965 (1972).
3. BUCHANAN, R. E. i GIBBONS, N. E. — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The Williams and Wilkins Co. Baltimore (1974).
4. BURGER, A., DREWS, G. i LADWING, R. — *Wirstkreis und Infektionscyclus eines neu isolierten Bdellovibrio bacteriovorus-Stammes*. «Archiv für Mikrobiologie», 61: 261-279 (1968).
5. DELEY, J. — *Compositional nucleotide distribution and the theoretical prediction or homology in bacterial DNA*. «J. Theor. Biol.», 22: 89-116 (1969).
6. DOY, R. J. i IGARASHI, R. T. — *Conservation of ribosomal and messenger ribonucleic acid cistrons in Bacillus species*. J. Bacteriol., 90: 384-390 (1965).
7. GLOOR, L.; KLUBEK, B. i SEIDLER, R. J. — *Molecular heterogeneity of the bdellovibrions: Metallo and serine proteases unique to each species*. «Arch. Microbiol.», 95: 45-56 (1974).
8. HELINSKI, D. R. — *Plasmid determined resistance to antibiotics: molecular properties of R factors*. «Ann. Rev. Microbiol.», 27: 437-470 (1973).
9. HICKSON, F. T., ROTH, T. F. i HELINSKI, D. R. — *Circular DNA forms of a bacterial sex factor*. «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 58: 1731-1738 (1967).
10. JASKUNAS, S. R.; LINDAL, L. i NOMURA, N. — *Identification of two copies of the gene for the elongation factor EF-Tu i E. coli*. «Nature», 257 (5526): 458 (1975).
11. LACY, G. H. i LEARY, G. V. — *Transfer of antibiotic resistance plasmid RP1 into Pseudomonas glycinea and Pseudomonas phaseolicola in vitro and in planta*. «J. Gen. Microbiol.», 58: CF-LS (1975).
12. MANDEL, M. — *New approaches to bacterial taxonomy: perspectives and projects*. «Ann. Rev. Microbiol.», 23: 239-274 (1969).

13. MANDEL, M.; IGAMBI, L.; BERGENDAHL, J. i DODSON, M. L. (JR.) — *Correlation of melting temperature and CsCl buoyant density of bacterial DNA*. «J. Bacteriol.», 101: 333-338 (1970).
14. MARMUR, J. — *A procedure for the isolation of DNA from microorganisms*. «J. Mol. Biol.», 3: 208-218 (1961).
15. MARMUR, J. i DOTY, P. — *Determination of the base composition of DNA from its thermal denaturation temperature*. «J. Mol. Biol.», 5: 109-118 (1962).
16. MITSUHASHI, S. — *Epidemiology and genetics of R. factors*. «Annals of the New York Academy of Science», 182: 141-152 (1971).
17. MOORE, R. L. i MCCARTHY, B. J. — *Comparative study of ribosomal ribonucleic acid cistrons in enterobacteria and mycobacteria*. «J. Bacteriol.», 94: 1066-1074 (1967).
18. SEIDLER, R. J. i STARR, M. P. — *Factors affecting the intracellular parasitic growth of Bdellovibrio bacteriovorus developing within Escherichia coli*. «J. Bacteriol.», 97: 912-923 (1969).
19. SEIDLER, R. J. i STARR, M. P. — *Isolation and characterization of H-I bdellovibrios*. «J. Bacteriol.», 100: 769-785 (1969).
20. SEIDLER, R. J., STARR, M. P. i ANDEL, M. — *Deoxyribonucleic acid characterization of bdellovibrios*. «J. Bacteriol.», 100: 786-790 (1969).
21. SEIDLER, R. J., i MANDEL, M. — *Quantitative aspects of deoxyribonucleic acid characterization: base composition, state chromosome replication and polynucleotide homologies*. «J. Bacteriol.», 106: 608-614 (1971).
22. SEIDLER, R. J., MANDEL, M. i BAPTISTS, J. N. — *Molecular heterogeneity of the bdellovibrios: evidence of two new species*. «J. Bacteriol.», 109: 209-217 (1972).
23. SMITH, E. L. ET AL. — Citat a M. MANDEL, 1969 (1966).
24. SNEATH, P. H. A. — *Phylogeny of microorganisms*. In M. J. Carlile and J.J. Shekel. «Evolution in the Microbial World», 24 Symp. S.G.M. pp. 1-39. Cambridge University Press, Cambridge (1974).
25. STARR, M. P. i HUANG, H. — *Physiology of the bdellovibrios*. «Adv. Microbial. Physiol.», 8: 215-257 (1972).
26. SATTR, M. P. i SEIDLER, R. J. — *The bdellovibrios*. «Ann. Rev. Microbiol.», 25: 650-674 (1971).
27. TAKAHASHI, H.; SAITO, H. i IKEDA, Y. — *Genetic relatedness of spore bearing bacilli studied by the DNA agar method*. «J. Gen. Appl. Microbiol.», 12: 113-118 (1966).
28. TAKAHASHI, H.; SAITO, H. i IKEDA, Y. — *Species specificity of the ribosomal RNA cistrons in bacteria*. «Biochem Biophys. Acta», 134: 124-133 (1967).
29. TAYLOR, V. I.; BAUMANN, P.; REICHEL, J. L. i ALLEN, R. D. — *Isolation, enumeration and host range of marine bdellovibrios*. «Arch. Microbiol.», 98: 101-114 (1974).
30. WEINBER, S. R. i SOTZKY, G. — *Conjugation and genetic recombination of Escherichia coli in soil*. «Soil Biology Biochemistry», 4: 171-180 (1972).
31. WILKINSON, J. F. — *Hydrocarbons as a source of single cell protein*. In D. E. Hughes and A. H. Rose, «Microbes and Biological Productivity» 21st Symp. S.G.M. pp. 15-46. Cambridge University Press., Cambridge (1971).

## MODELS MATEMÀTICS I MODELS FÍSICS DE POBLACIONS I D'ECOSISTEMES

per RAMON MARGALEF

Potser encara amb una freqüència més gran que altres branques de la biologia, l'ecologia, com a ciència de síntesi que és, ha d'organitzar i coordinar contribucions molt diverses, procedents de l'aplicació de mètodes de recerca heterogenis, i que, per tant, vénen embolcallades en llenguatges no estrictament traduïbles i són fruit d'enfocs i motivacions no sempre harmonitzables. Aquest és l'origen de discussions inacabables. Les qüestions simplement semàntiques han estat una plaga de l'ecologia. Un mateix mot ha estat emprat per a significar coses diverses, segons la procedència, la tradició o l'escola. També són d'ús comú conceptes aparentment diversos, però que, en realitat, es superposen o són parcialment assimilables.

Així, per exemple, estabilitat s'ha usat per referir-se a alguna propietat abstracta del sistema, però també per referir-se a característiques concretes de diferents ecosistemes que les mostren en grau extrem i no sempre de manera coincident. És a dir, el que per a uns autors són sistemes de gran estabilitat, per a altres són d'un grau elevat d'inestabilitat. Una petita part d'aquesta confusió és deguda al fet que poden existir sistemes estables integrats per subsistemes inestables, però, també en aquest cas, utilitzo una definició d'estabilitat que no seria acceptada per tothom. La noció d'eficiència presenta dificultats semblants. Per al qui ve del camp de l'economia i pensa en l'explotació de la naturalesa, l'eficiència es mesura en funció del que un ecosistema pot donar a l'home; però existeixen altres enfocs dintre els quals els intercanvis a l'interior i en funció del propi ecosistema han de definir l'eficiència. L'adopció de la teoria de sistemes, l'ús de mètodes de càlcul electrònic han donat fruit, però en algunes àrees han augmentat la confusió.

Dintre de la temàtica general d'aquesta reunió procurarem analitzar alguns dels aspectes no sempre complementaris, ni sempre tampoc ex-

clusius (en el sentit que un pugui substituir l'altre totalment) que demanen una síntesi dintre d'un nivell més ampli o més elevat i en el qual desapareixen aparents incongruències i contradiccions, o almenys així s'espera.

En aquests comentaris ens referirem a poblacions formades per individus d'una espècie o de moltes espècies. Aquests darrers collectius més amplis, que són els reals, corresponen a la part viva dels ecosistemes. Les dificultats que ens presenta el seu tractament quantitatiu no han de ser considerades com entorpidiments enutjosos, sinó com estímuls a intentar assolir nivells més elevats de coherència que es pot suposar que estaran més a prop d'una interpretació correcta de com són i de com funcionen les coses.

Poblacions d'una espècie o de moltes espècies poden ser avaluades en massa (biomassa) o en nombre d'individus. Si es prefereix emprar el nombre d'individus, que es discontinu, i no diferenciable, ens cal usar una expressió de diferències finites.

$$\begin{array}{ccccccc} \Delta N & = & R & - & M & + & I & - & E \\ \text{Variació} & & \text{Nats} & & \text{Morts} & & \text{Immigrants} & & \text{Emigrants} \\ \text{en nombre} & & & & & & & & \end{array}$$

Però si preferim representar el creixement en massa (B), aquest es pot fer continu, perquè el creixement és continu

$$\begin{array}{ccccccc} \Delta B & = & R & + & C & - & M & + & I & - & E \\ \text{Variació} & & & & \text{Creixement} & & & & & & \\ \text{en massa} & & & & & & & & & & \end{array}$$

Si  $\Delta t \rightarrow 0$ , l'increment de B es pot expressar com una taxa instantània  $dB/dt$ , tal que

$$dB/dt = (r + c - m + i - e) B$$

on les lletres petites representen les corresponents contribucions a la taxa de variació total, expressades de forma relativa, és a dir,  $R = rB$ , quan l'increment de temps a què es refereix R es fa infinitament petit.

És clar que aquestes taxes instantànies no tenen sentit si es refereixen a poblacions formades, naturalment, per un nombre enter i discontinu d'individus. Això no obstant, tota la teoria ecològica referent a poblacions i a interacció entre poblacions s'ha basat en expressions de la forma  $dN/dt = (r-m) N$ .

La contemplació de les poblacions unispecífiques es pot fer des de dintre i des de fora. Mirant la població des de dintre, hom descriu la



població i hom accepta certa constància dels seus paràmetres dinàmics; per exemple, hom assigna durant cert període de temps una taxa de multiplicació ( $r$ ) o una taxa de mortalitat ( $m$ ) constants, que, si es vol, es poden fer dependre de l'edat, sense massa complicacions. Però vista la població des de fora, ens adonem que els dits paràmetres no poden ser constants, puix depenen de diverses interaccions i circumstàncies de l'ecosistema. De qualsevol manera, importa poc, perquè la imprecisió i quantificació obligada en les determinacions d'edat i la discontinuïtat dels moments en què es censin les poblacions fan que, teories a part, les taxes no puguin definir-se amb la precisió que caldria per decidir si l'espècie en qüestió persistirà o s'extingirà en competència o interacció amb d'altres. Valors ínfims i diferències petitíssimes en les taxes fan la diferència entre la supervivència i l'extinció, i són, com s'ha dit, indeterminables amb la precisió volguda. Aquesta dinàmica de poblacions, doncs, rarament pot ser predictiva. La dinàmica de poblacions és, teòricament, insuficient en el sentit que LEWONTIN<sup>5</sup> ho diu de la genètica de poblacions per significar que els paràmetres i llurs combinacions importants no es poden mesurar amb el grau necessari de precisió.

¿Fins a quin punt és possible practicar una «dinàmica de poblacions unspecífiques», si cal recórrer a l'examen d'altres espècies acompanyants a fi de conèixer, almenys aproximadament, la composició probable i els futurs valors de les taxes de natalitat i mortalitat? Aquesta qüestió forma el nucli de la discussió final d'una reunió sobre «dinàmica de nombres en poblacions» tinguda a Holanda en 1970. WATT<sup>12</sup>, correctament des del meu punt de vista, situa la discussió de la dinàmica de poblacions individuals dintre la dinàmica de la comunitat complexa entera. Això desvetllà certa reacció negativa en altres demògrafs, que sembla que pretenquin que la demografia és possible dintre una espècie. És típica la següent rèplica de BAKKER<sup>12</sup>: «Els punts de vista de WATT no són els d'un ecòleg de poblacions, sinó els d'un ecòleg de comunitats i, malgrat el seu possible interès en una teoria de síntesi biològica, no poden ajudar a les persones que tracten d'estudiar els problemes menors d'ecologia de poblacions». Crec que l'interès que poden tenir els problemes científics menors, que han de quedar forçosament sense solució si no s'amplia el marc de referència, és molt relatiu.

En conseqüència, molts textos que passen com de dinàmica de poblacions es limiten a una comptabilitat modesta, amb una sèrie de regles de procediment. Un hom desitjaria posar en el seu lloc quelcom més sòlid. Potser continuar usant expressions diferenciables, no referides a individus, sinó a matèria i energia o bé considerar que cada població és poc intel·ligible, si no és part d'un sistema amb moltes poblacions, com sembla la idea de WATT, i també la meua. Els conceptes de matèria i energia

tenen prou problemes en llur aplicació a sistemes ecològics perquè ací i ara se'n pugui parlar extensament. Pensem en la decisió necessària de qualificar la matèria de viva, poc activa, o morta, o la necessitat de preveure si considerem solament l'energia de la fotosíntesi o producció primària, o bé també l'energia auxiliar que sovint potencia aquella producció primària.

Examinem breument diverses qüestions associades amb la decisió d'estudiar conjunts de moltes espècies. Des de VOLTERRA<sup>11</sup> i LOTKA l'obertura acostuma a ser:

$$dN_i/dt = F(N_i, N_j, N_k, \dots)$$

que vol dir que el canvi en el temps del nombre d'individus de l'espècie  $N_i$ , la dinàmica de la població de l'espècie  $N_i$ , és una funció no especificada dels nombres d'individus de les espècies  $i, j, k$  ( $N_i, N_j, N_k, \dots$ ) amb les quals conviu. Això és obvi, ja que unes espècies seran font d'aliment, i per tant factor positiu de natalitat, i altres seran causa de mortalitat, actuant com enemics o depredadors. Usualment, els ecòlegs són un xic més arriscats i donen una forma explícita a les funcions quan escriuen:

$$dN_i/dt = \sum_{j=i} a_{ij} N_i N_j$$

el que vol dir que la contribució de cada trobada entre espècies ( $i, j$ ) a la dinàmica de la primera ( $i$ ) es fa proporcional a les densitats respectives de població ( $N_i N_j$ ), que entren en forma de producte, com en la llei de masses de la química, i a un coeficient  $a_{ij}$ , positiu o negatiu, que dóna el signe (positiu en l'aliment, negatiu en el depredador, etc.) i la intensitat en la interacció entre espècies. És clar que és possible pensar a donar una altra forma a les funcions fent, per exemple, que la intensitat de la interacció no sigui proporcional al producte de les concentracions respectives, sinó una mica més baixa —o més alta—, cosa que es pot aconseguir afectant les  $N$ s amb exponents adients.

Aquest tractament pot esdevenir exclusivament matemàtic. El matemàtic veu un sistema de moltes poblacions —i cada una de les poblacions dintre aquest sistema— com una xarxa amb moltes connexions, definides pels coeficients  $a_{ij}$ , que es pot representar de manera bonica com una matriu que dóna la interacció de cada espècie amb totes les altres. Però les dificultats hi són nombroses. Solament ens podrem ocupar d'algunes molt paleses.

Hi ha molts mètodes d'anàlisi que es poden aplicar a sistemes d'elements (poblacions unispècifiques) interrelacionats per funcions definides.

Sobre aquesta base s'ha discutit l'estabilitat dels ecosistemes. Crec que podrem esmentar aquest tema sense entrar en una definició precisa d'estabilitat. Un grup d'ecòlegs matemàtics, com MAY<sup>8</sup> i GILPIN<sup>2</sup>, creuen que una xarxa més interconnectada, és a dir, representativa d'un ecosistema amb moltes espècies, i amb un gran nombre de lligams entre elles, és essencialment poc estable. D'altres, com ROBERTS<sup>10</sup> i JEFFRIES<sup>3</sup>, són d'opinió diferent. Un dels arguments d'aquests darrers és que, si el nombre d'individus d'una espècie passa pel valor zero, l'espècie s'extingeix i el seu nombre d'individus no pot tornar a augmentar. Però hi ha arguments més subtils, no pas matemàtics, sinó físics i, alguns, essencialment biològics:

Un sistema que pot assolir un nombre major d'estats pot semblar més inestable, segons com es defineixi l'estabilitat, però, vistes les coses des d'un punt de vista ecològic, un ecosistema que pot tenir més estats és més probable que ja n'hagi adquirit un de particularment estable, en el sentit que apareixin forces de selecció que el retornin una i altra vegada cap aquell. El matemàtic veu l'estabilitat com una propietat d'un sistema d'equacions; el físic la veu més aviat com la posició d'una bola dintre d'una copa, però el biòleg la considera com una propietat de sistemes en què la selecció es fa convergent, és a dir es mantenen semblants a si mateixos durant cert temps, encara que necessàriament no per molt de temps, i poden migrar en bloc a altres contrades del «paissatge de l'evolució».

És notable que l'aplicació senzilla d'alguns mètodes i formes de raonament matemàtic porti repetidament a preveure una simplificació de la naturalesa en la competència entre espècies, en l'operació de mecanismes de defensa, etc., però, en realitat, aquells mecanismes biològics han portat a una diversificació molt gran del mon viu. La predicció a partir de les equacions és asimètrica perquè pot acceptar l'extinció, però no la invenció. Aquesta només es pot encabir en un marc de referència més ampli que el sistema limitat que estem considerant.

D'altra banda, els sistemes d'equacions a què ens referim abans ignoren l'espai<sup>7</sup>. L'espai és font d'estabilització, posa distància entre els elements reaccionants i la topologia de les relacions entre individus de diverses espècies és un element essencial de l'organització. Seria fàcil posar a l'inici  $\delta N_i / \delta t \propto x$ , essent  $x$  qualsevol dimensió de l'espai. És a dir, començar per derivades parcials respecte al temps —com es fa habitualment— i respecte a l'espai —que es també important—, i després, segons com interressi integrar d'una o altra manera. Però aquesta obertura sembla que ofereix considerables dificultats.

Tenim limitacions que vénen de les lleis físiques. Quan volem veure més enllà de la representació purament matemàtica i pensem que es

tracta de sistemes materials i energètics, no d'abstraccions totals, altres dificultats ens apareixen. Hi ha problemes termodinàmics en el sentit que en qualsevol traspàs dintre l'ecosistema una part de l'energia transferida ja no es pot recuperar mai més, és a dir, que no hi ha simetria entre  $a_{ij}$  i  $a_{ji}$  i l'energia perduda és funció de les propietats dels organismes entre els que es fa el camí. És de suposar que és molt important biològicament, puix que és una mesura de l'eficiència, de la *fitness* de les espècies. És a dir, la xarxa de relacions entre espècies i la matriu que la representa, no és isotròpica ni descriptiva de relacions simètriques. El model del gat i la rata de Volterra pot ser simètric matemàticament, però físicament la rata paga tot el compte. Aquest fet essencial representa una nova contribució a l'estabilitat: el fet que la xarxa general tingui sentit, s'organitzi en blocs de manera jeràrquica, blocs que es pot considerar estan formats per espècies d'evolució comuna. Segons com es miri, el concepte d'estabilitat s'esgruna si es vol aplicar, amb molt diverses qualificacions, a diferents segments, més grans o més petits, de l'ecosistema.

Qualsevol model d'ecosistema esdevé complicat. Al model elemental de descriure quantitativament relacions entre diversos elements s'ajunten les restriccions físiques de limitació d'espai i relacions dintre un espai, dintre el qual es fa el transport, més limitacions derivades de la termodinàmica que exigeixen la pèrdua per l'ecosistema d'una fracció de l'energia canviada a cada pas. Encara s'hi poden afegir altres aspectes. La matèria viva apareix en forma d'unitats d'acció i comportament i destí, els individus, que no solament quantifiquen els canvis, sinó que, donada l'existència de la memòria, obliguen a completar el model amb suggerències tretes de la teoria dels jocs<sup>9</sup>. Hi ha transmissió d'informació, es fan aliances, s'usa engany, i tot això, igual que els ritmes, inclou una anticipació que apareix com a finalitat o prospectiva i fins com a reflexió. Aquest aspecte tan atractiu dels sistemes vius no contravé les lleis més fonamentals de la física, però hi afegeix creativitat i possibilitats de complicació als sistemes. Com en una casa de joc, hi ha travesses que poden tenir un èxit de moment i que poden ser explotades, encara que a la fi sempre guanya la banca.

Com podem tractar d'harmonitzar tot això? Caldria trobar algun criteri de síntesi per qualificar o per ordenar els canvis observats en l'ecosistema. El desig de trobar un criteri, una funció-guia, com si diguéssim, no és nou. VOLTERRA<sup>11</sup> proposà una funció d'*acció vital* que es minimitzaria en l'operació d'un sistema d'interaccions entre espècies. Però aquest concepte queda en un nivell matemàtic i en els sistemes vius hem de passar també a través d'un nivell físic, bo i copsant els suggeriments de la termodinàmica. A més, es pot pensar en una funció-guia que no sigui limitada al petit sistema del qual estem tractant, sinó de validesa més

àmplia. Per exemple, li demanaríem que servís per predir si l'addició d'una nova espècie, d'un nou genotip al sistema tindrà èxit o no, és a dir, si el nou element serà assimilat o rebutjat<sup>7</sup>. Això trascendeix el criteri d'estabilitat, el qual, ultra ser comentat per VOLTERRA i per altres autors matemàtics esmentats abans, pot admetre diverses solucions matemàtiques, com per exemple un criteri de LIAPUNOV<sup>8</sup> o algun altre inspirat en KERNER<sup>4</sup>. Aquest calcula sobre el conjunt la funció que anomena temperatura talàndica o ecotemperatura i que és un anàleg de la temperatura quan es considera a un ecosistema amb moltes espècies com un sistema físic format per partícules de diverses menes. L'analogia permet treure molts suggeriments de la mecànica estadística, però, si bé és suggerent en alguns aspectes, en altres pot ser perillosa.

Més aviat sembla que podríem inclinar-nos per criteris de tipus termodinàmic, per exemple, cercar la minimització de l'energia canviada per manteniment d'una unitat de biomassa, complementats per algun criteri cibernètic que inclogui valors de referència i que seria aplicable a qualsevol model on entrin informació i reflexió<sup>1, 7, 13</sup>.

Crec que aquests aspectes són molt més importants que llur aplicació a alguns problemes de l'ecologia. Avui, la termodinàmica de sistemes oberts té idees molt més suggerents per oferir al biòleg que els rudiments de termodinàmica mal ensenyats i pitjor apresos de la nostra generació. El llibre de WESLEY<sup>13</sup>, per exemple, ens mostra com l'increment d'organització és un fenomen que s'ha d'esperar en un univers en expansió, cosa que els biòlegs ja intuïem però que és falaguer escoltar-la d'un físic.

La pertinença als problemes de l'evolució és òbvia. En els comentaris sobre la selecció natural s'inclou sovint —o sempre— una tautologia: es selecciona allò que és millor, i el criteri d'adequació, del que és bo o millor és, simplement, la supervivència. És urgent, doncs, trobar un criteri independent, com l'esmentat suara de minimitzar l'energia canviada per mantenir una certa organització. Però això ens posa el problema de quantificar l'organització. Per altra banda tampoc és totalment cert: en un espai ecològic buit, l'expansió d'espècies «pioneres» o oportunistes té com a criteri d'èxit la rapidesa d'ocupació; solament més tard veiem que és aplicable un altre criteri d'eficiència o economia basat en la termodinàmica<sup>1</sup>. La transició és important, però sembla que recorda més a circumstàncies de l'economia humana que a principis de la física, encara que, segons com es miri, es pot assimilar a un sistema autocatalític<sup>1</sup>.

Hem recordat que els criteris que es troben en relació amb processos d'aquest tipus són pertinents en evolució; però això no vol dir que siguin menys essencial en ecologia per donar raó de l'ocupació de l'espai i de la generació de successions en la contínua reestructuració de tots els ecosistemes.

Algunes de les idees presentades es situen damunt l'esquema adjunt. Ens podria semblar veure-hi una escala de complicació progressiva i un hom la podria presentar així de manera didàctica, però crec que un procediment així no seria correcte.

FIG. 1. — Diversos tipus de models utilitzables en la teoria de poblacions i d'ecosistemes, basats en diferents punts de vista i que són complementaris malgrat que puguin semblar conflictius en relació amb algunes qüestions aïllades.

#### MODELS DEMOGRÀFICS DE POBLACIONS UNISPECÍFIQUES (Demografia clàssica)

paràmetres (com mortalitat, etc.) constants.

submodels  $\left\{ \begin{array}{l} \text{diferències finites} \\ \text{equacions diferencials} \end{array} \right.$

exemple de conflicte: és possible parlar d'una dinàmica de poblacions unispecífiques?

#### MODELS MATEMÀTICS D'ECOSISTEMES

(Models de VOLTERRA i LOTKA)

paràmetres funció d'altres espècies de  
forma general  $dN_i/dt = \sum_{j=1} a_{ij}N_iN_j$

o bé  $dN_i/dt = \sum_{j=1} a_{ij}N_i - K_{ij}N_j - \sum_{l=1} b_{il}R_{il}$

exemple de conflicte: són estables o no les xarxes tròfiques? i la mateixa noció d'estabilitat.

#### MODELS FÍSICS D'ECOSISTEMES

(Els ecosistemes consisteixen en matèria i energia)

Consideració de l'espai, termodinàmica, eficiències, afegir alguna funció macroscòpica o d'estat que pugui servir de guia en la descripció de successió i evolució (funció de Liapunov, «temperatura» talàndica, entropia, mínima acció, quocient producció biomassa, etc.)

exemples de conflicte: introducció de novetats, adquisició o pèrdua de significat per la informació.

## MODELS AMB INTRODUCCIÓ DE LA INFORMACIÓ

(Models que introdueixen la teoria dels jocs i que impliquen persistència o transmissió d'informació en el temps.)

Afegir assaig (com a joc), engany, anticipació que porta a la reflexió, com, per exemple, en l'estudi del mimetisme, del comportament, i en ecologia humana. A més, variacions en el significat (com a factor de supervivència) d'una informació genètica. Ampliar la funció producció/biomassa amb consideració de l'energia externa o auxiliar i d'artefactes amb valor positiu sobre la supervivència de l'espècie.

De fet, els diferents segments o els diferents nivells tenen un origen independent, no successiu i per això en les zones de fricció entre els diversos punts de vista parcials, desenvolupats, com dic, amb certa independència, persisteixen les polèmiques.

La ciència s'ha de construir a poc a poc. I el punt essencial que voldria remarcar és que no es tracta de suturar o juxtaposar simplement les matèries diverses que es troben en les zones de fricció, sinó de fer una síntesi dintre un marc de referència que necessàriament serà més ampli.

## BIBLIOGRAFIA

1. CONRAD, M. — «BioSystems», 6:, 1-15 (1974).
2. GILPIN, M. — «J. Theor. Biol.», 44: 35-48 (1974).
3. JEFFRIES, C. — «Theoret. Popul. Biol.», 7: 149-155 (1975).
4. KERNER, E. H. — «Bull. Mathem. Biol.», 36: 477-488 (1974).
5. LEWONTIN, R. C. — *The genetic basis of evolutionary change*. Columbia Univ. Press. New York & London (1974).
6. LIAPUNOV, M. A. — «Ann. Fac. Sci. Toulouse», 9: 203-474 (1892).
7. MARGALEF, R. — «Inv. Pesq.», 37: 621-640 (1973).
8. MAY, R. M. — *Stability and complexity in model ecosystems*. Princeton Univ. Press. (1973).
9. VON NEUMAN, J., i MORGENSTERN, O. — *Theory of Games and economic behavior*. Princeton University Press (1953).
10. ROBERTS, A. — «Nature», 251: 607 (1974).
11. VOLTERRA, V. — «Nature», 118: 558-560 (1926).
12. WATT, K. E. F. — *Dynamics of Populations*. «Proceedings of the advanced study Institute on Dynamics of numbers in populations. Oesterbeek, the Netherlands, 7-18 September 1970», editat per P. J. DEN BOER i G. R. GRAWELL, Wageningen (1971).
13. WESLEY, J. P. — *Ecophysics. The application of Physics to Ecology*. Charles G. Thomas, Publ. Sprigfield, Illinois (1974).





**UN MODEL DE DISTRIBUCIÓ DE DUES ESPÈCIES,  
OCTOPUS VULGARIS I PAGELLUS ACARNE,  
AFECTADES PER LA PESCA EN LLURS MIGRACIONS**

per C. BAS i PEIRED

Institut d'Investigacions Pesqueres. Barcelona.

Com a exemple d'un model de distribució de dues espècies marines resultat de la distribució normal de les mateixes espècies dins les característiques geogràfiques de l'àrea i la influència de situacions estranyes, en aquest cas la pesca, cal esmentar la població del pop roquer *Octopus vulgaris*. Aquest pop es troba a les costes de l'Àfrica NW, entre els paral·lels  $23^{\circ} 30' N$  i  $25^{\circ} N$  (Dachla Peña Grande), i juntament amb aquesta distribució la influència que els mateixos factors tenen en la distribució d'un espàrid molt comú en la zona, el besuc, *Pagellus acarne*, possible competidor del pop. És la pesca la que distorsiona la distribució d'ambdues espècies.

**MÈTODE**

Les dades corresponen als resultats obtinguts durant les diverses campanyes pesqueres i oceanogràfiques realitzades en aquella zona durant el període 1971-1975, amb una especial referència a la que fou realitzada en 1975. Altrament cal també considerar les dades obtingudes d'una gran quantitat de vaixells de pesca que treballen en aquesta zona i molt especialment en la part més propera a la costa, en fons de 15 a 25 m de profunditat. Les captures fetes amb el vaixell oceanogràfic *Cornide de Saavedra* tenien una duració compresa entre 1 i 3 hores, amb més incidència de les d'una hora. Les pesques fetes amb els vaixells comercials tenien una durada mitjana de 4 hores. Mentre aquesta segona font d'informació ha subministrat gran quantitat de dades exclusivament sobre la població de pops en la zona litoral, les primeres, pel fet d'estar programades de

cara a altres objectius, no precisament comercials, comprenen tota la plataforma, fins els 100 m de fondària i es recullen paral·lelament informacions complementàries d'altres espècies acompanyants. El nombre de pesques realitzades amb el vaixell oceanogràfic fou de 90.

#### DESCRIPCIÓ DE LA ZONA

La zona compresa entre el paral·lels 23° 30' N i 25° N es caracteritza per la seva costa relativament abrupta. Les terres costaneres del Sahara cauen a pic en el litoral, sorrenc, fruit de l'ensulsiament de la costa, cosa que fa especialment perillosa la navegació molt a prop de terra a causa de l'abundància de seques. La resta de la plataforma guanya fons molt lentament, així la isobata de 100 m de fondària, cantell del talús, es troba allunyada unes 80 milles de la costa. El llocs difícils per a la pesca són pocs i el fons en gran part és de sorra i de fang. Cal, però, esmentar una circumstància especial: la isobata de 50 m que a la part nord es troba molt a prop de la costa, en la zona estudiada es separa remarcablement i dona lloc a la formació d'un cert esglaó que, junt amb l'existència de l'important corrent de Canàries, provoca l'aparició d'un aflorament d'aigües profundes, fredes i riques en nutrients. Aquest fenomen explicaria, en part si més no, la forta productivitat de l'àrea.

#### DESCRIPCIÓ DE LA COMUNITAT

En la zona descrita més amunt, i a nivell d'espècies bentòniques, hom pot distingir a grans trets dos grups: per una banda cal esmentar els espàrids i per l'altra els cefalòpodes. Els espàrids, amb una gran varietat d'espècies constituïren, anys enrera, la principal població explotada per la pesca, especialment en els caladors més litorals. Les espècies més interessants són, sense dubte, *Pagellus acarne*, *P. erythrinus*, *P. cupei*, *Dentex macrophthalmus* i *Spondyliosoma cantharus*. Els cefalòpodes han adquirit darrerament gran importància, en particular a partir del 1961. Possiblement, la intensa acció pesquera hagi representat un paper molt important en aquesta aparent substitució. Entre els cefalòpodes són molt importants: *Octopus vulgaris*, *Sepia officinalis*, *Loligo vulgaris* i *L. forbesi*. La primera de les quatre, el pop roquer, és una de les espècies objecte d'aquesta nota.

## EXPLANACIÓ DEL MODEL

De les dues poblacions considerades, la primera, el pop, és caracteritzada pel fet de realitzar la reproducció molt a prop de la costa, en fons pràcticament inaccessibles per a la pesca. Això pressuposa una certa migració dels reproductors escampats per tota la plataforma, però especialment en les àrees de menys fondària. D'altra banda i com a contrapartida, cal assenyalar l'existència d'una migració de dispersió des de les zones de cria a les que habitualment ocupen els exemplars adults. Aquesta última migració i tenint en compte la mortalitat característica de cada edat, fa que la densitat d'individus sigui cada vegada més feble i inversament proporcional a la distància de la costa. Pel que fa referència al besuc, la reproducció té lloc a zones de profunditat mitjana i els petits que es troben a prop de la costa migren a poc a poc, a mesura que van creixent, a aigües més profundes per tal d'afegir-se als grups d'adults. D'altra banda cal assenyalar que la pesca té lloc en una franja relativament estreta, situada a uns 15 km de la costa i paral·lela a aquesta i que s'estén al llarg de la zona que a l'hem estudiat. Així observem que la pesca en el seu paper destructor o, millor, seleccionador de determinades espècies o grandàries d'una mateixa espècie, dona lloc a l'existència d'un model particular de distribució. Trobem prop de la costa gran quantitat de formes petites de diferents espècies i en particular del besuc, centrades de forma especial en alguns llocs afavorits per la riquesa en nutrients. També abunda en aquesta zona gran quantitat de pops amb una barreja de petits exemplars nascuts allí i d'altres exemplars de grandària superior que possiblement s'hi troben a fi de reproduir-se. Aquests estocs, tant de besucs i altres espècies com de pops, migren posteriorment a zones més allunyades de la costa i és precisament en aquesta migració de dispersió quan, en travessar la zona sotmesa a la pesca, experimenten el seu efecte destructiu. A la franja de pesca una gran quantitat són extrets del mar i això dona com a conseqüència el fet que les poblacions d'aquestes espècies situades més lluny de la costa, més enllà de la franja pesquera, mostren una important disminució de llur biomassa. Com sigui que la pesca busca especialment els pops, encara que els besucs són també explotats i de forma molt intensa, ambdues poblacions mostren una forta diferència numèrica a un i altre cantó de la zona de pesca. Aquesta diferència és, però, més marcada en el cas del besuc. En aquesta espècie la disminució és tant forta que la població d'adults queda reduïda al mínim a fi de mantenir l'equilibri poblacional al seu nivell més baix. Així tenim, pel que fa referència als espècies, una abundant població d'exemplars

petits, en part més cap a terra i en part inclosa en la zona de pesca, i una altra molt poc densa i dispersa sobre la quasi totalitat de la plataforma continental a l'altre costat de la zona de pesca. El fet que la pesca incideixi en part sobre els besucs menuts és important en la distribució.

Pel que fa referència als pops, la cosa és similar si bé darrerament s'ha pogut comprovar l'existència de poblacions bastant denses de pops adults en algunes zones allunyades de la costa i en profunditats de l'ordre dels 50 m. Cal assenyalar que mentre en el primer cas és important tan sols la migració de dispersió a aigües més fondes, en el segon cas, els dels pops, s'assenyalen migracions de dispersió cap a fora i de reproducció cap a la costa. D'altra banda, un nou fet es suma al model de la seva distribució, i aquest fet té a veure amb el diferent nivell de creixement entre el besuc i el pop. Mentre el primer creix relativament a poc a poc, el segon, al contrari, té una taxa de creixement molt forta, cosa que li permet refer-se molt de pressa de les pèrdues sofertes en la zona de pesca. Caldria, a més, estudiar el valor real de l'esforç de pesca sobre ambdós tipus d'animals, perquè això possiblement contribuiria a explicar, per una acció més intensa sobre el besuc, l'extraordinària disminució d'aquesta espècie aigües enfora de la zona d'explotació pesquera més forta. Ara bé: el fet que els espàrids hagin estat considerats com a competidors respecte els pops i tenint en compte el resultat més intens de l'acció de la pesca sobre aquests i considerant també que els pops frueixen d'una taxa de creixement més alta, es manté constantment desequilibrada en contra del besuc la relació espàrids (besuc)-pops, cosa que accelera la progressiva disminució dels espàrids i, en conseqüència, un cert avanç de la població de pops controlada directament per l'interès de la pesca. El fet que la pesca afecti directament els besucs petits i no els pops acabats de nèixer va també en contra dels primers. Resumint, es pot dir que la franja pesquera per una banda afavoreix els pops amb l'eliminació molt eficaç dels espàrids, els seus enemics, i per l'altra actua com a fre en la producció de biomassa de pops per la mateixa acció de la pesca.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BAS, C. — *Cambios y evolución de las pesquerías en el Atlántico Centro-Oriental*. «J. Fish. Res. Board Canada», 30: 2301-2307 (1973).
2. BAS, C. — *Distribution of cephalopods in North-West Africa (Cape Bojador-Punta Pescador)*. I CES (1975).

# ORGANITZACIÓ DEL ZOOPLÀNCTON D'AIGUA DOLÇA DURANT UN CICLE ANUAL: APLICACIÓ D'UN ÍNDEX DE FLUCTUACIONS

per MARIA ROSA MIRACLE

Departament d'Ecologia. Facultat de Biologia.  
Universitat de Barcelona.

## INTRODUCCIÓ

En diverses ocasions<sup>4, 5</sup> s'ha posat de manifest que la diversitat és una mesura insuficient de l'organització dels ecosistemes. Així com la biomassa es complementa amb la producció, és a dir amb un altre mesura que té en compte el temps, la diversitat necessita d'alguna expressió que inclogui el temps. Dos sistemes ecològics o estats d'un sistema poden tenir la mateixa diversitat però presentar alhora diferents graus d'organització, ja que la diversitat instantània pot correspondre a estructures perdurables en uns, i en altres, a situacions inestables. MARGALEF<sup>6</sup> proposa l'expressió  $D - 1/S$ , on D és la diversitat i S l'estabilitat o persistència com una mesura més real del grau d'organització que només D i més relacionada amb el quocient P/B i altres característiques dels ecosistemes. L'estabilitat és un concepte no ben establert i pres en diferents sentits àdhuc contradictoris<sup>4</sup>. No cal dir, doncs, que també sobre la manera de mesurar-les hi ha diverses aproximacions<sup>2, 3, 4</sup> deslligades. En aquest context utilitzarem sempre l'estabilitat en aquell sentit de persistència (la S esmentada més amunt) ja que ens interessa només una mesura complementària de la diversitat per a descriure l'organització de l'ecosistema.

El sistema planctònic és un bon exemple de les consideracions esmentades sobre les mesures d'organització. Està sotmès a fluctuacions importants de les característiques ambientals que van d'aigua turbulenta i aportació de nutrients minerals a aigua més estabilitzada i reducció (per consum sense aportació) dels nutrients. El plàncton d'aigua dolça en les regions temperades sofreix dues perturbacions importants —una a la pri-

mavera i una altra a la tardor— que corresponen a períodes de turbulència i barreja vertical intensa. Llavors s'inicien unes successions que es repeteixen cada any. A l'estiu, quan es dona la màxima estabilitat de l'aigua, li correspon un desenvolupament màxim de la successió. Per a la descripció d'aquest cicle anual resulta especialment adient un índex de fluctuacions introduït per DUBOIS<sup>1</sup> que representa una mesura de la distància entre l'estat present, instantani, de l'ecosistema i un estat de referència (estat asimptòtic) al qual tendeix l'ecosistema.

L'objecte de la present comunicació és l'aplicació d'aquest índex a l'estudi del cicle anual (febrer 1970-febrer 1971) del zooplàncton del llac de Banyoles, amb dedicació d'atenció principal a les relacions d'aquest model amb altres característiques del sistema, com són la diversitat zooplactònica i la productivitat primària.

#### MATERIAL I MÈTODES

Descripcions del llac de Banyoles i de la composició específica del zooplàncton d'aquest llac al llarg del mateix any 1970 es poden trobar en diferents referències<sup>6, 7, 8</sup>. Comentarem, sobre això, només aspectes d'interès concret per al present estudi.

El llac de Banyoles està format per quatre cubetes principals (I a IV, de fondàries respectives 30, 25, 20, 15 m) que s'omplen subterràniament per diversos punts.

Les mostres de zooplàncton foren preses amb dues ampolles de Van Dorn de 8 litres en el centre de cada una de les cubetes, cada 5 m de fondària aproximadament (a 0, 5, 10, 15, 20 i 30 m en la més fonda i fins a 15 i 20 m en les altres segons la fondària). El nombre total d'individus de les diferents espècies de zooplàncton de cada mostra fou comptat per sedimentació a 100 x.

Aquestes dades del recompte de les espècies del zooplàncton foren convertides en organismes/m<sup>2</sup> segons la integració aproximada,

$$T_i = \sum_{k=1}^n X_{ik} \left( \frac{Z_{k-1} - Z_{k+1}}{2} \right)$$

on:  $Z_k$  són les  $n$  fondàries on es van agafar les mostres;  $X_{ik}$  el nombre d'individus per m<sup>3</sup> (deduït del nombre d'individus en 16 l) de l'espècie  $i$  que s'estima hi ha a la fondària  $Z_k$  i  $T_i$  representa el nombre total d'individus de l'espècie  $i$ , en una columna d'aigua d'1 m<sup>2</sup> de secció que va des de la superfície al fons.

*L'índex de fluctuacions: D<sub>o</sub>*

La fórmula de Shannon-Weaver

$$H = - \sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i$$

on  $p_i$  és la proporció de l'espècie  $i$  i  $s$  el nombre total d'espècies, ha estat emprada extensivament com a mesura de la diversitat instantània dels sistemes ecològics. Però, en canvi, les proporcions de cada espècie varien en l'espai i en el temps.

Una manera d'introduir el temps en la descripció de l'organització d'un ecosistema és suposar un estat de referència al qual tendeix i calcular per diferents temps una mesura de la distància entre l'estat present del sistema i el de referència.

Com a estat de referència es pot pensar en el definit per les proporcions mitjanes locals ( $p_i$ ) durant un període de temps suficient.

La diversitat mitjana del sistema ( $\bar{H}$ ) pot ésser llavors definida com la diferència entre la diversitat de l'estat de referència  $H_o$  i l'índex de fluctuacions mig ( $\bar{D}_o$ ). L'índex de fluctuacions  $D_o$  és una funció del temps i pot ésser emprat com un criteri d'estabilitat de l'ecosistema, en realitat representa la desviació de la distribució de les proporcions  $p_i$ , a cada moment, de l'estat de referència.

Aquest índex fou introduït per DUBOIS<sup>1</sup>, que el formulà a partir del desenvolupament (utilitzant la fórmula de Taylor) de la diversitat  $H$  al voltant de l'estat de referència, com:

$$D_o = \sum_{i=1}^s P_i \log_2 \frac{P_i}{\bar{P}_i}$$

En realitat  $D_o$  representa tots els termes del desenvolupament de  $H$  que segueixen al de primer ordre. La funció  $D_o$  és definida i positiva en el sentit de Liapunov i és 0 només a l'estat de referència ( $p_i = \bar{p}_i$ ).

Una altra mesura de la desviació respecte d'aquest estat de referència, definit per les mitjanes de les proporcions ( $p_i$ ), és l'índex  $D_o^*$

$$D_o^* = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^s \frac{(P_i - \bar{P}_i)^2}{\bar{P}_i}$$

deduït pel mateix autor <sup>1</sup> que resulta ser el primer terme del desenvolupament de  $D_0$ :

$$D_0 = D_0^* + o [(p_i - \bar{p}_i)^2]$$

Un índex de fluctuacions pot ésser també el referit a un estat de referència que sigui el de diversitat màxima,  $H_{\max} = \log_2 s$  ( $s$  nombre total d'espècies) que es dona quan les proporcions de totes les espècies  $p_i$  són

$$\text{iguals a la mitjana } p = \frac{1}{s}$$

El desenvolupament fins el terme de segon ordre de l'índex de Shannon-Weaver al voltant del seu màxim dona l'índex:

$$D_1 = \log_2 s - \frac{1}{2} s^2 \sigma^2$$

a on

$$\sigma^2 = \frac{1}{s} \sum_{i=1}^s \left( p_i - \frac{1}{s} \right)^2$$

És a dir,  $D_1$  depèn del nombre total d'espècies  $s$  i de la variança de la distribució de les espècies respecte de la seva mitjana,  $1/s$ .

La validesa d'aquest índex,  $D_1$ , està reduïda a distribucions de espècies no molt allunyades de la mitjana (distribució més o menys uniforme). Per distribucions poc uniformes més millor definir els valors mitjans ( $\bar{p}_i$ ) de les proporcions per cada espècie per separat <sup>1</sup>.

## RESULTATS I DISCUSSIÓ

La taula 1 mostra les mitjanes de les proporcions per a cada espècie durant el cicle anual esmentat. Els crustacis són predominants perquè es troben pràcticament sempre. Els rotífers, en canvi, es succeeixen en el temps i això fa que les mitjanes siguin més baixes. Les estacions I i II, que constitueixen la part sud del llac tenen una composició bastant similar, mentre que les dues del nord, menys profundes, difereixen d'aquelles.

Les variacions en el temps dels índexs de diversitat  $H$  i fluctuacions,  $D_0$  i  $D_0^*$  es troben a les taules 2 i 3 per dues de les estacions I i III, les



TAULA 1.— Proporcions mitjanes (en tants per cent) de les espècies del zooplàncton de Banyoles en les cubetes I a IV estimades de les dades de organismes/m<sup>2</sup> durant un cicle anual

|   | ESTACIONS |       |       |       |
|---|-----------|-------|-------|-------|
|   | I         | II    | III   | IV    |
| <b>COPEPODES</b>                        |           |       |       |       |
| <i>Arctodiaptomus salinus</i>           | 24.2      | 22.3  | 11.9  | 14.2  |
| <i>Tropocyclops prasinus</i>            | 32.2      | 34.6  | 35.3  | 27.5  |
| <i>Cyclops abyssorum</i>                | 2.2       | 2.0   | 4.6   | 1.2   |
| <i>Diacyclops bicuspidatus</i>          | 1.2       | 1.2   | 1.9   | 0.3   |
| <b>GLADOCERS</b>                        |           |       |       |       |
| <i>Diaphanosoma brachyurum</i>          | 6.3       | 5.7   | 3.3   | 6.6   |
| <i>Daphnia longispina</i>               | < 0.1     | < 0.1 | 0.1   | 0.1   |
|   |           |       | < 0.1 | < 0.1 |
| <i>Bosmina longirostris</i>             | < 0.1     | < 0.1 | 0.1   | 0.1   |
|   |           |       | < 0.1 | < 0.1 |
| <i>Ceriodaphnia reticulata</i>          | < 0.1     | < 0.1 | 0.1   | 0.1   |
|   |           |       | < 0.1 | < 0.1 |
| <i>Scapholeberis mucronata</i>          | < 0.1     | < 0.1 | 0.1   | 0.1   |
|   |           |       | < 0.1 | < 0.1 |
| <b>ROTIFERS</b>                         |           |       |       |       |
| <i>Hexarthra mira</i>                   | 9.2       | 9.6   | 7.2   | 9.6   |
| <i>Hexarthra fennica</i>                | 4.4       | 5.5   | 4.7   | 8.9   |
| <i>Filinia terminalis</i>               | 7.9       | 5.0   | 16.4  | 10.1  |
| <i>Filinia limnetica-longiseta</i>      | 0.1       | 0.1   | 0.7   | 0.1   |
| <i>Asplanchna girodi</i>                | 0.5       | 0.5   | 0.5   | 1.1   |
| <i>Keratella quadrata</i>               | 0.6       | 0.7   | 0.9   | 1.4   |
| <i>Brachionus calyciflorus</i>          | < 0.1     | < 0.1 | 0.1   | 0.1   |
|   |           |       | < 0.1 | < 0.1 |
| <i>Epiphanes senta</i>                  | < 0.1     | 0.6   | 0.1   | 0.1   |
|   |           |       | < 0.1 | < 0.1 |
| <i>Polyarthra vulgaris-dolichoptera</i> | 5.4       | 3.5   | 5.5   | 9.1   |
| <i>Polyarthra remata</i>                | 1.3       | 3.1   | 0.5   | 1.9   |
| <i>Synchaeta pectinata</i>              | 2.4       | 4.1   | 4.4   | 5.5   |
| <i>Trichocerca similis</i>              | 1.9       | 1.4   | 1.0   | 1.6   |
| <i>Collotheca sp.</i>                   | 0.1       | 0.1   | 0.1   | 0.6   |
| <i>Anuraeopsis fissa</i>                | < 0.1     | < 0.1 | 1.0   | 0.3   |

unitats utilitzades són bits, ja que els índexs estan calculats amb logaritmes de base 2. Per a comparació s'inclouen també una sèrie de sumes de les desviacions a un estat mitjà. Sempre, per cada dia de mostreig, s'ha

fet el càlcul considerant el nombre total, 23, d'espècies de crustacis i rotífers de presència important durant l'any, és a dir, equivalen a la variació en el temps de les variances (en realitat les tres últimes columnes de la taula són les variances multiplicades per una constant, 22). Aquestes corresponen a les desviacions de les diferents espècies a: (1) les proporcions mitjanes anuals; (2) les abundàncies absolutes mitjanes anuals i (3) la constant  $1/23$  que equival a l'estat en què totes les espècies són igual de freqüents relativament. Posat que es considera sempre el mateix nombre d'espècies ( $s = 23$ ), aquesta última mesura que denominarem  $D_1$ :

$$D_1 = \sum \left( p_i - \frac{1}{23} \right)^2,$$

representa la variació de l'índex  $D_1$  i no té l'inconvenient d'aquest, que es fa negatiu quan la diversitat  $H$  és petita.

De les taules 2 i 3 i de la representació (fig. 1) de l'índex de diversitat i de fluctuacions, a les tres cubetes més fondes, es posa de relleu una evolució en el temps que correspon clarament a la que caldria esperar de les descripcions clàssiques<sup>6</sup> utilitzant altres variables del cicle anual dels llacs de la zona temperada: un període d'estiu marcat per un màxim de l'índex de diversitat i per un mínim dels índex de fluctuacions, així com un mínim de les variances definides més amunt. Aquest període queda ben emmarcat per uns valors màxims dels índexs de fluctuacions a la primavera i tardor, i més baixos durant l'hivern.

Les variances de les tres columnes finals de les taules 2 i 3 no són bons indicadors de les fluctuacions. L'índex denominat  $D_1$  es comporta com l'invers de l'índex diversitat  $H$ , donant, pràcticament, la mateixa informació que aquest. Les desviacions respecte de les proporcions mitjanes de les diferents espècies presenten gairebé el mateix comportament que l'índex  $D_1$ , però amb pics més marcats del que correspondria en aquells punts on els índex  $D_0$  i  $D_0^*$  tenen màxims importants (per exemple a la primavera i la tardor). Les desviacions de les abundàncies absolutes mitjanes tenen poc a veure amb qualsevol dels altres índexs de la taula ja que depenen, en gran part, de si es troben molts o pocs organismes en el zooplàcton. Per exemple, la suma de les desviacions és màxima a finals d'estiu degut al fet que es va enregistrar llavors un mínim d'individus per a la majoria de les espècies<sup>7</sup>.

Els índexs  $D_0$  i  $D_0^*$  tenen una correspondència clara, ja que són quasi bé el mateix, la diferència és solament que  $D_0^*$  té unas fluctuacions més àmplies, és a dir, té els màxims més elevats i els mínims més baixos que  $D_0$ , bé que ambdós s'esdevenen alhora.

TAULA 2. — *Index de diversitat (H), de fluctuacions (D<sub>0</sub> i 2D<sub>0</sub>\*) i varian-  
ces respecte de les proporcions mitjanes i les abundàncies mitjanes, i la  
proporció mitjana total (r/s) a l'estació I durant un cicle anual*

| Mes | Dia | H    | D <sub>0</sub> | 2D <sub>0</sub> * | $\sum_{i=1}^{23} (p_i - \bar{p}_i)^2$ | $\sum_{i=1}^{29} (x_i' - \bar{x}_i')^2$ | $\sum_{i=1}^{29} (p_i - \frac{1}{23})^2$ |
|-----|-----|------|----------------|-------------------|---------------------------------------|---|--|
| 2   | 14  | 1.43 | 0.707          | 0.828             | 0.130                                 | 114.3                                   | 0.413                                    |
|     | 28  | 1.34 | 0.720          | 0.824             | 0.134                                 | 127.7                                   | 0.424                                    |
| 3   | 14  | 1.64 | 0.554          | 0.604             | 0.090                                 | 104.8                                   | 0.353                                    |
|     | 28  | 1.88 | 0.518          | 0.548             | 0.049                                 | 131.1                                   | 0.276                                    |
| 4   | 11  | 1.68 | 0.899          | 1.267             | 0.159                                 | 123.2                                   | 0.326                                    |
|     | 25  | 1.59 | 1.518          | 3.950             | 0.333                                 | 136.5                                   | 0.392                                    |
| 5   | 9   | 1.92 | 1.069          | 2.274             | 0.191                                 | 129.8                                   | 0.285                                    |
|     | 23  | 1.97 | 0.557          | 0.676             | 0.078                                 | 60.1                                    | 0.273                                    |
| 6   | 9   | 2.63 | 0.583          | 1.144             | 0.072                                 | 101.4                                   | 0.159                                    |
|     | 20  | 2.62 | 0.504          | 1.102             | 0.073                                 | 119.2                                   | 0.174                                    |
| 7   | 6   | 2.97 | 0.616          | 1.823             | 0.046                                 | 113.5                                   | 0.112                                    |
|     | 20  | 3.01 | 0.329          | 0.578             | 0.029                                 | 97.8                                    | 0.116                                    |
| 8   | 3   | 2.79 | 0.416          | 0.671             | 0.044                                 | 92.4                                    | 0.137                                    |
|     | 18  | 2.94 | 0.600          | 1.091             | 0.066                                 | 70.7                                    | 0.111                                    |
| 9   | 3   | 2.94 | 0.616          | 1.085             | 0.050                                 | 156.1                                   | 0.111                                    |
|     | 14  | 2.61 | 0.728          | 1.223             | 0.101                                 | 144.2                                   | 0.161                                    |
|     | 28  | 2.67 | 0.408          | 0.606             | 0.044                                 | 92.5                                    | 0.151                                    |
| 10  | 10  | 2.78 | 0.311          | 0.379             | 0.040                                 | 102.7                                   | 0.142                                    |
|     | 24  | 2.92 | 0.748          | 1.931             | 0.082                                 | 87.6                                    | 0.111                                    |
| 11  | 1   | 2.47 | 0.631          | 1.073             | 0.099                                 | 104.1                                   | 0.189                                    |
|     | 21  | 2.63 | 0.496          | 0.701             | 0.060                                 | 91.6                                    | 0.169                                    |
| 12  | 5   | 2.52 | 0.369          | 0.423             | 0.049                                 | 98.2                                    | 0.217                                    |
|     | 19  | 1.72 | 0.588          | 0.732             | 0.162                                 | 81.5                                    | 0.442                                    |
| 1   | 2   | 1.85 | 0.698          | 0.950             | 0.150                                 | 73.4                                    | 0.403                                    |
|     | 16  | 2.08 | 0.841          | 1.240             | 0.115                                 | 88.1                                    | 0.312                                    |
|     | 30  | 1.91 | 0.793          | 1.016             | 0.134                                 | 96.4                                    | 0.369                                    |

$x_i'$  logaritme natural del nombre d'individus per m<sup>3</sup> pertanyents a l'espècie *i*.  
 $\bar{x}_i'$  mitjana de les  $x_i'$  durant un cicle anual.

La figura 1 mostra l'evolució en el temps dels índexs de fluctuacions i diversitat en les tres cubetes més profundes del llac. De manera general, els índexs de fluctuacions varien inversament al de diversitat, és a dir, al màxim de diversitat d'estiu li correspon el valor mínim dels índexs de

TAULA 3. — *Index de diversitat (H), de fluctuacions (D<sub>o</sub> i 2D<sub>o</sub>\*) i varian-  
ces respecte de les proporcions mitjanes, les abundàncies mitjanes i la pro-  
porció mitjana total (r/s) a l'estació III durant un cicle anual*

| Mes | Dia | H    | D <sub>o</sub> | 2D <sub>o</sub> * | $\sum_{i=1}^{23} (p_i - \bar{p}_i)^2$ | $\sum_{i=1}^{23} (x_i' - \bar{x}_i')^2$ | $\sum_{i=1}^{23} (p_i - \frac{1}{22})^2$ |
|-----|-----|------|----------------|-------------------|---------------------------------------|---|--|
| 2   | 14  | 1.70 | 0.908          | 1.399             | 0.113                                 | 137.5                                   | 0.353                                    |
|     | 28  | 1.42 | 0.873          | 1.020             | 0.140                                 | 145.7                                   | 0.422                                    |
| 3   | 14  | 1.80 | 0.517          | 0.518             | 0.057                                 | 131.4                                   | 0.313                                    |
|     | 28  | 1.80 | 0.806          | 1.269             | 0.130                                 | 157.5                                   | 0.307                                    |
| 4   | 11  | 1.65 | 0.951          | 1.385             | 0.201                                 | 146.6                                   | 0.338                                    |
|     | 25  | 1.26 | 1.409          | 2.692             | 0.444                                 | 123.7                                   | 0.560                                    |
| 5   | 9   | 1.33 | 1.321          | 2.466             | 0.404                                 | 98.5                                    | 0.523                                    |
|     | 23  | 2.22 | 0.467          | 0.649             | 0.082                                 | 41.3                                    | 0.228                                    |
| 6   | 9   | 2.63 | 1.187          | 2.822             | 0.193                                 | 141.2                                   | 0.175                                    |
|     | 20  | 2.46 | 1.132          | 2.978             | 0.197                                 | 169.8                                   | 0.231                                    |
| 7   | 6   | 2.46 | 0.374          | 0.490             | 0.053                                 | 127.8                                   | 0.249                                    |
|     | 20  | 3.07 | 0.309          | 0.641             | 0.016                                 | 214.5                                   | 0.128                                    |
| 8   | 3   | 3.21 | 0.570          | 1.607             | 0.043                                 | 215.5                                   | 0.100                                    |
|     | 18  | 3.23 | 0.744          | 1.737             | 0.083                                 | 96.9                                    | 0.081                                    |
| 9   | 3   | 3.16 | 0.977          | 3.726             | 0.068                                 | 188.5                                   | 0.095                                    |
|     | 14  | 2.93 | 0.566          | 1.013             | 0.080                                 | 92.7                                    | 0.109                                    |
|     | 28  | 2.79 | 0.793          | 1.575             | 0.116                                 | 91.8                                    | 0.128                                    |
| 10  | 10  | 2.67 | 0.576          | 0.872             | 0.109                                 | 78.0                                    | 0.168                                    |
|     | 24  | 2.25 | 1.741          | 6.005             | 0.326                                 | 60.9                                    | 0.284                                    |
| 11  | 7   | 2.71 | 0.572          | 0.922             | 0.058                                 | 96.3                                    | 0.174                                    |
|     | 21  | 2.21 | 0.681          | 0.867             | 0.086                                 | 94.1                                    | 0.271                                    |
| 12  | 5   | 1.45 | 0.888          | 1.163             | 0.203                                 | 92.3                                    | 0.527                                    |
|     | 19  | 1.89 | 0.810          | 1.040             | 0.125                                 | 75.4                                    | 0.360                                    |
| 1   | 2   | 1.90 | 0.915          | 1.188             | 0.121                                 | 87.7                                    | 0.339                                    |
|     | 16  | 1.53 | 0.946          | 1.113             | 0.174                                 | 98.1                                    | 0.468                                    |
|     | 30  | 1.44 | 1.015          | 1.304             | 0.184                                 | 112.2                                   | 0.484                                    |

$x_i'$  logaritme natural del nombre d'individus per m<sup>2</sup> pertanyents a l'espècie i.  
 $\bar{x}_i'$  mitjana de les  $x_i'$  durant un cicle anual.

fluctuacions. Però aquesta relació no es compleix sempre; l'índex de fluctuacions dona un altre tipus d'informació que el de diversitat. A la tardor, per exemple, l'índex de diversitat es manté bastant alt, en contra del que caldria esperar de les primeres etapes de la successió, en canvi l'índex

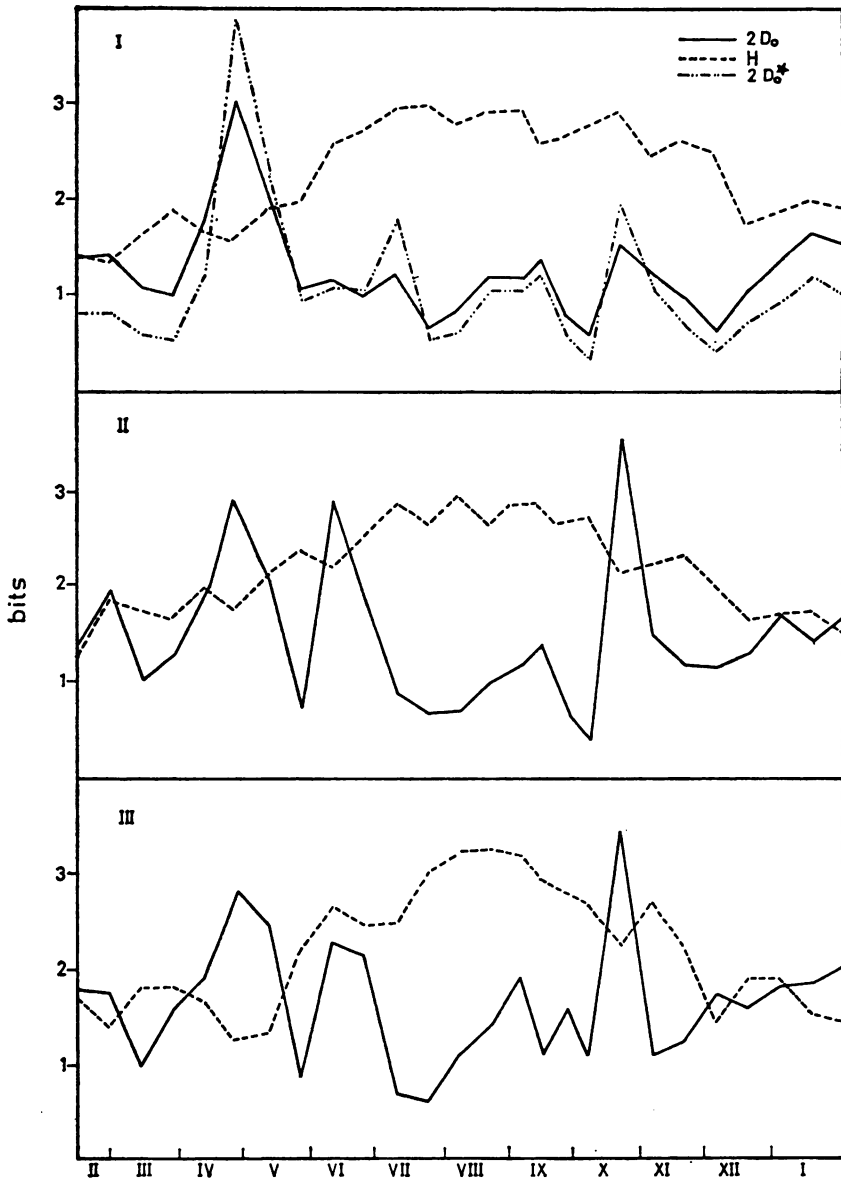


FIG. 1. — Variació dels índexs de diversitat  $H$  i de fluctuacions  $2D_0$ , (bits en ordenades, l'índex  $D_0$  està multiplicat per dos per a una millor comparació) en les tres cubetes més profundes del llac de Banyoles (I a III), durant un cicle anual (mesos en abscisses). Per a la cubeta I es representa també l'índex  $2D_0^*$ .

de fluctuacions és màxim, sobretot immediatament després de les inundacions que tingueren lloc a la segona quinzena del mes d'octubre de 1970. L'índex de fluctuacions, doncs, augmenta considerablement amb la turbulència. Igual passa a la primavera. La diversitat és solament una mica més baixa que a l'hivern, però mentre que en aquesta darrera estació l'índex de fluctuacions és més aviat baix (amb poques oscil·lacions) tan aviat com el fluxe d'entrada d'aigua es fa intens, durant l'abril i el maig, l'índex de fluctuacions augmenta extraordinàriament.

El cicle anual del plàncton pot ésser descrit d'una manera més completa utilitzant, a més de l'índex de diversitat d'ús comú, l'índex de fluctuacions,  $D_0$ , proposat. A més, aquest darrer sembla més relacionat amb altres característiques del ecosistema, tal com la producció primària i probablement més encara amb la relació: producció/biomassa. Les dades de producció primària obtingudes simultàniament als mostreigs de zooplàncton en el llac de Banyoles<sup>9</sup> mostren una correspondència notable amb més representatives i profundes de les parts sud i nord respectivament. Les l'índex de fluctuacions,  $D_0$ . La producció primària fou màxima a l'abril-maig, setembre-octubre i gener a l'estació de Banyoles, coincidint clarament amb els màxims de l'índex de fluctuacions,  $D_0$  (fig. 1).

D'aquests resultats es podria derivar la següent descripció del cicle anual del zooplàncton:

A l'hivern els índexs de diversitat i fluctuacions són, en general, baixos, reflex d'una època de condicions precàries o extremes (temperatures mínimes i producció primària baixa, en general) que no permeten diversitats elevades, però en canvi l'estabilitat és més aviat alta amb algunes excepcions. A la primavera, l'índex de diversitat és baix i el de fluctuacions molt elevat, característiques típiques de les primeres etapes de la successió que s'inicia com a conseqüència d'una barreja vertical intensa. A l'estiu, els índexs s'inverteixen; el de diversitat és màxim, el de fluctuacions mínim, corresponent a un període de màxima estabilitat i organització, fins l'esgotament dels nutrients a la superfície i de l'oxigen al fons, que fa baixar lleugerament l'índex de diversitat i incrementar el de fluctuacions. La pertorbació important, però, del sistema torna a ser deguda a una barreja vertical que correspon, ara, a la tardor, amb un marcat increment de l'índex de fluctuacions i una disminució (encara que no tan marcada) del de diversitat.

## CONCLUSIONS

A dos valors idèntics de l'índex de diversitat poden correspondre dos valors notablement diferents de l'índex de fluctuacions. Aquest darrer índex complementa el primer donant més informació sobre les desviacions del sistema del seu estat mig degudes a les perturbacions externes (turbulència i barreja vertical de l'aigua). L'índex de fluctuacions sembla ésser una bona mesura dels efectes d'aquestes perturbacions en el sistema zooplàctònic.

## BIBLIOGRAFIA

1. DUBOIS, D. M. — *An index of fluctuations,  $D_0$ , connected with diversity and stability of ecosystems: applications in the Lotka - Volterra model and in an experimental distribution of species*. Rapport de sythèse III, Programme National sur l'Environnement Physique et Biologique, Project Mer, Commission Interministérielle de la Politique Scientifique, étabeyp. (Liège) (1973).
2. LEIGH, E. G. — *On the relation between the productivity, biomass, diversity and stability of a community*. «Proc. Natl. Acad. Sci.», 35: 777-783 (1965).
3. MACARTHUR, A. J. — *Fluctuations of animal populations and a measure of community stability*. «Ecology», 36: 533-536 (1955).
4. MARGALEF, R. — *Diversity and stability: a practical proposal and a model of interdependence*. In: Diversity and stability in ecological systems. «Brookhaven Sym. Biol.», 22: 25-37 (1969).
5. MARGALEF, R. — *Ecología*. Omega, Barcelona, 951 pp. (1974).
6. MIRACLE, M. R. — *Composició i distribució estacional del zooplàncton del llac de Banyoles*. «Treb. Soc. Cat. Biol.», 30: 81-87 (1971).
7. MIRACLE, M. R. — *Estructura y dinámica de las poblaciones de la comunidad zoopláctónica del lago de Banyoles*. Tesis doctoral. Universitat de Barcelona (1974).
8. MIRACLE, M. R. — *Zooplankton niche structure: a principal components approach*. Ecology, 55: 1306-1316 (1974).
9. PLANAS, M. D. — *Composición, ciclo y productividad del fitoplancton del lago de Banyoles*. «Oecol. aquat.», 1: 36-106 (1973).

*Nota.* — Desitjo agrair la col·laboració de J. Ocaña del Centre de Càlcul de la Universitat de Barcelona en el treball d'ordenador destinat a la computació dels índexs.





## PARTICIPANTS

Són indicades les pàgines on comencen les aportacions originals  
(xifres en rodó) o les intervencions a les discussions (xifres en  
cursiva)

|                 |                                    |
|-----------------|------------------------------------|
| AGUADÉ, M.      | 27                                 |
| ALONSO, G.      | 39                                 |
| ALVARADO, R.    | 135                                |
| ANTICH, J.      | 93, 102                            |
| BABOT, J.       | 73                                 |
| BAS, C.         | 179                                |
| BOLÒS, O. DE    | 113                                |
| CABALLÍN, M. R. | 75                                 |
| CAMARASA, J. M. | 131                                |
| CARDONA, M. A.  | 51                                 |
| CARRETERO, F.   | 25                                 |
| CUELLO, J.      | 27                                 |
| DOMINGO, P.     | 22                                 |
| EGOZCUE, J.     | 75, 81, 83, 84, 88, 92, 102        |
| FLOS, F.        | 121                                |
| GODRON, M.      | 131                                |
| GUERRERO, R.    | 25                                 |
| GUINEA, J.      | 15                                 |
| HERRERO, E.     | 25                                 |
| JOFRE, J.       | 15, 22, 23                         |
| MARGALEF, R.    | 74, 169                            |
| MARINA, S.      | 81                                 |
| MIRACLE, M. R.  | 183                                |
| NOGUÉS, R.      | 33                                 |
| OCAÑA, J.       | 39                                 |
| PARÉS, R.       | 13, 15, 22, 23, 67, 107            |
| PETITPIERRE, E. | 67, 69, 73, 74                     |
| PRATS, J.       | 83, 85, 88, 89                     |
| PREVOSTI, A.    | 9, 13, 27, 39, 67, 83, 84, 89, 139 |
| RUBIO, A.       | 75                                 |
| SARRET, E.      | 91, 92, 102                        |
| TEMPLADO, C.    | 81                                 |
| TORRELLA, F.    | 151                                |



## T A U L A

### COL·LOQUI X

|  |    |
|--|----|
| <i>Introducció</i> , per ANTONI PREVOSTI . . . . .   | 9  |
| <i>Noves perspectives en la recerca del factor S de C. intermedium</i> , per J. JOFRE, J. GUINEA i R. PARÉS . . . . .  | 15 |
| <i>Estudi sobre la permeabilitat de les parets cel·lulars a Salmonella typhimurium i el seu efecte en l'expressió fenotípica de mutacions</i> , per R. GUERRERO, F. CARRETERO i E. HERRERO . . . . . | 25 |
| <i>Selecció per a la longitud de l'ala i variació de les freqüències gèniques als sistemes d'al·loenzims de Drosophila melanogaster</i> , per M. AGUADÉ, J. CUELLO i A. PREVOSTI . . . . .           | 27 |
| <i>Fenòmens rítmics en poblacions de Drosophila subobscura cultivada en laboratori</i> , per R. M. NOGUÉS . . . . .  | 33 |
| <i>Distància genètica i la seva aplicació a l'estudi del polimorfisme cromosòmic</i> , per A. PREVOSTI, G. ALONSO i J. OCAÑA . . . . .   | 39 |
| <i>Contribució a l'estudi citotaxonomíic de la flora de les Balears II</i> , per M. ANGELS CARDONA i FLORIT . . . . .  | 51 |
| <i>Els complements cromosòmics d'algunes espècies del gènere Chrysolina Mots. (Colcoptera: Chrysomelidac)</i> , per E. PETITPIERRE i VALL . . . . .  | 69 |
| <i>Possibles línies d'evolució cromosòmica en certs primats del Vell Món</i> , per A. RUBIO GODAY, M. R. CABALLÍN i J. EGOZCUE . . . . .   | 75 |
| <i>Anomalies meiótiques com a possible causa d'infertilitat en l'espècie humana</i> , per C. TEMPLADO, S. MARINA i J. EGOZCUE . . . . .  | 81 |
| <i>La citogenètica a la clínica humana</i> , per J. PRATS . . . . .  | 85 |
| <i>La trisomia 13</i> , per E. SARRET i GRAU . . . . .   | 91 |
| <i>Noves tècniques citogenètiques per a descobrir les cromosomopaties humanes</i> , per J. ANTICH i FEMENIAS . . . . .   | 93 |

### COL·LOQUI XI

|   |     |
|---|-----|
| <i>Introducció</i> , per RAMON PARÉS i FARRÀS . . . . .   | 107 |
| <i>La problemàtica de l'estudi de la vegetació</i> , per O. DE BOLÒS . . . . .  | 113 |
| <i>L'ús de la matriu de Markov en el reconeixement de formes</i> , per JORDI FLOS i BASSOLS . . . . .   | 121 |
| <i>Aplicació d'un «test» hipergeomètric a l'estudi de la heterogeneïtat d'un inventari lineal</i> , per JOSEP M. CAMARASA i MICHEL GODRON . . . . . | 131 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>Taxonomia tradicional y taxonomia numérica</i> , per RAFAEL ALVARADO . . . . .  | 135 |
| <i>Consideracions sobre la metodologia de la Genètica i de les Ciències Biològiques en general</i> , per ANTONI PREVOSTI . . . . .   | 139 |
| <i>Sistemàtica i evolució en el món dels procariotes: dades aportades per l'estudi dels àcids nucleics dels bacteris del grup Bdellovibrio</i> , per FRANCESC TORRELLA i MATEU . . . . . | 151 |
| <i>Models matemàtics i models físics de poblacions i d'ecosistemes</i> , per RAMON MARGALEF . . . . .  | 169 |
| <i>Un model de distribució de dues espècies, Octopus vulgaris i Pagellus acarne, afectades per la pesca en llurs migracions</i> , per C. BAS i PEIRED . . . . .                          | 179 |
| <i>Organització del zooplàncton d'aigua dolça durant un cicle anual: aplicació d'un índex de fluctuacions</i> , per MARIA ROSA MIRACLE . . . . .   | 183 |

ACABAT D'IMPRIMIR ALS  
TALLERS GRÀFICS A. NÚÑEZ  
DE BARCELONA  
EL DIA 29 DE DESEMBRE DEL 1978  
GRAVATS DE J. M. LLOVET





