

## CATEDRA DE GENETICA

Catedrático: Prof. Dr. EDUARDO ZORITA

La Catedra de Genética, que se creó en 1956, es una de las más antiguas de la Universidad de Valencia. Su fundación se debió a la iniciativa del Prof. Dr. EDUARDO ZORITA, que en ese año se convirtió en su primer catedrático. La Catedra de Genética es una de las más antiguas de la Universidad de Valencia. Su fundación se debió a la iniciativa del Prof. Dr. EDUARDO ZORITA, que en ese año se convirtió en su primer catedrático.

## CROMOSOMAS DE MAMIFEROS DOMESTICOS

Por Esther García Monge

### INTRODUCCION

A partir del trabajo realizado por TJO y LEVAN (1956) en que establecieron como número cromosómico humano el de  $2n = 46$  (22 pares de autosomas y un par de heterocromosomas) se han sucedido una serie considerable de trabajos explicativos de técnicas destinadas a facilitar el estudio del número y morfología cromosómicos, ante el hallazgo de que una serie de efectos causales cromosómicos eran motivo de determinadas enfermedades humanas, tales como los síndromes de DONW, de TURNER, de KLINEFELTER, etc., los cuales vienen producidos por alteraciones ya en el número, ya en la morfología de los cromosomas humanos.

El estudio de los cromosomas del hombre ha revolucionado de esta manera el conocimiento sobre la causa de determinadas enfermedades, preferentemente anomalías sexuales y diversas deficiencias mentales. Los últimos siete años, por tanto, han abierto un nuevo campo profusamente estudiado en el momento presente en el que la investigación de este aspecto del hombre puede llevar a un más profundo conocimiento del mismo.

Actualmente, de igual manera a como ocurría en 1956 sobre los cromosomas del hombre, el conocimiento sobre los cromosomas de los vertebrados superiores y en particular, de los mamíferos domésticos, adolece de una notable falta de profundidad. A este respecto en 1961 JOHANSSON y VENCE escribieron en su libro «Der Tierzüchtung», tomo 2, página 52 (Haustiergenetik): «Charakterisch für die meisten Tierarten ist, dass die Chromosomenzahl relativ hoch und dass die Chromosomen

Klein sind. Trotz der grossen Zahl ausgeführter Untersuchungen ist doch für gewisse Arten die wirkliche Chromosomenzahl noch unsicher. Als Beispiel kam angeführt werden, dass erst im Jahre 1954 (Sachs) definitiv festgestellt wurde, dass das Schwein  $2n = 40$  Chromosomen hat». El primer estudio realizado por nosotros en los mamíferos domésticos ha sido precisamente sobre *Sus scrofa domesticus*, obteniendo un número cromosómico diferente al de Sachs. La cifra encontrada por nosotros fue la de  $2n = 38$ .

Existe, sin embargo una marcada diferencia del estado en que se encontraban las técnicas para el estudio de los cromosomas en vertebrados superiores en el año 1956 y el existente en la actualidad. De esta manera, la aplicación de las técnicas encontradas para el estudio de los cromosomas humanos en la investigación de los cromosomas de los vertebrados superiores es solamente un pequeño paso. Este paso, no obstante, ha sido llevado a cabo en muy pocas ocasiones y el conocimiento, que actualmente se tiene, de los cromosomas de los mamíferos domésticos es relativamente pequeño y superficial.

Según nuestra opinión, el estudio de los cromosomas de los mamíferos domésticos se puede dividir en tres etapas. La primera hasta el año 1944 engloba los trabajos realizados por WODSEDALEK, KRALLINGER, MASUI, HANCE, PAINTER, BERRY y SHIWAGO entre otros, caracterizada sobre todo por una gran disparidad en las observaciones y una variabilidad marcada en los resultados.

La segunda etapa se inicia en 1944 mediante una serie de trabajos publicados por MAKINO, el cual hace una completa revisión de todos los hallazgos cariogámicos habidos hasta esa fecha sobre los mamíferos domésticos, aportando un considerable número de nuevas observaciones. Los trabajos realizados por MAKINO han sido durante muchos años la base fundamental del conocimiento de los cromosomas de los mamíferos domésticos. El estudio del investigador japonés, publicado hace 20 años, es aún, después del tiempo transcurrido y a pesar de algunos errores en sus resultados, presumiblemente el más completo.

En esta segunda etapa pueden enmarcarse los trabajos de SACUS, de SPALDING y BERRY y de MELANDER y KNUDSEN, todos los cuales son, sin embargo, inferiores a cada uno de los trabajos de MAKINO.

La tercera etapa comienza precisamente para nosotros con el hallazgo del número cromosómico exacto del hombre por TJO y LEVAN. Este trabajo ha sido, según nuestra opinión, no sólo el aliciente para es-

timular el desarrollo de la Citogenética humana, sino también la vía que ha abierto posibilidades para el hallazgo de nuevas técnicas destinadas, por una parte, a simplificar la obtención de preparaciones y por otra, a mejorar la calidad de las mismas.

La aplicación de estos nuevos métodos ha servido para una aportación científica más completa en el estudio de algunas especies de mamíferos domésticos. Tales han sido los trabajos de ROTHELS, SASAKI, MELANDER, TRUJILLO y colaboradores, OTONO y colaboradores, etc.

En 1960, en Denver (Colorado, E. U.) se estableció un sistema lo suficientemente flexible, para ordenar los 22 pares de autosomas humanos en siete grupos distintos conforme a su morfología y tamaño semejantes. Con ello se facilita no solamente el recuento sino la apreciación de que tipos de diferencias y en que grupo, y si es posible en que par existen con respecto al cariotipo normal. Este sistema facilita el estudio de los cromosomas, que, como ocurre en algunas especies, presentan morfología semejante en gran número de pares de sus cariotipos. Nosotros adoptamos este sistema para los cromosomas de mamíferos domésticos pero para aquellos cromosomas más similares en tamaño, ya que efectuamos en primer término un ordenamiento con relación a su decreciente longitud total.

#### TESIS A PLANTEAR

El comportamiento de los cromosomas durante la filogénesis ha sido de gran interés para los citólogos a través de todos los tiempos, ya que los cromosomas representan el papel más importante en el mecanismo hereditario.

Las investigaciones cromosómicas de los mamíferos domésticos, en el conocimiento de los complejos hereditarios de los mismos es un asunto de indudable importancia, tanto científica como práctica.

Actualmente, sin embargo, nuestro conocimiento respecto a ese tema persiste en un estado no satisfactorio a pesar de una considerable cantidad de trabajos efectuados a tal fin por gran número de investigadores; ya que como señalamos en la introducción, existe una gran disparidad entre los resultados de sus trabajos. Esto es causa de la existencia de una gran duda acerca del número y más aún de la morfología cromosómica para las distintas especies.

De aquí que en estos momentos es de gran urgencia el estudio a fondo de este campo para que en el futuro, tanto los genéticos como cuantos se dediquen a mejorar especies animales puedan tener un fundamento sobre el cual construir eficientemente.

Quien primero consiga la determinación completa de las distintas dotaciones habrá contribuido de una manera sustancial al estudio genético de estos animales.

En resumen:

El estudio de los cromosomas de los mamíferos domésticos realizado en este trabajo pretende ser una nueva aportación que presente una amplia documentación gráfica y unos resultados científicos lo más exactos posibles sobre los cariotipos de las especies siguientes: *Sus scrofa domesticus*, *Bos taurus*, *Capra hircus*, *Ovis aries*, *Equus caballus*, *Equus asinus*, *Felis domestica*, *Canis familiaris* y el híbrido *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus*.

## MATERIAL Y METODOS

### MATERIAL

En las especies de mamíferos domésticos: cerdo (*Sus scrofa domesticus*), toro (*Bos taurus*), cabra (*Capra hircus*) y oveja (*Ovis aries*) el material empleado para las preparaciones consistió en una muestra de células de médula de esternón, obtenida ésta excavando con un bisturí y recogiendo pulpa y travécula en un tubo de ensayo que contiene solución A hasta alcanzar, en dicho tubo, dos o tres centímetros de altura.

Los ejemplares necesarios para realizar el estudio cariogámico de las distintas especies nos fueron facilitados en el matadero Municipal de Madrid (Legazpi). Las razas empleadas fueron las siguientes: De Especie porcina (*Sus scrofa domesticus*) utilizamos raza Yorkshire, variedad Large White y Roja extremeña. De la especie bovina (*Bos taurus*) empleamos tres razas: Holstein-Frisien, Serrana y Abulense. En la cabra (*Capra hircus*) estudiamos las razas: Serrana, Granadina y Murciana; y en el caso de la oveja (*Ovis aries*) tomamos muestras de raza: Merina, Manchega y Castellana.

El material de *Equus caballus*, *Equus asinus* y el híbrido *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus* fue obtenido, igualmente tomando muestras

de células de médula roja de esternón. En el matadero Municipal de Madrid (Vallecas) nos suministraron: para el asno (*Equus asinus*), el caballo (*Equus caballus*) y el mulo (*Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus*) animales mestizos procedentes del cruzamiento de razas variadas.

En el caso del perro (*Canis familiaris*) y gato (*Felis doméstica*) el material consistió en muestras de médula roja de fémur. Tomamos medio centímetro cúbico, aspirando con una pipeta Pasteur, que añadimos sobre un tubo de ensayo que contenía cuatro a cinco centímetros cúbicos de solución A. Con frecuencia la médula estaba osificada, y en estos casos, efectuamos la toma de muestra del esternón, excavando con un bisturí y añadiendo la pulpa y algo de trabécula a la solución A.

Los individuos que utilizamos para la investigación cromosómica de estos dos mamíferos domésticos, (perro y gato), fueron sacrificados en esta misma sección de Citología proporcionados por nuestro Instituto de Edafología y Biología Vegetal del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. En ambos casos no utilizamos ninguna raza pura, sino que todos los animales eran mestizos procedentes del cruzamiento de razas distintas.

Siempre el material empleado, para esta investigación, fue extraído de ejemplares que estaban en época de desarrollo, presentando así, tanto en médula roja de esternón como en cabeza de fémur, un mayor porcentaje de células en división. Sus edades oscilaban: entre los seis y catorce meses los cerdos, cuatro a siete meses el ganado vacuno, uno a seis meses, las cabras y ovejas, uno a cuatro años los caballos, asnos y mulos, de uno a dos años los gatos y perros.

Para cada especie, en sus distintas razas hemos estudiado un gran número de metáfases, poniendo en evidencia su excelente calidad en las microfotografías donde aparece una clara dispersión cromosómica, lograda por la acción de la colchicina y una solución hipotónica principales reactivos de la nueva técnica utilizada. Esta dispersión, nos facilita el estudio completo del recuento numérico, observación morfológica e identificación de la digametia XY que define el sexo.

### TECNICAS

Hsu (1953) introdujo en las técnicas actualmente empleadas la utilización de un pretratamiento de las células animales mediante soluciones hipotónicas que provocaban el hinchamiento de las mismas y una mayor dispersión de los cromosomas. PUCK y colaboradores, TJIO y

PUCK (1958) elaboraron una técnica basada en el cultivo de tejidos y que sirvió para la determinación completa del cariotípico humano. FORD y HAMERTON (1956) emplearon para el estudio cariogámico el aplastamiento de tubos seminíferos. FORD y colaboradores (1958), TJIÓ y WANG (1962) emplearon el cultivo de células de médula roja en suspensión. Finalmente, HUNGEFORD y colaboradores (1959) y MOORHEAD y colaboradores (1960) han introducido las técnicas de cultivo de sangre periférica con excelentes resultados.

La técnica utilizada por nosotros, se ha basado en la empleada por TJIÓ y LEVAN. El manuscrito que poseímos de esta técnica no fijaba una serie de detalles que hemos tenido que desarrollar nosotros. En conjunto esta técnica da excelentes resultados en un 50 por 100 de las muestras tomadas. El desarrollo de la misma tal como la hemos empleado nosotros; es el siguiente:

#### SOLUCIONES

##### I.—Solución A:

Cl Na .....	0,85 g.
Tampón fosfato (0,1 M. pH 7,25) .....	10 c.c.
Colchicina 0,01 % .....	1 c.c.
Agua destilada hasta .....	100 c.c.

El tampón fosfato 0,1 M. pH 7,25 se prepara de esta manera:

Solución madre $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$ 0,2 M .....	25 c. c.
Solución madre $\text{PO}_4\text{HNa}_2$ 0,2 M .....	75 c. c.
Agua destilada .....	100 c. c.

Se comprueba con papel indicador que el pH del tampón oscila entre 7,2 y 7,3.

##### II.—Solución B:

Citrato sódico 5,5 $\text{H}_2\text{O}$ .....	1 g.
Tampón fosfato (0,1 M. pH 7,25) .....	10 c.c.
Agua destilada hasta .....	100 c.c.

**Advertencias:** Estas dos soluciones conservadas a la temperatura ambiente sólo son utilizables con buenos resultados durante cuatro días.

Conservándolas en nevera puede aumentarse su duración.

#### III.—Colorante:

Colocar unos 55 c. c. de acético glacial en un vaso de precipitados de 500 c. c. que sea alto y estrecho. Calentarlo suavemente a la llama de un mechero de alcohol o en un infiernillo eléctrico. Cuando alcanza los 60° —70° añadir 2 g. de orceína (George T. Gurr) y agitar. Seguir calentando hasta *suave ebullición* y mantenerlo hirviendo durante cinco minutos. Dejar enfriar hasta 50°C. Añadir 55 c. c. de agua destilada. Agitar. A continuación se deja enfriar hasta la temperatura ambiente y se filtra. (En este caso no se debe añadir ácido clorhídrico como es necesario hacerlo en la preparación del colorante para cromosomas de células vegetales).

#### METODOS:

1.—Cuando la médula ósea se puede aspirar, se hace una toma aproximada de 0,5 c. c. y se añade sobre 3-5 c. c. de solución A a 24°. Si la médula se encuentra osificada, la toma se debe hacer mediante un bisturí excavándola y añadiendo la pulpa y la trabécula obtenida a la solución A. Es suficiente una muestra que ocupe 1-2 c. c. En ambos casos, conviene agitar fuertemente una vez terminada la toma, para así facilitar la dispersión de las células en la solución.

Es esencial que al añadir la médula la solución A se encuentre a 20°. A continuación, tapado el tubo herméticamente, se lleva a un termo con agua a la misma temperatura permaneciendo en él durante hora y media.

2.—Después se succiona con una pipeta seca y conservada en estufa a 28° llevándose la suspensión a un tubo de centrifuga. Cuando la muestra presenta trabécula se evita en lo posible la absorción de la misma. Convienen realizar además en este caso otra extensión con 2-3 c. c. de solución A a 28° y se mezcla con la primera en el tubo de centrifuga. Se centrifuga a 600 r. p. m. durante cinco minutos, cuidando que la temperatura no disminuya sensiblemente. Para esto, si la temperatura ambiente es baja, se emplea una corriente de aire caliente producida por una estufa eléctrica dirigida sobre la centrifuga. Se decanta el sobrenadante y se añaden 3-5 c. c. de solución B a 28°. Se lleva el tubo al termo y se deja durante media hora.

En muchos casos se observa la presencia de una gran cantidad de grasa en la muestra y entonces es conveniente lavar una o dos veces con solución A. Así después de una hora de tratamiento en la solución A

se lleva la muestra al tubo de centrífuga, según el método anteriormente indicado, y después de centrifugar y decantar se añade nueva solución A a 28°. El lavado se repite otra vez, cambiando además la solución A con la suspensión celular a un tubo limpio, para evitar la grasa que impregna el tubo. Por último se lleva a la solución B y se deja media hora en el termo.

3.—Pasada la media hora de tratamiento en solución B a 28° se extrae con unas pinzas el coágulo formado. Se centrifuga a 600 revoluciones por minuto durante cinco minutos. Quitar el sobrenadante y añadir 3-5 c. c. de fijador Carnoy (alcohol absoluto: ácido acético glacial 3 : 1) y agitar. A los dos minutos repetir el lavado con Carnoy.

4.—Centrifugar y decantar el sobrenadante, añadir una gota de fijador Carnoy y agitar.

5.—Con una pipeta Pasteur colocar una gota de esta suspensión sobre cada uno de los portaobjetos bien limpios. Soplando suavemente en el momento de depositar la gota para facilitar la completa extensión. Dejar secar completamente.

6.—Tinción y montaje:

a) Introducir las preparaciones durante treinta minutos en la cubeta de colorante.

b) Pasar por alcohol de 50°, 70°, 96° y absoluto, por este último dos pasos. A continuación dos cambios en alcohol absoluto-xilol (1 : 1) y otros dos en xilol para montar en bálsamo. Es aconsejable utilizar cubreobjetos grandes.

## SUS SCROFA DOMESTICUS

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

WODSEALEK<sup>22</sup> estudiando en 1913 la espermatogénesis y la ovogénesis del cerdo (*Sus scrofa domésticus*) encuentra integrado su complejo diploide por 18 cromosomas en el macho y 20 en la hembra y el haploide por 18 a 20.

HANCE<sup>8</sup> indica la existencia de 40 cromosomas en la espermatogénesis, 40 a 47 en las células somáticas y 20 en el espermatocito de primer orden en el material testicular de tres ejemplares de raza Berkshire, 5 Jersey Reds y una Poland China. Considera que los números diferentes observados se deben a la fragmentación cromosómica.

KRALLINGER<sup>11</sup> estudiando las placas espermatogoniales de células somáticas pertenecientes a razas: Berkshire y común en Alemania, indicó 38 cromosomas en diploide y 19 en haploide. El supuso que razas diferentes de cerdos podían poseer distinto número cromosómico por haberse encontrado un tipo con  $2n = 40$  y otro con  $2n = 38$ . Según él la confirmación de tal suposición por otros investigadores explicaría el origen del cerdo doméstico en el cruce *Sus scrofa*  $\times$  *Sus vittatus*.

Posteriormente BRYDEN<sup>2</sup> estudió cariológicamente el cerdo partiendo de material testicular de ejemplares de raza: Large White y Yorkshire. Despues de seccionarlo en cortes de 10 a 12 micras fija con 2BD, 2BE (*La Cour* 1931) 2BD y CARNOY, Medio Flemming y Strong Flemming. Adjunta en el trabajo un dibujo correspondiente a una placa de 10 micras de sección en la que indica 41 cromosomas; de éstos un cierto número son pequeños y el mismo autor supone, que procedían de algunos de los largos que habían sido cortados. En las figuras 2 y 3 presenta dibujos de placas de 16 micras. En cada una de ellas indica la existencia de 38 cromosomas. Despues de observar varias placas considera como número diploide  $2n = 38$ . No obstante afirma tener dudas de que alguno de los elementos gruesos estén formados por dos cromosomas dispuestos completamente juntos.

HILLEBRAND<sup>10</sup> indicó para la raza Berkshire y dos clases de cerdos nativos de Alemania el número  $2n = 38$ .

El trabajo de MAKINO<sup>14</sup> es sin duda alguna, mucho más preciso y detallado que los anteriores. Para él la causa del diferente número cromosómico ( $2n = 40$  y  $2n = 38$ ) que venían señalando para el complejo del cerdo, tenía dos posibles explicaciones: 1.<sup>a</sup>) que las distintas razas poseyeseen diferente número de cromosomas y 2.<sup>a</sup>) que el desacuerdo en el conteo fuese motivado por el empleo de técnicas de fijación inadecuadas. A fin de aclarar tales posibilidades estudió dos razas de cerdo: White-Yorkshire y una común de las islas Ryūkyū. La muestra, tejido testicular, la conserva en mezcla Champys y soluciones, débiles y fuertes, de Flemming (carente de ácido acético). Hace los cortes en secciones de 10 micras y colorea con hematoxilina férica de Heidenhains y verde claro. Selecciona para su estudio cinco preparaciones: tres de la raza Yorkshire y dos de la Ryūkyū. Afirma «The funding of the present study was fully harmonious with Hance's result, givin 40 as the diploid and 20 as the haploid number with extreme clearness (fig. 1 a 5) y añade que la

evidencia es suficiente para indicar que las diferentes razas de cerdo no poseen diferente número de cromosomas.

Analiza morfológicamente los 40 cromosomas individuales. Ordena en serie gradual (fig. 20 y 21) 19 pares de elementos homólogos, por su característica forma y tamaño, y un par heteromórfico formado por dos bastones, uno largo y otro extremadamente corto. Describe: una primera pareja de cromosomas muy grandes en forma de V con brazos desiguales, de éstos el más largo es aproximadamente doble en longitud del corto. Los elementos del segundo al cuarto par presentan estructura submetacéntrica y son bastones alargados cada uno de los cuales presenta conectado en su extremo terminal un segmento globular encorvándose en el punto de conexión y adoptando forma de J. Del quinto al octavo par todos los cromosomas tienen forma de V, de tamaño medio, con sus brazos poco desiguales en longitud submetacéntricos. Pares 9 y 10 subterminales, de tamaño medio y elementos desde el par 11 al 19 todos con aspecto de bastones formando, por su longitud una serie graduada. Todos llevan, cerca del extremo, una constrictión y alguno muestra en el punto de estrechamiento un suave enejavamiento. Respecto a éstos duda el autor si son elementos ortotelocéntricos o subtelocéntricos. El par veinteavo representa el complejo XY.

Concluye MAKINO «en cuanto a lo que concierne a las características morfológicas generales, los cromosomas del cerdo no expresan diferencias visibles en todos los caracteres entre las dos razas observadas, no sólo en el número sino también en su morfología externa».

MELANDER<sup>15</sup> observando células poliploides de cerdos procedentes de tres variedades de Old swedish, por un tratamiento con colchicina, indica para ellas un número diploide de 47 cromosomas de tamaño pequeño y en las células de cerdos normales 30 cromosomas mas largos.

En Suecia las variedades Old swedish y Yorkshire estaban estrechamente emparentadas, eran capaces de entrecruzarse dando prole fértil. El Dr. VENCE indica que la Old swedish procedía de una variedad escandinava Landrace mejorada probablemente por el uso de algún antecesor Yorkshire. La variedad Yorkshire estaba tan emparentada en Suecia que era llamada en Inglaterra Large White. Por otra parte la Large White y Old Swedish eran también capaces de entrecruzarse.

Por todo esto parecía probable que las tres variedades: Large White, Yorkshire y Old swedish tenían algún antecesor común.

SACHS<sup>20</sup> intenta revisar la diferencias cromosómicas entre esas variedades estrechamente emparentadas. A tal fin obtiene muestras de tres ejemplares de la raza Old swedish, un ejemplar de los cruzamientos hechos en Suecia entre Yorkshire  $\times$  Old swedish y otro ejemplar del cruce hecho en Inglaterra entre Large White y Old swedish. Examina los cromosomas utilizando la técnica de aplastamiento de Feulgen. En el recuento no ha observado indicios de diferente número cromosómico en las distintas variedades. Afirma «2n = 40 is the correct chromosome number both for the Old swedish and for other pig varieties».

SPALDING y BERRY<sup>21</sup> observan el complejo cromosómico en cerdos de razas: Chester White, Poland China, Duroc Jersey y verracos Hampshire. En sus células todos los cromosomas están en el mismo plano y el recuento de ellos da constantemente 2n = 40. De éstos, 38 forman parejas por su homología y los restantes son elementos heteromórficos.

Morfológicamente considera cuatro grupos: telocéntricos, metacéntricos y un solo elemento esférico.

Recientemente APARICIO RUIZ<sup>4</sup> señala para el material testicular procedente de 30 cerdos de tipo ibérico de la raza Rubia, que en la espermatogonia y espermatocito existen 40 cromosomas y en el espermatocito de segundo orden 20. Del número diploide 40, 38 son autosomas y los dos restantes heterocromosomas.

#### Cromosomas sexuales

Para WODSEDALEK la fórmula sexual es del tipo XX, XO. HANCE no nos refiere, en ninguno de sus dos trabajos la existencia de cromosomas sexuales. KRALLINGER admite ya la posibilidad de un tipo sexual XX y XY. BRYDEN no llega a identificar estos cromosomas, únicamente indica que en el cerdo son del tipo XY sugiriendo para uno de ellos un cromosoma más largo que los restantes, que carece de compañero homólogo formando par heteromórfico con otro elemento más pequeño.

MAKINO identifica el complejo XY como al último par desigual de su clasificación (fig. 20 y 21). Representa al X un cromosoma de magnitud similar a los miembros del cuarto par y respecto a él indica «por el momento es imposible determinar si su estructura es telocéntrica de simple tipo de bastón o subtelocéntrica en forma de V». En las preparaciones mejor coloreadas indica que el X exhibe una estructura tripartita estando dividida en tres segmentos por la existencia de dos estrechamientos<sup>18</sup>.

Como cromosoma Y considera un diminuto elemento globular del tamaño aproximado a los miembros del par 19, el cual conecta su extremo con el extremo del X.

Por otra parte los trabajos de MELANDER, SACHS, SPALDING y BERRY y APARICIO RUIZ no mencionan al complejo sexual; en ellos se interesan únicamente por determinar el número cromosómico exacto.

#### OBSERVACIONES

El estudio ha sido realizado en células somáticas extraídas de la médula roja del esternón. Fueron tomadas de 15 ejemplares: 10 de raza Yorkshire variedad Large White y los cinco restantes de Roja extremeña. Estos últimos confirmaron los resultados de la raza anterior.

Se han hecho aproximadamente unas 100 preparaciones tanto de ejemplares machos como de hembras siendo observadas en cada una de ellas, por término medio, 20 metafases. De éstas seleccionamos primariamente las que mostraban mejor distribuidos y más separados los cromosomas quedando así reducido su número a once de cada uno de los animales; siendo por tanto el número total de células mitóticas estudiadas igual a:  $(10 \times 11) + (5 \times 11) = 165$ . Despues elegimos, de todas, dos de cada raza (una macho y otra hembra) para fotografiar.

Los cerdos que fueron objeto del presente estudio se encontraban en el período de vida más apto para poseer un número elevado de células en división.

Las microfotografías (figuras 1 y 2) presentan células mitóticas en estado de metafase procedentes de los sexos macho y hembra respectivamente, de *Sus scrofa domesticus*. Su recuento numérico no nos confirma como número cromosómico diploide  $2n = 40$  que era el que se mantenía como seguro en la actualidad, sino que en todas las placas metafásicas estudiadas procedentes de distintas preparaciones hallamos únicamente 38 cromosomas como componentes del complejo diploide.

Las figuras 1' y 2', muestran los cariotipos de macho y hembra obtenidos emparejando los cromosomas homólogos y ordenando éstos y los dos elementos heteromórficos X e Y del macho siguiendo orden con relación a su decreciente tamaño.

En la tabla número 1 expresamos las características cuantitativas más importantes de la dotación: hallamos la longitud total de cada cro-

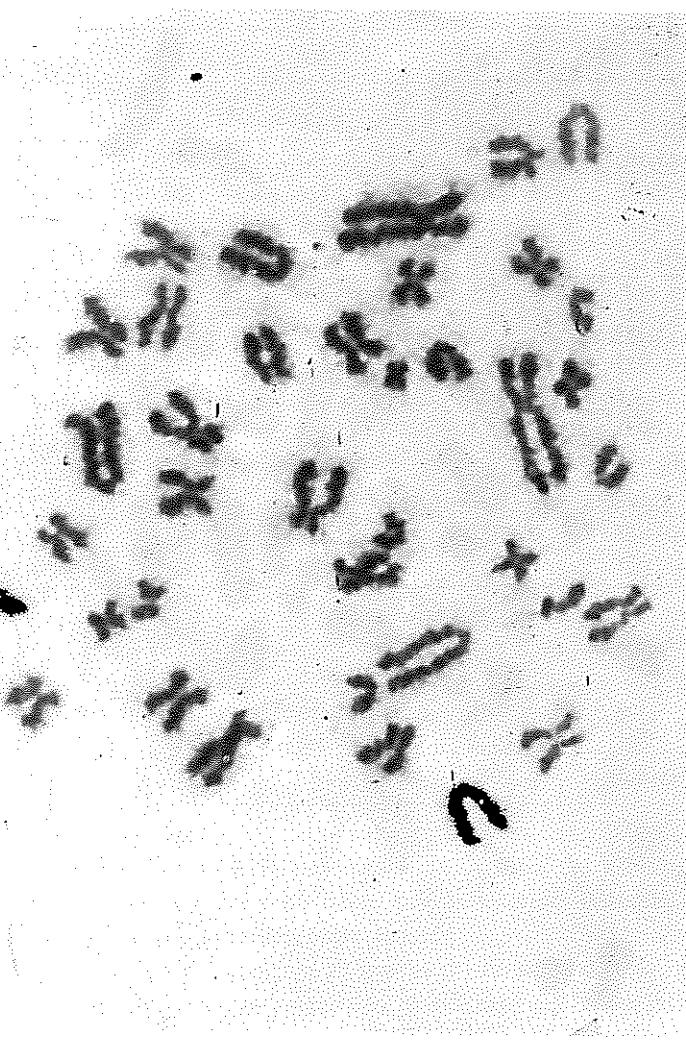


Fig. 1.—*Sus scrofa domesticus* ♂  $2n = 38$ .



Fig. 2.—*Sus scrofa domesticus* ♀  $2n = 38$ .

TABLA I  
Características cuantitativas del cariotipo del cerdo (*Sus scrofa domésticus*)

Grupo	Número	Longitudes en %			Relac. B.L./B.C.
		B.L.	B.C.	Total	
1. <sup>o</sup>	1	7,42	4,72	11,74	2,1/1,2
2. <sup>o</sup>	2	8,18	tel.	8,18	telocéntrico
	3	4,62	2,13	6,75	1,3/0,62
3. <sup>o</sup>	4	3,91	2,49	6,40	1,1/0,7
	5	3,91	2,13	6,04	1,1/0,6
4. <sup>o</sup>	6	5,33	tel.	5,33	tel.
	7	5,33	tel.	5,33	tel.
	8	3,20	2,13	5,33	0,9/0,6
	X	3,20	2,77	4,97	0,9/0,5
	9	3,20	1,42	4,62	0,9/0,4
5. <sup>o</sup>	10	3,20	1,42	4,62	0,9/0,4
	11	3,55	1,06	4,62	1/0,3
	12	2,84	1,42	4,27	0,8/0,4
	13	2,84	1,42	4,27	0,8/0,4
	14	3,55	tel.	3,55	tel.
	15	2,13	1,42	3,55	0,6/0,4
6. <sup>o</sup>	16	1,77	1,06	2,73	0,5/0,3
	17	2,66	tel.	2,66	tel.
	18	2,49	tel.	2,49	tel.
7. <sup>o</sup>	Y	1,24	1,06	2,30	0,35/0,30

mosoma, expresándola en tanto por ciento de la total del cariotipo, y determinamos la posición del centrómero por la relación existente entre los brazos largos y cortos de cada cromosoma.

Por la situación del centrómero que es diferente en un determinado número de cromosomas, estos pueden clasificarse en: metacéntricos, submetacéntricos y acrocéntricos cuando el centrómero ocupa en ellos posición mediana, submediana o subterminal respectivamente.

Precisamente estas dos características, variables de unos a otros, longitud total y relación de brazos que presentan los cromosomas al ser divididos por el centrómero sirven para calificarlos. Así como también, la presencia o ausencia de satélites.

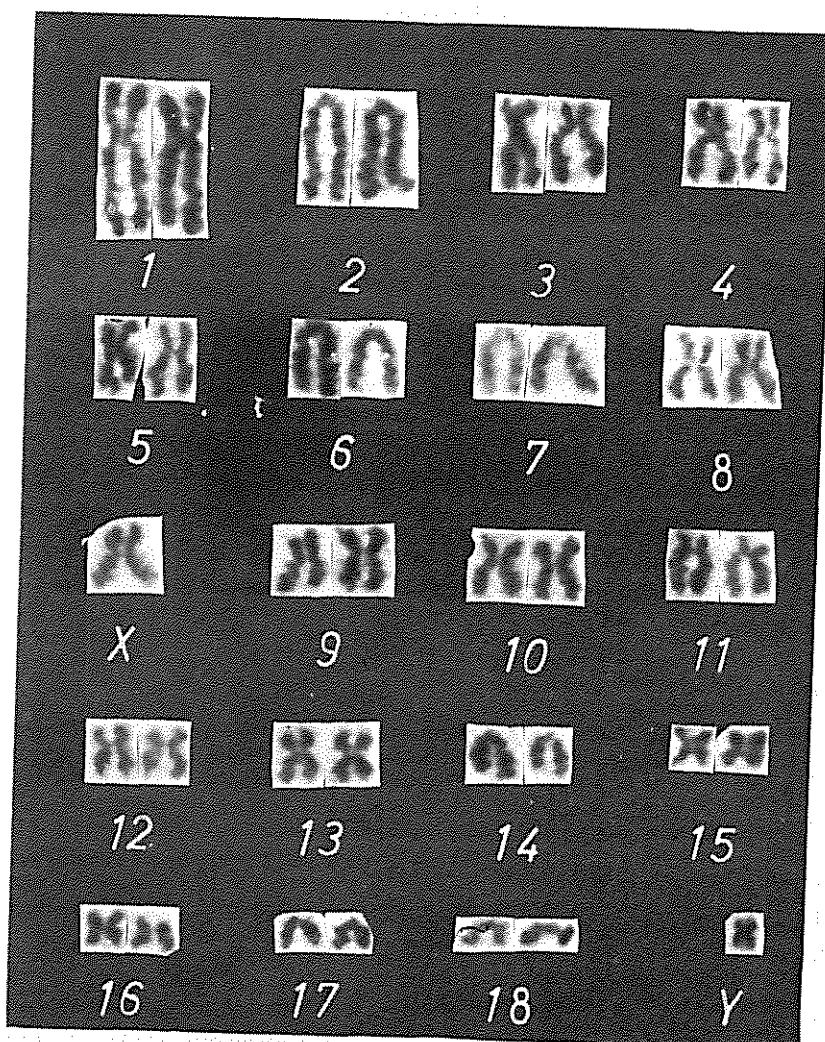


Fig. 1'. *Sus scrofa domesticus* ♂ idiogramma.

— 60 —

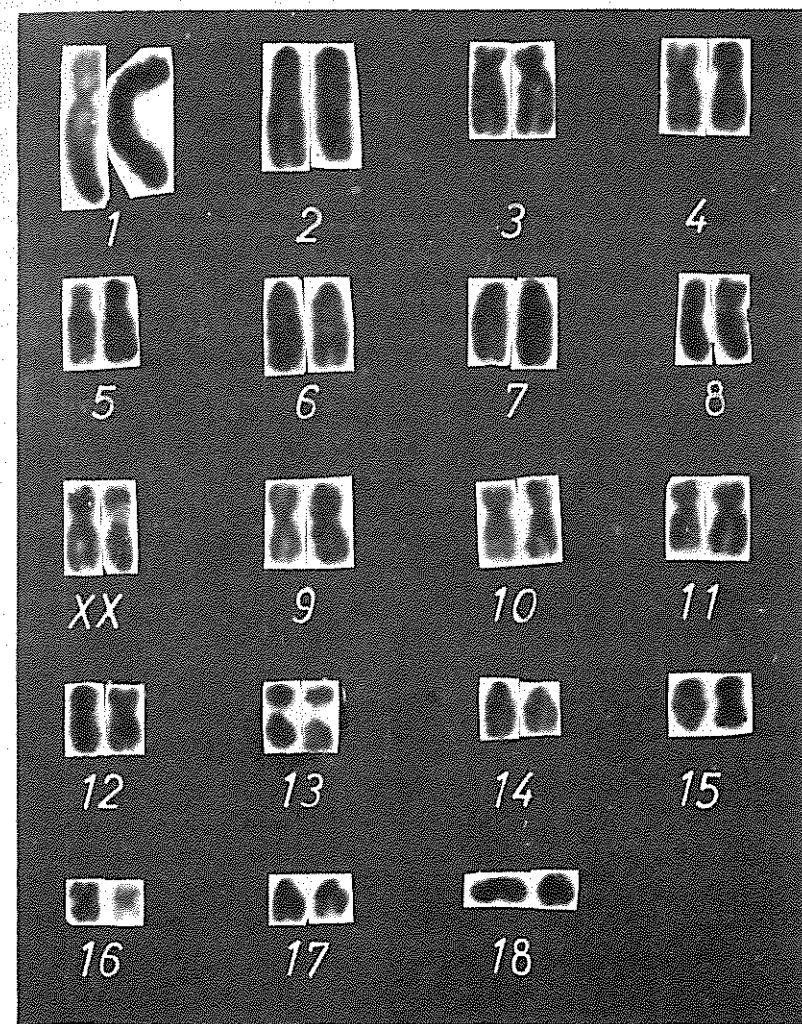


Fig. 2'. *Sus scrofa domesticus* ♀ idiogramma.

— 61 —

En esta clasificación los cromosomas sexuales se denominan X e Y y los no sexuales o autosomas se designan correlativamente con los números 1 al 18 según la posición que ocupan por orden decreciente de tamaño.

Teniendo en cuenta todos estos caracteres dividimos el cariotipo en los siete grupos siguientes:

1.<sup>o</sup> Grupo.—Tiene un solo par cromosómico número 1. Destaca de los restantes componentes por su elevado tamaño (LT = 11,74 %) el mayor de toda la dotación. Posee el centrómero en situación submedianiana. Se observa claramente su morfología bibraquial pero la diferente longitud de sus brazos está en razón aproximada de 2,1/1,2.

2.<sup>o</sup> Grupo.—Análogamente al grupo precedente le consideramos formado por un único par de cromosomas, número 2. Presenta centrómero terminal o aparentemente terminal imprimiéndole estructura mono-braquial. Sus brazos son más largos que los mayores del par anterior, pero menor su longitud total, guardando respecto a él mucha mayor diferencia en tamaño que con los del grupo siguiente.

3.<sup>o</sup> Grupo.—Consta de tres pares cromosómicos (3, 4 y 5). En líneas generales son morfológicamente similares por mostrar todos ellos apariencia de centrómero submediano subterminal, aunque su situación es poco diferente en cada uno de los tres pares, así: en el primer par el centrómero netamente subterminal divide al cromosoma de forma que la relación de sus brazos es 1,3/0,6. En el segundo y tercero es submediano pero presenta una ligerísima diferencia la relación de brazos en cada uno de ellos.

El tamaño total que poseen estos tres pares es inferior al de los dos pares anteriores, equivalen casi a la mitad del par 1 y son bastante menores que el 2. El primero supera a los otros dos, 4 y 5 entre los que existe una pequeña diferencia.

La identificación de cada uno de los cromosomas homólogos que forman los pares que componen este grupo es claramente fácil para el primero, puesto que difiere de los restantes en tamaño y posición del centrómero, mientras que en los otros dos es verdaderamente dificultosa por ser análogos en tamaño y muy similares sus características morfológicas.

4.<sup>o</sup> Grupo.—Pares 6 y 7. Ambos pares poseen centrómero en posición terminal o aparentemente terminal, así como también análoga lon-

gitud; por tales semejanzas su identificación en el complejo ofrece confusiones.

5.<sup>o</sup> Grupo.—Le constituyen siete pares cromosómicos, en la dotación hembra y seis más el elemento impar X en el macho (8, X, 9, 10, 11, 12 y 13). Del primero al segundo hay un decrecimiento de tamaño, aunque ambos representan la longitud media del complejo y son ligeramente superiores a los tres pares siguientes, los cuales son aparentemente de igual longitud y a la vez superiores, con poca diferencia, a los últimos pares también similares entre si.

La posición del centrómero no es idéntica para estos siete pares aunque sí es análoga en varios de ellos, así en los pares: 8, XX, 12 y 13 es submediano. En los pares 9 y 10 el centrómero es mediano submediano y el par 1 le presenta subterminal.

Por las coincidentes características que poseen algunos de los pares de este grupo, la identificación de cada uno de ellos ofrece confusiones en determinados casos. En los dos primeros pares la única diferencia existente, el tamaño, es difícil de observar. El par mayor por estar presente en las dotaciones de ambos sexos le forman dos autosomas, mientras que el segundo es identificado por el cromosoma sexual X, puesto que no tiene homólogo en el complejo del macho; en éste únicamente forma pareja heteromórfica con otro elemento mucho más pequeño de tamaño.

Es relativamente difícil, también, identificar los pares 9 y 10. La única diferencia encontrada por nosotros es de tipo morfológico.

El par 11, quinto de este grupo destaca perfectamente de los restantes, tanto en tamaño como por la posición subterminal del centrómero.

En los pares 12 y 13 los centrómeros son submedianos y el tamaño cromosómico, total y la relación de sus brazos, son muy similares; pero presentan una diferencia morfológica que permite determinar los homólogos.

6.<sup>o</sup> Grupo.—Comprende cinco pares cromosómicos (14, 15, 16, 17 y 18). Con tres de ellos (14, 17 y 18) podríamos formar un subgrupo puesto que se diferencian perfectamente de los dos restantes por poseer centrómero terminal o aparentemente terminal y un segundo subgrupo con los pares 15 y 16 en los cuales el centrómero está en posición mediana-submediana.

La identificación de los homólogos en el primer subgrupo no ofrece dificultades puesto que el par primero del grupo, o 14 del idiograma,

destaca claramente por su mayor tamaño y los otros dos, 17 y 18 si bien difieren solo escasamente en longitud nos es posible diferenciarlos por la distinta morfología de sus cromátidas.

En el segundo subgrupo, el carácter distintivo de los pares es el tamaño, superior éste en el par 15 al 16.

7.<sup>o</sup> Grupo.—Está formado por un sólo elemento el cual se encuentra únicamente en la dotación del macho. Este hecho unido a sus características, el más pequeño de todo el complejo y con centrómero en la zona mediana-submediana, nos permite identificarle como el cromosoma sexual Y.

## DISCUSIÓN

No coinciden las opiniones de los investigadores, referentes al número de cromosomas que integran la dotación del cerdo (*Sus scrofa domesticus*), ni tampoco las de autores de trabajos generales en que hacen mención al cariograma de los animales domésticos. Así mientras KRONACHER (1937) mantiene la cifra inicialmente dada por HANCE otros como LA LOMA (1946) y CUENCA (1950) indican la de 38 sin especificar el tipo sexual. En 1961 JOHANSSON y VENGE escribieron en su libro «Der Tierzuchtung» tomo 2 página 52 (Haustiergenetik) «Charackterisch für die meisten Tierarten ist, dass die Chromosomenzahl relativ hoch und dass die Chromosomen klein sind. Trotz der grossen Zahl ausgeführter Untersuchungen ist doch für gewisse Arten die wirkliche Chromosomenzahl noch unsicher. Als Beispiel kam angeführt werden, dass erst im Jahre 1954 (Sachs) definitiv festgestellt wurde, dass das Schwein  $2n = 40$  Chromosomen hat».

Este desacuerdo numérico no parece tener relación con el tipo de raza estudiada por ellos como supuso KRALLINGER. Efectivamente si observamos las razas empleadas por cada autor comprobamos que tanto para la Berkshire como Yorkshire han sido dados los dos números cromosómicos  $2n = 40$  y  $2n = 38$ .

No podemos considerar tampoco, como causa definitiva de tal desacuerdo la aplicación de técnicas inadecuadas para conseguir perfecta separación y observación de los cromosomas en las placas metafásicas puesto que el error de este factor le ponen de manifiesto, con mayor o menor claridad, prácticamente todos los trabajos descritos. Así el núme-

ro  $2n = 38$  indicado por KRALLINGER, BRYDEN y HILLEBRAND no está claro en las figuras metafásicas que los autores nos adjuntan y sobre las cuales basaron sus conclusiones puesto que los cromosomas señalados en ellas están entrecruzados impidiéndonos reconocer sus características individuales.

Las figuras de HANCE (fig. 1 a 12) página 203 de J. MORPH) no nos manifiestan seguridad de su recuento cromosómico.

MELANDER presenta únicamente dos dibujos, de célula normal poliploide, ambos con aspecto muy dudoso para hacer un recuento correcto.

En las microfotografías (fig. 10) y dibujos correspondientes a las células estudiadas por SACHS los elementos cromosómicos están repetidamente adheridos y superpuestos entre sí correspondiendo su estructura a una anormal conservación.

Presentan hinchamiento anormal y son indiferenciables los cromosomas de la placa (fig. 4 a 6) que adjuntan SPALDING y BERRY<sup>21</sup>.

Dá aspecto de no enfocada, por estar muy difusa, la microfotografía (fig. 6) de APARICIO RUIZ<sup>1</sup>. En la homologación que de ella hace el propio autor los cromosomas carecen de estructura clara, presentan las cromátidas anormalmente hinchadas impidiendo observar la existencia de centrómero en los elementos cromosómicos.

Comparando nuestras observaciones con los dibujos e interpretaciones de MAKINO, consideramos que la causa más probable del diferente recuento ( $2n = 40$ ) parece ser un error de interpretación al referirse a los dos cromosomas que forman el par número 13 del grupo 5.<sup>o</sup> del idiograma. En los cuales por presentar un centrómero más amplio que el de los restantes elementos del complejo, han contado cada brazo cromosómico por un cromosoma independiente.

MAKINO no hace descripción morfológica detallada puesto que no precisa la posición del centrómero en cada cromosoma, de aquí que en nuestras conclusiones haya más tipos de autosomas que en las de MAKINO. Respecto a los cromosomas sexuales no estamos de acuerdo con la identificación del elemento X que señala MAKINO; en ninguna de nuestras placas observamos para él la estructura tripartita que indica el autor. Al referirse al Y coincide con el elemento que identificamos nosotros.

Con posterioridad a nuestras observaciones<sup>6</sup> ha sido estudiado citiológicamente el cerdo en dos nuevos trabajos. En ambos utilizan como material leucocitos de sangre periférica cultivados por una modificación

del método Moorhead y coinciden con nosotros en que el recuento cromosómico del complejo de *Sus scrofa domesticus* dà  $2n = 38$ .

La descripción morfológica de MC.CONNELL, FECHHEIMER y GLILMORE<sup>4</sup> está en general de acuerdo con nosotros *excepto en la identificación del cromosoma sexual X*. Estudiando el idiograma de MC.CONNELL, FECHHEIMER y GLILMORE creemos observar que el emparejamiento del cromosoma X que ellos señalan puede muy bien realizarse con uno de los autosomas. A este respecto el autosoma restante en la pareja correspondería al cromosoma X. Este elemento si coincide con nuestro cromosoma X.

LARRIE STONE<sup>13</sup> considera como cromosoma sexual Y un elemento mayor que el X y de centrómero submediano. Esta interpretación no está de acuerdo, no solo con nuestros resultados, sino con la mayor parte de los trabajos que señalan como cromosoma Y al menor de la dotación.

### CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> El número cromosómico diploide del cerdo (*Sus scrofa domesticus*) es  $2n = 38$ .

2.<sup>a</sup> La clasificación morfológica de los 38 componentes del complejo, teniendo en cuenta la posición que presenta en ellos el centrómero es la siguiente:

a) Seis pares (2, 6, 7, 14, 17 y 18) con centrómero terminal o aparentemente terminal.

b) Dos pares, 3 y 11 subterminales.

c) Siete pares en la dotación hembra o seis (1, 4, 5, 8, 12 y 13) más el elemento impar X en el macho presentan el centrómero en la zona submediana.

d) Tienen centrómero mediano submediano los pares de autosomas: 9, 10, 15 y 16 más el cromosoma sexual Y.

3.<sup>a</sup> El cromosoma sexual X corresponde al segundo elemento del grupo quinto. Posee estructura submediana y una longitud total sólo ligeramente inferior al primer par del mismo grupo; por esto no es muy fácil diferenciarle; pero su situación impar en el cariotipo del macho nos permite identificarle.



Fig. 3.—*Bos taurus* ♂  $2n = 60$ .

4.º El cromosoma sexual Y se determina sin ninguna dificultad por presentar características bien señaladas. Es el más pequeño en tamaño de todo el complejo y con centrómero en la zona mediana submedianamente.

## BOS TAURUS

### REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

Es VON BARDELEBEN<sup>34</sup>, al asignar el número  $2N = 16$  para el complejo cromosómico del toro el que inicia una serie de posteriores trabajos que tratan sobre el cariotipo del toro.

SHOENFELD<sup>33</sup> realiza en 1902 un estudio, más que cariológico, puramente citológico «La spermatogénesis chez le taureau et chez les mammifères en general» en el que indica como resultado del recuento cromosómico un número diploide aproximado de 20 a 25 y haploide de 12.

VAN-HOOFF (ref. MAKINO<sup>26</sup>) señala también cifras muy análogas de 20 a 24 en diploide y 12 en haploide. Por otra parte MASUI<sup>28</sup> después de un estudio previo de los mamíferos en general, al referirse a la espermatogénesis del toro indica, la existencia en su complejo diploide, de 33 cromosomas.

WODSEDALEK<sup>35</sup> considera un número  $2n = 37$  en la célula masculina y 38 en la femenina. En el resumen afirma «el espermatocito primario presenta 19 cromosomas de los cuales 18 son bivalentes y el otro es el cromosoma sexual impar. En la oogonia se encuentran 38 cromosomas dos de ellos son los cromosomas sexuales».

Posteriormente KRALLINGER<sup>25</sup> aporta datos más cercanos a la realidad. Considera que el complejo diploide del toro contiene 60 elementos. En la descripción morfológica de la metafase que obtiene por fijación Allen Bouin dice que 59 de ellos tienen forma de bastones de naturaleza telocéntrica, siendo el elemento restante el único que presenta forma de V, éste le identifica con el cromosoma X por encontrarse impar en el complejo del toro. Dicho cromosoma en V está señalado en su dibujo (fig. 5) con el número 21. Por su longitud es uno de los elementos más grandes, probablemente el segundo. Todos los cromosomas orientan sus extremos hacia el centro de la placa metafásica. No observa en ellos distinción en grupos sino que les ordena en una serie graduada de acuerdo con su tamaño.

En 1944 MAKINO<sup>27</sup> hace un estudio, muy amplio y detallado, de *Bos taurus*. Emplea dos razas de esta especie: Holstein y la local de Tyosen, no encontrando diferencia visible entre ellas ni en el número ni en los caracteres morfológicos de sus cromosomas. En el número está totalmente de acuerdo con KRALLINGER, indicando  $2n = 60$  y  $n = 30$ ; pero las conclusiones de su análisis morfológico no coinciden con dicho autor, así el número 21 que KRALLINGER considera de forma de V y el segundo en tamaño de la dotación, para MAKINO se trata de un elemento por su longitud total de tipo medio y de forma de bastón. Interpreta que el supuesto brazo largo del V de KRALLINGER no es verdaderamente un brazo, sino la parte exterior del extremo del cromosoma número 22. Este es un bastón considerablemente largo que se encuentra sobrepujado al cromosoma número 21.

Por tanto, no coinciden ambos autores en lo referente a las características morfológicas del cromosoma número 21. MAKINO considera 29, parejas de elementos homólogos, indicando que las grandes se encuentran en la zona periférica de la placa ecuatorial formando una especie de anillo horizontal y las de tamaño pequeño en la zona interior de dicha placa, y que la pareja restante, de configuración heteromórfica constituye el complejo XY.

MELANDER y KNUDSEN<sup>29</sup> hacen en 1953 una revisión de las características cromosómicas, durante la espermatogénesis, en *Bos taurus* de las razas Sweidish roja y blanca. Utilizan material testicular y técnica más perfeccionada que las anteriores. Hacían las preparaciones con el material cortado en secciones de micras que fijan con una mezcla de acético glacial y alcohol absoluto 1/3 o por aplastamiento. En ambos casos tiñen con hematoxilina de Gomori siguiendo el método de MELANDER y WINGSTRAND (1953). Examinaron 32 ejemplares haciendo recuento en un total de 101 placas metafásicas las cuales procedían: 7 de dos toros, 5 de tres, 4 de ocho, 3 de nueve, 2 de cuatro y 1 de cada uno de los restantes toros. Indican que 31 de los toros estudiados contenían 58 autosomas más los elementos sexuales X e Y. Señalan que la longitud de los cromosomas decrece continuamente desde 2,1 a 2,4 micras (del más largo), aproximadamente 0,7 micras (del más corto). Afirman que en todos los cromosomas el centrómero se encuentra situado en el extremo de los mismos, o sea que tienen centrómero terminal o aparentemente terminal.

Con posterioridad estudia *Bos taurus* POSTIGLIONI GRIMALDI<sup>32</sup>. Parte, como los anteriores, de material testicular; pero con la particularidad

de que somete parte de las muestras a un tratamiento con solución hipotónica de Tyrode (preparada según HUGLES A 1952) durante un tiempo de 10 a 30 minutos y temperatura de 15 a 16 grados a 37°C. Utiliza varios fijadores: ácido acético glacial con alcohol etílico absoluto 1/3, de acción rápida, o bien los líquidos de ALLEN-BOUIN, HELLY-ZENKER, CHAMPYO LA COUR que tienen un margen de acción de 6 a 24 horas. Sigue la técnica de aplastamiento de DARLINGTON y LA COUR (1947) seccionando todo el material con parafina o bien prensándolo con alcohol etílico de 70 %. Hidroliza con clorhídrico 1 N. a 60° durante 12 minutos y trata con reactivo de Schiff. Realiza la reacción nuclear de Feulgen, según indica LISON (1953), y en los casos en que las preparaciones quedan débiles refuerza la tinción con hematoxilina férrea (SAEZ). Esta técnica, afirma POSTIGLIONI, supera las anteriores porque la extensión de los cromosomas por aplastamiento está favorecida por el hinchamiento que experimentan las células por el tratamiento hipotónico seguido de hidrólisis y reacción nuclear de Feulgen.

Concluye GRIMALDI indicando 58 autosomas y el bivalente XY pero las microfotografías de sus preparaciones, en metáfase y profase, presentan los cromosomas totalmente difusos.

En 1959 un mejoramiento en la técnica de mamíferos permitió a MELANDER<sup>30</sup> precisar nuevos detalles sobre el cariotipo de *Bos taurus*. Estudia el toro doméstico europeo procedente de la raza Swedish SLB, un descendiente de Dutch Lowland (raza Holstein). Contó 60 cromosomas como número diploide en más de 200 placas metáfasicas señalando que sólo los 58 autosomas poseían centrómero estrictamente terminal. La longitud de todos, alineados, oscila de 4 a 1 micra. No observa en ninguno constricciones secundarias.

Por otra parte BATTAGLIA y CENNI estudian *Bos taurus* partiendo, también de material testicular. En su técnica utilizan líquido Tyrode al 20 %, colchicina al 2 % y como fijador Carnoy (alcohol etílico absoluto y ácido acético glacial 3/1). Calientan a 60-61° con clorhídrico 1 normal y tratan con reactivo de Schiff (preparado según BATTAGLIA 1951).

En el recuento coinciden con MELANDER dando  $2n = 60$  y  $n = 30$ , pero no así en la descripción morfológica de los cromosomas sexuales; puesto que afirma «La totalidad de los cromosomas de *Bos taurus* presentan un extremo en forma de huso en el que se encuentra localizado el centrómero; únicamente dudan si tal centrómero es absolutamente terminal, con lo que todos los cromosomas serían de tipo monobraquial,

o bien contienen un pequeño brazo corto en cuyo caso serían cromosomas bobraquiales. Los autores escogen la solución de centrómero terminal ya que para ellos hay dos hechos que afianzan tal conclusión:

a) Que en la anafase mitótica la extremidad de los cromosomas se dirige hacia el centro del polo y en las metáfases tal extremo se dirige hacia el centro de la placa y, b) Que la coloración por el método de FEULGEN es especialmente apta a poner en evidencia las contracciones primarias y secundarias.

A conclusiones similares a las nuestras llegan recientemente MASAO SASAKI y MAKINO<sup>27</sup> aplicando, a esta misma especie, su nueva técnica sobre el cultivó de células basada en la de Youngner. En las células somáticas crecidas en su cultivo cuentan 60 cromosomas; de ellos alinean en el idiograma (fig. 11) 29 parejas de autosomas y los dos sexuales heteromórficos. Afirman «los elementos autosómicos parecen tener centrómeros terminales mientras que en los cromosomas sexuales, X e Y, el centrómero es submediano. En tamaño, la longitud de todos oscila aproximadamente de 5 a 1 micra; siendo similar el tamaño del X con el primero y segundo pares autosómicos y el del Y con los pares 23 y 24».

#### Cromosomas sexuales

MASUI<sup>28</sup> es el primer investigador que hace referencia a estos elementos. Indica únicamente la existencia en el complejo de un sólo cromosoma X.

WODSEDALEK<sup>34</sup> señala la digametia XO en la célula masculina y XX en la femenina; pero sin identificar tal cromosoma X. Afirma «el sexo en *Bos taurus* es un asunto póstumo al control de más razas...».

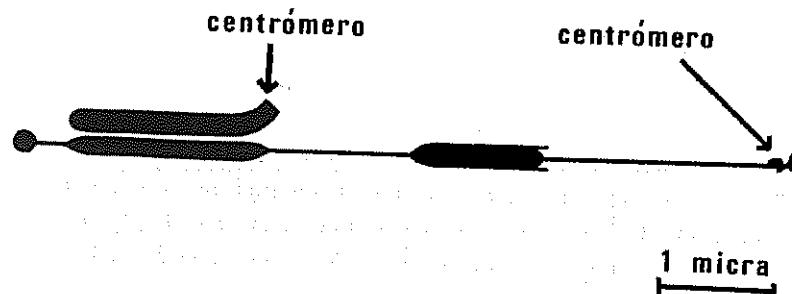
KRALLINGER<sup>25</sup> en 1931 escribía «...ein V formige gestaltetes Chromosom...» en toro; el cual alcanzaba precozmente el polo durante la metáfase mitótica. El supuso que éste, probablemente el segundo en tamaño de toda la dotación, podría ser el cromosoma X y que en el polo opuesto podría estar el Y; recalca que no le fue posible contar ningún elemento cromosómico. La disposición que indicó fue interpretada por otros autores como si se tratara de un autosoma bivalente con dificultades de coorientación.

El X de MAKINO<sup>26</sup> es un bastón alargado cuyo cuerpo está dividido por dos estrechamientos que forman tres segmentos de casi el mismo tamaño, esto es, interpreta la estructura tripartida indicada anterior-

mente por OGUMA como característica del cromosoma X de los mamíferos. Le define siempre en posición perpendicular a la placa equatorial.

El cromosoma Y, según MAKINO, es excesivamente pequeño y contrariamente al X se dispone horizontal a dicha placa, conectándose al X extremo con extremo, dando así al bivalente XY una configuración notable compuesta de cuatro cuerpos distintos conectados en una serie lineal.

MELANDER y KNUDSEN<sup>29</sup> afirman que todos los cromosomas tenían el centrómero situado terminalmente. Describe en el bivalente XY en el estado de paquitene, como señala el esquema (copia de su figura 27).



El X es el cromosoma grande, cuya cromátida consta de una región gruesa terminal que iguala con el cromosoma Y y otra región impar al Y que consta: a) de una porción de cromátida delgada y tan larga como la región pareja al Y, b) de una parte gruesa profundamente teñida y c) una delgada y muy larga hebra terminando con un centrómero terminal. La porción de cromátida del Y, próxima al centrómero no es homóloga con el X.

POSTIGLIONI GRIMALDI<sup>32</sup> afirma interpretar el bivalente XY en el centro de sus preparaciones, pero en ellas la expresión cromosómica es tan difusa que no está clara tal identificación.

BATTAGLIA y CENNI<sup>23</sup> respecto a la estructura del bivalente XY, están de acuerdo con MAKINO. Les señalan con flechas en sus figuras 5 y 6; definiendo al X como un elemento alargado en forma de bastoncillo y al Y como uno mucho más pequeño, bastante corto y casi isodiamétrico, el cual al terminar la mitosis aparece unido con el X.

MASAO SASAKI y MAKINO<sup>27</sup> en el trabajo recientemente publicado (1962) consideran centrómero subterminal en los dos cromosomas sexuales X e Y. En cuanto al tamaño no hacen estudio detallado, pero en líneas generales coinciden con nuestras observaciones.

## OBSERVACIONES

El material de la especie bovina (*Bos taurus*) consistió en células de médula roja de esternón. Fue extraída muestra de: 5 ejemplares machos y 2 hembras de raza Holstein-Frisien, 3 machos y 2 hembras de raza Serrana y 7 machos y 3 hembras de raza Abulense.

En esta especie nos ha sido posible estudiar animales jóvenes, de cuatro a siete meses, porque su sacrificio en esta época proporciona al comercio la carne de mejor calidad y más cotizada.

TABLA II  
Datos cuantitativos del cariotipo de bóvidos (*Bos taurus*) macho:  
Cromosomas bibrquiales:

Grupo	Número	Longitudes en %			Relación BL/BC
		B. largo	B. corto	Total	
1. <sup>o</sup>	X	2,48	1,48	3,96	1,66
9. <sup>o</sup>	Y	0,865	0,865	1,73	1

### Cromosomas monobraquiales:

Grupo	Número	B.L. = Total	Grupo	Número	B.L. = Total
2. <sup>o</sup>	1	3,72	16		2,23
	2	3,72	17		2,23
	3	3,22	18		2,23
3. <sup>o</sup>	4	3,22	6. <sup>o</sup>	19	2,23
	5	3,22	20		1,98
	6	2,98	21		1,98
	7	2,98	22		1,98
4. <sup>o</sup>	8	2,98	23		1,73
	9	2,98	7. <sup>o</sup>	24	1,73
	10	2,98	25		1,73
	11	2,48	26		1,24
	12	2,48	8. <sup>o</sup>	27	1,24
5. <sup>o</sup>	13	2,48	28		1,24
	14	2,48	29		1,24
	15	2,48			

En cada muestra hicimos, por término medio, unas 25 preparaciones lo que determina un número total de  $(5 + 2 + 3 + 2 + 7 + 3) \times 25 = 550$ .

Después de observar al microscopio, las metasases existentes en todas las preparaciones, seleccionamos aquellas placas que presentaban mejores condiciones para realizar el estudio cromosómico completo. El número de placas elegidas representó aproximadamente un 5 % del total de células observadas.

Finalizamos la labor experimental fotografiando las placas seleccionadas.

Todas las metasases observadas, de diferentes ejemplares, contenían constantemente como número cromosómico diploide  $2n = 60$ .

Dadas las excelentes condiciones, de aislamiento, morfología, etcétera, que presentan en las placas los elementos integrantes de la dotación, el recuento cromosómico se ha hecho sin ninguna dificultad, como puede confirmarse por la microfotografía (fig. 3) representante del sexo macho que adjuntamos como ejemplo.

Recortando todos los cromosomas de una misma fotografía y emparejando de dos en dos aquéllos que por sus características morfológicas y tamaño resultan homólogos, conseguimos 30 pares de homólogos en el cariotipo de la hembra y en el macho 29 pares de homólogos más dos cromosomas heteromórficos, X e Y representantes de dicho sexo.

Ordenamos, dichas parejas, en serie decreciente de su tamaño; asignando a cada par numeración ascendente con relación a su decreciente tamaño (hace excepción a este orden el elemento Y situado el último sin ser el más pequeño del complejo) tal como muestra el idiograma. (fig. 3')

En la tabla II expresamos las características cuantitativas más importantes del complejo: hallamos la longitud total de cada cromosoma en tanto por ciento de la total del cariotipo y determinamos la posición del centromero por la relación de brazos de cada cromosoma.

El factor más importante para diferenciar morfológicamente los pares cromosómicos existentes en una dotación es, sin duda, la distinta posición que en ellos presenta el centrómero; pero puesto que en el caso de esta especie, *Bos taurus*, el centrómero ocupa lugar similar en los 29 pares autosómicos, aparentemente terminal en todos, y sólo distinto en el par heteromórfico X e Y (mediano submediano y mediano respectivamente) consideramos la diferencia de longitud total como el dato mor-

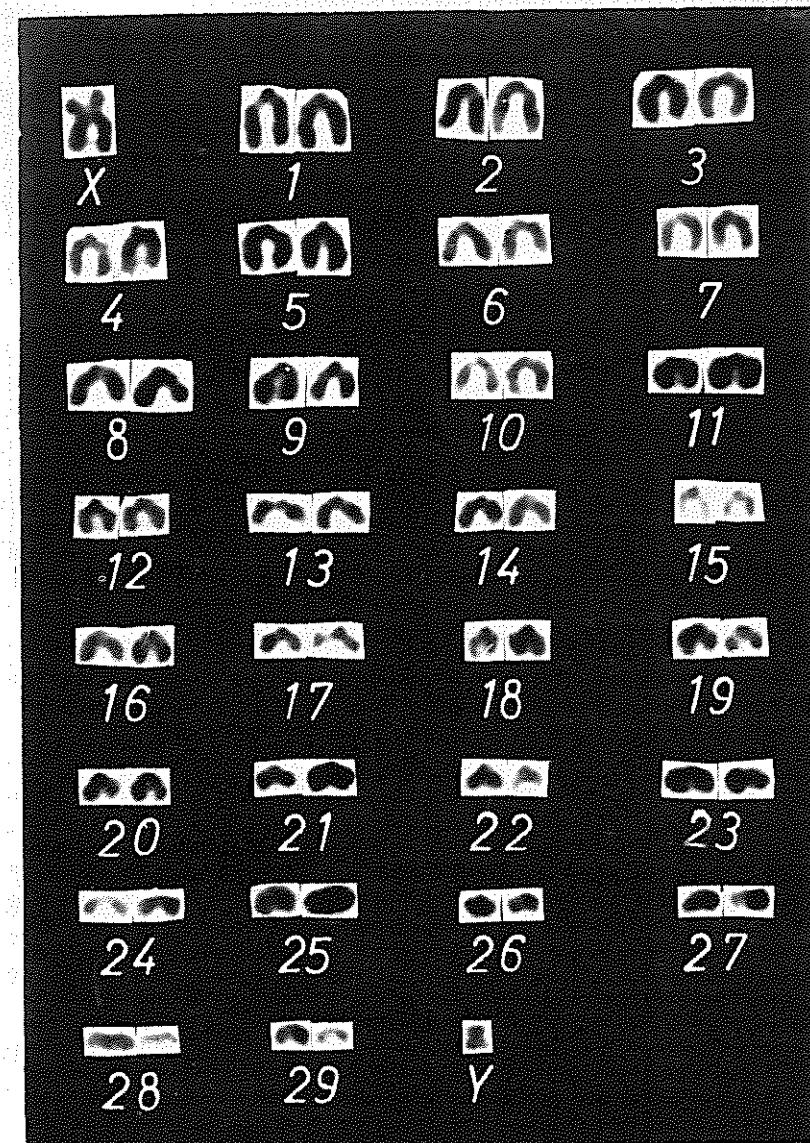


Fig. 3'.—*Bos taurus* ♂ idiograma.

fológico más importante para diferenciar entre sí los 29 pares autosómicos, todos telocéntricos o aparentemente telocéntricos.

Clasificamos los componentes del complejo en los nueve grupos siguientes:

1.<sup>o</sup> Grupo.—Consta de un par de elementos homólogos en la dotación hembra o un sólo elemento impar en el macho, por corresponder al cromosoma sexual X. La identificación como tal está perfectamente clara, puesto que dicho cromosoma posee caracteres que le diferencian totalmente de los restantes que integran la dotación: estructura bobraquial, centrómero mediano submediano y el mayor en longitud total de todo el complejo.

2.<sup>o</sup> Grupo.—Pares 1 y 2; ambos son prácticamente iguales en tamaño y a su vez muy similares, aunque inferiores, al cromosoma X; son los mayores elementos monobraquiales de toda la dotación. Los cuatro cromosomas tienen en común: tamaño total, posición del centrómero (aparentemente terminal) y morfología. Para identificar los homólogos nos basamos en que los cromosomas del par 1 presentan saliente la porción terminal en que se sitúa el centrómero y es roma en los del par 2.

3.<sup>o</sup> Grupo.—Le integran tres pares cromosómicos (3, 4 y 5) que siguen en tamaño a los anteriores. Entre sí son muy similares en longitud total, pero por leves diferencias morfológicas nos es asequible determinar los elementos homólogos de cada pareja.

4.<sup>o</sup> Grupo.—Pares 6, 7, 8, 9 y 10. En tamaño son todos muy similares a los del grupo precedente ( $LT = 2,98\%$ ) pero morfológicamente presentan ciertas diferencias; se asemejan forma de U los cromosomas de los pares 7 y 10, y de V los de los pares 6 y 8; diferenciándose morfológicamente de todos el par número 9. La identificación de los cromosomas que forman los pares 6, 8 y 9 es relativamente sencilla pero por el contrario la de los pares 7 y 10 ofrece mayor dificultad por ser muy similar la forma de sus cuatro componentes.

5.<sup>o</sup> Grupo.—Consideramos aquí, por coincidir también en tamaño, cinco pares cromosómicos (11, 12, 13, 14 y 15). Por su longitud total ( $LT = 2,48\%$ ) representan los elementos medianos de la dotación. Entre ellos se observan algunas diferencias morfológicas; los cromosomas del primer par muestran forma en U, destacando de los restantes el mayor grosor de sus cromáticas. Los pares 12 y 15 son muy similares y ambos poseen también cromosomas en U.

Los componentes de los pares 13 y 14 coinciden igualmente, por su forma de V muy abierta, diferenciándose porque las cromáticas en los cromosomas del par 13 son más gruesas que las del par 14.

6.<sup>o</sup> Grupo.—Por el tamaño real de los pares que agrupamos aquí, podemos considerar dividido este grupo en dos subgrupos; en el primero cuatro pares (16, 17, 18 y 19) algo inferiores en magnitud a los anteriores y prácticamente iguales entre sí ( $LT = 2,23\%$ ) y en el segundo subgrupo tres pares (20, 21 y 22) también de longitud similar ( $LT = 1,98\%$ ) la cual representa un nuevo decrecimiento en la escala del idiograma.

Son muy análogos, morfológicamente, los pares 16, 18 y 19 lo que dificulta en gran manera la identificación de los homólogos de cada uno de ellos; no obstante la observación microscópica de repetidas placas nos permite determinarlos con mayor probabilidad. Igualmente ofrecen confusiones en su determinación los pares 20 y 22 dada la semejanza de sus cromosomas. Por el contrario en los dos pares restantes, 17 y 21 el emparejamiento es sencillo debido a que la forma de sus cromosomas, difiere claramente de los restantes elementos del grupo. Los cromosomas del par 17 presentan cromátidas más delgadas que las del par 18.

7.<sup>o</sup> Grupo.—Tres pares cromosómicos: 23, 24 y 25 son los penúltimos en tamaño de toda la dotación, idénticos aparentemente entre sí ( $LT = 1,73\%$ ) y a su vez similares al cromosoma X que situamos el último en el idiograma por su estructura bobraquial.

Morfológicamente los cromosomas de estos tres pares representan una transición entre todos los elementos anteriores (forma de U o V) y los del grupo siguiente, por ser intermedia la abertura de sus cromátidas. Diferenciamos los componentes del primer par por poseer cromátidas tan anchas como largas. Los cromosomas de los dos pares restantes tienen más abierto su brazo, especialmente el último que muestra ambas cromátidas casi en línea horizontal.

8.<sup>o</sup> Grupo.—Comprende los cuatro pares (26, 27, 28 y 29) más pequeños de todo el complejo. Tienen centrómero aparentemente telocéntrico, como todos los restantes elementos autosómicos, aunque su localización es más difusa en los dos primeros pares, 26 y 27 que en los dos restantes 28 y 29. La abertura del brazo cromosómico es menor en los pares 26 y 29 que en los pares 27 y 28 en los cuales las cromátidas se disponen de forma que el cromosoma semeja una sola cromátida con una

hendidura (par 27) o prominencia (par 28) en la posición del centrómero.

9.<sup>o</sup> Grupo.—Consideramos este grupo sólo en la dotación cromosómica del macho, por estar formado únicamente por el cromosoma sexual Y. Como indicamos ya anteriormente el tamaño de este elemento es análogo a los del séptimo grupo. Posee centrómero metacéntrico por lo que se diferencia perfectamente de los autosomas, todos telocéntricos o aparentemente telocéntricos, y del X que es mediano submediano y el mayor de toda la dotación.

## DISCUSION

Los recuentos tan bajos del número cromosómico dado por los primeros investigadores (VON BARDELEBEN, SHOENFELD, VAN-HOOF, MASUI y WODSEDALEK) se atribuyen generalmente a que el material observado ofrecía condiciones inadecuadas porque las técnicas que emplearon no permitían conservación normal de los cromosomas.

Nuestros resultados coinciden con ciertos datos cariológicos aportados ya por autores anteriores, a quienes señalamos en la introducción, así el número cromosómico que asignamos para *Bos taurus* es el mismo que indicaron KRALLINGER, MAKINO, MELANDER y KNUDSEN, MELANDER, BATTAGLIA y BRUNO CENNI. No obstante con esta revisión logramos una claridad cromosómica de las placas metafásicas que confirma que, efectivamente el número cromosómico diploide del toro sea  $2n = 60$ .

Por el contrario nuestra interpretación morfológica no es unánime con las anteriores. En general coincidimos (a excepción de MAKINO) en no hacer distinción por tamaño en grandes y pequeños elementos, sino que todos forman una serie gradualmente decreciente. Las diferencias son mayores al tratar de la posición que presenta el centrómero en los dos cromosomas sexuales. Respecto a esto hay dos grupos de autores: en el primero incluimos los que afirman que esos elementos como todos los demás del complejo poseen centrómero terminal o aparentemente terminal y en el segundo los que señalan centrómero terminal únicamente en los 58 autosomas y no terminal en los dos restantes elementos que corresponden a los cromosomas sexuales X e Y.

Pertenecen al primer grupo MELANDER y KNUDSEN POSTIGLIONI GRIMALDI, EMILIO BATTAGLIA y BRUNO CENNI y MAKINO.

POSTIGLIONI GRIMALDI muestra claramente en las microfotografías el error técnico, puesto que en ellas la expresión de los cromosomas está tan difusa que no ofrece ninguna garantía la identificación que él señala.

EMILIO BATTAGLIA y BRUNO CENNI si bien hacen unas amplias y detalladas interpretaciones y conclusiones de sus placas metafásicas, llegando a señalar en ellas con flechas los cromosomas sexuales; en las microfotografías es imposible hacer identificaciones cromosómicas porque los elementos no ofrecen los caracteres morfológicos propios de un estado normal si no que presentan todos un hinchamiento que les hace inidentificables.

Con los elementos sexuales de MAKINO no coincidimos puesto que en ninguna de las metafases estudiadas observamos la estructura tripartita que él señala para el X; respecto del Y tampoco puesto que él le define como un cromosoma excesivamente pequeño, mientras que para nosotros es el penúltimo en tamaño de la dotación.

KRALLINGER es el primero que aportó el número cromosómico exacto para esta especie  $2n = 60$  y señaló la existencia en la dotación de un elemento bibracial. Este elemento fue considerado por KRALLINGER como el heterocromosoma X y el único destacable de dos brazos, siendo el segundo en longitud de todos los elementos del cariotípico. Esta apreciación fue negada categóricamente en los trabajos de MAKINO y MELANDER y KNUDSEN.

Al segundo grupo pertenece MELANDER (1959) y más recientemente SASAKI y MAKINO (1962) por señalar morfología bibracial a los dos cromosomas sexuales.

Parecen ser defectos técnicos los responsables de las coincidentes y erróneas interpretaciones hechas por los autores del primer grupo, puesto que efectivamente en el caso de MELANDER el mismo autor rectifica su interpretación (1953) posteriormente (1959) aplicando al estudio de la misma especie una técnica de mamíferos entonces mejorada.

Otro de los autores del primer grupo (MAKINO) realiza un trabajo juntamente con SASAKI (1962) en el que rectifican igualmente las conclusiones dadas en 1944. Para MAKINO lo mismo que para MELANDER existen dos elementos bibraciales; estos elementos corresponden a los cromosomas X e Y.

Nuestras observaciones están plenamente de acuerdo con estos dos últimos trabajos, diferenciándose únicamente en la consideración

de que el elemento X presenta centrómero mediano-submediano y el elemento Y centrómero mediano. El primero es el mayor en longitud de la dotación mientras que el segundo es prácticamente análogo a los autosomas que integran el grupo séptimo del complejo.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> El número cromosómico que fijamos para la especie *Bos taurus* es  $2n = 60$ .

2.<sup>a</sup> En el cariotipo de la hembra los 60 elementos que integran la dotación son homólogos dos a dos, formando 30 pares cromosómicos y en la del macho 29 parejas de homólogos más los dos cromosomas sexuales heteromórficos X e Y representantes de dicho sexo.

3.<sup>a</sup> Morfológicamente por la posición que presenta el centrómero, los 60 cromosomas de *Bos taurus* pertenecen a dos tipos:

a) Elementos monobraquiales con centrómero terminal o aparentemente terminal. Son las 29 parejas de autosomas.

b) Elementos bobraquiales con centrómero mediano-submediano solamente el cromosoma X y con centrómero mediano, también un sólo elemento, que corresponde al cromosoma sexual Y.

4.<sup>a</sup> El cromosoma sexual X se identifica como el elemento mayor en tamaño de todo el complejo. Inconfundible por su característica morfológica: único en la dotación que tiene el centrómero en posición mediana submediana.

5.<sup>a</sup> El cromosoma sexual Y es similar en tamaño a los autosomas del séptimo grupo. El centrómero está situado en la zona mediana lo que le confiere morfología completamente diferente de los restantes 59 cromosomas del complejo diploide.

## CAPRA HIRCUS

### REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

SOKOLOV<sup>38</sup> en el trabajo más completo, que nos ofrece la literatura sobre la espermatogénesis de este mamífero (*Capra hircus*) fue el primer investigador que dio a conocer una cifra como número cromosómico de esta especie. Indicó 60 para el grupo diploide de la célula esper-

matogonial y 30 para el haploide en los espermatocitos. Considera que los cromosomas más largos representaban tres a cuatro veces la longitud de los más cortos. Respecto a los cromosomas sexuales indicó únicamente al X, como un elemento de forma de bastón recto o curvado y al Y por un pequeño cromosoma esferoidal.

SHIWAGO<sup>39</sup> estudiando el número cromosómico diploide en el amnios de la oveja y la cabra, señala para esta última el mismo número 60.

KRALLINGER<sup>40</sup> al final de su recuento, llegó también a la misma conclusión numérica que SOKOLOV y SHIWAGO  $2n = 60$  y  $n = 30$ . Utilizó material amniótico. No presenta ningún informe con respecto a la forma y tamaño de los cromosomas individuales, ni pudo tampoco determinar los elementos sexuales; afirma que no observa cromosomas en forma de V.

Posteriormente BERRY<sup>35</sup> hace estudio preciso, no sólo en esta especie (*Capra hircus*) sino también en *Ovis aries* (como mencionamos al referirnos a ésta) y en el híbrido resultante del cruce entre ambas. En las preparaciones que hace con material amniótico de cabra indica, como los anteriores, 60 cromosomas. Morfológicamente les define en: cilindros largos, cilindros cortos, cilindros doblados y esferas. Afirma que en la primera etapa de la profase los cilindros, algunas veces, tomaban forma de J o V pero en la metafase aparecían como cilindros largos o cortos.

MAKINO en 1942<sup>41</sup> estudió las razas Saanen y la nativa cabra indígena de Amami-osina utilizando material testicular en pleno estado de madurez sexual y fijando con solución Champys y mezcla de Flemming, carente totalmente de ácido acético. Logró así gran número de placas metafásicas, unas en espermatogonia y otras de espermatocitos primarios y secundarios.

No descubrió en las distintas razas ninguna diferencia notable en su complejo cromosómico, ambas indistintamente contenían 60 cromosomas en diploide, tal como habían señalado los anteriores investigadores. Morfológicamente refiere el autor, que los cromosomas no tienen ningún otro dato característico más que el de su longitud, debido a que por la apariencia externa que observa en ellos, le parece probable que sean todos del sencillo tipo de bastón. Define a los elementos individuales como varas derechas o ligeramente dobladas, de grosor uniforme y con una disminución gradual en sus extremos inferiores. Por los caracteres homólogos les coloca de dos en dos, estableciendo así 29

pares cromosómicos y un par heteromórfico, compuesto por el X (grande) y el Y (pequeño). En los elementos somáticos no encuentra distinción clara en grandes y pequeños sino que muestran todos ellos una seriación graduada con relación a su orden decreciente en longitud.

Afirmó «...es evidente que el cromosoma X sobresale por su tamaño (fig. 1 a 5). Es marcadamente más largo que los miembros del par somático más grande y se caracteriza por la presencia de un visible cuerpo globular situado en el extremo anterior. Todo esto le distingue claramente de los restantes cromosomas». En las preparaciones mejor diferenciadas observa que su estructura está provista de *dos contracciones transversales que dividen su cuerpo en tres segmentos conexivos*; confirmado así, en *Capra hircus* la estructura tripartita que Oguma asigna como *característica típica del cromosoma X de los mamíferos*.

Considera como Y a un cromosoma distingible por su pequeño tamaño (fig. 1-5), el más pequeño del complejo. Su magnitud es casi la mitad de los cromosomas del par más pequeño y posee una diminuta forma acabada en punta.

#### OBSERVACIONES

Para esta especie, *Capra hircus*, tomamos como material médula roja de esternón, procedente de: cuatro ejemplares machos y tres hembras de raza Serrana, cinco machos y seis hembras de raza Granadina y dos machos y tres hembras de Murciana. Empleamos estas razas por ser las más características de nuestra península.

De cada uno de los animales muestrá, hicimos unas 20 preparaciones, ascendiendo en total el número de éstas a:  $(4 + 3 + 5 + 6 + 2 + 3) \times 20 = 460$ .

Observamos las metafases existentes en cada preparación; seleccionando aquéllas cuyos cromosomas estaban más separados, extendidos y de morfología normal. A estas placas seleccionadas pertenecen las dos microfotografías que adjuntamos de *Capra hircus* macho y hembra (fig. 4 y 5).

Todas las placas metafásicas del gran número de preparaciones que hicimos con material de cabra (*Capra hircus*) contienen constantemente como número cromosómico diploide  $2n = 60$ . Cifra que consideramos como definitiva para la dotación de esta especie; así lo confirma

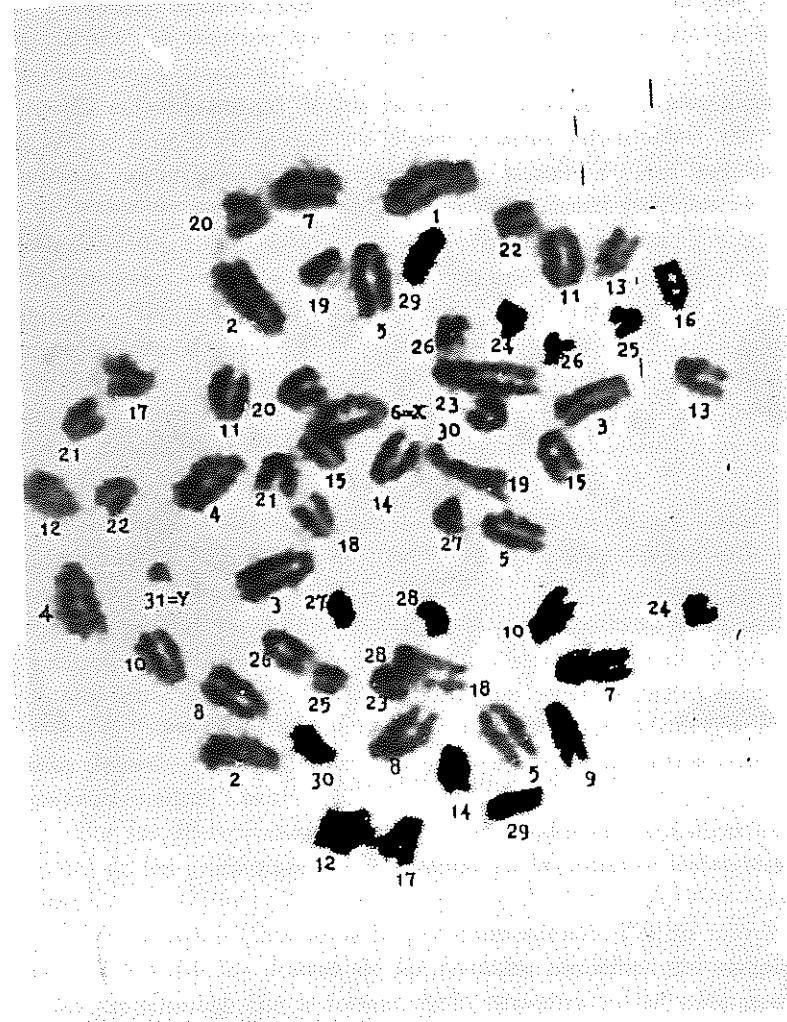


Fig. 4.—*Capra hircus* ♂  $2n = 60$ .

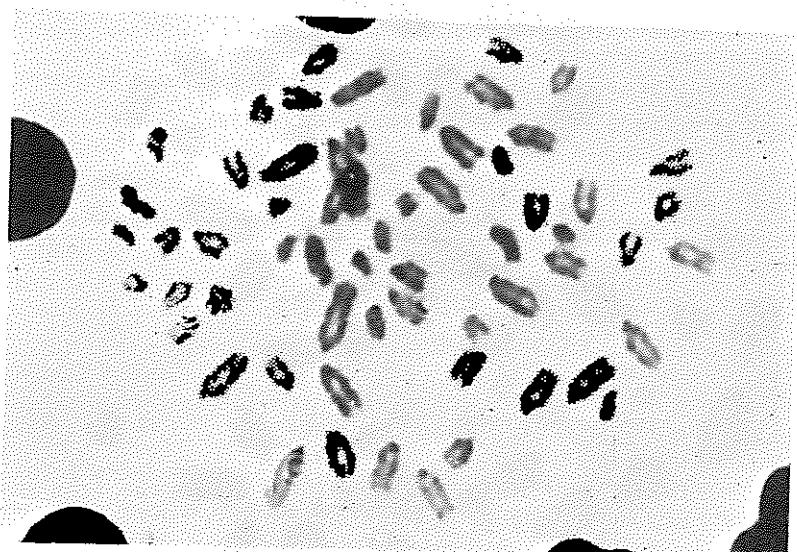


Fig. 5.—*Capra hircus* ♀  $2n = 60$ .



la extraordinaria claridad y separación cromosómica que presentan las microfotografías.

Es característica común de los elementos que integran este complejo la análoga posición que presenta en ellos el centrómero. En todos es aparentemente terminal.

El emparejamiento de los homólogos así como la identificación del par heteromórfico sexual no ofrece grandes dificultades; por ello señalamos los cromosomas directamente en la misma placa metafásica, sin necesidad de recortarlos y emparejarlos para hacer con ellos el idiograma detallado como en otras especies, asignando con números iguales los componentes de cada par y con X e Y los elementos sexuales. La numeración adoptada presenta orden ascendente con relación al decrecimiento del tamaño total cromosómico.

En la hembra los 60 componentes de la dotación son todos homólogos, dos a dos, formando así 30 parejas; en el macho la existencia de un par heteromórfico, integrado por los elementos sexuales X e Y reduce el complejo restante a 29 pares autosómicos.

En la tabla III indicamos las características cuantitativas, longitud en tanto por ciento de la total del cariotipo, que posee cada uno de los pares cromosómicos.

En general las cromátidas de cada elemento cromosómico ofrecen grosor regular y se sitúan en posición normal confiriendo a los cromosomas forma de bastón. Las contracciones secundarias, el grado de apertura de las cromátidas imprime en algunos casos morfología típica a cada elemento; pero el carácter más diferencial de los pares cromosómicos es su longitud total.

Por las diferencias morfológicas y especialmente la distinta longitud total de los cromosomas consideramos en la dotación los siguientes grupos:

1.º Grupo.—Tiene un solo par cromosómico. Por su mayor tamaño ( $LT = 6,14\%$ ) destaca de los restantes elementos del complejo. Los dos cromosomas que le forman están presentes en las metasfases de ambos sexos por lo que indudablemente son autosomas. Poseen centrómero aparentemente terminal.

2.º Grupo.—Le forman tres pares de autosomas. En tamaño son muy similares entre sí; forman escala decreciente siendo muy pequeña e idéntica la diferencia del primero ( $LT = 5,07\%$ ) con el segundo ( $LT = 4,93\%$ ) y el tercero ( $LT = 4,79\%$ ).

TABLA III

Características cuantitativas de los cromosomas mitóticos de *capra hircus*:

Grupo	Número	Longitud	Grupo	Número	Longitud
1. <sup>o</sup>	1	6,14	17	2,93	
	2	5,07		18	2,93
2. <sup>o</sup>	3	4,93	19	2,93	
	4	4,79		20	2,67
3. <sup>o</sup>	5	4,27	21	2,67	
	6 = X	4,27		22	2,67
3. <sup>o</sup>	7	4,27	23	2,13	
	8	4,27		24	2,13
3. <sup>o</sup>	9	4,27	25	2,23	
	10	3,37		26	2,13
4. <sup>o</sup>	11	3,37	27	1,86	
	12	3,47		28	1,86
4. <sup>o</sup>	13	3,47	29	1,60	
	14	3,46		30	1,60
5. <sup>o</sup>	15	3,46	Y	Y	1,33
	16	3,46			

3.<sup>o</sup> Grupo.—Cuatro pares (5, 7, 8 y 9) de autosomas más los cromosomas X. Todos ellos poseen tamaño muy similar ( $LT = 4,27\%$ ) superior éste a los elementos siguientes e inferior al par precedente. Se identifica como cromosoma sexual femenino el número 6 = X, por la morfología característica de sus brazos. Así como también su presencia, como elemento impar en el complejo macho y par completo XX en la hembra.

4.<sup>o</sup> Grupo.—Pares 10, 11, 12 y 13. Los dos primeros poseen análoga longitud ( $LT = 3,73\%$ ) siendo ésta un poco superior a la de los restantes ( $LT = 3,47$ ) también idénticos. Morfológicamente son muy similares los pares 10 y 13 (primero y último del grupo) por existir en los componentes cromosómicos de ambos dos ligeras contracciones. Caracteriza a los elementos que compone el par 11 el grosor de sus cromátidas y la ligera adhesión de sus extremos terminales. Esto confiere a los cromosomas morfología un poco difusa para identificar con rapidez en cuál de los dos extremos está situado el centrómero. Análogamente está adheri-

do el extremo terminal en el brazo cromosómico de los elementos del par 12; pero en éste está muy claro el extremo en que se sitúa el centrómero, aparentemente terminal.

5.<sup>o</sup> Grupo.—Son tres pares: 14, 15 y 16 de análoga longitud total. ( $LT = 3,46\%$ ) y muy similares en morfología. Los cromosomas de los tres pares muestran un ensanchamiento en la parte media de sus cromátidas.

6.<sup>o</sup> Grupo.—Coinciden por su longitud ( $LT = 2,93\%$ ) tres pares de autosomas (17, 18 y 19) pero morfológicamente difieren por la disposición de sus brazos cromosómicos: en el primero el ángulo de los brazos confiere a los cromosomas forma de V, en el segundo las cromátidas son paralelas y presentan una débil constricción y en el tercero éstas están totalmente pegadas entre sí dando a los elementos forma de Y muy gruesas.

7.<sup>o</sup> Grupo.—Comprende los pares 20, 21 y 22. Poseen longitud similar ( $LT = 2,67\%$ ) inferior ésta a la de los precedentes y casi el doble de la longitud del cromosoma más pequeño de todo el complejo. Los dos primeros son morfológicamente análogos, poseen forma de U y cromátidas gruesas. En el tercer par el ángulo que separa sus cromátidas confiere al brazo forma de V.

8.<sup>o</sup> Grupo.—Son cuatro pares cromosómicos. Todos ellos del mismo tamaño ( $LT = 2,13\%$ ). Los elementos que forman los tres primeros pares presentan forma de U; destacando los componentes del primer par por el mayor grosor de sus cromátidas. En el par 26 los cromosomas no tienen forma claramente definida por presentar parcialmente adheridas sus cromátidas.

9.<sup>o</sup> Grupo.—En la serie decreciente del idiograma encontramos dos pares cromosómicos 27 y 28 coincidentes en tamaño ( $LT = 1,86\%$ ) y de morfología muy similar. En la mayor parte de las preparaciones observamos totalmente adheridas sus cromátidas cromosómicas.

10.<sup>o</sup> Grupo.—Pares 29 y 30. Son los penúltimos en tamaño de todo el complejo. El ángulo de su brazo cromosómico es muy superior al existente en los restantes componentes de la dotación. En el primero las cromátidas confieren a los cromosomas forma de línea gruesa, simulando una sola cromátida, destacando en su parte central un pequeño entrante que pone de manifiesto la posición del centrómero. En el par 30 la disposición de las cromátidas es normal imprimiendo a sus componentes forma ligeramente curvada.

El último y más pequeño cromosoma del idiograma es el elemento sexual Y. Hecho que nos confirma su ausencia en el complejo cromosómico hembra y su estado impar en la dotación macho. En esta última forma con el elemento número 6 el par heteromórfico XY representante de dicho sexo. Es telocéntrico y se diferencia de los elementos precedentes, pares 29 y 30 por mostrar totalmente adheridas sus cromátidas.

## DISCUSION

No existe desacuerdo ninguno, sino por el contrario, exacta coincidencia entre el número cromosómico asignado en nuestras observaciones y el indicado por todos los anteriores investigadores ( $2n = 60$ ) para la especie *Capra hircus*. Ahora bien tal coincidencia no ha sido puesta claramente en evidencia en muchas ocasiones, especialmente en aquellos trabajos antiguos que carecen de datos (dibujos o microfotografías) confirmativos de las interpretaciones hechas por sus autores.

Así pues, SOKOLOV<sup>38</sup> fija sus preparaciones con un método clásico que le impide conservar los cromosomas en condiciones normales; todos presentan grosor irregular y contorno difuso, lo que hace desmerecer a sus placas metafásicas para que por si solas se estime como exacto el número cromosómico dado por él y con mayor motivo aún la descripción morfológica de ellos. Por todo esto es perfectamente explicable el fracaso de SOKOLOV en la determinación de los cromosomas sexuales X e Y.

El hecho de que SHIWAGO y KRALLINGER se limitaran únicamente a señalar la cifra cromosómica de *Capra hircus*, sin mencionar sus características morfológicas fue debido, como ya opinan otros autores, a que su técnica les permitió estudiar los cromosomas en el estado profásico de la mitosis, durante el cual los cromosomas no presentan morfología definida.

BERRY<sup>35</sup> es el primero que lleva a cabo, aunque en líneas generales, un estudio morfológico sobre el complejo de esta especie. Define la existencia de cromosomas en forma de cilindros largos, cilindros gordos, cilindros doblados y esferas. Indudablemente sus afirmaciones y la obtención de algunas microfotografías de las placas metafásicas (fig. 6) además de sus dibujos, representan un considerable avance para la citogenética. No obstante las preparaciones que consiguió, colocando el material amniótico en solución Allen B 15 en temperatura ambiente y con

el método de fijación y tinción de Painter, presentaban los cromosomas confusos, adheridos entre sí formando verdaderos conglomerados. De aquí deducimos que la escasez de sus interpretaciones, no precisando la morfología de cada elemento ni la identificación de los cromosomas sexuales X e Y son únicamente consecuencia de la defectuosa o inadecuada técnica que siguió.

El trabajo más reciente (1942) amplio y detallado sobre el cario-tipo de la cabra fue llevado a cabo por MAKINO. Este, a diferencia de BERRY, parte de material testicular y aplica una nueva técnica de fijación (solución Champys y mezcla Flemming, carente de ácido acético) consigue placas metafásicas que indudablemente superan en grado considerable a las de BERRY, como puede observarse en las microfotografías que adjunta. Al interpretar dichas placas no sólo define la morfología de los elementos que compone el complejo total sino que, como detallamos en la introducción precedente, identifica a los cromosomas sexuales X e Y.

Confrontando nuestras observaciones con las de MAKINO coincidimos en que todos los cromosomas presentan una forma muy similar de bastón con centrómero aparentemente terminal, el carácter más diferencial en ellos es su longitud total y con relación al orden decreciente de dicha longitud forman una serie gradual.

Respecto al par heteromórfico sexual X e Y nuestras ideas son totalmente nuevas a las precedentes. La mayoría de los autores (SOKOLOV, SHIWAGO, KRALLINGER y BERRY) no llegan a determinarlos y MAKINO que señala haberlos identificado está completamente en desacuerdo con nosotros. Para él el X es el elemento más largo de todo el complejo puesto que afirma «que es más largo que los miembros que forman el par de autosomas más grande». Dicho cromosoma es para nosotros un autosoma puesto que observamos su homólogo en las placas metafásicas de ambos sexos; mientras que el sexto en tamaño de todo el idiograma, diferenciable por su morfología es señalado como el X de nuestras preparaciones y como es lógico no tiene homólogo en las dotaciones del macho.

La estructura tripartita señalada por OGUMA y confirmada por MAKINO para dicho cromosoma X no la observamos en este elemento ni para ningún otro del complejo.

El cromosoma Y que considera MAKINO teóricamente el más pequeño de todo el complejo coincide con el identificado por nosotros.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> El complejo cromosómico diploide de la especie *Capra hircus* está integrado por 60 cromosomas.

2.<sup>a</sup> En la dotación hembra, los 60 cromosomas, son homólogos dos a dos formando 30 parejas. En el macho son 29 pares de homólogos más el par heteromórfico X e Y.

3.<sup>a</sup> Es carácter común, de los 60 elementos que integran las metafases de *Capra hircus*, la análoga posición del centrómero. En todos aparentemente terminal.

4.<sup>a</sup> La cualidad más característica, de los cromosomas de *Capra hircus*, es su diferente longitud total, especialmente por ella se ha dividido el complejo en 10 grupos más el elemento Y.

5.<sup>a</sup> El cromosoma X (par completo XX en la hembra e impar X en el macho), corresponde al número 6, segundo elemento del tercer grupo. Se diferencia morfológicamente de los restantes de su grupo.

6.<sup>a</sup> El cromosoma Y es el último elemento del idiograma del macho. El más pequeño de todo el complejo.

## OVIS ARIES

### REVISION BIBLIOGRAFICA

En los trabajos efectuados hasta el momento presente con material de oveja (*Ovis aries*) encontramos que el número cromosómico diploide que asignan los distintos investigadores, para varias razas de dicha especie, oscila dentro de un límite muy amplio. Consideran como integrantes del complejo de 33 a 60 cromosomas.

WODSEDALEK<sup>53</sup> autor del trabajo más antiguo que existe sobre el cariotipo de la oveja afirma encontrar 33 cromosomas en las placas metafásicas espermatogoniales y que en las divisiones primarias del espermatocito aparecían 17, siendo 16 de estos últimos bivalentes mientras que el otro, grande e impar, era un elemento sexual. Por tales observaciones concluyó considerar el número diploide de 33 en el macho y 34 en la hembra.

KRALLINGER<sup>46</sup> indicó para las células espermatogoniales de la oveja los números cromosómicos diploides de 50-60, dando este último 60 como el más probable. Contó que 30 cromosomas iban a cada uno de

los polos en la anafase de la primera división meiótica. Supuso que alguno de los cromosomas tenían forma de V y que el mecanismo sexual debía estar representado por los cromosomas X e Y; pero le fue imposible asegurar tales postulados dada la borrosa individualidad que presentaban los cromosomas en la metafase por su inadecuada conservación.

SIIWAGO<sup>50</sup> utilizando como material de estudio células del amniós de oveja, observó de 48 a 54 para el número cromosómico diploide de ella. No obstante afirmó como más seguro este último de 54, porque el menor número que contó fue 48 y aparecía solamente en casos excepcionales.

BUTARIN<sup>44</sup> y <sup>45</sup> indicó 52 a 54 cromosomas en el carnero Kurdiuchny. El mismo autor, en trabajo posterior, señala que el número cromosómico diploide para la oveja Fatrumped es 60; número éste análogo al que encuentra en Arhkar (*Ovis polii Karenini*) y en los híbridos resultantes del cruce entre ambas.

A la misma conclusión de BUTARIN llega NOVIKOV<sup>48</sup> estudiando las células espermatogoniales del híbrido oveja europea (*Ovis musimon*)  $\times$  oveja doméstica (*Ovis aries*). Indica en él 60 cromosomas en el complejo diploide y 30 en el haploide.

BRUÇE<sup>43</sup> señala también el mismo número de cromosomas  $2n = 60$  y  $n = 30$  en la espermatogénesis de la oveja merina. Señala para todos ellos una estructura de bastones, relativamente pequeños y de diámetro uniforme.

Estudiando PCHAKADZE<sup>49</sup> una raza nueva de esta especie, la raza de oveja rusa Georgian, encontró igualmente en ella 60 como número cromosómico diploide.

En contradicción con la opinión de los investigadores citados, que coinciden en señalar los números 60 y 30 en diploide y haploide respectivamente para la dotación de distintas razas e híbridos de la especie *Ovis*, están las aportaciones cariogámicas de BERRY<sup>42</sup>.

En la Estación Experimental de Texas, BERRY, WARWICH y HORLACHER cruzaron ovejas angora con machos merinos obteniendo híbridos de los cuales aproximadamente el 45 por ciento de las hembras quedaban perfectamente preñadas, pero abortaban antes del tiempo normal del parto. Conmovido BERRY por los resultados de tales cruzamientos efectúa un estudio cromosómico detallado en dichos híbridos y en ambas especies aisladas. Utiliza como material tejido amniótico de sus embriones (por las dificultades que ofrecía el híbrido para conseguir material

testicular). Aplica el método de fijación y tinción de Painter consiguiendo así placas metáfasicas de las que adjunta como ejemplo algunas microfotografías. En la mayor parte de las metáfases amnióticas observó 54 cromosomas, solamente en algunos casos raros encontró células que contenían más de 54 aunque en tales casos el número nunca superó al anterior en más de dos cromosomas y muy pocas placas contenían únicamente 44 cromosomas. Ante tales resultados señala a 54 como el número cromosómico diploide más probable para la especie *Ovis aries*.

Considera como característica más notable de este complejo cromosómico la forma más o menos constante que él define en J ó V de los cuatro cromosomas más grandes del complejo. Efectivamente en los dibujos y microfotografías que adjunta en el trabajo, como ejemplo de una vista polar de la metáfase, señala estos cuatro cromosomas en J ó V como alineados cerca de la periferia de la célula. Indica también que éstos difieren entre sí en tamaño y caracteres morfológicos por lo que fácilmente identifica los homólogos que componen cada par cromosómico.

Posteriormente, este mismo autor BERRY<sup>42</sup> estudia de nuevo el número cromosómico en Oveja Merino Rambouillet. Utiliza tejido testicular y aplica una técnica más moderna, la del carmín acético. Con ella consigue mejorar las condiciones de observación puesto que logra una mayor separación cromosómica y también que todos los elementos aparezcan, con mayor frecuencia, en un mismo plano óptico. Hace recuento en más de 65 células espermatogonales indicando en todas ellas 54 cromosomas para el número diploide y 27 para el haploide por estar estos últimos presentes en las placas de los espermatocitos primarios.

Morfológicamente clasifica BERRY el complejo diploide de la oveja Rambouillet en grandes V, largos bastones, cortos bastones, bastones curvados y un cromosoma esférico. Indica la existencia de seis grandes elementos en V que forman tres pares cromosómicos: los cromosomas del primer par poseen el brazo corto aproximadamente igual a los dos tercios de la longitud del largo. En el segundo par ambos brazos son ligeramente desiguales y en el tercero, el más pequeño en tamaño total de los tres, cada brazo tiene aproximadamente igual longitud. Para todos los restantes componentes de la dotación indica una escala gradualmente decreciente en tamaño, desde bastones largos al esférico. Este esférico se considera como el más pequeño de toda la dotación.

AHMED<sup>41</sup> indicó también  $2n = 54$  estudiando la oveja Leicester.

En 1942 nos ofrece MAKINO el más extenso y detallado trabajo sobre el cariotipo de la oveja.<sup>47</sup> Estudia principalmente material de oveja Karakul, oveja Merino y también algunas placas metáfasicas procedentes de la oveja Corriedale. Afirma que el número de cromosomas en la oveja, sin distinción de razas, es 54 en diploide y 27 en haploide. Señala la existencia de tres pares de elementos atelomíticos en forma de V, 23 pares telocéntricos en forma de bastón y un par heteromórfico X eY. Considera que el más grande, de los tres pares en forma de U está provisto de una estrangulación subcentral y la longitud de sus brazos en razón de 5/3. Los cromosomas que forman el segundo par presentan también, estrangulación subcentral y brazos de longitud desigual y en el par tercero y más pequeño de los tres en V los brazos cromosómicos son ligeramente desiguales. Los 23 pares telocéntricos representan una serie que decrece gradualmente en tamaño desde bastones largos a cortos, siendo la longitud total de éstos aproximadamente igual a un brazo de los cromosomas grandes de forma de V.

#### *Cromosomas sexuales*

No coinciden tampoco los autores en la identificación de los cromosomas sexuales de *Ovis aries*. SHIWAGO, BRUCE, BUTARIN, AHMED y BERRY han descrito un par de cromosomas heteromórficos en el complejo de la oveja; pero no todos han coincidido en señalar a que miembros del grupo pertenece dicho par. Así: BRUCE, BUTARIN y SHIWAGO han imaginado al cromosoma X (el miembro más grande del par heteromórfico) como perteneciente al más largo del grupo de elementos de tamaño mediano. El cromosoma Y para SHIWAGO y BRUCE es un miembro del grupo de elementos más pequeños. BUTARIN sin embargo designó por Y al elemento más pequeño de toda la dotación. AHMED describió al cromosoma X como uno de los tres grandes elementos de forma de V con centrómero mediano y al elemento Y como uno de los bastones de mayor tamaño con centrómero en posición subterminal.

BERRY observa en el complejo de *Ovis aries* un pequeño elemento esférico que no tiene compañero homólogo entre los otros 53 cromosomas que integran la dotación; esto le hizo suponer que era el miembro más pequeño de un par de cromosomas heteromórficos y también posiblemente uno de los cromosomas sexuales.

Para MAKINO los cromosomas sexuales están representados: el X por un elemento en forma de bastón, más largo y delgado que los cro-

mosomas del par heteromórfico más grande (fig. 22-24) con una clara estructura tripartita dividida por dos estrechamientos transversales, confirmado así para esta especie el carácter general que indicó anteriormente OCUMA para el cromosoma X de los mamíferos, y al cromosoma Y por un elemento que destaca por su diminuto tamaño, el más pequeño entre los miembros del complejo diploide. En las placas metafásicas de espermatocitos primarios y secundarios (fig. 17-25) considera MAKINO que el par heteromórfico XY está generalmente en la periferia de la placa ecuatorial, dispuesto el X horizontalmente a la placa ecuatorial mientras que el Y está vertical a dicha placa.

Ante el desacuerdo existente consideramos necesario hacer una revisión de los cromosomas que integran la dotación de *Ovis aries* para dar una opinión exacta sobre su número, morfología e identificación de los elementos sexuales.

#### OBSERVACIONES

Las muestras de *Ovis aries* se tomaron de médula roja de exterior de animales de razas muy variadas: Merino, Manchega y Castellana. Todos eran animales de escasa edad, de uno a seis meses.

Entre todos los ejemplares, machos y hembras, hicimos aproximadamente unas 90 preparaciones. Después de observar todas sus metafases seleccionamos y fotografiamos aquellas que permitían un recuento cromosómico fácil y estudio detallado de la morfología de sus componentes.

En el recuento de todas las placas metafásicas hemos confirmado el número cromosómico diploide para la especie *Ovis aries*, sin distinción de razas y para ambos sexos, como  $2n = 54$ .

Las observaciones han sido hechas sobre células metafásicas en las cuales todos los cromosomas integrantes de la dotación se encuentran perfectamente aislados unos de otros, como puede verse en la microfotografía (fig. 6) que adjuntamos como ejemplos. En dichas placas, todos los elementos del complejo están, también situados sobre un mismo plano óptico, por ello para las distintas placas no sólo es constante el número cromosómico sino que los cambios morfológicos son tan escasos que hacen prácticamente nulo el error que pudiera cometerse como factor de interpretación.



Fig. 6.—*Ovis aries* ♂  $2n = 54$ .

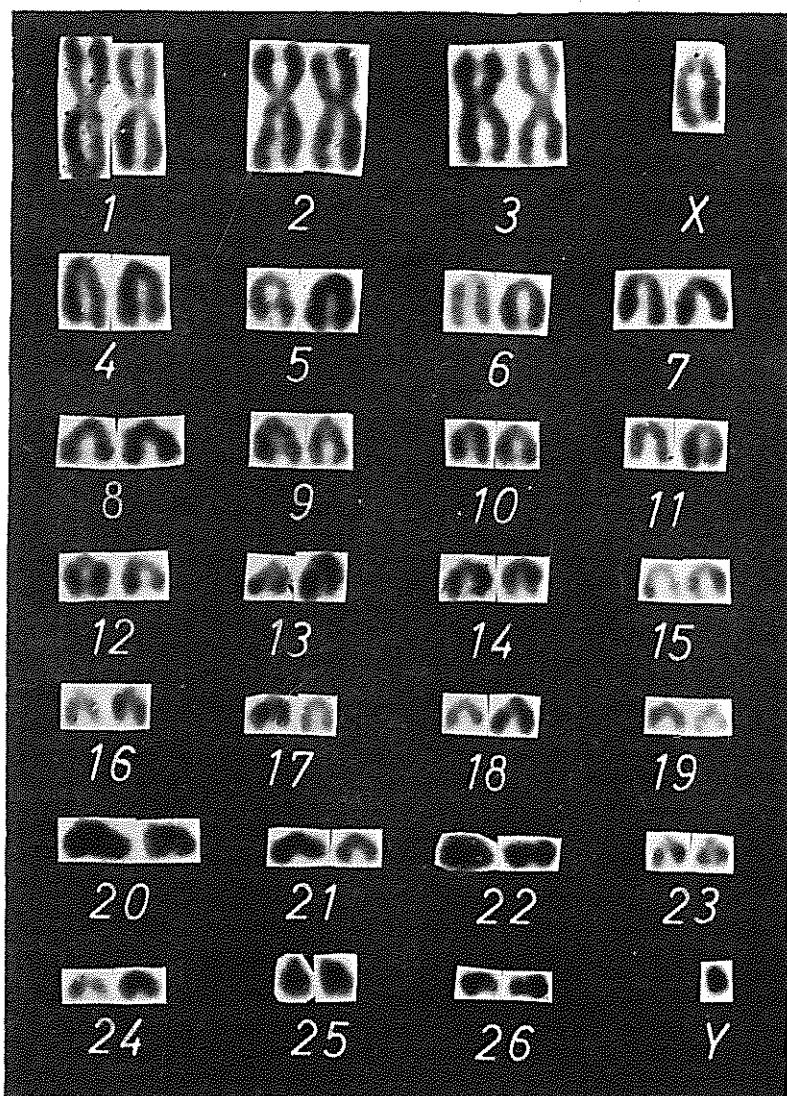


Fig. 6'.—*Ovis aries* ♂ idiograma.

TABLA IV

Características cuantitativas de los cromosomas mitóticos de *Ovis aries*:

Cromosomas Bibraquiales: Primer Grupo

Longitudes en %

Número	Brazo largo	Brazo corto	Total	Relación BL/BC
1	4,45	4,45	8,90	1
2	4,68	3,78	8,46	1,26
3	4,005	4,005	8,01	1

Cromosomas Monobraquiales: Segundo Grupo

Número	Longitud	Total	Número	Longitud	Total
X	5,79		16	2,89	
4	4,89		17	2,89	
5	4,00		18	2,89	
6	4,00		19	2,45	
7	3,57		20	2,45	
8	3,57		21	2,45	
9	3,56		22	2,22	
10	3,12		23	2,22	
11	2,89		24	2,22	
12	2,89		25	2,22	
13	2,89		26	1,34	
14	2,89		Y	1,34	
15	2,89				

Hacemos el idiograma recortando los 54 elementos integrantes de la dotación y uniendo de dos en dos los cromosomas homólogos de acuerdo con su característica, forma y tamaño. En el cariotipo de la hembra son 27 pares cromosómicos de homólogos y en el macho 26 más los dos cromosomas sexuales heteromórficos X e Y. Seguidamente ordenamos dichos pares en serie decreciente con relación a su tamaño.

En la tabla IV expresamos las características cuantitativas más importantes del complejo: Hallamos la longitud total de cada cromosoma, en tanto por ciento de la total del cariotipo y determinamos la po-

sición del centrómero por la relación existente entre los brazos largo y corto de cada cromosoma.

Morfológicamente los cromosomas componentes del complejo de *Ovis aries* pertenecen a dos grandes grupos:

1.º Grupo.—Comprende tres pares cromosómicos reconocibles fácilmente porque presentan diferencias muy considerables con respecto a los restantes componentes de la dotación. En líneas generales su longitud es aproximadamente el doble de los mayores elementos que le siguen en el idiograma. El centrómero ocupa en ellos posición muy similar, los tres son metacéntricos o casi metacéntricos. Entre sí se individualizan, los pares de elementos homólogos por la diferente longitud, relativa, de sus brazos cromosómicos: el primer par es el mayor de todo el complejo (LT = 8,90 %) ambos brazos cromosómicos tienen longitud similar.

El segundo par es metacéntrico-submetacéntrico con los brazos corto y largo ligeramente desiguales (BL = 4,68 % y BC = 3,78 %). Su longitud total (LT = 8,46 %) muestra un decrecimiento con respecto al par precedente. Decrecimiento éste que es exactamente igual al existente a su vez entre el tercero y el segundo par. El tercer par tiene tamaño inferior a los otros dos (LT = 8,01 %). Es metacéntrico con ambos brazos cromosómicos de tamaño similar.

2.º Grupo.—Está constituido por todos los restantes elementos que integran la dotación. En el cariotipo de hembra son 24 pares cromosómicos y en el complejo macho son 23 más los dos cromosomas heteromórficos X e Y representantes de dicho sexo.

El aspecto morfológico más característico de este segundo grupo consiste en la posición, terminal o casi terminal, que presenta el centrómero en todos los cromosomas. Aparentemente son todos telocéntricos poseyendo un sólo brazo cromosómico; este factor a la vez que les agrupa entre sí permite diferenciarles de los tres pares precedentes del idiograma que forman el primer grupo.

La ordenación por tamaño de estos elementos representa una serie gradualmente decreciente. Los mayores poseen una longitud total aproximada a los brazos de los cromosomas metacéntricos o casi metacéntricos del primer grupo.

El primer par de este grupo, o 4 del idiograma total le identificamos por los cromosomas sexuales X. Esta conclusión puede ser reafirmada fácilmente por cualquier observador puesto que: son los más lar-

gos del grupo, presentan una morfología característica que les diferencia del par más próximo en tamaño y dicho par completo XX está presente únicamente en la dotación hembra, existiendo un elemento impar en el complejo macho.

El par 5 es inferior en longitud al par 4, siendo ambos los que representan aproximadamente el tamaño cromosómico intermedio del complejo.

Los pares 6 y 7 son similares en tamaño, siendo éste inferior al del par precedente. Se diferencian por la morfología de sus brazos cromosómicos: en el primero las cromáticas son algo más gruesas que en el segundo en el que presentan en la parte superior como un arqueamiento.

Después de un ligero decrecimiento en tamaño siguen tres pares cromosómicos (8, 9 y 10) de igual longitud. Morfológicamente se caracterizan los dos primeros, 8 y 9 por tener los brazos cromosómicos en forma de V, los pares 9 y 10 presentan aparentemente una concreción secundaria y el par 10 por su tamaño intermedio representa transición a los siguientes elementos del idiograma.

Coincidir en longitud total los ocho pares cromosómicos numerados del 11 al 18, ambos inclusive. Las diferencias existentes entre ellos se deben únicamente a la forma de sus brazos; así en los pares 11, 12, 14, 15 y 17 las cromátidas confieren a los cromosomas forma de V. Las de los pares 16 y 18 imprimen a sus elementos forma de V. En el par 13 el grosor y contracción de las cromátidas da a los cromosomas que le forman una morfología característica que le diferencia de los restantes pares.

Los cromosomas de los pares 19, 20 y 21 son también similares en tamaño, inferior éste al de los elementos precedentes y sólo ligeramente superior al de los pares 22, 23, 24 y 25. Morfológicamente existe analogía entre los pares 19 y 23 en que los dos los cromosomas semejan a una V.

En los pares 20 y 22 las cromátidas se disponen horizontalmente dando al cromosoma aspecto de una sola cromátida con una hendidura central que señala la posición del centrómero. En el par 21 los brazos cromosómicos presentan forma intermedia entre aquellos en V y los que semejan una sola cromátida.

Los cromosomas del par 25 presentan las cromátidas adheridas en toda su longitud; esta característica confiere un aspecto difuso a los cromosomas a excepción del centrómero que aparece en posición terminal o casi terminal.

Los elementos más pequeños de todo el complejo son, un único par cromosómico en la dotación hembra y tres cromosomas en las placas metafásicas de material macho. Estos tres últimos elementos poseen similar tamaño pero se diferencian, los homólogos del elemento impar, porque en los dos primeros sus brazos cromosómicos semejan una sola cromátida gruesa con una hendidura central en la posición del centrómero. Esta morfología es análoga a la que señalamos en los pares 20 y 22 de mayor tamaño.

El elemento impar está presente únicamente en el cariotipo del macho por ser el cromosoma sexual Y. En él las cromátidas cromosómicas están adheridas longitudinalmente haciendo invisible su estructura; lo más observable es el centrómero en posición aparentemente terminal.

#### DISCUSION

De la bibliografía consultada deducimos que atendiendo al número de cromosomas encontrados y a la clase de células utilizadas como material de experimentación podemos considerar divididos los investigadores en dos grupos: el más numeroso hace las observaciones en tejido testicular indicando 60 como número cromosómico diploide. Morfológicamente consideran a todos los elementos telocéntricos en forma de bastón. Entre ellos KRALLINGER que indicó  $2n = 60$ , BUTARIN que señaló  $2n = 54-56$  y él mismo en trabajo posterior  $2n = 60$ . Así como también Novikov, PACHAKADZE y BRUCE que confirma de nuevo para el número cromosómico diploide de *Ovis aries*  $2n = 60$ .

El otro grupo está integrado por SHIWAGO, BUTARIN, BERRY, AHMED y MAKINO. Todos a excepción de AHMED emplean células del amnios y cuentan solamente 54 cromosomas. Indican la existencia en el complejo diploide de *Ovis aries* de algunos elementos no telocéntricos en forma de V; sin embargo, estos autores no estaban de acuerdo respecto al número de ellos.

Generalmente se cree que las causas de los resultados discrepantes, tanto en número como en morfología, sean debidas a los errores de investigación inducidos o motivados por la defectuosa presentación de los cromosomas en las placas metafásicas. Así KRALLINGER, al referirse a la morfología únicamente, supone existe algún elemento en V pero no llega a asegurarla por la borrosa individualidad que presentan

los cromosomas en la metafase como consecuencia de su inadecuada conservación.

Es cierto que determinados factores (técnicas usadas, irregularidades mitóticas, procesos de fijación, etc) son posibles causas de una variación cromosómica; pero en el caso de *Ovis aries* BERRY<sup>42</sup> considera que los discrepantes hallazgos son muy constantes para atribuirlos a alguno de esos casos particulares. Afirma que la variación del número cromosómico señalado por diversos autores, de 54 a 60 es sin duda alguna resultado de las diferentes interpretaciones dadas a los seis cromosomas grandes en forma de V y nunca diferencias raciales en las ovejas investigadas; puesto que los que indican  $2n = 60$  han interpretado cada elemento en forma de V como dos bastones que permanecen muy juntos, con sus extremos proximales en contacto, o sea, doce cromosomas en forma de bastón; no obstante los dibujos de las metafases de sus preparaciones (KRALLINGER fig. 10, BUTARIN fig. 1 y BRUCE fig. 11) señalan varios cromosomas en forma de V. El mismo autor BERRY, reafirma que con la identificación de estos seis cromosomas en V queda clara su conclusión de que el número cromosómico diploide para la oveja doméstica es 54, al menos para la Merina Rambouillet.

Nuestra observación morfológica no coincide con las interpretaciones dadas por BERRY y MAKINO para sus preparaciones, así pues: para el primero de los tres pares en V, ambos autores están de acuerdo en la diferente longitud de sus brazos; MAKINO indica para ellos una relación aproximadamente de 5/3 y BERRY afirma que un brazo equivalente a las dos terceras partes de la longitud del más largo. En nuestras placas metafásicas es un par metacéntrico con brazos cromosómicos de igual longitud. En el par segundo coincidimos con dichos autores en que ambos brazos, largo y corto son sólo ligeramente desiguales y en el tercero nuevamente estamos en desacuerdo al no admitir diferente longitud, ni aún escasa para sus brazos cromosómicos ya que es elemento metacéntrico.

Es labor nueva en el presente trabajo, la exacta determinación que hacemos de los cromosomas sexuales para lo cual, investigadores como mencionamos detalladamente en la introducción, unos no llegan a precisar exactamente a los elementos que corresponden y otros señalan como tales a cromosomas totalmente diferentes.

Sobre los restantes autosomas de la dotación coincidimos en líneas generales con la interpretación que han venido señalando todos los

investigadores precedentes: una compacta serie que decrece gradualmente en tamaño desde los bastones largos a los cortos. No obstante también en estos pares hacemos un estudio más preciso, como muestra la tabla IV en la que expresamos las características cuantitativas más importantes del complejo. Todo ello se ha hecho con facilidad debido a la extraordinaria claridad que presentan los cromosomas en las placas metafásicas. Claridad ésta carente totalmente en las preparaciones hechas por autores anteriores, ya que en sus dibujos (KRALLINGER<sup>46</sup>, SHIWAGO<sup>50</sup>, BUTARIN<sup>44</sup> y<sup>45</sup> y NOVIKOV<sup>48</sup>) los cromosomas forman masas conglomeradas en las que parece increíble hayan podido hacer recuento cromosómico. En los dibujos y microfotografías de las placas metafásicas estudiadas por BERRY<sup>42</sup> aparece constante no sólo la aglomeración cromosómica, sino también un considerable engrosamiento o hinchazón irregular de los cromosomas, lo cual enmascara sus caracteres morfológicos. Tal engrosamiento irregular es observable, también, en las microfotografías y dibujos (fig. 5 y 6) que presenta el mismo autor en trabajo posterior (BERRY<sup>41</sup>). Se supone que tal hinchazón cromosómica apareció por el empleo de técnica inadecuada (la del carmín acético) y fue quizás la posible causa que indujo a BERRY a la errónea interpretación del cromosoma X.

Los dibujos que presenta MAKINO<sup>47</sup> representan la labor cumbre conseguida hasta el momento presente con material de *Ovis aries*; no obstante la aplicación de nuestra técnica (basada en la de TJO y WANG) nos ha permitido mostrar microfotografías de mejores metasfasas.

### CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> En la dotación diploide de la especie *Ovis aries* existen 54 cromosomas.

2.<sup>a</sup> En el cariotipo de hembra los 54 elementos se agrupan por su homología en 27 pares cromosómicos y en la dotación macho en 26 pares de homólogos más los dos elementos heteromórficos X e Y.

3.<sup>a</sup> Morfológicamente, especialmente por la posición que representa el centrómero, clasificamos en dos grandes grupos:

1.<sup>a</sup> Grupo.—Le forman los tres pares cromosómicos mayores de la dotación. Poseen centrómero mediano o mediano submediano.

2.<sup>a</sup> Grupo.—Está integrado por 34 pares, todos ellos son aparentemente telocéntricos. De éstos son todos homólogos dos a dos en el idiograma de hembra formando 34 pares cromosómicos. En el cariotipo del macho los homólogos forman sólo 33 pares por ser los otros dos cromosomas heteromórficos X e Y.

4.<sup>a</sup> Los cromosomas X, par XX en el idiograma de hembra o elemento impar X en el macho, son los cuartos en tamaño de todo el complejo o primeros del segundo grupo y aparentemente telocéntricos.

El cromosoma Y es el último elemento del idiograma del macho. Como el X pertenece al segundo grupo por ser aparentemente telocéntrico. Coincide en tamaño con el par 26; siendo los tres elementos más pequeños del complejo. Sus brazos cromosómicos presentan las cromátidas totalmente adheridas, por lo que se diferencian de los cromosomas componentes de dicho par en el cual están dispuestas horizontalmente dando al cromosoma apariencia de una sola cromátida.

### RELACION CARIOGAMICA ENTRE *CAPRA HIRCUS* Y *OVIS ARIES*

De los estudios anteriores deducimos que la dotación diploide de *Capra hircus* consta de 60 cromosomas, siendo todos monobraquiales por tener centrómero en posición terminal o aparentemente terminal y que el complejo de *Ovis aries* tiene 54 cromosomas de los que 48 son monobraquiales y los seis restantes bibraquiales.

Los cromosomas sexuales son: en *Capra hircus* el X, o número 6, es el quinto en tamaño de todo el complejo de tipo monobraquial y el cromosoma Y corresponde al elemento más pequeño del complejo, también monobraquial.

En *Ovis aries* el cromosoma sexual X es el cuarto en tamaño de su dotación y el Y el más pequeño de todos, siendo ambos monobraquiales.

Ante estos resultados observamos existir analogía entre la serie sucesivamente decreciente que forman los 24 pares cromosómicos monobraquiales de *Ovis aries* y la que a su vez presentan las 30 parejas que componen el complejo de *Capra hircus*. También son muy similares los elementos sexuales de ambas especies.

Por otra parte hay autores que unen a estas semejanzas el fenómeno de reducción cromosómica que con frecuencia tiene lugar entre

clases de animales emparentados. Así pues MAKINO<sup>41b</sup> enumera uno de estos casos en peces, dos en anfibios y uno en reptiles y YAMASHINA, por tal reducción, admite la relación numérica cromosómica entre las aves de corral y el faisán.

Este fenómeno reduccional en el caso de *Ovis aries* consistiría en la unión de 12 cromosomas en forma de bastón dos a dos, o sea en la fusión de dos bastones por sus extremos proximales, dando así seis múltiples en forma de V. Este hecho explicaría las diferencias numéricas y morfológicas encontradas entre los cariotípos de *Capra hircus* y *Ovis aries*; y de no existir tal fenómeno estarían en estrecha relación cromosómica, tanto numérica como morfológica, haciendo pensar que ambas especies se originaron de un ancestro común.

No obstante el hecho de que en el 45 % de los cruces entre cabra y carnero Merino las hembras quedaban preñadas pero abortaban antes de la fecha normal del parto, nos induce a pensar que ambas especies no proceden de un ancestro común, sino que por el contrario el ancestro sea distinto para cada una de ellas; ya que coincidimos con BERRY en señalar como causa de la muerte del embrión híbrido, la diferencia en el complejo cromosómico en la oveja y la cabra.

#### EQUUS CABALLUS

##### REVISION BIBLIOGRAFICA

El cariotipo del caballo (*Eq. caballus*) ha sido objeto de estudio por varios investigadores, aunque, como en el caso de otros mamíferos los resultados que han logrado indican un gran desacuerdo en el número cromosómico.

Primeramente KIRILOV<sup>54</sup> da para el caballo un número haploide no menor de 10 ni mayor de 16. Seguidamente WODSEDALEK<sup>64</sup> en su publicación sobre espermatogénesis señala los números: diploide 37 y haploide 19. Por otra parte MASUI<sup>57</sup> indica para su complejo una cifra cromosómica diploide variable de 33 a 38 y haploide de 19. PAINTER<sup>58</sup> en estudio posterior de espermatogénesis, señaló que el número cromosómico no era como habían indicado los investigadores anteriores afirmando «...La espermatogénesis tiene  $2n = 57$  a 60 siendo este último número el

observado en la placa metatáctica más clara». Por otra parte en todas las placas de los espermatocitos primarios (a excepción de una) contó por número haploide 30 de lo cual dedujo que el diploide tenía que ser 60. Este autor reconociendo que su material era inadecuado no se propuso identificar la forma que presentaba cada unidad cromosómica del complejo. Indicó únicamente 12 cromosomas, en seis pares de homólogos, en forma de V siendo en tamaño el más grande de éstos el tercero de toda la dotación. Considera a cada elemento constituido por dos porciones conectados por un puente mas o menos atenuadamente cromático y que en el caso de este tercer par ese puente se mantiene constante. Asoció esta conclusión con la hipótesis de la fragmentación afirmando: Que el elevado número cromosómico del caballo y su gran proporción en elementos pequeños se debía a una fragmentación de los cromosomas mayores a excepción del tercer par que no sufría tal fragmentación.

RANQUINI<sup>60</sup> indica también 60 como número cromosómico diploide más probable.

En 1942 MAKINO<sup>56</sup> estudia el cariotipo del caballo. En su trabajo encontramos sin duda los más amplios y detallados informes cromosómicos. Utiliza material testicular que obtuvo de dos razas: percherón y Ryūkyū Pony o caballo nativo de las islas Ryūkyū. Empleó como fijadores solución Champy y mezcla de Fleming (sin ácido acético) y cortando secciones de 10 a 12 micras de espesor tiñe con hematoxilina férica de Haidenhaim. Seguidamente seleccionó en las preparaciones las células de mayor tamaño y de ellas las mejores placas metatácticas. En todas estas encontró, sin distinción de razas 66 cromosomas en diploide y 33 en haploide.

Morfológicamente indica la existencia en el complejo de: 12 cromosomas atelomíticos en forma de V que considera homólogos dos a dos formando seis pares cromosómicos. Por la unión de sus cromátidas señala para unos el tipo mediano y otros submediano. En tamaño destaca un par más grande. A los restantes componentes les define como telocéntricos y variables en longitud y forma: desde bastones largos, rectos o ligeramente curvados a bastones cortos y asilados.

Recientemente ROTHFEL y colaboradores<sup>8</sup> usando un método de cultivo de tejidos señalan que el complejo diploide del caballo está compuesto de 64 cromosomas siendo de estos 28 metacéntricos y 36 telocéntricos en la hembra y 27 metacéntricos y 37 telocéntricos en el macho.

### Cromosomas sexuales

PAINTER y RANQUINI son los primeros que consideran ya el tipo sexual X e Y; no obstante ninguno de los dos llegó a determinar una característica morfológica que les permitiera identificarlos.

MAKINO en preparaciones de raza Percheron define por X a uno de los cromosomas largos en forma de bastón y por Y a uno de los cortos. En la raza Ryūkyū Poni creyó identificar el X señalándole con un asterisco en la figura 16; mientras que el cromosoma Y afirma el autor le es completamente imposible de señalar en el complejo por la existencia de autosomas muy similares a él.

No obstante en sus dibujos no hay características diferenciales que permiten determinar los cromosomas sexuales de aquí la necesidad de realizar el presente estudio para:

- Confirmar si el número cromosómico exacto del caballo era el señalado por MAKINO  $2n = 66$  o el indicado por ROTHFEL y colaboradores  $2n = 64$ .
- Determinar los verdaderos cromosomas sexuales X e Y.

### OBSERVACIONES

Para la especie *Equus caballus* el material se tomó de médula roja de esternón; procedente ésta de siete ejemplares machos y nueve hembras. Ninguno de ellos pertenecía a una raza pura sino que todos eran mestizos resultantes de cruzamientos entre razas muy variadas.

De cada muestra hicimos unas 25 preparaciones consiguiendo un número en total aproximadamente igual a  $(7 + 9) \times 25 = 16 \times 25 = 300$ . Mediante el estudio microscópico de éstas, seleccionamos las metáfases más adecuadas para efectuar en ellas el recuento, observación morfológica y determinaciones cuantitativas de sus cromosomas. A dos de las placas seleccionadas, una de hembra y otra de macho pertenecen las microfotografías, 7 y 8 que adjuntamos.

Las edades de todos los ejemplares empleados oscilaban entre los 1 y 4 años.

En todas las placas metáfasicas se encontraron 64 cromosomas como componentes del complejo diploide perteneciente a *Equus caballus*.

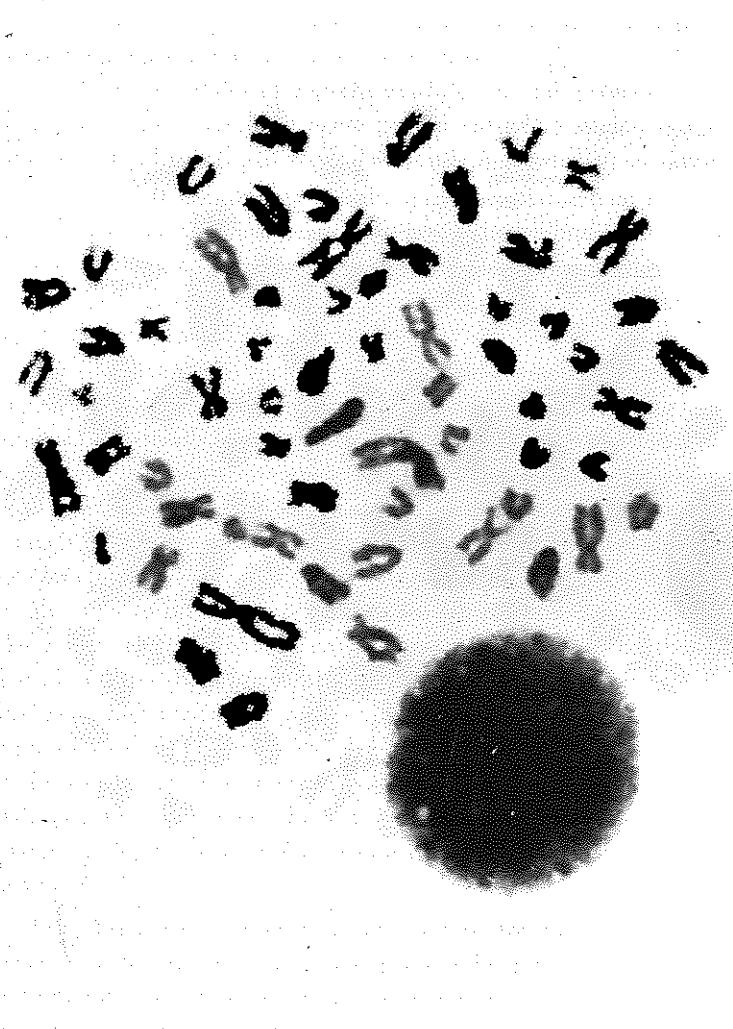


Fig. 7.—*Equus caballus* ♀  $2n = 64$ .

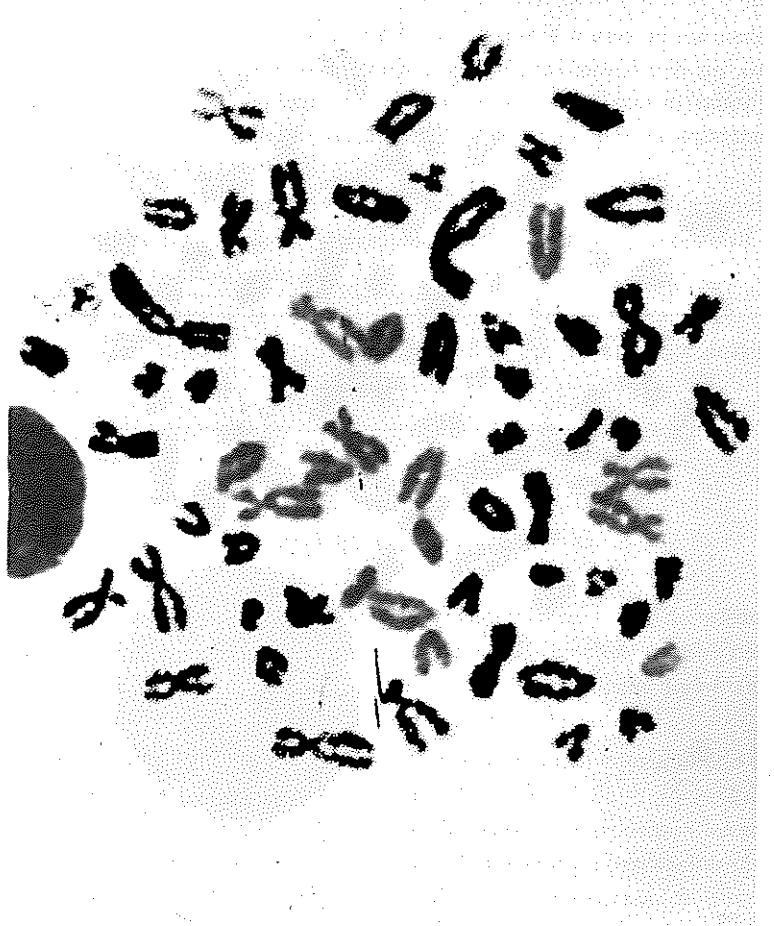


Fig. 8.—*Equus caballus* ♂ 2 n = 64.

La precisión de nuestro recuento puede ser confirmada en las dos microfotografías, procedentes de macho y hembra que adjuntamos como ejemplo representativo de las 380 metafases estudiadas.

En las células mitóticas todos los cromosomas están situados sobre un mismo plano óptico y como muestran ambas microfotografías se presentan separados perfectamente unos de otros.

En líneas generales el aspecto morfológico que presentan los cromosomas, motivando principalmente por la variada posición que ocupa en cada uno de ellos el centrómero responde a los dos tipos siguientes:

a) Cromosomas bobraquiales por poseer claramente dos brazos. Entre éstos les hay: metacéntricos, subterminales, submedianos o submetacéntricos, medianos-submedianos y submedianos-subterminales.

b) Cromosomas aparentemente telocéntricos o monobraquiales por observarse en ellos un sólo brazo.

Son relativamente escasos los pares de elementos que coinciden en longitud total y a su vez poseen análoga relación entre sus brazos cromosómicos; existiendo además para estos casos detalles morfológicos secundarios que les hacen diferenciarlos. Por tanto teniendo en cuenta todos estos factores la identificación de los elementos homólogos y la determinación del par cromosómico sexual no ofrece grandes dificultades en este complejo.

En el material del sexo hembra los 64 componentes, son homólogos dos a dos, distribuyéndose en 15 pares cromosómicos de tipo bobraquial y 17 de tipo monobraquial; mientras que en las dotaciones de macho los pares bobraquiales se reducen a 14 más un sólo cromosoma y los bobraquiales son 17 pares más otro elemento aislado.

La existencia en el macho, por un lado, de un par heteromórfico formado por un componente bobraquial y otro monobraquial hace pensar, como es lógico, que ambos elementos sean los representantes del tipo sexual X e Y.

Por otra parte, la existencia del cromosoma bobraquial aislado en el macho y formando un par completo en la hembra, justifica que es el que representa al cromosoma sexual X; mientras que su componente heteromórfico (monobraquial) presente únicamente en el macho, corresponde al cromosoma sexual Y.

Emparejando los homólogos, y ordenando gradualmente, teniendo en cuenta la longitud total, tanto en las parejas completas en la hembra, como de los dos elementos heteromórficos en el macho, formamos dos

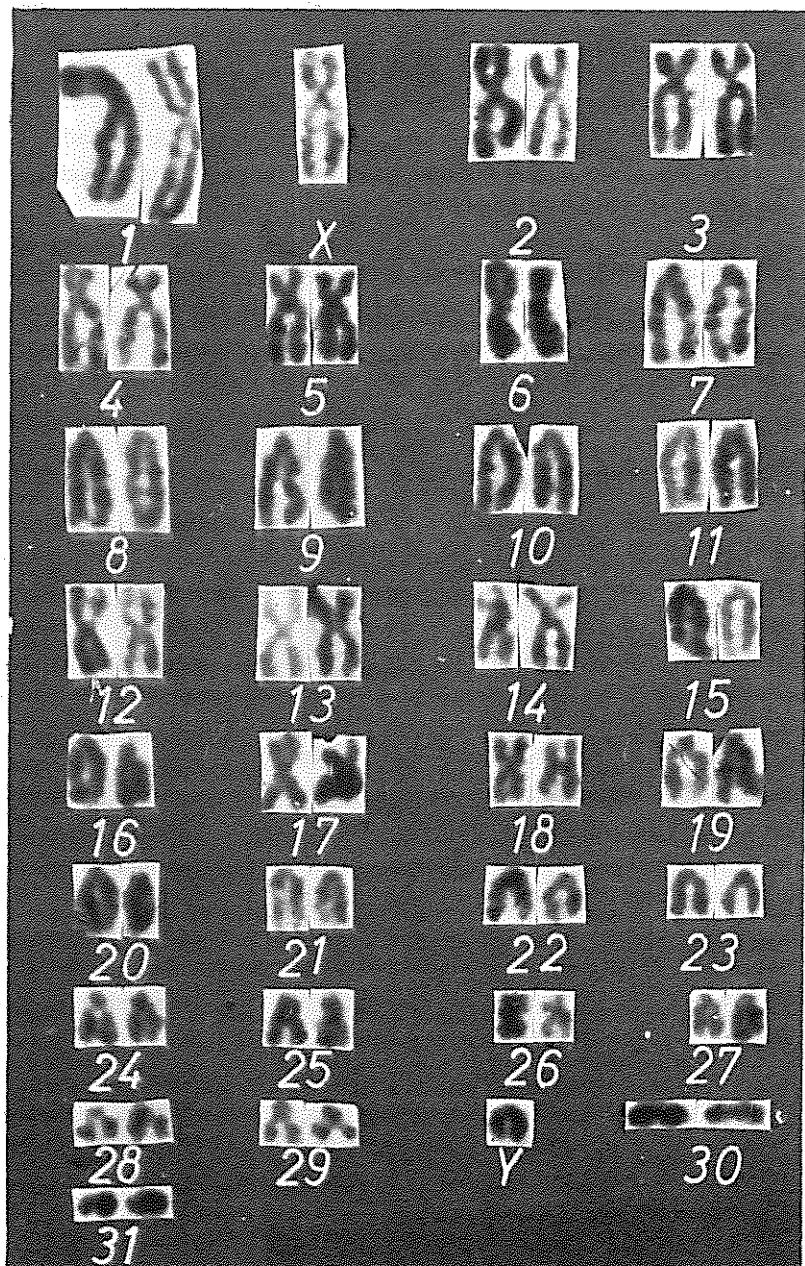


Fig. 8'.—*Equus caballus* ♂ idiogramma.

—110—

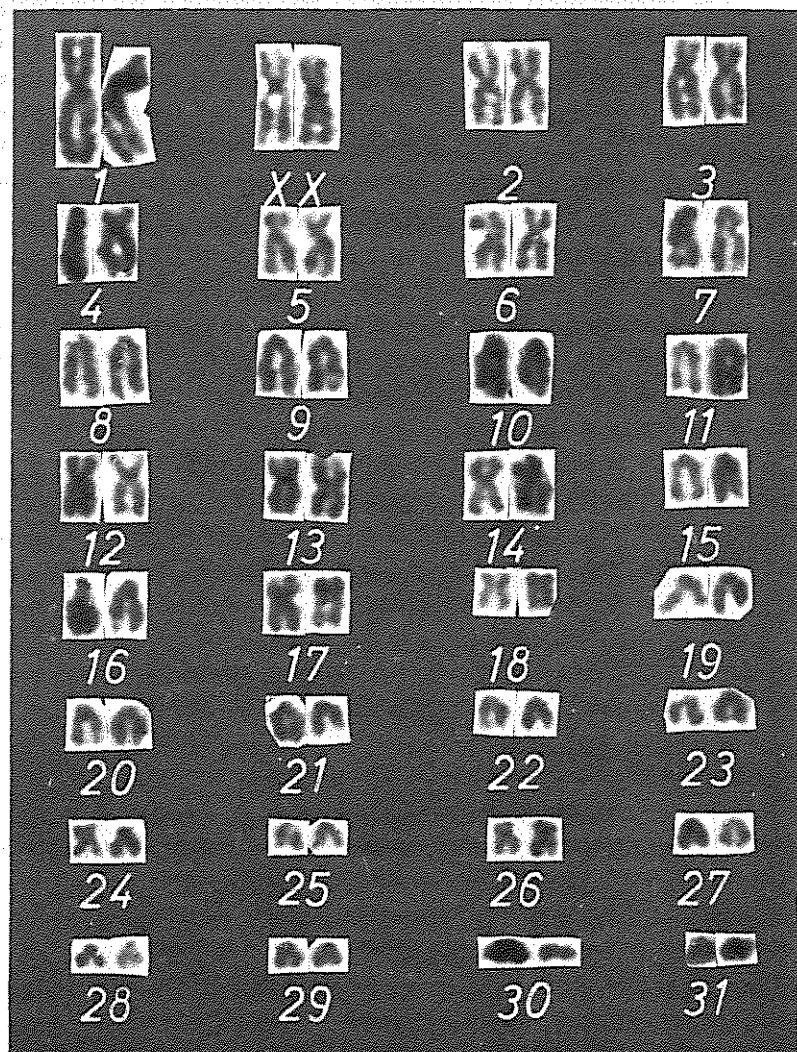


Fig. 7'.—*Equus caballus* ♀ idiogramma.

—111—

series cromosómicas, que constituyen los idiogramas (figura 7' y 8') de ambos sexos.

Las características cuantitativas de este cariotipo, las especificamos en las tablas V y VI. En ambas indicamos la longitud total de cada uno de los cromosomas, expresándola en tanto por ciento de la del cariotipo. En la primera (A) determinamos, además, los restantes factores que caracterizan a los elementos bobraquiales: longitud, también en % total, de los dos brazos cromosómicos iguales o desiguales, de cada uno de ellos, así como también la relación existente entre ambos, que nos permite determinar la posición que presenta su centrómero.

Para realizar un estudio detallado distribuimos la dotación diploide en ocho grupos. Los elementos que constituyen cada uno de ellos respetan el orden en tamaño del idiograma, y además pertenecen todos a un mismo tipo, sea este bobraquial o monobraquial.

TABLA V

Valores cuantitativos del complejo de caballo (*Equus caballus*)

A. Cromosomas bobraquiales: (13 pares + x)

Longitudes en % del cariotipo

Grupo	Número	B.L.	B.C.	Total	Relac. BL/BC.
1.º	1	2,45	2,76	7,21	2,1/1,3
	X	3,39	1,91	5,30	1,6/0,9
	2	2,76	1,91	4,67	1,3/0,9
	3	2,97	1,27	4,24	1,4/0,6
	4	2,97	1,27	4,24	1,4/0,6
	5	2,86	1,16	4,02	1,35/0,55
3.º	6	2,76	1,06	3,82	1,30/0,5
	12	1,75	1,75	3,50	1,825/1,825
	13	1,75	1,75	3,50	1,825/1,825
	14	2,33	1,06	3,39	1,1/0,50
	17	1,38	1,38	2,76	0,65/0,65
	18	1,27	1,27	2,54	0,6/0,6
7.º	25	1,59	0,53	2,12	0,75/0,25
	26	1,27	0,63	1,90	0,6/0,30

TABLA VI

B. Cromosomas monobraquiales: (18 pares + Y)

Grupo	Número	Longitud en %
2.º	7	3,82
	8	3,82
	9	3,82
	10	3,39
	11	3,39
	15	2,97
4.º	16	2,79
	19	2,54
	20	2,54
	21	2,33
	22	2,12
	23	2,12
6.º	24	2,12
	27	1,90
	28	1,69
	29	1,69
	Y	1,48
	30	1,27
8.º	31	0,84

1.º Grupo.—Comprende siete pares cromosómicos del idiograma de la hembra, y seis pares de autosomas más el elemento X en el complejo del macho. Todos ellos pertenecen al tipo bobraquial, siendo relativamente fácil diferenciar unos pares de otros, tanto por su longitud total, similar únicamente en los dos últimos pares, como por el tamaño diferente que presentan los brazos cromosómicos en cada uno de ellos; motivado en gran parte éste por la posición que ocupa su centrómero.

El primer par destaca claramente por ser en tamaño el mayor de toda la dotación. Tiene el centrómero en la zona submediana, confiriendo así a sus brazos una relación de 2,1/1,3.

El segundo par cromosómico en la hembra, o sólo elemento impar en el idiograma del macho, representa el cromosoma sexual X. Su identificación no ofrece confusión con otros pares, puesto que en tamaño

es bastante inferior al par precedente, y a su vez superior al que le sigue en la serie decreciente. Análogamente al primer par, posee centrómero sumediano, pero la relación de brazos es en él de 1,6/0,9.

La determinación de los elementos homólogos que comprenden el par 2 no presenta grandes dificultades. La situación mediano-submediana de su centrómero hace que la longitud entre sus brazos cromosómicos, sea más semejante, característica ésta que nos permite distinguirle de los restantes pares del grupo.

Los pares 3 y 4 son muy análogos entre sí; no sólo por su longitud total, sino también por la relación que guardan en ambos sus brazos cromosómicos, al ser divididos por el centrómero en posición submediana-subterminal.

Los últimos pares (5 y 6) de este grupo, si bien coinciden, por tener ambos centrómeros submediano-subterminal, difieren totalmente en los restantes factores, así: la longitud del 6 es inferior a la del 5, estando su diferencia proporcionalmente distribuida entre los dos brazos cromosómicos. Los componentes del par 5 no poseen características externas, mientras que la morfología que presentan los del 6 es totalmente distinta a la de los restantes elementos que integran la dotación; debida ésta a una constricción secundaria que posee en la zona media de sus brazos cromosómicos largos.

2.<sup>o</sup> grupo.—Cinco pares (n.<sup>o</sup> 7, 8, 9, 10 y 11) de autosomas. Todos poseen centrómero telocéntrico o aparentemente telocéntrico, y en consecuencia su tipo es monobraquial. En tamaño los tres primeros pares son prácticamente semejantes entre sí, y algo mayores que los dos restantes, también similares. Por estas analogías, el emparejamiento de los elementos homólogos, es labor delicada, puesto que está basada únicamente en factores morfológicos secundarios.

3.<sup>o</sup> grupo.—Está formado por las parejas cromosómicas: 12, 13 y 14. El tipo bobraquial de los tres muestra en conjunto apariencia de metacéntricos, aunque difieren ligeramente por la posición exacta de su centrómero: el primer par casi metacéntrico, tiene escasamente diferentes los brazos cromosómicos; en el segundo los brazos son aparentemente iguales en longitud, metacéntrico; y en el tercero hay entre ellos una diferencia considerable, (centromero-submediano) por lo que se distinguen perfectamente de los dos anteriores, así como también por su tamaño total, inferior éste al prácticamente semejante de los otros dos.

4.<sup>o</sup> grupo.—Tiene solamente dos pares cromosómicos (15 y 16). Por la posición aparentemente terminal de sus centrómeros pertenecen, como los componentes del segundo grupo, al tipo monobraquial. Se diferencian entre sí por la longitud, según la cual, destaca el primer par, que aunque bastante inferior al último par del grupo anterior, es algo mayor que el segundo.

5.<sup>o</sup> grupo.—Como el grupo precedente, consta únicamente de los dos pares (17 y 18) de autosomas. Ambos son metacéntricos por lo que sus dos brazos cromosómicos, perfectamente observables, son aparentemente análogos en longitud. El tamaño total del par 17 es algo superior al del par 18, siendo esta diferencia y sus caracteres morfológicos los factores que nos permiten determinar dichos pares.

6.<sup>o</sup> grupo.—Forman este grupo los pares cromosómicos 19, 20, 21, 22, 23 y 24. Los seis poseen centrómero terminal, o aparentemente terminal y por tanto de tipo monobraquial. Los dos primeros pares son similares en tamaño, siendo éste ligeramente superior al del tercero, el cual excede a su vez a los dos restantes también prácticamente análogos.

La identificación de homólogos en los tres primeros pares es relativamente fácil por existir en ellos una diferencia morfológica: los brazos del par 19 están bien separados mientras que en el 20 se adhieren entre sí aparentando casi una sola cromátida y en el par 21 las cromátidas muestran separación intermedia entre los dos anteriores. Por el contrario es verdaderamente dificultosa la determinación de los pares 22 y 23 dada la semejanza aparente en todas las características morfológicas de los cuatro cromosomas, además de coincidir en tamaño y posición del centrómero.

El par 24 último del grupo, telocéntrico como todos y de longitud similar a la de los dos anteriores, se diferencia con relativa facilidad de ambos por caracterizarle la disposición mucho más próxima que presentan los dos brazos o cromátidas de cada uno de sus cromosomas componentes.

7.<sup>o</sup> grupo.—Dos pares 25 y 26 de autosomas bobraquiales. El primero tiene centrómero subterminal mientras que en el segundo más que subterminal es ya submetacéntrico o submediano estando sus brazos cromosómicos en relación aproximadamente de 0,6/0,3.

La longitud total del primero es análoga a las de los tres últimos pares del grupo precedente y ligeramente superior a la del segundo par 26. Son pues distintas las características fundamentales, posición del

centrómero y longitud total, de los dos pares por lo que no ofrece dudas la determinación en el complejo de cada uno de ellos.

8.<sup>o</sup> grupo.—Contiene cinco pares cromosómicos comunes a ambos sexos, más el elemento Y en el macho. Todos pertenecen al tipo monobraquial puesto que el centrómero está en su zona terminal o casi terminal. Entre ellos difieren no sólo en tamaño sino también en morfología o disposición de brazos cromosómicos así:

El par 27 es el mayor del grupo y su tamaño análogo al último par del grupo precedente. En él las dos cromátidas se muestran verticales y adheridas entre sí en toda su longitud.

Los pares 28 y 29 son los más similares de todo el grupo; presentan idéntico tamaño y morfología casi similar por la posición convergente de sus brazos. La única diferencia encontrada por nosotros se refiere a la forma cromosómica externa que semeja a U en el primer par y a V en el segundo.

En el idiograma del macho sigue por su tamaño decreciente, un elemento impar que identificamos por el cromosoma sexual Y; determinación ésta que no ofrece dudas ya que sus características de tamaño (longitud total = 1,48 %) y la forma en U que presentan sus brazos (más gruesos éstos que los del par 28) le hacen inconfundible con cualquier otro cromosoma del complejo.

Es característica y a su vez muy similar la forma que muestran los pares 30 y 31, últimos del grupo y también de toda la dotación. En ambos las dos cromátidas o brazos cromosómicos se disponen horizontalmente dando apariencia de ser una sola cromátida con un ligero entrante que corresponde a la posición del centrómero. Entre sí se diferencian fácilmente debido a la menor longitud del último, así como también es algo más difusa en éste la posición en que se encuentra el centrómero.

## DISCUSIÓN

El número cromosómico extremadamente bajo dado por los primeros investigadores, así como el desacuerdo existente entre ellos al estudiar la dotación del caballo (*Equus caballus*), ha sido atribuido, por una parte, a diferencias raciales de los animales que utilizaron como material de investigación y por otra, consecuencia del empleo de técnicas inadecuadas que fijaban incompletamente los cromosomas, o les disponían juntos y apelotonados en las placas metafásicas.

Confirmación de esta última causa son las figuras de PAINTER; en las cuales tanto las metafases diploides como las haploides, muestran un aspecto completamente dudoso y confuso con los cromosomas próximos, sobrepuertos unos a otros y por tanto con individualidad indefinida en alguno de ellos. Todo esto hace que los recuentos de PAINTER, por sí solos no puedan tomarse por definitivos; máxime cuando él mismo considera a su material inadecuado para efectuar un análisis morfológico.

El trabajo de MAKINO pone en evidencia que el número cromosómico no varía con la raza de caballo, ya que tanto el Percherón como el Ryūkyū Poni contenían un mismo número cromosómico  $2n = 66$  y  $n = 33$ ; considera que la causa principal, de asignar diferente número cromosómico a la dotación del caballo, era la fijación inadecuada del material. Sus dibujos, si bien excelentes en su época, presentan grupos de cromosomas adheridos que explican el número erróneo ( $2n = 66$ ) que señala para el caballo; y la morfología normal de ellos no le permitió encontrar diferencias características para determinar los verdaderos cromosomas sexuales.

Las coincidentes aportaciones, en número y morfología, para las dotaciones de todos los ejemplares mestizos que estudiamos; la separación perfecta y morfología clara que presentan los cromosomas de las microfotografías que adjuntamos, permiten a cualquier observador:

1.<sup>o</sup> Comprobar que todas nuestras conclusiones están en perfecto acuerdo con lo que manifiestan las microfotografías.

2.<sup>o</sup> Que ni el número ni la morfología cromosómica varía con el origen del caballo observado.

Por otra parte en octubre de 1962, efectuada ya por nosotros la labor experimental del presente trabajo, es confirmado para el caballo el mismo número cromosómico  $2n = 64$  por SASAKY y MAKINO<sup>62</sup> así como también por TRUJILLO y colaboradores<sup>63</sup>. En los dos trabajos utilizan sangre periférica que cultivan siguiendo una técnica basada (con varias modificaciones) en el método de MOORHEAD y colaboradores 1960.

SASAKY y MAKINO indican que 14 pares del complejo poseían centrómeros medianos, submedianos o subterminales y los 18 pares restantes tenían centrómero terminal.

Trujillo y colaboradores confirman en general los mismos tipos morfológicos de SASAKY y MAKINO. Ordenan los pares cromosómicos en serie por su tamaño decreciente la cual dividen en ocho grupos; no inclu-

yendo nunca en un mismo grupo los cromosomas telocéntricos con los no telocéntricos.

Por cromosoma X interpretan el mismo elemento que nosotros, el segundo en tamaño de la dotación y de centrómero submediano. Del cromosoma Y afirma... «In size and morphology, the Y in the male complement resembles the smaller members of the group 8...».

Estas recientes afirmaciones conseguidas con técnica distinta a la nuestra coinciden en general con nuestras conclusiones.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> La dotación diploide de *Equus caballus* está constituida de 64 cromosomas.

2.<sup>a</sup> En el cariotipo de la hembra los 64 elementos son homólogos dos a dos formando así 32 parejas mientras que en el perteneciente al macho hay 31 pares de homólogos más el restante par heteromórfico compuesto por los cromosomas X e Y determinantes del sexo.

3.<sup>a</sup> Atendiendo a la morfología externa que presentan los cromosomas, principalmente por la posición que ocupa en ellos el centrómero, clasificamos el complejo total en dos divisiones:

- A. Cromosomas bibracuiales.
- B. Cromosomas monobraquiales o aparentemente telocéntricos.

A.—Tienen forma bibracuial todos los pares cromosómicos que componen los grupos 1.<sup>a</sup>, 3.<sup>a</sup>, 5.<sup>a</sup> y 7.<sup>a</sup> del idiograma. Siendo en total 14 pares completos en la hembra y 13 parejas más el cromosoma X en el macho; los cuales pertenecen a los tipos siguientes:

a) Cuatro pares (12, 13, 17 y 18) metacéntricos o casi metacéntricos.

b) Un par n.<sup>a</sup> 25 subterminal.

c) Tres pares 1, 14 y 26 más el cromosoma sexual X con centrómero submediano o submetacéntrico.

d) Par 2 de naturaleza mediano-submediana y

e) 4 pares (3, 4, 5 y 6) con centrómero submediano-subterminal.

B.—Son monobraquiales 18 pares autosómicos más el cromosoma sexual Y del macho. En el idiograma: 5 pares (7, 8, 9, 10 y 11) forman el grupo 2.<sup>a</sup> Dos pares 15 y 16 el grupo 4.<sup>a</sup> Seis pares (19, 20, 21,

22, 23 y 24) el grupo 6.<sup>a</sup> y los pares (27, 28, 29, 30 y 31) más el cromosoma sexual Y el grupo 8.<sup>a</sup>.

4.<sup>a</sup> El cromosoma sexual X está representado por el segundo elemento en tamaño de toda la dotación. Es bibracuial de brazos desiguales por la posición submediana de su centrómero.

5.<sup>a</sup> El cromosoma sexual Y corresponde al elemento monobraquial, por su centrómero aparentemente telocéntrico, y el antepenúltimo en tamaño del complejo del macho. Se distingue claramente de los restantes por caracterizarle la disposición vertical y paralela de sus cromátidas, frente a la horizontal de los dos pares siguientes que simulan estar formados por una sola cromátida con una hendidura que señala la posición terminal del centrómero.

## EQUUS ASINUS

### REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

El asno (*Equus asinus*) es uno de los mamíferos domésticos menos estudiados; únicamente MATTHEY<sup>65</sup> al referirse a él menciona a dos investigadores: MAKINO que en 1948 indica para el complejo diploide del asno el número cromosómico que daba también para la dotación del caballo  $2n = 66$  y MELADZE<sup>66</sup> que considera  $2n = 60$  como el número cromosómico diploide de la especie *Equus asinus*.

Muy recientemente TRUJILLO y colaboradores<sup>67</sup> empleando como material sangre periférica, que cultivan siguiendo una técnica basada (con varias modificaciones) en el método de MOORHEAD y colaboradores (1960), señalan 62 cromosomas como componentes del complejo del asno; formando éstos 19 pares cromosómicos metacéntricos y 12 pares cromosómicos acrocéntricos.

Dividen la dotación en los seis grupos siguientes:

1.<sup>a</sup> Grupo.—Formado por 13 cromosomas metacéntricos en el macho y 14 en la hembra. Señalan que el cromosoma X es el cuarto en tamaño, que los pares tercero y cuarto son algo más pequeños que los dos anteriores. Los pares primero y cuarto poseen centrómero subterminal, el segundo y tercero, submediano y el quinto, mediano.

2.<sup>a</sup> Grupo.—Contiene dos pares de autosomas acrocéntricos.

3.<sup>a</sup> Grupo.—Siete pares metacéntricos con diferente situación de sus centrómeros.

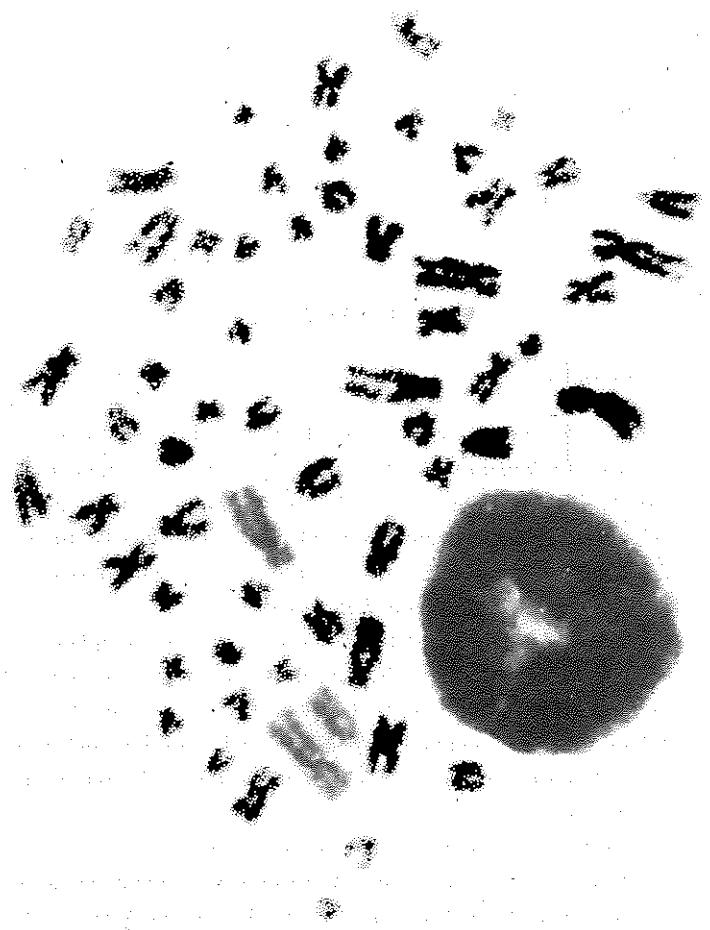


Fig. 9.—*Equus asinus* ♂  $2n = 62$ .

— 120 —

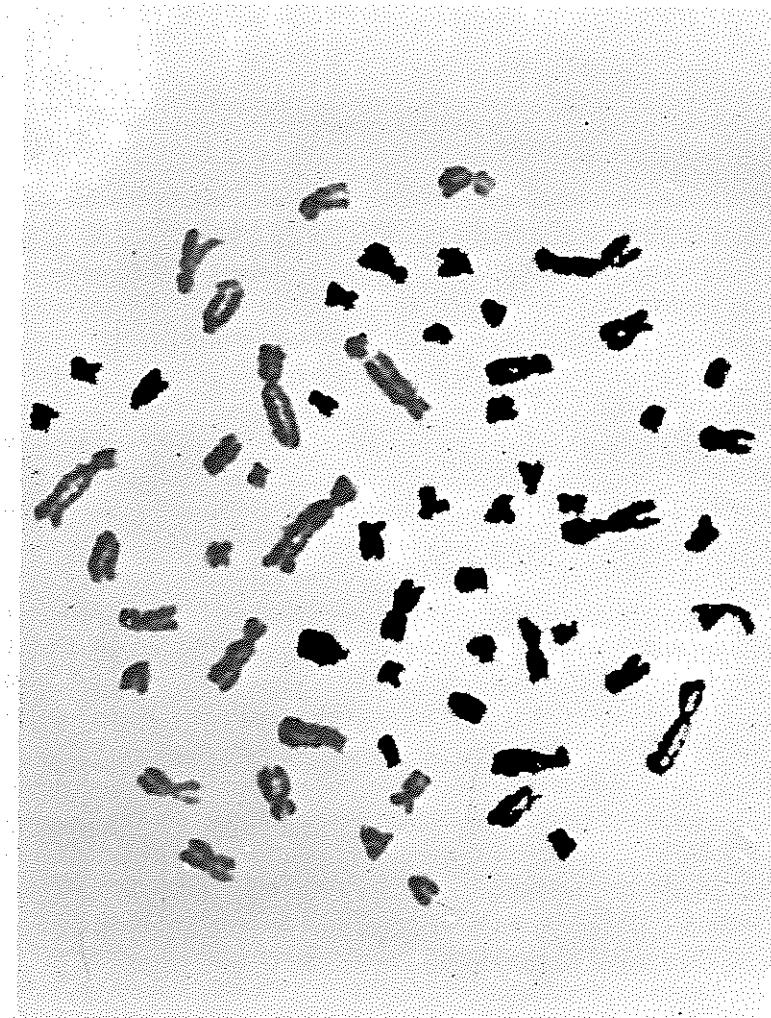


Fig. 10.—*Equus asinus* ♀  $2n = 62$ .

— 121 —

- 4.º Grupo.—Seis pares acrocéntricos de longitud media.
- 5.º Grupo.—Seis pares de cromosomas metacéntricos pequeños.
- 6.º Grupo.—Tres pares de cromosomas acrocéntricos pequeños.
- El cromosoma Y viene dado por el más pequeño de la dotación.

## OBSERVACIONES

El material de *Equus asinus* consistió en médula roja de esternón, procedente de doce animales:

De cada muestra hicimos de 20 a 25 preparaciones siendo por tanto el número total de ellas de 240 a 300. En ellas observamos todas las metafases existentes, eligiendo aquéllas que mostraban perfecta separación cromosómica. De éstas seleccionamos un macho y otra hembra para fotografiar (fig. 9 y 10).

Los ejemplares estudiados de ésta especie tenían de uno a cuatro años.

En todas las células metafásicas en que realizamos el estudio del asno (*Equus asinus*) observamos constantemente un mismo número cromosómico; siendo éste de 62 en diploide y 31 en haploide.

La certeza de nuestro recuento puede ser comprobada en las dos microfotografías, de macho y hembra, que adjuntamos como ejemplos representativos de la calidad de las placas observadas. En éstas, la separación cromosómica es tal que en todo el complejo no existen elementos entrecruzados, apelotonados o ligeramente adheridos unos a otros; sino que por el contrario se encuentran todos perfectamente individualizados y con una morfología completamente clara que permite reconocer las cromátidas que les forman, así como la zona en que ellas se mantienen unidas por la presencia del centrómero. Por todas estas circunstancias consideramos el número  $2n = 62$  como la cifra cromosómica definitiva para la dotación de esta especie.

Hacemos los idiogramas (figs. 9' y 10') determinando primeramente los cromosomas homólogos, los cuales en la dotación hembra son dos a dos los 62 elementos, formando así 31 pares, mientras que en el macho son 30 parejas de homólogos más el par restante heteromórfico de cromosomas sexuales X e Y. Seguidamente ordenamos los pares en serie decreciente de acuerdo con la longitud total que cada uno de ellos posee, haciendo excepción en la segunda y tercera pareja con las cuales inver-

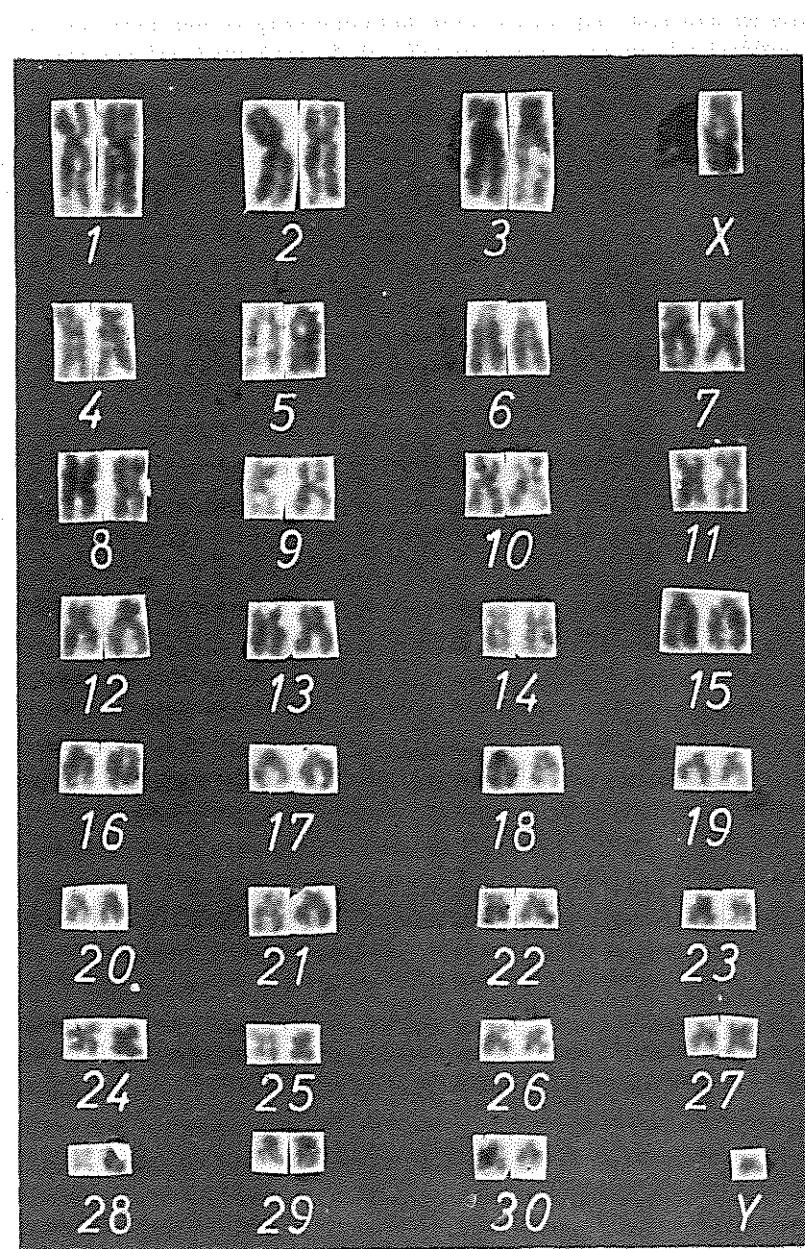


Fig. 9'—*Equus asinus* ♂ idiograma.

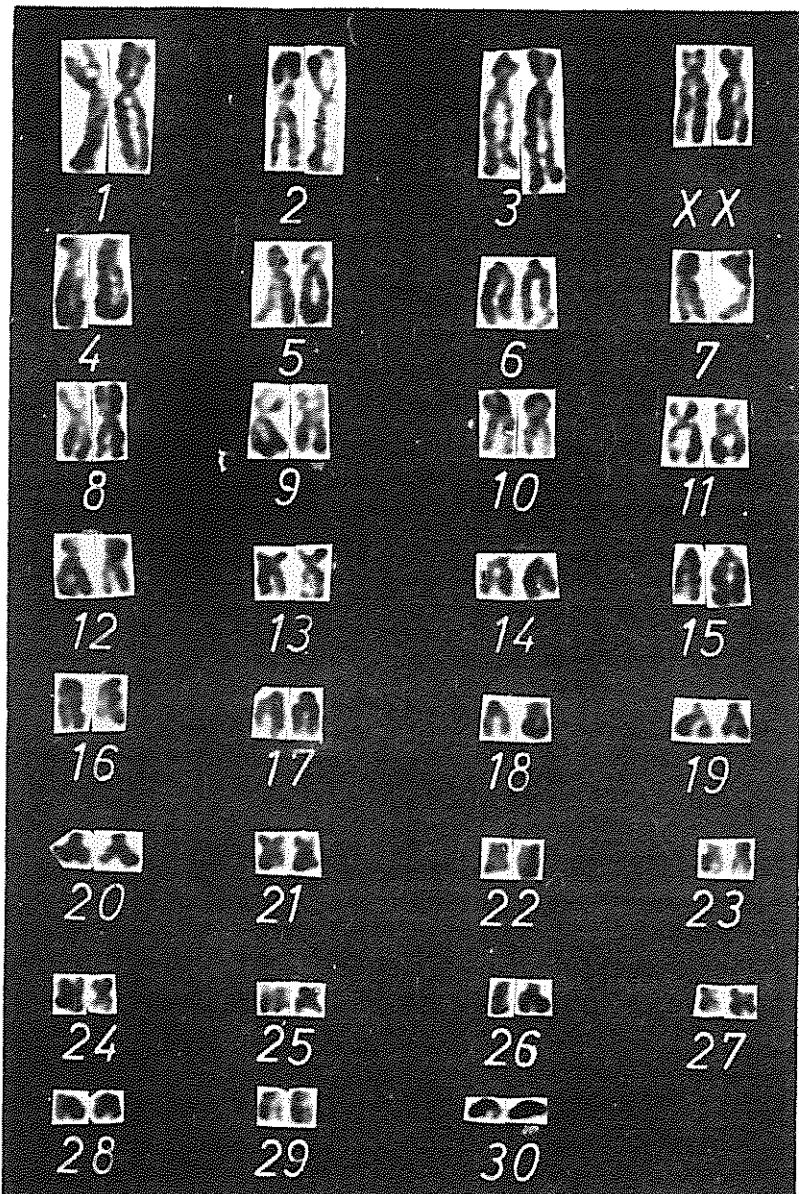


Fig. 10'.—*Equus asinus* ♂ idiograma.

timos el orden por la gran similitud morfológica que cada una de ellas presenta con las compañeras de los distintos grupos en que las incluimos.

El par heteromórfico del complejo del macho consta de un cromosoma bobraquial de tamaño grande y otro monobraquial que es el más pequeño de todos los componentes. El hecho de que en la hembra no aparezca este último elemento, sino solamente el grande de tipo bobra-

TABLA VII

*Características cuantitativas del complejo *Equus asinus*.*

A) *Cromosomas Bibraquiales: (21 pares + X)*

*Longitudes en %*

Grupo	Número	B.L.	B.C.	Total	Relac. B.L. / B.C.
1.º	1	4,00	2,46	6,46	1,3/0,8
	2	3,23	2,46	5,69	1,05/0,8
2.º	3	4,86	1,49	6,46	1,6/0,5
	X	3,69	0,93	4,62	1,2/0,3
4.º	4	3,53	1,07	4,60	1,15/0,35
	5	3,23	0,93	4,16	1,05/0,3
7	7	1,84	1,84	3,69	0,60/0,60
	8	1,84	1,84	3,69	0,60/0,60
9	9	1,84	1,84	3,69	0,60/0,60
	10	2,15	1,54	3,69	0,7/0,5
11	11	2,15	1,23	3,38	0,7/0,4
	12	2,15	1,23	3,38	0,7/0,4
13	13	1,84	1,23	3,07	0,6/0,4
	14	1,84	1,23	3,07	0,6/0,4
21	21	1,54	0,93	2,47	0,5/0,3
	22	1,38	0,76	2,45	0,45/0,25
23	23	1,23	0,76	2,00	0,40/0,25
	24	1,00	1,00	2,00	0,325/0,325
6.º	25	1,00	1,00	2,00	0,325/0,325
	26	0,93	0,93	1,85	0,30/0,30
27	27	0,93	0,93	1,85	0,30/0,30
	28	0,93	0,93	1,86	0,30/0,30

TABLA VIII

## B) Cromosomas monobraquiales (9 pares + Y)

Grupo	Número	Longitud
3. <sup>o</sup>	6	4,00
	15	3,07
	16	2,76
5. <sup>o</sup>	17	2,47
	18	2,47
	19	2,47
	20	2,47
7. <sup>o</sup>	29	1,84
	30	1,54
	Y	1,23

quial que a su vez nos es fácil emparejarle con otro homólogo a él; nos permite deducir que el cromosoma X es el bobraquial y el monobraquial el Y.

Los cromosomas de este mamífero doméstico *Equus asinus* poseen al igual que los del caballo (*Equus caballus*) forma muy variada por la distinta posición que en ellos presenta el centrómero: desde telocéntricos a metacéntricos, con todos los tipos intermedios. La identificación de los pares, si bien presenta dificultades en ambos animales por el elevado número de cromosomas que contienen sus células mitóticas; el estudio en el asno ofrece mayor facilidad por existir en él un número mucho más reducido de pares telocéntricos que en el caballo. Efectivamente, mientras el caballo macho contiene 13 pares más el cromosoma X de tipo bobraquial y 18 más el cromosoma Y monobraquial, en el asno macho hay 21 pares y el cromosoma X bobraquial y 9 pares más el cromosoma Y son monobraquiales.

En las tablas VII y VIII expresamos las características cuantitativas más importantes del complejo. En la primera están los componentes cromosómicos bobraquiales de los cuales señalamos la longitud total expresada en tanto por ciento de la total del cariotipo, el tamaño correspondiente a cada uno de sus brazos, largo y corto y la relación existente entre ellos.

La tabla VIII contiene solamente los cromosomas que poseen centrómero terminal o sea de tipo monobraquial, por lo que indicamos la longitud de su único brazo que corresponde prácticamente a la total.

Clasificamos el complejo del asno (*Equus asinus*) en siete grupos, incluyendo en cada uno de ellos aquellos componentes que coinciden o son semejantes en las dos propiedades más importantes: posición del centrómero y longitud total. De estos siete grupos, cuatro (I, II, IV y VI) están formados por cromosomas bobraquiales; siendo los de los tres restantes (I, V y VII) monobraquiales.

1.<sup>o</sup> Grupo.—Lo forman dos pares cromosómicos, 1 y 2 del idionograma. En tamaño son el primero y el segundo de todo el complejo. Ambos poseen centrómero submediano, aunque el segundo es más metacéntrico que el primero y por ello difieren en la relación de sus brazos cromosómicos.

2.<sup>o</sup> Grupo.—Cuatro pares cromosómicos en el cariotipo de la hembra y tres más el elemento impar X en la dotación del macho (3, 4 y 5).

Caracteriza a este grupo la análoga morfología que presentan todos los elementos por la posición subterminal de sus centrómeros. Entre cada par existen unas meras diferencias de tamaño total, y relación de brazos cromosómicos por la posición más o menos subterminal del centrómero en cada uno.

El primer par es considerablemente mayor que los restantes del grupo y superior también al último par del grupo anterior, siendo el segundo en tamaño de toda la dotación. La relación de brazos es de 1,3/0,8.

El segundo par de este grupo en la hembra o elemento impar en el macho representa el cromosoma sexual X. Su tamaño es inferior al par precedente y ligeramente superior a los dos pares restantes. Este carácter y algunas diferencias morfológicas nos permiten su diferenciación. Los pares 4 y 5 difieren, aunque poco, en longitud total y posición del centrómero y por tanto en la relación de brazos cromosómicos.

3.<sup>o</sup> Grupo.—Consideramos en este grupo un sólo par cromosómico 6 porque la posición terminal del centrómero confiere a sus cromosomas una estructura monobraquial que le diferencia claramente de los elementos bobraquiales que integran el segundo y cuarto grupos.

4.<sup>o</sup> Grupo.—Ocho pares cromosómicos (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14). Los cinco primeros son prácticamente idénticos en longitud total y algo superiores a los tres restantes también similares entre sí.

Los pares 7, 8 y 9 poseen centrómero mediano o casi mediano. En los pares 10 y 11 es submediano y el par 12 es el único con centrómero subterminal, teniendo éste posición submediana en los dos últimos pares 13 y 14.

La identificación de los verdaderos cromosomas homólogos es difícil entre los tres primeros pares así como también entre los pares 10 y 11 puesto que en ambos casos, coinciden entre sí en longitud y posición del centrómero. El par 12 se distingue perfectamente y no ofrece dudas el 13 con respecto al 14 por existir entre ellos una diferencia morfológica.

5.<sup>o</sup> Grupo.—Está integrado por seis pares (15, 16, 17, 18, 19 y 20). Todos ellos pertenecen a la serie monobraquial por tener centrómero terminal o aparentemente terminal. La longitud es en este grupo el carácter diferencial más importante; ella nos permite distinguir los pares 15, 16 y 21. El 15 por ser el mayor del grupo, el 21 el más pequeño y el 16 intermedio entre el 15 y los tres pares restantes (17, 18 y 19) de tamaño aparentemente análogo y difíciles de reconocer.

6.<sup>o</sup> Grupo.—Ocho pares cromosómicos bobraquiales (21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 y 28). El emparejamiento de estos pares es difícil, especialmente para los cinco últimos que presentan centrómero en posición mediana y la longitud total es sólo ligeramente superior en dos de ellos 24 y 25. Se diferencian fácilmente el par 21 por tener centrómero subterminal y ser el mayor del grupo. Los pares 22 y 23 tienen centrómero submediano y casi análoga longitud total.

7.<sup>o</sup> Grupo.—Contiene dos pares cromosómicos, presentes en las dotaciones de ambos sexos y un elemento más existente sólo en el complejo macho, que consideramos como el cromosoma sexual Y de la especie. El centrómero es en todos aparentemente terminal. En tamaño el par 29 supera al 30 y éste a su vez al cromosoma Y el más pequeño del complejo, por esto no es dudoso el emparejamiento de los homólogos ni la identificación del cromosoma Y.

## DISCUSION

En el recuento cromosómico de *Equus asinus* estamos de acuerdo con las recientes aportaciones cariogámicas de TRUJILLO y cols. al observar en él 62 cromosomas y no el número  $2n = 66$  indicado por MAKINO o el  $2n = 60$  señalado por MELADZÉ.

En la descripción morfológica no coincidimos con la señalada por TRUJILLO y cols, ya que para ellos el complejo de *Equus asinus* macho, contiene 39 cromosomas bobraquiales y 23 monobraquiales y 40 cromosomas bobraquiales y 22 monobraquiales el de *Equus asinus* hembra; mientras que nosotros observamos para la dotación *Equus asinus* macho 43 cromosomas bobraquiales y 19 monobraquiales y para la hembra 44 cromosomas bobraquiales y 18 monobraquiales.

Difiere, también, nuestro trabajo del de TRUJILLO y cols, en la clasificación en grupos; debida ésta quizás a que nosotros efectuamos un estudio detallado, longitud y posición precisa del centrómero, de todos los cromosomas componentes del complejo; describiendo así una morfología mucho más variada que ellos.

Respecto a la identificación de los cromosomas X e Y, determinantes del sexo coincidimos con la dada por TRUJILLO y cols.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup>) El número cromosómico que integra la dotación diploide de *Equus asinus* es  $2n = 62$ .

2.<sup>a</sup>) El cariotipo de la hembra consta de 31 pares de elementos homólogos, mientras que el del macho tiene 30 pares de homólogos y dos cromosomas heteromórficos X e Y.

3.<sup>a</sup>) Se caracteriza este complejo por la gran variedad morfológica que presentan sus cromosomas, motivada principalmente por la distinta posición que presenta en ellos el centrómero. En general responden a dos tipos:

- A) Cromosomas bobraquiales.
- B) Cromosomas monobraquiales.

A) Son bobraquiales todos los cromosomas que forman los grupos I, II, IV y VI de la dotación; el número asciende a 22 pares de homólogos en la hembra y 21 más el cromosoma sexual X en el macho. Estos son:

- a) Ocho pares (7, 8, 9, 24, 25, 26, 27 y 28) con centrómero metacéntrico o casi metacéntrico.
- b) Seis pares en la hembra y cinco más el cromosoma sexual X en el macho (3, X, 4, 5, 12 y 21) presentan centrómero en posición subterminal.

c) Ocho pares (1, 2, 10, 11, 13, 14, 22 y 23) de tipo submediano.  
B) Son monobraquiales nueve pares del complejo hembra y nueve más el cromosoma sexual Y en el macho. Comprenden los grupos III, 6 V (15, 16, 17, 18, 19 y 20) y VII (29, 30 e Y) del idiograma.

4.<sup>a</sup>) El cromosoma sexual X corresponde a un elemento, cuarto en tamaño del complejo, bobraquial de brazos desiguales por la posición subterminal de su centrómero.

5.<sup>a</sup>) El cromosoma sexual Y es el elemento más pequeño de toda la dotación. Posee centrómero aparentemente terminal, por ello, su estructura es monobraquial.

#### EQUUS CABALLUS $\times$ EQUUS ASINUS

##### REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

El estudio cariogámico detallado del híbrido mulo (*Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus*) no ha sido realizado hasta el momento presente; ya que el único trabajo que encontramos es el efectuado recientemente por TRUJILLO y cols.<sup>70</sup> que señalan 63 cromosomas para el complejo *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus* e indican que en la hembra distinguen fácilmente el X del *Equus caballus* y el X del *Equus asinus* y en el macho reconocen el X del *Equus caballus* y el Y del *Equus asinus*. Dividen la dotación en dos grandes series: una, con 13 cromosomas metacéntricos y 18 acrocéntricos procedentes del *Equus caballus* y otra, de 19 cromosomas metacéntricos y 12 acrocéntricos procedentes del *Equus asinus*.

En líneas generales nuestras observaciones coinciden con las de TRUJILLO y cols. si bien nosotros precisamos la longitud y posición del centrómero de cada uno de los cromosomas, considerando así para ellos una morfología mucho más variada que la dada por TRUJILLO y cols. y señalando para cada uno la procedencia paterna.

##### OBSERVACIONES

Empleamos médula roja de esternón, de ejemplares de raza desconocida, aunque por la selección seguida en las paradas de sementales es probable que procedan de razas caballares diversas *Equus asinus* Zamorano-Leónés o Catalán. Tomamos muestra de cinco machos y

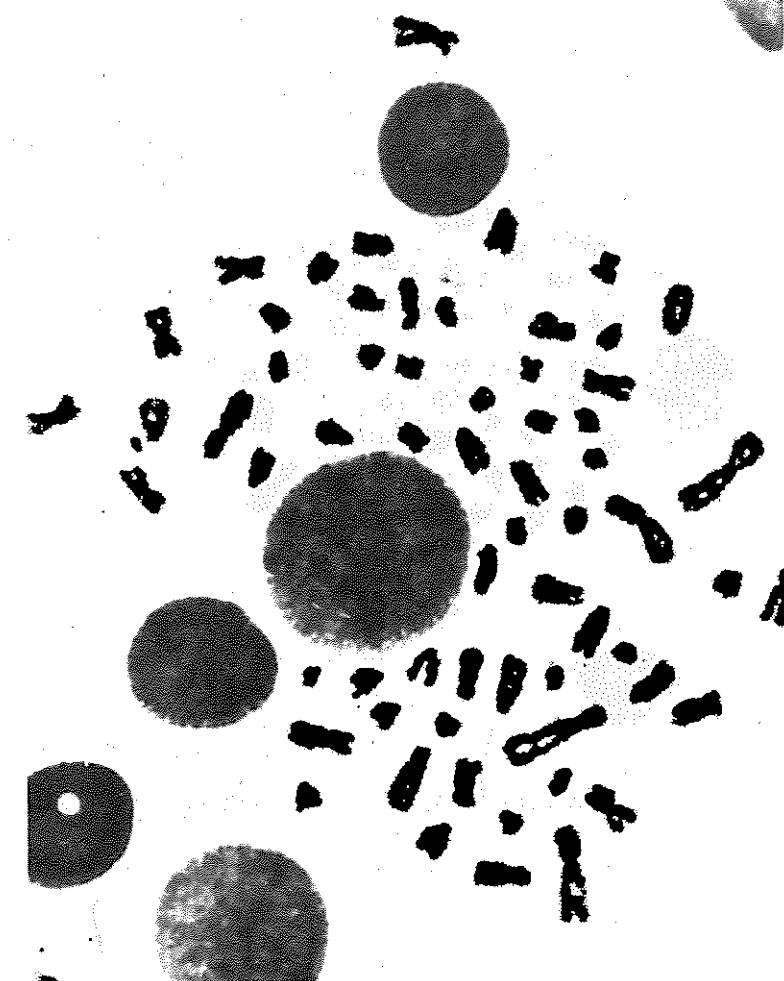


Fig. 11.—*Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus* ♂ 2n = 63.

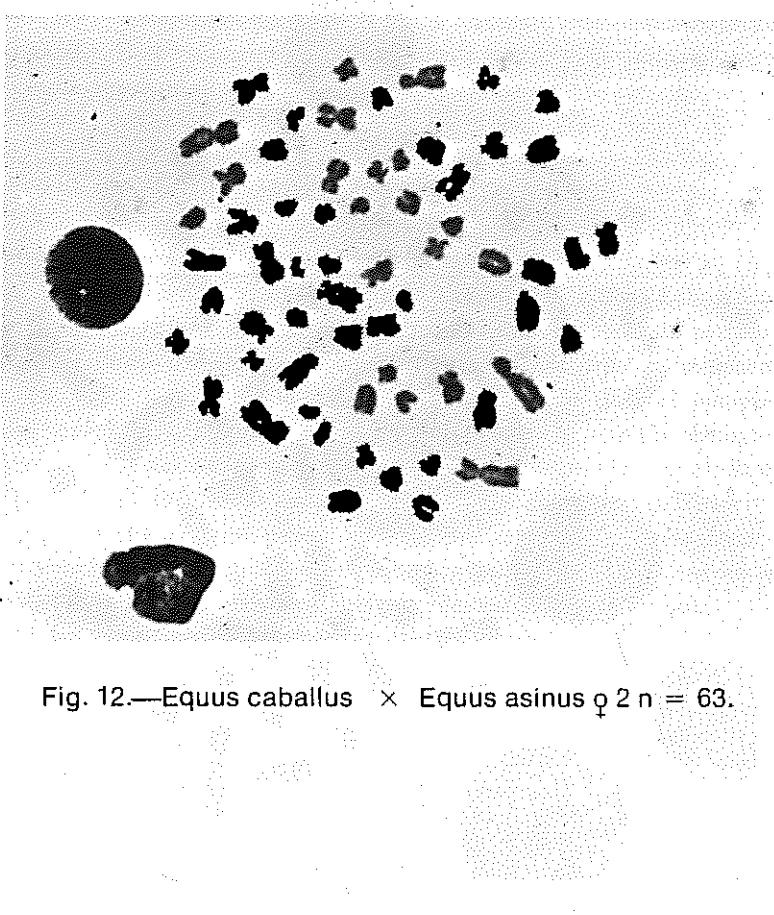


Fig. 12.—*Equus caballus* × *Equus asinus* ♀ 2 n = 63.

cuatro hembras haciendo de cada una, unas 20 preparaciones; siendo éstas en total  $(5 + 4) \times 20 = 180$ . Estudiadas microscópicamente sus metasfasas elegimos una de macho y otra de hembra para fotografiar.

El mulo es el híbrido de *Equus asinus* × *Equus caballus*, de aquí se deduce la extraordinaria importancia de su estudio cromosómico puesto que éste no solamente nos proporciona todas las características referentes a la especie en sí, como en los restantes animales estudiados, sino que además nos permite obtener la mejor confirmación de los datos cariogámicos logrados en el estudio aislado de las especies *Equus asinus* y *Equus caballus*. Así como también, por las semejanzas cromosómicas del caballo y el asno realizar un estudio comparativo de los tres idiogramas.

En todas las placas metasfásicas de este híbrido diploide hemos encontrado, como indican las microfotografías que adjuntamos (fig. 11 y 12), la cifra cromosómica  $2n = 63$ ; número éste que está perfectamente de acuerdo con los observados para *Equus caballus*  $2n = 64$  y *Equus asinus*  $2n = 62$  puesto que el complejo cromosómico del híbrido está integrado por un elemento de cada par cromosómico del caballo y otro de cada una de las parejas que forman el complejo del asno, o sea  $32 + 31 = 63$  cromosomas.

El carácter híbrido de esta especie (*Equus caballus* × *Equus asinus*) se manifiesta en su dotación cromosómica por no ser posible en ella el emparejamiento de elementos homólogos, que constantemente hacemos en todas las especies puras, por la diversidad morfológica existente entre las dotaciones paternas; de aquí que el idiograma del mulo sea totalmente distinto al de los restantes mamíferos que estudiamos.

En dicho idiograma (fig. 11) presentamos dos microfotografías; la superior una metasafe de *Equus asinus* macho y la inferior de *Equus caballus* hembra. El idiograma que presentamos pertenece a una metasafe de mulo macho. Identificamos los cromosomas de la serie A como representante en él de su progenitor *Equus asinus* macho y en la serie B los procedentes de su progenitor hembra *Equus caballus*. Efectuamos, aunque a veces resulta dificultosa, esta identificación porque entre cada par cromosómico del mulo y los componentes de las dotaciones paternas existen analogías de forma, posición del centrómero y el tamaño proporcional dentro del cariotipo. Por esto en ambas especies señalamos los mismos grupos que hicimos en el estudio separado de *Equus asinus* y *Equus caballus*.

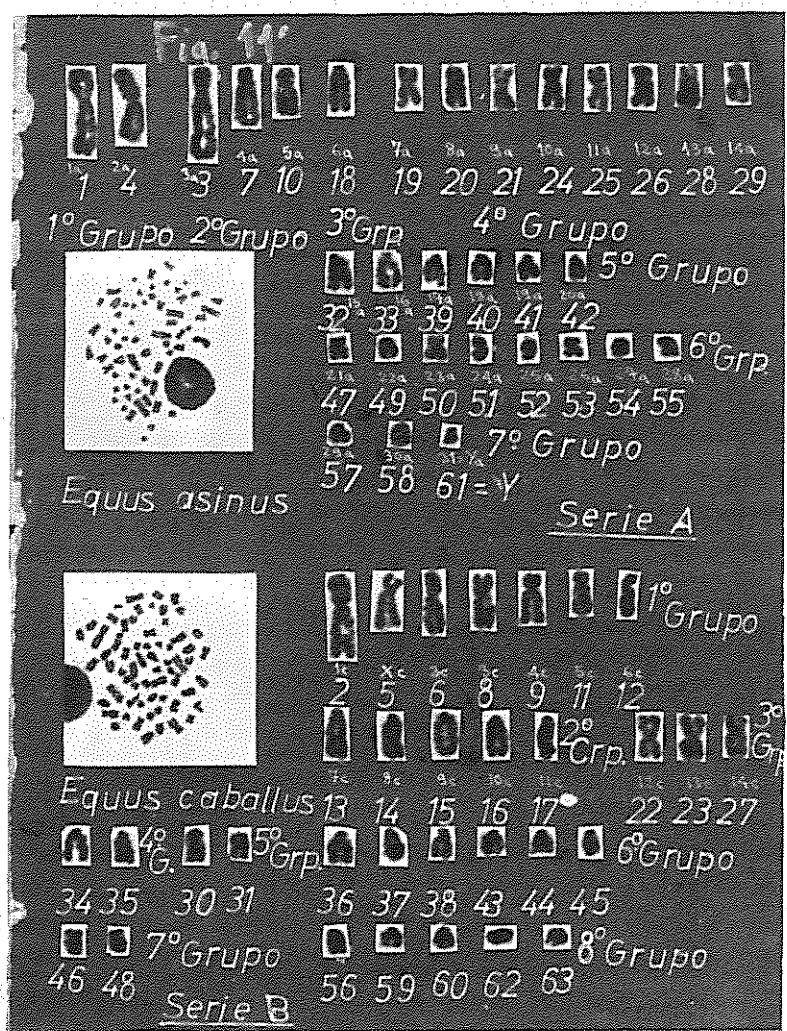


Fig. 11:

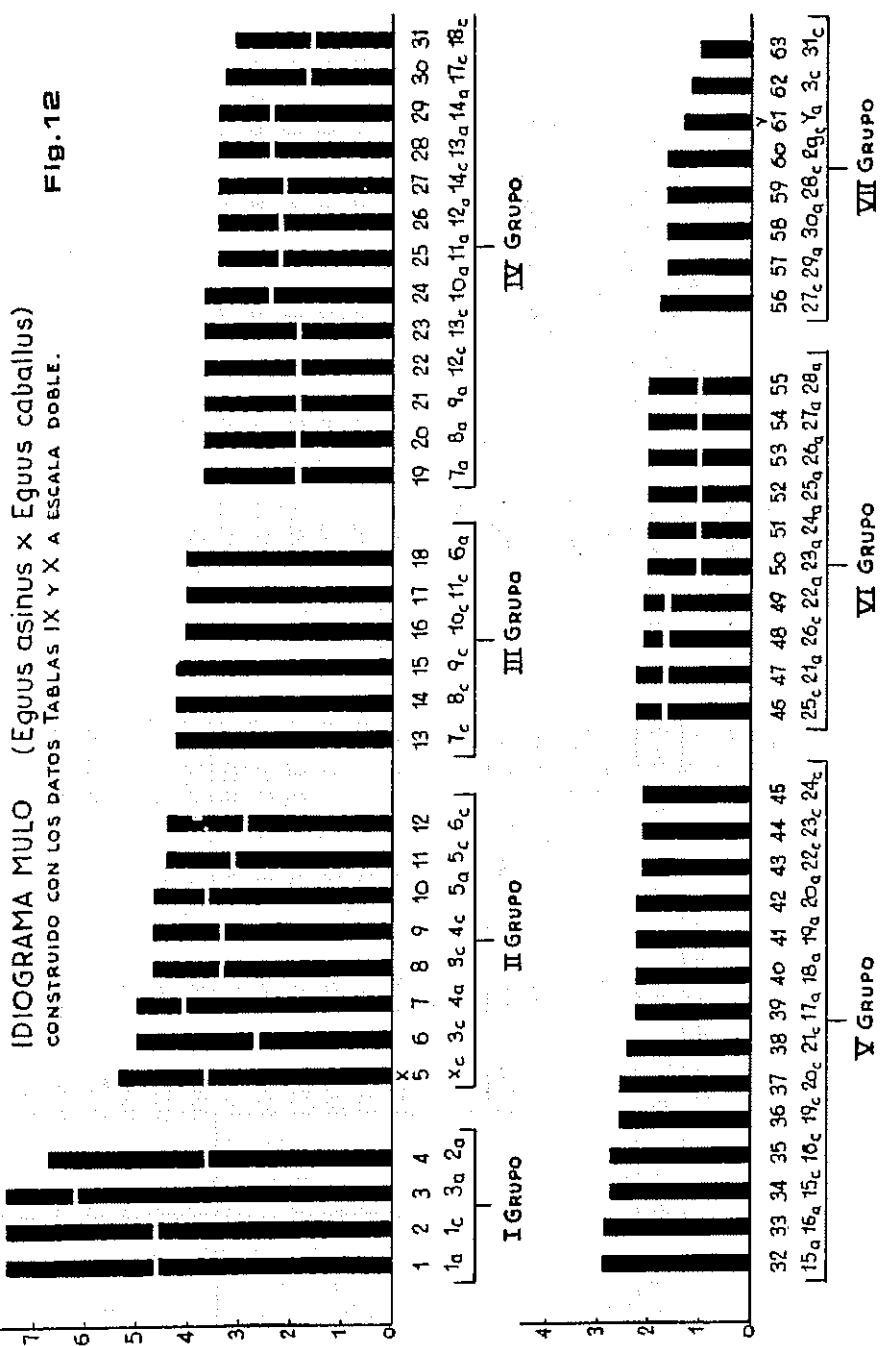


TABLA IX

Datos cuantitativos del complejo *Equus caballus* x *Equus asinus*

## A) Cromosomas bibrquiales

Longitudes en %

Grupo	Número	B.L.	B.C.	Total	Rel. BL/BC	Longitudes en %				Rel. BL/BC.
						Grupo	Número	B.L.	B.C.	
1. <sup>a</sup>	1 <sub>1a</sub>	2,26	1,45	3,71	1,4/0,9	25 <sub>1a</sub>	1,05	0,56	1,61	0,65/0,35
	2 <sub>1c</sub>	2,26	1,45	3,71	1,4/0,9	26 <sub>12a</sub>	1,05	0,56	1,61	0,65/0,35
	3 <sub>3a</sub>	3,07	0,64	3,71	1,9/0,4	27 <sub>14c</sub>	0,97	0,64	1,61	0,6/0,4
	4 <sub>2a</sub>	1,77	1,61	3,38	1,1/1	28 <sub>13a</sub>	1,13	0,48	1,61	0,7/0,3
	5 <sub>5c</sub>	1,77	0,81	2,58	1,1/0,5	29 <sub>1a</sub>	1,13	0,48	1,61	0,7/0,3
	6 <sub>2c</sub>	1,29	1,13	2,42	0,8/0,7	30 <sub>17c</sub>	0,77	0,77	1,54	0,48/0,48
	7 <sub>4a</sub>	1,94	0,48	2,42	1,2/0,3	31 <sub>18c</sub>	0,72	0,72	1,45	0,45/0,45
	8 <sub>3c</sub>	1,61	0,64	2,26	1/0,4	46 <sub>25c</sub>	0,81	0,24	1,05	0,5/0,15
2. <sup>a</sup>	9 <sub>4c</sub>	1,61	0,64	2,26	1/0,4	47 <sub>21a</sub>	0,81	0,24	1,05	0,5/0,15
	10 <sub>5a</sub>	1,77	0,48	2,26	1,1/0,3	48 <sub>26c</sub>	0,81	0,19	1,00	0,5/0,12
	11 <sub>5c</sub>	1,53	0,64	2,17	0,95/0,4	49 <sub>22a</sub>	0,78	0,24	1,00	0,47/0,15
	12 <sub>6c</sub>	1,37	0,72	2,09	0,85/0,45	6. <sup>a</sup>	50 <sub>23a</sub>	0,48	0,48	0,96
	19 <sub>7a</sub>	0,88	0,88	1,77	0,55/0,55	51 <sub>24a</sub>	0,48	0,48	0,96	0,3/0,3
	20 <sub>8a</sub>	0,88	0,88	1,77	0,55/0,55	52 <sub>25a</sub>	0,48	0,48	0,96	0,3/0,3
	21 <sub>9a</sub>	0,88	0,88	1,77	0,55/0,55	53 <sub>26a</sub>	0,48	0,48	0,96	0,3/0,3
4. <sup>a</sup>	22 <sub>12c</sub>	0,88	0,88	1,77	0,55/0,55	54 <sub>27a</sub>	0,48	0,48	0,96	0,3/0,3
	23 <sub>13c</sub>	0,88	0,88	1,17	0,55/0,55	55 <sub>28a</sub>	0,48	0,48	0,96	0,3/0,3
	24 <sub>16a</sub>	1,13	0,64	1,77	0,7/0,4					

TABLA X

## B) Cromosomas monobraquiales

Grupo	Número	Longitud	Grupo	Número	Longitud
3. <sup>a</sup>	13 <sub>7c</sub>	2,10	7. <sup>a</sup>	40 <sub>18a</sub>	1,13
	14 <sub>8c</sub>	2,10		41 <sub>19a</sub>	1,13
	15 <sub>9c</sub>	2,10		42 <sub>20a</sub>	1,13
	16 <sub>10c</sub>	2,02		43 <sub>22c</sub>	1,05
	17 <sub>11c</sub>	2,02		44 <sub>23c</sub>	1,05
	18 <sub>6a</sub>	2,02		45 <sub>24c</sub>	1,05
5. <sup>a</sup>	32 <sub>15a</sub>	1,45	7. <sup>a</sup>	56 <sub>27c</sub>	0,88
	33 <sub>16a</sub>	1,52		57 <sub>29c</sub>	0,81
	34 <sub>15c</sub>	1,37		58 <sub>30a</sub>	0,81
	35 <sub>16c</sub>	1,37		59 <sub>28c</sub>	0,81
	36 <sub>19c</sub>	1,29		60 <sub>29c</sub>	0,81
	37 <sub>20c</sub>	1,29		61 <sub>xa</sub>	0,64
8. <sup>a</sup>	38 <sub>21c</sub>	1,21	7. <sup>a</sup>	62 <sub>30c</sub>	0,56
	39 <sub>17a</sub>	1,13		63 <sub>31c</sub>	0,48

La carencia de elementos homólogos en el mulo híbrido nos impidió identificar los cromosomas sexuales X e Y con el único par heteromórfico del complejo como sucede normalmente en todas las especies de mamíferos domésticos. En este caso la única solución posible, para señalar los cromosomas sexuales, es el estudio comparativo de los cariotipos de los dos sexos, macho y hembra de mulo.

De los 63 cromosomas que integran ambos complejos existen 35 bibrquiales y 28 monobraquiales en el del mulo macho y 36 bibrquiales y 27 monobraquiales en el de hembra. En la serie B del mulo señalamos por un X al elemento similar al X del caballo y en la serie A identificamos el cromosoma Y del asno. En la serie B del mulo hembra encontramos tal cromosoma (X del caballo) pero en su serie A no observamos el Y del asno y sí un elemento similar al X del asno. Esto nos indica que el sexo está determinado en el mulo macho por el cromosoma Y del asno y en el mulo hembra por el cromosoma X del asno; llevando además ambos sexos el cromosoma X del caballo puesto que como siempre los cromosomas determinantes del sexo son, en la hembra los elementos homólogos XX y en el macho los heteromórficos XY.

En la tabla IX detallamos las características cuantitativas más importantes de los cromosomas bobraquiales y en la X de los monobraquiales.

En el esquema alineamos todos los cromosomas del mulo con relación a su decreciente tamaño, siendo éste y la morfología (bobraquial o monobraquial) los dos factores más similares entre los componentes de cada uno de los ocho grupos en que clasificamos el complejo.

De estos ocho grupos, cuatro (I, II, IV y VI) tienen cromosomas bobraquiales y los otros cuatro (III, V, VII y VIII) monobraquiales.

1.<sup>o</sup> Grupo.—Comprende los cuatro cromosomas más grandes del complejo. Tres (1<sub>a</sub>, 2<sub>a</sub> y 3<sub>a</sub>) proceden del asno y el restante (1<sub>c</sub>) del caballo. Este del caballo es similar en tamaño y posición del centrómero (submediano) con el 1<sub>a</sub> del asno.

2.<sup>o</sup> Grupo.—En el mulo macho está formado por ocho cromosomas, seis proceden del caballo (X<sub>c</sub>, 2<sub>c</sub>, 3<sub>c</sub>, 4<sub>c</sub>, 5<sub>c</sub> y 6<sub>c</sub>) y dos del asno (4<sub>a</sub> y 5<sub>a</sub>) mientras que el mulo hembra contendría nueve cromosomas, siendo de éstos los mismos del caballo y tres del asno (X<sub>a</sub>, 4<sub>a</sub> y 5<sub>a</sub>). Todos los cromosomas de este grupo son distintos ya que aunque algunos poseen análoga longitud difieren por la posición del centrómero y la relación de sus brazos. El centrómero es submediano en X<sub>c</sub>, mediano-submediano en 2<sub>c</sub>, subterminal en 4<sub>a</sub> y 5<sub>a</sub>, y es submediano-subterminal en los cromosomas 3<sub>c</sub>, 4<sub>c</sub>, 5<sub>c</sub> y 6<sub>c</sub>.

3.<sup>o</sup> Grupo.—Consideremos en este grupo del mulo el tercer grupo del idiograma del asno (cromosoma 6<sub>a</sub>) y el segundo grupo del caballo (7<sub>c</sub>, 8<sub>c</sub>, 9<sub>c</sub>, 10<sub>c</sub> y 11<sub>c</sub>) el cromosoma del asno es similar en tamaño a dos (10<sub>c</sub> y 11<sub>c</sub>) del caballo, siendo los tres algo inferiores a los otros tres restantes del caballo, también prácticamente de similar longitud.

4.<sup>o</sup> Grupo.—Está formado por trece cromosomas (19-31) que proceden: ocho del grupo cuarto del asno (7<sub>a</sub> - 14<sub>a</sub>) tres del grupo tercero del caballo (12<sub>c</sub>, 13<sub>c</sub> y 14<sub>c</sub>) y dos (17<sub>c</sub> y 18<sub>c</sub>) del grupo quinto del caballo.

Los cinco primeros cromosomas de este grupo (19-23) coinciden en longitud total y posición del centrómero (metacéntrico). Del estudio comparativo de las dotaciones paternas deducimos que tres de estos elementos provienen del asno y dos del caballo; pero la determinación de cada uno de ellos es muy difícil porque únicamente difieren en caracteres morfológicos secundarios. Sin embargo, en los restantes elementos la posición del centrómero nos permite reconocer la procedencia paterna

(metacéntricos del caballo y submedianos y subterminales del asno) e identificar cada uno de ellos por la relación de sus brazos cromosómicos.

5.<sup>o</sup> Grupo.—Si bien incluimos dentro de este grupo a catorce cromosomas, diferenciamos en él dos grupos. En el primer subgrupo consideramos cuatro cromosomas (15<sub>a</sub>, 16<sub>a</sub>, 15<sub>c</sub> y 16<sub>c</sub>) que representan los elementos monobraquiales de tamaño medio del complejo. Los dos primeros proceden del asno, uno de otro difieren ligeramente en longitud, siendo ésta a su vez levemente superior a la de los dos restantes procedentes del caballo y similares entre sí en tal dimensión.

Consideramos en el segundo subgrupo, los elementos monobraquiales y penúltimos en tamaño de la dotación. Son diez de ellos, seis proceden del caballo (19<sub>c</sub>, 20<sub>c</sub>, 21<sub>c</sub>, 22<sub>c</sub>, 23<sub>c</sub> y 24<sub>c</sub>) en el que forman el grupo sexto y los otros cuatro restantes (17<sub>a</sub>, 18<sub>a</sub>, 19<sub>a</sub> y 20<sub>a</sub>) pertenecen al grupo cuarto del asno.

6.<sup>o</sup> Grupo.—Diez cromosomas (46-55) de éstos dos (25<sub>c</sub> y 26<sub>c</sub>), por su mayor tamaño y centrómero subterminal les reconocemos como procedentes del grupo séptimo del caballo y a los ocho restantes (22<sub>a</sub>-28<sub>a</sub>) como los representantes del característico grupo quinto del asno; ya que el caballo carece de elementos bobraquiales de tan pequeña longitud. De éstos sólo es posible identificar los dos mayores (ambos subterminales pero con diferente relación de brazos) porque los cinco restantes coinciden aparentemente en tamaño y posición (mediana) del centrómero.

7.<sup>o</sup> Grupo.—Ocho cromosomas (56-63) que son los monobraquiales más pequeños del complejo. Tres proceden del asno (29<sub>a</sub>, 30<sub>a</sub> y Y<sub>a</sub>) en cuya dotación forman el grupo sexto y los cinco restantes del caballo (27<sub>c</sub>, 28<sub>c</sub>, 29<sub>c</sub>, 30<sub>c</sub> y 31<sub>c</sub>) que integran el grupo octavo de su complejo.

El primero del grupo (27<sub>c</sub>) pertenece al caballo y es de longitud superior a los cuatro siguientes, 29<sub>a</sub>, 30<sub>a</sub>, 28<sub>c</sub> y 29<sub>c</sub>, similares entre sí en tamaño y morfología. Por esto es difícil diferenciar los dos del asno de los dos del caballo; mientras que en los tres restantes (Y<sub>a</sub>, 30<sub>c</sub> y 31<sub>c</sub>) se reconoce claramente el del asno (cromosoma sexual Y) por su distinta morfología.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> La dotación diploide del híbrido *Equus caballus* × *Equus asinus* contiene 63 cromosomas.

2.<sup>a</sup> Caracteriza al complejo *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus* la carencia de elementos homólogos, haciendo esto imposible el emparejamiento de sus cromosomas.

3.<sup>a</sup> Morfológicamente los 63 cromosomas que integran la dotación pertenecen a dos grandes series:

A) Cromosomas bibraciales.

B) Cromosomas monobraquiales.

A) Son cromosomas bibraciales los incluidos en los grupos 1.<sup>a</sup>, 2.<sup>a</sup>, 4.<sup>a</sup> y 6.<sup>a</sup>. En total son 35 cromosomas en el macho y 36 en la hembra. Por la posición de su centrómero son:

a) Trece cromosomas (19, 20, 21, 22, 23, 30, 31, 51, 52, 53, 54 y 55) metacéntricos.

b) Ocho cromosomas comunes a ambos sexos (3, 7, 10, 26, 46, 47, 48 y 49) más el X de hembra, subterminales.

c) Nueve cromosomas (1, 2, 4, 24, 25, 28, 29 y X<sub>c</sub>) son submedianos.

d) Un cromosoma 6 con centrómero mediano-submediano.

e) Cuatro cromosomas (8, 9, 11 y 12) con centrómero en la zona submediana-subterminal.

B) Son cromosomas monobraquiales los componentes de los grupos: 3.<sup>a</sup>, (13, 14, 15 y 16), 5.<sup>a</sup> (32 - 45) y 7.<sup>a</sup> (56 a 63). En total son 28 elementos en el macho y 27 en la hembra.

4.<sup>a</sup>) En el mulo macho el cromosoma X procede del cromosoma X de su progenitor *Equus caballus* hembra y en el mulo hembra los componentes XX uno del progenitor *Equus asinus* macho y el otro de su progenitor *Equus caballus* hembra.

5.<sup>a</sup>) El cromosoma Y determinante del sexo macho proviene en el híbrido *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus* de su progenitor *Equus asinus* macho.

#### RELACION CARIOGAMICA ENTRE EQUUS CABALLUS Y EQUUS ASINUS

El número diploide de *Equus caballus* es  $2n = 64$ , r de *Equus asinus*  $2n = 62$ .

Las diferencias entre estos complejos cromosómicos no son únicamente numéricas, sino también morfológicas ya que *Equus caballus*

tiene 13 pares de autosomas más el cromosoma sexual X bibraciales y 18 pares de autosomas más el cromosoma Y monobraquiales, mientras que *Equus asinus* tiene 21 pares de autosomas más el cromosoma X bibraciales y 9 pares de autosomas más el cromosoma sexual Y monobraquiales. Los cromosomas sexuales son también muy diferentes en las dos especies.

La disparidad numérica y morfológica entre las dos dotaciones paternas del híbrido *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus*, nos justifica su número cromosómico  $2n = 63$ , la falta de cromosomas homólogos en su dotación, así como el carácter estéril de los híbridos machos, pero no explica, el porqué son fértiles determinados híbridos hembras produciendo varios vástagos en el cruzamiento con *Equus asinus*.

#### FELIS DOMESTICA

##### REVISION BIBLIOGRAFICA

Las aportaciones cromosómicas que tenemos del gato (Félix doméstica) se remontan a los estudios hechos por WINIWARTER y SAINMON en 1909<sup>81</sup> y proseguidos por WINIWARTER del 1914 a 1919. Indican que el complejo diploide del gato consta de 36 cromosomas siendo dos de ellos de tipo X. Así mismo en los óvulos de la hembra encuentran dos heterocromosomas yuxtapuestos coloreados diferentemente, WINIWARTER<sup>83</sup> y<sup>84</sup> señala para el gato macho 35 cromosomas existiendo en éstos solamente un tipo X.

GUTHIER (71 y 72) no acepta los resultados dados por WINIWARTER. Aunque no determina una cifra exacta para el número cromosómico del gato indica «que en la ovogénesis existen por lo menos 38 cromosomas.»

MINOUCHI (76 y 77) conservando el material con solución fuerte de Flemming (carente de ácido acético glacial) observa 38 cromosomas en la metafase espermatogonial del gato. Intento identificar los pares de homólogos no sólo por la longitud y forma de los cromosomas, sino también por la posición en la placa ecuatorial. Teniendo en cuenta todos esos factores señala (fig. 1) los cromosomas homólogos e indica ver en las dos metafases que muestra (fig. 3 y 4) 19 tetradas de las cuales 18 están formadas por dos cromosomas iguales mientras que la restante está compuesta por elementos desiguales que señala como cromosomas sexuales del tipo XY.

Más tarde MINOUCHI en colaboración con OHTA<sup>78</sup> y<sup>79</sup> estudiaron material testicular de los machos y ovarios de las hembras cortado en secciones de 8 a 10 micras y fijando con solución fuerte de Flemming (sin ácido acético) diluido a partes iguales de agua. En las metasfases de los dos sexos (fig. 3 a 5) indica la existencia de 38 cromosomas. Describen: tres pares de cromosomas grandes con centrómero mediano o submediano, unos cuatro pares con centrómero subterminal, cuatro pares de cromosomas intermedios subterminales o terminales, nueve pares pequeños, de estos tres submedianos y los seis restantes terminales o subterminales y un par heteromórfico con centrómero terminal que parece ser el grupo XY.

Estas nuevas ideas, obligaron a WINIWARTER<sup>85</sup> a revisar y comparar sus preparaciones con las de MINOUCHI. Por tal estudio admite WINIWARTER las conclusiones del citólogo japonés afirmando la existencia de dos razas de gato: uno de digametia XO con 35 y 36 cromosomas y otra de digametia XY con 38 y 38 cromosomas.

MATHEY<sup>74</sup> fijando con CHAMPY y tiñendo con hematoxilina sérica y fuchina sulfurosa (método de Feulgen) aceptan en el recuento de sus preparaciones el mismo número dado anteriormente por MINOUCHI. Atribuye los resultados erróneos de WINIWARTER al empleo de una técnica un poco peor que la del citólogo japonés.

Posteriormente continuó su estudio WINIWARTER<sup>85</sup> afirmando que no existían dos razas de gato como anteriormente había señalado, sino que el gato macho del que tomó material para hacer sus preparaciones era un individuo anormal con 35 cromosomas y que los otros gatos poseían efectivamente 38 cromosomas.

A la misma cifra  $2n = 38$  llega KOLLER en 1941.<sup>73</sup> Fija el material testicular con solución MINOUCHI y tiñe las secciones de 16 a 20 micras con violeta de genciana. Compara todos los elementos componentes del complejo diploide y no observa en él la existencia de un par heteromórfico o desigual que representaría, como es lógico, los elementos sexuales XY. Por ello sugiere que ambos cromosomas X e Y sean muy similares en tamaño. Indica que toda la dotación puede ser colocada en una serie de 19 pares bivalentes; serie en la que existe una declinación gradual entre los pares cromosómicos más grandes y los más pequeños con respecto a su longitud. Por ello considera muy difícil identificar los miembros del par XY que apenas se diferencian en longitud.

KOLLER se propone encontrar una diferencia estructural para los cromosomas sexuales; por ello no hace descripción morfológica de toda

la dotación; únicamente indica que la mayoría de sus componentes tienen forma de V con dos brazos iguales o desiguales, y que el centrómero del par más grande tiene posición subterminal o submediana, mientras que es mediana en el par más pequeño e interpreta la configuración del X e Y como dos cromosomas en los cuales el centrómero es submediano. En ambos brazos poseen un segmento terminal siendo éste más pequeño en el brazo corto del Y que en el brazo corto del X, por estar relacionado su tamaño, con la diferente longitud de ambos cromosomas.

#### Cromosomas sexuales

MINIWARTER Y SAINMONT<sup>81</sup> consideran que el gato macho tenía una dotación del tipo XO. En distinto trabajo WINIWARTER admite la existencia de un sólo cromosoma de tipo X que él supone de tipo submetacéntrico y de brazos desiguales y posteriormente indica dos razas de gato una de digametia XO y otra XY.

MINOUCHI señala para el cromosoma X del gato una forma de bastón, de longitud mediana y para el Y un cromosoma de los más pequeños; pero dicho autor no llega a identificarlos por considerar que las células están mal conservadas ya que ambos X e Y se encontraban en la zona central de la placa metasfásica en vez de en la periferia como correspondía a su estado normal.

MATHEY afirma «yo no estoy completamente seguro sobre el tipo de digametia del gato, pero puedo afirmar que en el complejo no hay cromosomas impares y que por consiguiente no se deberá hablar del tipo XO.»

MINOUCHI y OHTA mantienen ya, en unanimidad con KOLLER, una digametia para el gato del tipo XY. Los dos primeros diferencian el sexo morfológicamente interpretando por X un elemento telocéntrico de talla media que en el curso del crecimiento sufre heteropignosis.

KOLLER<sup>73</sup> no observa en la dotación del gato macho un par heteromórfico o desigual que representaría a los cromosomas sexuales X e Y por lo cual ambos serían aparentemente muy similares en tamaño.

#### OBSERVACIONES

En la especie *Felis doméstica* el material ha consistido en médula roja de cabeza de fémur. Empleamos dieciocho ejemplares: diez machos y ocho hembras de raza desconocida.

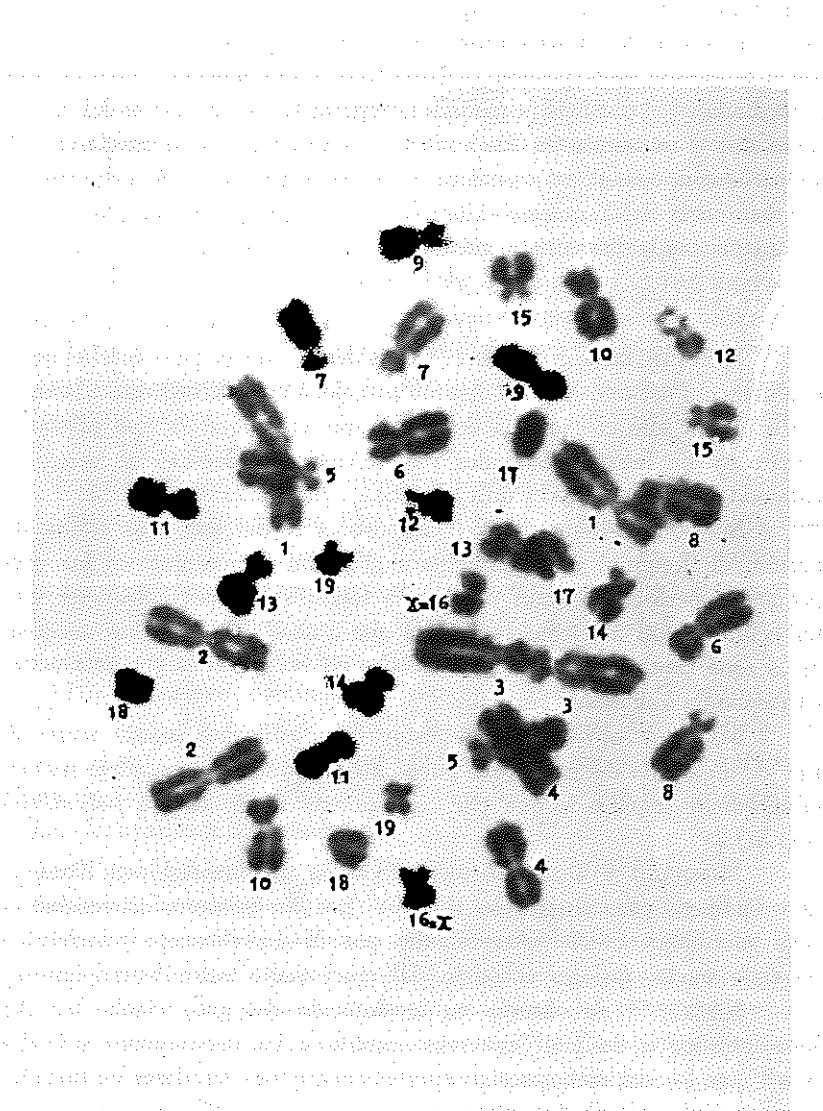


Fig. 13.—*Felis domestica* ♀  $2n = 38$ .

Chromosomes of a female domestic cat. The chromosomes are arranged in pairs and numbered 1 through 19, with an additional X chromosome. The chromosomes are dark-stained and set against a light background.

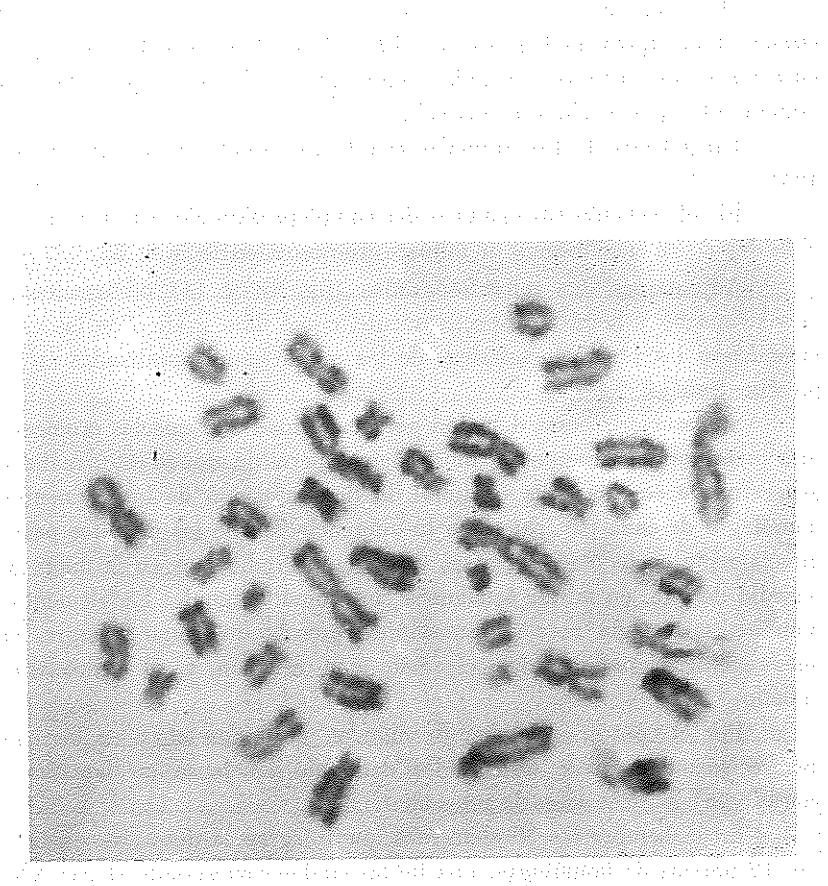


Fig. 14.—*Felis domestica* ♂  $2n = 38$ .

Chromosomes of a male domestic cat. The chromosomes are arranged in pairs and numbered 1 through 19, with an additional X chromosome. The chromosomes are dark-stained and set against a light background. The chromosomes are similar in size and shape to those of the female, but the X chromosome is slightly larger. The chromosomes are arranged in pairs and numbered 1 through 19, with an additional X chromosome. The chromosomes are dark-stained and set against a light background.

De cada muestra hicimos unas 20 preparaciones, siendo así en número total aproximadamente de  $(10 + 8) \times 20 = 360$ . De estas preparaciones las metáfases elegidas representan sólo un 3 por 100 del número total de sus células en división.

Las edades de los animales estudiados oscilaban de uno a dos años.

En el recuento cariogámico del complejo diploide perteneciente a *Felis doméstica* encontramos un número cromosómico de  $2n = 38$ .

Adjuntamos dos microfotografías (fig. 13 y 14) pertenecientes al sexo macho y hembra respectivamente, como dato gráfico de los cromosomas y las placas metáfasicas de las preparaciones realizadas en el presente trabajo.

Se caracteriza esta dotación por la claridad con que los cromosomas presentan sus diferencias morfológicas permitiéndonos esto, realizar generalmente con bastante facilidad, la determinación de los elementos homólogos de cada par, así como la diferenciación de los distintos pares directamente en la placa metáfásica. Tal como indicamos en la microfotografía de ésta, en la que señalamos con números iguales los elementos homólogos de cada pareja cromosómica guardando, como siempre, la numeración asignada, orden creciente con relación a su decreciente tamaño.

Por el contrario la identificación en *Felis doméstica* de los elementos sexuales ofrece dificultades dada su semejanza en tamaño y morfología con otros pares de autosomas.

En la hembra los 38 elementos que integran la dotación constituyen 19 parejas de homólogos, una de las cuales corresponde al par XX; en tanto que en el macho son 18 pares de homólogos más los dos cromosomas sexuales heteromórficos X e Y determinantes de dicho sexo.

En la tabla XI expresamos los valores cuantitativos más importantes del complejo, hallamos la longitud total de cada cromosoma en tanto por ciento de la total del cariotipo y determinamos la posición del centrómero por la relación existente entre los brazos largo y corto de cada cromosoma.

Por la semejanza de estos caracteres agrupamos los 38 elementos en los grupos siguientes:

1.<sup>o</sup> Grupo.—Pares 1, 2 y 3. Todos son perfectamente diferenciables por la morfología que les confiere la distinta posición que en ellos presenta el centrómero así: en el par uno es submediano; sus dos brazos cro-

TABA XI

Datos cuantitativos del cariotipo de *Felis doméstica*

Longitudes en %

Grupo	Número	B. L.	B.C.	Total	Relac. BL/BC
1. <sup>o</sup>	1	6,45	3,67	10,12	2,1/1,2
	2	4,59	4,29	8,88	1,5/1,4
	3	6,12	1,83	7,98	2/0,6
2. <sup>o</sup>	4	3,36	3,36	6,72	0,4/0,4
	5	4,59	1,53	6,12	1,5/0,5
	6	3,67	2,14	5,81	1,2/0,7
3. <sup>o</sup>	7	3,67	1,53	5,20	1,2/0,5
	8	3,67	1,53	5,20	1,2/0,5
	9	3,06	1,83	4,89	1/0,6
4. <sup>o</sup>	10	3,06	1,83	4,89	1/0,6
	11	2,75	1,53	4,28	0,9/0,5
	12	2,46	1,53	3,99	0,8/0,5
5. <sup>o</sup>	13	2,14	1,83	3,97	0,7/0,6
	14	2,46	1,53	3,99	0,8/0,5
	15	2,14	1,22	3,36	0,7/0,4
6. <sup>o</sup>	16=X	1,83	1,53	3,36	0,6/0,5
	17	3,36	tel	3,36	telocéntrico
	18	2,75	tel	2,75	telocéntrico
7. <sup>o</sup>	19	1,37	1,07	2,44	0,45/0,35
	Y	1,22	1,07	2,29	0,40/0,35

mosómicos son grandes y guardan entre sí una proporción aproximada de 2, 1/1, 2. El par dos es metacéntrico o casi metacéntrico, ya que la situación casi mediana del centrómero dá una relación a sus brazos de 1,45/1,45 mientras que el tercero y último par del grupo tiene centrómero en la región subterminal siendo la proporción de sus brazos considerablemente mayor que en los pares precedentes (relación = 2/0, 6).

En longitud total los tres pares contienen los cromosomas mayores de todo el complejo, si bien dicho tamaño constituye un dato diferencial más, puesto que es distinto en cada uno de ellos.

2.<sup>o</sup> Grupo.—4, 5 y 6. Estos tres pares cromosómicos son de menor tamaño que los pares precedentes, pero como en ellos su longitud es

distinta en cada uno, decreciendo del primero al tercero, así como también son igualmente fáciles de diferenciar por la situación del centrómero: el par 4 es metacéntrico o casi metacéntrico y de morfología similar al par 2 con el que se diferencia únicamente por poseer un tamaño menor.

El par 5 tiene el centrómero subterminal coincidiendo en esto, en morfología y casi en la relación existente entre sus brazos cromosómicos con el par 3 del que se distingue, también únicamente, por la diferencia de tamaño.

En el par 6 el centrómero es submediano confiriendo al cromosoma una relación de brazos y morfología muy similar a la del par 1, aunque el tamaño total de este par 6 es aproximadamente igual a las 2/5 partes del 1.

3.º Grupo.—Está constituido por cinco pares cromosómicos (7, 8, 9, 10 y 11). La posición que presenta el centrómero no es distinta para cada par como ocurre en los dos grupos anteriores, sino que en los dos primeros pares 7 y 8 es semejante, son ambos subterminales y de morfología, tamaño total y relación de brazos idénticos, siendo esta última de 1, 2/0, 5. Los pares 9 y 10 tienen centrómero submediano coincidiendo también ambos en el tamaño total ( $LT = 4,95\%$ ), inferior ésta al de los dos precedentes ( $LT = 5,26\%$ ) y en la proporción en que están sus brazos cromosómicos igual 1/0,6. Por tan semejantes características cromosómicas resulta verdaderamente difícil la identificación de los homólogos de cada pareja.

El par 11 es el último y más pequeño del grupo. Posee centrómero submediano y la relación entre sus brazos cromosómicos 0,9/0,5 análoga a la existente en el primer par del cariotipo.

4.º Grupo.—Tiene cuatro pares de autósomas (12, 13, 14 y 15) más los elementos sexuales XX en la hembra o X sólo en el macho. En tamaño el primer par supera a todos los demás, el 13 y 14 son similares entre sí y algo superiores a los dos siguientes 15 y 16 también idénticos.

La posición que presenta el centrómero es distinta en cada uno de ellos: el primer par tiene centrómero submediano y los brazos cromosómicos en relación 0,8/0,5. El par 13 es mediano-submediano, la relación 0,7/0,6 y una morfología muy característica, no sólo con respecto a los restantes elementos del grupo, sino de toda la dotación por ser el único par que posee satélites. Dichos satélites están colocados sobre los brazos cortos de cada cromosoma y son perfectamente observables

debido a que tienen un tamaño aproximadamente igual a la mitad de dicho brazo corto.

En los cromosomas del par 14 el centrómero submediano confiere a los brazos la relación 0,8/0,5.

Tiene centrómero submediano-subterminal el par 15. Sus brazos cromosómicos difieren no sólo en longitud, entre los cuales la relación es de 0,7/0,4 sino también en el mayor grosor que muestran los largos con respecto a los cortos. Esto último le imprime una morfología característica dentro de todo el complejo.

El par 16 presente en el cariotipo de hembra o elemento impar en el macho, le identificamos como cromosoma sexual X. Su tamaño total es análogo al del par anterior pero su morfología es totalmente distinta. Posee centrómero mediano y la relación de brazos es 0,6/0,5.

5.º Grupo.—Los dos únicos pares que le forman 17 y 18 coinciden en la posición que presenta el centrómero en ellos, terminal o aparentemente terminal. La identificación de los homólogos de cada par es relativamente sencilla porque uno, el 17, tiene longitud total ligeramente superior al otro, 18.

6.º Grupo.—Consta del par cromosómico 19 común para ambos sexos y de un elemento impar, que por corresponder al cromosoma sexual Y está presente sólo en las placas metafásicas del macho. La identificación de cada uno de ellos resulta difícil por su gran similitud morfológica: en los tres cromosomas el centrómero es mediano-submediano y son muy escasas las diferencias en tamaño y relación de brazos.

#### DISCUSIÓN

En el presente trabajo confirmamos, con el recuento cromosómico, el número  $2n = 38$  que se venía admitiendo en la actualidad para la dotación diploide del gato (*Felis domestica*); presentando dos microfotografías como ejemplo del estado cromosómico de las metafases estudiadas, ya que después de estudios repetidos sobre el complejo de *Felis doméstica* son muy escasos y extraordinariamente deficientes los datos (dibujos y microfotografías) confirmativos que presentan en sus trabajos los autores.

GUTHERZ (71 y 72) es el primero que hace referencia a 38 cromosomas para el complejo del gato, afirmando «que en la ovogénesis exis-

ten por lo menos 38 cromosomas», pero no presenta dibujos o microfotografías de las metafases que estudió.

En los dibujos de la placa metafásica de MINOUCHI (77 y 78) los cromosomas no están separados ni presentan características morfológicas diferenciales. Fenómeno éste muy frecuente en las células mal conservadas como ya sospechó el mismo autor al referirse a la posición anormal que presentaba en la fig. 3 y 4 el par bivalente que supone como XY.

Coincidimos con la idea de MATHIEY (74) de que «una diferencia racial tal como la concebida por WINIWARTER y con la expresión citológica tan acentuada haría posible una hibridación entre las dos formas». Por otra parte, como bien dice él mismo, «sería muy curioso que las razas suizas fuesen idénticas a la raza del Japón y todas diferentes a la raza belga.»

En el trabajo de MINOUCHI y OHTA (78 y 79) las metafases espermatogoniales (fig. 3 a 5) no muestran separación cromosómica ni tampoco (en fig. 2, 3 y 4) están claras las características morfológicas de cada uno de ellos. Del alineamiento (fig. 1) que hacen del complejo los mismos autores, afirman que los componentes de los pares cromosómicos no parecen homólogos por existir aparentemente una diferencia mutua de tamaño, debido a que dicha figura es una proyección oscura de la placa real vista al microscopio. Por tal aspecto oscuro y las características indeterminadas que presentan los cromosomas en sus figuras, es explícable que la clasificación que en líneas generales hacen sobre los distintos cromosomas existentes en la dotación (enunciada en la introducción) no coincide con la clasificación señalada por nosotros. Así no estamos de acuerdo con la posición terminal que asignan como más probable para el par sexual heteromórfico XY. Para nosotros estos cromosomas presentan centrómero en la zona mediana-submediana. En los autosomas es imposible determinar si verdaderamente coincidimos en algo, puesto que por un lado no precisan a qué cromosoma corresponde cada tipo morfológico y por otro no diferencian los elementos con centrómero terminal de los de subterminal ni los cromosomas de tipo mediano de los de submediano.

El trabajo de KOLLER<sup>73</sup> presenta dibujos (fig. 1 a 27) en los que no podemos definir la morfología del par bivalente XY ni obtener una idea clara sobre la morfología existencia y posición del centrómero en un cromosoma cualquiera del complejo. En la metafase (fig. 1 a 3)

los cromosomas, apelotonados unas veces o ligeramente aislados otras, presentan siempre un hinchamiento anormal; factor éste correspondiente a una defectuosa técnica de preparación o conservación del material.

Por todo esto si bien consideramos evidentes todas las interpretaciones y conclusiones de KOLLER para las placas mitóticas que estudió, solamente son coincidentes nuestras conclusiones con sus observaciones en las ideas más generales. Así comprobamos que los 19 pares bivalentes forman serie gradualmente decreciente en tamaño y que efectivamente entre los dos cromosomas sexuales X e Y no existe una diferencia grande de tamaño ni ambos son de centrómero terminal. Pero no coincidimos con él en la identificación que señala para los cromosomas X e Y puesto que indica que el par más grande tiene centrómero submediano o subterminal, el más pequeño mediano y los dos sexuales X e Y submediano; luego no señala por Y al cromosoma más pequeño del complejo como manifiestan claramente nuestras placas metafásicas.

## CONCLUSIONES

- 1.<sup>a</sup>) Confirmamos con el presente trabajo, la existencia de 38 cromosomas en el complejo diploide de la especie *Felis doméstica*.
- 2.<sup>a</sup>) Clasificamos, por su homología, los 38 elementos integrantes de la dotación en 19 parejas en las metafases hembra y 18 más el par heteromórfico XY en macho.
- 3.<sup>a</sup>) Morfológicamente, por la posición que presenta el centrómero, pertenecen los cromosomas a los seis tipos siguientes:
  - a) Siete pares (1, 6, 9, 10, 11, 12 y 14) de autosomas submedianos.
  - b) Dos pares (2 y 4) más los cromosomas sexuales XX en hembra e impar X en macho medianos.
  - c) Un sólo par (15) de elementos submedianos subterminales.
  - d) Dos pares 17 y 18 con centrómero terminal o aparentemente terminal.
  - e) Dos pares 13 y 19 más el cromosoma sexual Y tienen el centrómero en posición mediana-submediana.
  - f) En los pares 3, 5, 7 y 8 la situación del centrómero es subterminal.

4.<sup>a</sup>) El par 15, del grupo 4.<sup>o</sup>, posee un satélite perfectamente marcado porque su longitud es prácticamente semejante al brazo cromosómico corto donde está colocado.

5.<sup>a</sup>) El cromosoma sexual X corresponde al par 16 (XX) de la dotación hembra o sólo X del macho. Posee centrómero en posición mediana y longitud total similar al par 15 del que se diferencia perfectamente (centrómero submediano-subterminal) y un satélite en el brazo corto).

6.<sup>a</sup>) El cromosoma sexual Y es el más pequeño (LT = 2,29 %) del complejo, siendo ligeramente inferior al par 19 (LT = 2,44 %) con el que es semejante por la posición mediana-submediana de su centrómero.

#### CANIS FAMILIARIS

##### REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

Hasta el momento presente son muy pocos los trabajos efectuados sobre el estudio cariogámico de la especie *Canis familiaris*.

Fue RATH<sup>81</sup> en 1894 el primer investigador que aportó un número cromosómico para el perro (*Canis familiaris*), indicando para su complejo diploide  $2n = 64$ .

MALONE<sup>88</sup> indicó 22 cromosomas en la hembra y 21 en el macho, teniendo éste un cromosoma sexual.

Posteriormente los autores, aunque escasos, coinciden en señalar para el complejo cromosómico de este mamífero doméstico un número más elevado  $2n = 78$  así:

MINOUCHI<sup>89-90</sup> intentando conseguir una relación genética entre el racoon dog (*Nyctereutes viverrinus*) y el perro (*Canis familiaris*) que explicara el origen ancestral de este último, llevó a cabo un amplio estudio sobre ellos. De ambos utiliza material testicular que corta en piezas de 1 a 2 mm. de diámetro y fija con solución fuerte de Flemming (carente de ácido acético); hace después secciones de 8 ó 9 micras que tinte con hematoxilina férica de Heidenhain. En sus conclusiones referidas al perro, indica para los dos sexos 78 cromosomas en el complejo diploide y 39 en el haploide. Todos a excepción de un elemento atelomítico, eran de forma de bastón. En el macho observa la existencia de un par heteropienotípico.

AHMED<sup>86</sup> efectuó análisis cariogámico en ejemplares de razas: Sea-Lyan, Spaniel y Spaniel  $\times$  Manchester Terrier, con idea de determinar el número y la estructura de los cromosomas en cada una y de averiguar las relaciones morfológicas entre sus cromosomas. Empleó su técnica (AHMED 1940) haciendo uso de la solución fijadora de MINOUCHI A (b) y tiñendo el material, en secciones de micra, con violeta de Genciana. El recuento cromosómico en las células de las dos razas y el híbrido fue coincidente justificando a su vez el número ya dado por MINOUCHI  $2n = 78$ .

Morfológicamente el autor expresa la imposibilidad de hacer un detallado análisis de los cromosomas debido al gran número que contenían las células metafásicas de esta especie y su pequeño tamaño. Sin embargo indica ver claramente (fig. 1, 2, 3) que los cromosomas eran de varios tamaños y formas. Considera que el más grande era aproximadamente tres veces el tamaño del más pequeño y que tres elementos de la dotación poseían distintas formas de V con los brazos cromosómicos iguales o desiguales, que determinaban la posición mediana o submediana del centrómero. Pudiendo ser esto atribuible a una cualquiera de las razas, ya que entre ellas no encontró caracteres diferenciables.

TAKAYAMA<sup>93</sup> hace estudio cromosómico en células tumorales de un perro hembra que compara con metafases de un perro macho normal. En este último investiga sobre un cultivo de células de pulmón. Señala (fig. 17) que el complejo normal consta de 77 elementos de forma de bastón y un cromosoma grande en forma de V.

En el trabajo más reciente (1961) de TAKAYAMA y MAKINO<sup>94</sup> también sobre tumores venéreos de perro hembra, señala para el cariotipo normal del perro las mismas conclusiones dadas ya por TAKAYAMA anteriormente. Desconocemos si ambos autores repetirían el estudio del perro normal consiguiendo en él análogos resultados o se basarían en la propia labor realizada por TAKAYAMA anteriormente.

##### Cromosomas sexuales

MALONE<sup>88</sup> indica únicamente la existencia de un cromosoma sexual en el macho, señalando así un tipo sexual XO. Para MINOUCHI (89-90) el par heteropienotípico presente en el macho le considera representante de los dos cromosomas sexuales X e Y estableciendo así, en contradicción con MALONE, que el mecanismo determinante del sexo macho era XY.

AHMED<sup>86</sup> afirma «hay definitivamente dos cromosomas sexuales los cuales difieren en tamaño, el más largo es designado por X mientras que el más pequeño es considerado por el cromosoma Y». Observa en las distintas razas que estudia dos tipos de bivalente XY, el simétrico y el asimétrico pero dice, el autor, que debido a la dificultad de analizar individualmente los bivalentes en la metafase no puede obtener suficientes datos para determinar la frecuencia de estos dos tipos en las tres razas; cree observar ambos en todas ellas lo que hace pensar que no llegó a identificar los verdaderos cromosomas sexuales.

TAKAYAMA<sup>93</sup> identifica como el cromosoma X a un elemento grande y el único en el complejo de forma de V. Respecto del Y no hace mención alguna.

#### OBSERVACIONES

Estudiamos *Canis familiaris* con material de médula roja de cabeza de fémur. Empleamos 15 machos y 8 hembras de raza indefinida. De cada muestra hicimos unas 25 preparaciones ascendiendo así el número total a  $(15 + 8) \times 25 = 575$ .

Del estudio microscópico de estas preparaciones hemos elegido para fotografiar un dos por ciento de las metafases de hembra y ninguna de macho por su estado bastante más deficiente.

Las edades de los ejemplares utilizados eran de dos a cuatro años.

En la dotación diploide del perro (*Canis familiaris*) el recuento cromosómico nos confirma el número  $2n = 78$  que era el que se mantenía por seguro en la actualidad.

Cifra ésta que pone de manifiesto la microfotografía (fig. 15) que adjuntamos como ejemplo de las placas metafásicas estudiadas.

En las células mitóticas de esta especie los cromosomas, a pesar de su elevado número, se presentan perfectamente aislados unos de otros, así como también situados sobre un mismo plano óptico; por ello la determinación de su número exacto en ellas no ofrece dificultades.

Dada la posición terminal o aparentemente terminal en casi todos los elementos que integran el complejo cromosómico de este mamífero, la morfología monobraquial es común en 76 cromosomas y solamente un par, con centrómero en la zona mediana submediana, presenta estructura bobraquial.

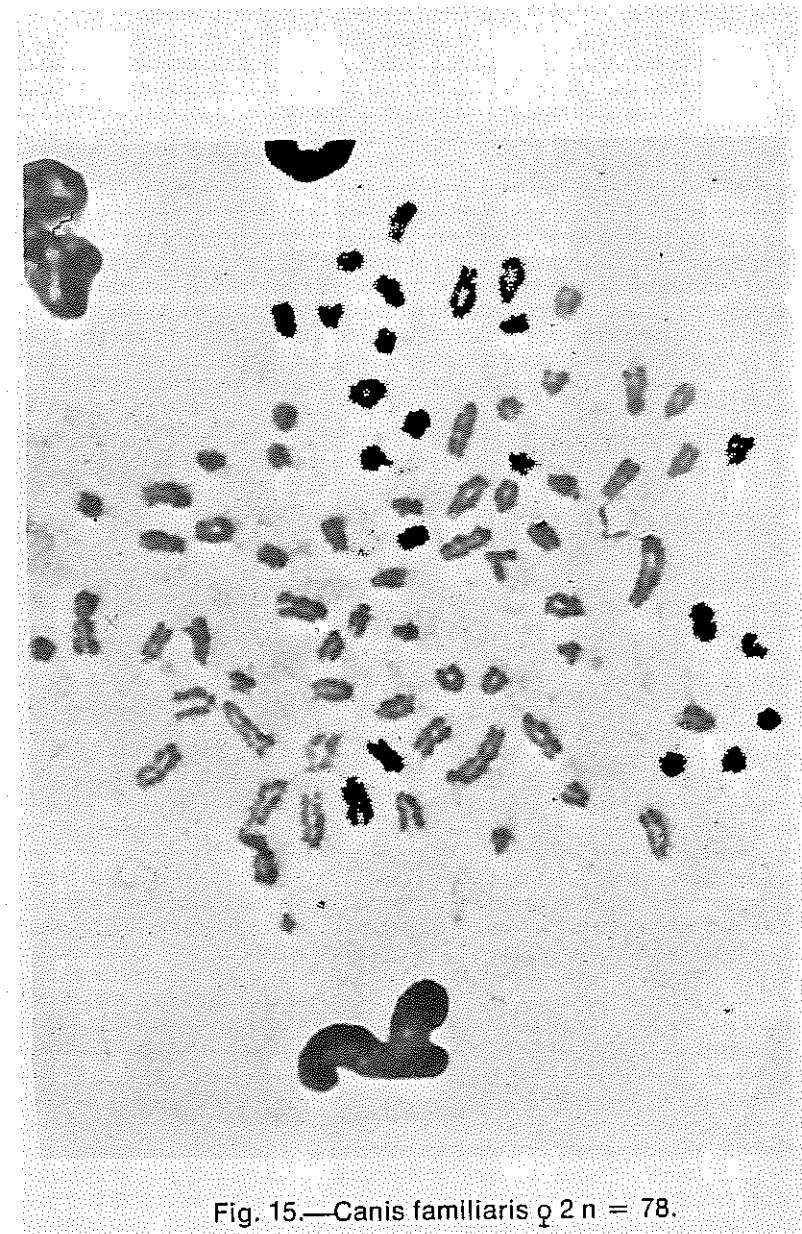


Fig. 15.—*Canis familiaris* ♀  $2n = 78$ .

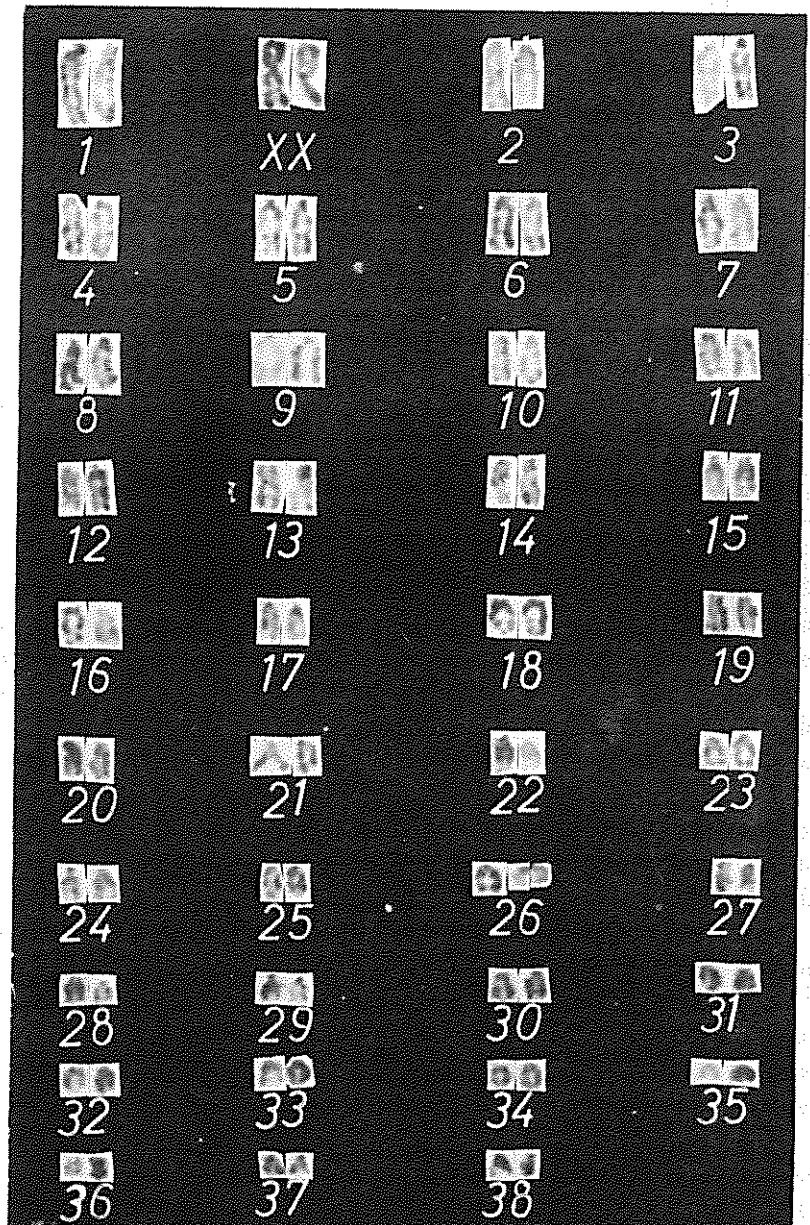


Fig. 15'.—Idiograma.

En esta especie el material de sexo hembra presenta los 78 cromosomas homólogos dos a dos formando así 38 parejas de cromosomas monobraquiales y un par bibracial como muestra el idiograma fig. 15. Suponemos que en el sexo macho son homólogos 38 pares de monobraquiales y heteromórfico el par restante por estar formado por un cromosoma bibracial, el único existente en el complejo, y otro monobraquial. Este hecho ya hace confirmar por si solo que los 38 pares monobraquiales son autosomas y el par completo o elemento impar, bibracial, sea un cromosoma sexual.

El factor más importante para diferenciar morfológicamente los pares cromosómicos en una dotación, es sin duda la distinta posición que presenta en ellos el centrómero; pero puesto que en el caso de esta especie *Canis familiaris* el centrómero ocupa lugar similar en los 38 pares autosómicos, terminal o aparentemente terminal en todos ellos y sólo es distinto, mediano-submediano, en un par completo de la hembra o sólo un cromosoma del macho; consideramos que la longitud total cromosómica es el dato morfológico más importante para diferenciar entre sí los 38 pares de autosomas.

Por otra parte este factor longitud no es un carácter totalmente diferencial de cada par cromosómico, sino que por el contrario es prácticamente análogo o casi análogo para varias parejas.

En consecuencia es muy difícil llevar a cabo una perfecta determinación de los elementos homólogos que forman cada una de las parejas, de aquí que el idiograma que presentamos representa únicamente a uno de los probables que pueden formarse entre otros muy similares a él.

En la tabla XII indicamos detalladamente las dos características cuantitativas más importantes del complejo: hallamos la longitud total de cada cromosoma en tanto por ciento de la total del cariotipo y en el par cromosómico bibracial determinamos la posición del centrómero por la relación existente entre sus brazos largos y cortos.

Con los 78 cromosomas agrupados, en la hembra en 39 pares de homólogos, formamos serie ordenada en relación con su decreciente tamaño y por la analogía de este último consideramos distribuido el complejo en los ocho grupos siguientes:

1.º Grupo.—En la dotación hembra comprende tres pares cromosómicos mientras que en el macho tiene sólo dos pares (1 y 2) más un sólo cromosoma impar correspondiente al cromosoma X.

TABLA XII

Datos cuantitativos del cariotipo de *Canis familiaris*:

## Cromosomas bobraquiales:

Grupo	Número	Longitudes en %			
		B.L.	B.C.	Total	Rel. BL/BC
1. <sup>o</sup>	X	2,72	1,68	4,40	0,8/0,5

## Cromosomas monobraquiales:

Grupo	Número	Longitud	Grupo	Número	Longitud
1. <sup>o</sup>	1	4,97		20	2,36
	2	4,38		21	2,36
	3	3,91		22	2,36
2. <sup>o</sup>	4	3,91		23	2,36
	5	3,52		24	2,36
	6	3,52		25	1,85
3. <sup>o</sup>	7	3,52		26	1,85
	8	3,52	6. <sup>o</sup>	27	1,85
	9	3,52		28	1,85
	10	3,52		29	1,85
	11	3,17		30	1,68
	12	3,17		31	1,68
	13	3,17	7. <sup>o</sup>	32	1,68
4. <sup>o</sup>	14	3,17		33	1,68
	15	3,17		34	1,68
	16	2,28		35	1,34
	17	2,28		36	1,34
5. <sup>o</sup>	18	2,36	8. <sup>o</sup>	37	1,34
	19	2,36		38	1,34

Por su mayor tamaño destacan todos estos componentes de los restantes elementos del complejo; siendo a su vez la longitud del primero ligeramente superior a la aparentemente similar de los dos restantes.

Morfológicamente son más análogos los pares 1 y 2, en ambos el centrómero terminal o aparentemente terminal les confiere estructu-

ra monobraquial a diferencia del par bobraquial en el que el centrómero mediano submediano divide al cromosoma en dos brazos desiguales.

Este carácter morfológico le diferencia no sólo de los otros dos pares cromosómicos del mismo grupo sino que también le hace inconfundible con los restantes pares del complejo. Si además de esto tenemos en cuenta que se encuentra como elemento impar en el macho la conclusión de identificarle con el cromosoma sexual X puede ser reafirmada por cualquier observador.

2.<sup>o</sup> Grupo.—Consta de dos pares (3 y 4). Ambos autosomas por ser comunes a los dos sexos. En tamaño son aparentemente análogos representando un decrecimiento con relación al grupo precedente, superior este al de crecimiento que con respecto a él presenta el siguiente grupo.

La identificación de los homólogos de cada par es relativamente fácil por la morfología de sus cromátidas; éstas en el par primero se adhieren en dos zonas dando la apariencia de poseer dos ligeras contracciones secundarias, mientras que en el segundo par, 4, la adherencia simula una sola contracción secundaria.

3.<sup>o</sup> Grupo.—Consideraremos en él seis pares autosómicos (5, 6, 7, 8, 9 y 10) similares o casi similares en tamaño. En morfología son muy análogos los dos primeros pares ya que en ambos las cromátidas cromosómicas presentan una especie de contracción secundaria que las mantiene adheridas en la zona subterminal del extremo opuesto al del centrómero. En el tercer par la adherencia entre las cromátidas parece expresar una contracción secundaria.

Los tres pares restantes se diferencian fácilmente por su morfología cromosómica: en los pares 8 y 10 las cromátidas están adheridas casi en toda su extensión, en el 10 tienen posición normal mientras que en el 8 muestran un ligero arqueamiento. El par 9 destaca de todo el complejo por la gran separación de las cromátidas cromosómicas.

4.<sup>o</sup> Grupo.—Pares 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17. En tamaño los cinco primeros son prácticamente idénticos ( $LT = 3,03\%$ ) superando ligeramente a los dos restantes también similares entre sí ( $LT = 2,72\%$ ). Con estos dos últimos pares podemos formar un grupo independiente por su longitud intermedia entre los cinco pares anteriores y los del grupo siguiente.

Por la morfología destacan en este grupo: el par 13 que presenta una contracción secundaria en la zona subterminal próxima a la terminal en que se sitúa el centrómero y en el par 14 por la forma ligerí-

simamente retorcida de las cromátidas de sus cromosomas componentes. Los pares 11, 12 y 15 no presentan ningún carácter diferencial; su identificación es bastante difícil por basarse únicamente en una homología externa.

La determinación de los dos pares restantes no ofrece grandes dificultades: en el par 17 las cromátidas muestran contorno irregular son uniformes en toda su longitud.

5.<sup>o</sup> Grupo.—Siete pares cromosómicos (18, 19, 20, 21, 22, 23 y 24) aparentemente análogos en longitud, siendo ésta algo inferior a la de los elementos del grupo precedente. De todos ellos la identificación es más fácil para los pares 19, 20 y 21 por ser sus componentes además de homólogos entre sí, de forma distinta a la de los restantes. Por el contrario la determinación de los otros pares nos ofrece dudas, ya que es verdaderamente difícil dada la semejanza aparente entre las características más importantes. (LT = 2,36 %), posición del centrómero) de sus cromosomas.

6.<sup>o</sup> Grupo.—Pares 25, 26, 27, 28 y 29. Los cinco coinciden prácticamente en longitud total, representando ésta con respecto al grupo anterior un decrecimiento superior al existente entre otros grupos. La identificación de estos pares no resulta difícil como puede comprobarse por el idiograma, así es característica la morfología de cada uno de los pares 27, 28 y 29, mientras que es muy dudosa en los dos pares restantes en los cuales el emparejamiento adoptado es uno de los probables.

7.<sup>o</sup> Grupo.—Contiene, como el anterior, cinco pares cromosómicos (30, 31, 32, 33 y 34) coincidentes también por su longitud total, ligeramente inferior ésta a la de aquéllos. Los homólogos de estos pares son difíciles de diferenciar en la propia célula metafásica por su pequeño tamaño, pero en el idiograma observamos mejor la existencia de una ligera diferencia morfológica, principalmente en los pares 31, 32 y 34 que les caracteriza, mientras que la diferencia es prácticamente nula entre los cromosomas de los pares 30 y 32.

8.<sup>o</sup> Grupo.—Comprende cuatro pares cromosómicos (35, 36, 37 y 38). Son similares en tamaño (LT = 1,34 %) representando este el de los elementos más pequeños del idiograma. Morfológicamente se diferencia el par 37 por la forma en V de sus cromosomas, el par 36 por la adherencia total que muestran sus cromátidas; pero es común la forma en U para los cuatro cromosomas de los pares 35 y 38 por lo cual es difícil determinar con exactitud los verdaderos homólogos.

En las placas de *Canis familiaris* macho existe un cromosoma más que corresponde al cromosoma sexual Y. En tamaño es muy similar a los más pequeños, ya que no nos ha sido posible identificar con exactitud a cuál de ellos representa.

## DISCUSION

Nuestras observaciones numéricas sobre la dotación del perro (*Canis familiaris*) no coinciden con las cifras tan bajas señaladas por los primeros investigadores (RATH y MALONE) pero sí con el número cromosómico  $2n = 78$  que se considera en la actualidad como el componente de su dotación.

Desconocemos la causa de las cifras tan bajas señaladas por los primeros autores, puesto que como no adjuntan en sus trabajos dibujos representativos del estado que presentan los cromosomas en las células que estudiaron, no sabemos si fue error técnico o de interpretación; pero lo más probable es que el material que observaron no ofreciera buenas condiciones debido a que emplearon técnicas inadecuadas para conseguir buena extensión y conservación normal de los cromosomas.

Admitimos las opiniones que unánimemente indican el número  $2n = 78$ ; si bien los dibujos de MINOUCHI no nos dan evidencia de una exacta reproducción de sus placas metafásicas dado el gran número de cromosomas de este mamífero y la proximidad de ellos en sus metafases. Morfológicamente también estamos de acuerdo con MINOUCHI sorprendiéndonos que pudiera conseguir tal interpretación dada la falta de individualidad morfológica que el mismo autor dibuja para todos los cromosomas.

Con AHMED coincidimos en el número cromosómico que asigna al complejo pero no en la forma en V que señala para tres elementos de él. Es explicable que su interpretación sea errónea por la disposición entrecruzada y forma anormal que presentan los cromosomas en las metafases que adjunta en sus dibujos.

La figura 6 de TAKAYAMA<sup>93</sup> muestra una célula metafásica de un cultivo de tejido pulmonar normal de perro macho. Su aspecto general es difuso ya que los cromosomas no sólo están unidos unos a otros impidiendo así efectuar fácilmente el recuento; sino que aparecen también con un hinchamiento anormal que dificulta identificar su forma. Es verdaderamente sorprendente que TAKAYAMA interpretaba en ella el idiograma

que dibuja (fig. 17) formado por 78 cromosomas, de los cuales considera 77 con centrómero en posición terminal y sólo uno en forma de V (para el macho). Descripción morfológica ésta del complejo del perro análoga a la confirmada por nosotros.

Nuestra labor, en el estudio cariogámico de este mamífero, *Canis familiaris*, ha consistido en ratificar nuevamente el número cromosómico  $2n = 78$  e identificar por cromosoma sexual X el que supuso ya TAKAYAMA; presentando una microfotografía que aunque es la más deficiente de todo nuestro trabajo, supera a la metáfase de TAKAYAMA (fig. 6 de 93) única publicada hasta el momento presente para la especie *Canis familiaris*.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> El número cromosómico hallado por nosotros para el complejo del perro (*Canis familiaris*) es  $2n = 78$ .

2.<sup>a</sup> En el cariotipo de hembra todos, los 78 cromosomas, son homólogos dos a dos; formando así 39 parejas mientras que en el macho hay 38 pares de homólogos más el par heteromórfico X e Y representante de dicho sexo.

3.<sup>a</sup> Morfológicamente, especialmente por la posición que presenta el centrómero, el idiograma del perro está integrado por 76 cromosomas telocéntricos y un solo par de tipo mediano-submediano.

4.<sup>a</sup> El cromosoma sexual X se identifica con el elemento segundo en tamaño de todo el complejo, diferenciable de los restantes por su característica forma bobraquial, ya que es el único cromosoma con centrómero en la zona mediana-submediana.

5.<sup>a</sup> Suponemos que el cromosoma sexual Y sea el más pequeño del complejo, pero no nos ha sido posible identificarle debido a los resultados poco satisfactorios conseguidos con material macho.

## RESUMEN

En esta tesis se lleva a cabo un estudio lo más exhaustivo posible de las dotaciones cromosómicas de mamíferos domésticos.

Se realiza el trabajo con las especies más frecuentes en España: *Sus scrofa domesticus*, *Bos taurus*, *Capra hircus*, *Ovis aries*, *Equus ca-*

*ballus*, *Equus asinus*, *Felis domestica*, *Canis familiaris* y el híbrido *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus*. En general, estos mamíferos, han sido estudiados por muy diversos autores pero de un modo tan incompleto que no ofrecen, especialmente en el caso de algunos, seguridad en el número ni en la morfología cromosómica que han señalado.

Consiste en una puesta al día, mediante el empleo de una técnica nueva de los siguientes puntos:

A) Detallar, mediante recuento, el número cromosómico exacto de cada una de las especies e híbrido.

B) Describir el aspecto morfológico que presenta cada cromosoma del complejo y atendiendo a éste (especialmente por la posición del centrómero) y al tamaño, hacer el idiograma emparejando los homólogos de cada dotación.

C) Llegar a identificar los cromosomas sexuales X e Y, haciendo un estudio comparativo de los idiogramas de macho y hembra de cada uno de los animales estudiados.

D) Comprobar si entre especies afines, tales como *Capra hircus* con *Ovis aries* y *Equus caballus* con *Equus asinus* existen relaciones o semejanzas morfológicas de sus cariotipos.

## RESUME

Dans cette thèse on a effectué une étude la plus complète possible des dotations chromosomiques de mammifères domestiques.

On a réalisé le travail avec les espèces les plus fréquentes en Espagne: *Sus scrofa domesticus*, *Bos taurus*, *Capra hircus*, *Ovis aries*, *Equus caballus*, *Equus asinus*, *Felis domestica*, *Canis familiaris* et l'hybride *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus*.

En général, ces mammifères ont été étudiés par des auteurs très différents, mais d'une manière tellement incomplète, qu'ils n'offrent, surtout certains d'entre eux, aucune sécurité ni quant au nombre ni quant à la morphologie chromosomique qu'ils ont indiqués.

Cette étude a consisté dans une mise au jour des points suivants, en employant une technique nouvelle:

A) Détails, au moyen de comptage, le nombre chromosomique exact de chacune des espèces et de l'hybride.

B) Décrire l'aspect morphologique que présente chaque chromosome du complexe et, d'après celui-ci (spécialement par la position du

centromère) et son volume, faire l'idiogramme en appareillant les chromosomes homologues de chaque dotation.

C) Arriver à identifier les chromosomes sexuels X et Y moyennant une étude comparative des idiogrammes de mâle et de femelle de chacune des espèces d'animaux étudiées.

D) Constater s'il existe des relations ou des ressemblances morphologiques de leurs caryotypes entre nos espèces semblables, telles que la *Capra hircus* et l'*Ovis aries*, l'*Equus caballus* et l'*Equus asinus*.

## SUMMARY

In this thesis we have carried out a most complete study as possible about chromosomal endowments of domestic mammals.

The work has been done by utilizing the most frequent species existing in Spain: *Sus scrofa domesticus*, *Bos taurus*, *Capra hircus*, *Ovis aries*, *Equus caballus*, *Equus asinus*, *Felis domestica*, *Canis familiaris* and hybrid *Equus caballus*  $\times$  *Equus asinus*.

These mammals have generally been studied by various authors but in a so incompletely way that do not give us any security, specially some of them, concerning the number and the chromosomal morphology they have indicated.

The purpose of said study has been to bring the following points up to date by utilizing a new technique:

A) Full details of the exact chromosomal number of each species and of hybrid by making a count.

B) Description of the morphological appearance of each chromosome from the complex and according to this complex (specially according to the position of the centromere) and its size make the idiogramme by matching the homologous chromosomes of each endowment.

C) Identification of X and Y sexual chromosomes through a comparative study of the idiogrammes of the male and the female of each species of animals studied.

D) Check if some relations or morphological resemblance are found in their caryotypes between similar species such as *Capra hircus* and *Ovis aries*, *Equus caballus* and *Equus asinus*.

## BIBLIOGRAFIA

### SUS SCROFA DOMESTICUS

1. APARICIO, R. D. 1960.—Estudio citológico de la espermatogénesis en el cerdo. *Arch. Zootec. (Córdoba)* 9: 103 An. Breed. Abstr. 29: 7 (1961).
2. BRYDEN, W. 1933.—The chromosome of the pig. *Cytologia* 6: 149 - 159.
3. CONNELL, J. Mc. Fe. 1963.—Somatic chromosome of the domestic pig. *Journal of Animal Science*, pág. 374-379.
4. CLAUSEN, J. J. and J. T. SYVERTON 1961.—Comparative chromosomal study of 41 cultured mammalian cell lines. *J. Nat. Cancer Inst. U. S. Dep. of Health Education, and Welfare, Public Health Service, Nat. Inst. of Health.*
5. CREW, F. A. E. and P. C. KOLLER 1939.—Cytogenetical analysis off the chromosome in the pig. *Proc. Roy. Soc. Edinb.* 59: 163.
6. GIMENEZ-MARTIN, G., LOPEZ-SAEZ, J. F. and G. MONGE. E. 1962.—Somatic chromosome of the pig. *Journal of Heredity* Vol. LIII. N.º 6.
7. HANCE, R. T. 1917 The diploid chromosome complexes of the pig. (*Sus scrofa*) and their variations. *J. Morphol.* 30: 155.
8. HANCE, R. T. 1918.—Variations in somatic chromosomes. *Biol Bull* 35:33-37.
9. HENRICSON, and L. BACKSTRON 1963.—The kariotype of normal pigs and of one intersex. *Proceedings of the XI International Congress of Genetic* Vol. I 8-19 pág. 137.
10. HILLEBRAND, P. 1936.—Untersuchungen über die chromosomen bei drei verschiedenen Rassen von Hausschweinen (Deutsches weisses Edelschwein veredeltes Landschwein und Berkshire). *Diss Phil Brelan.*
11. KRALLINGER, H. F. 1931.—Cytologische studien an einigen Haussäugetieren. In *les chromosomes des Vertébrés* S. Matthey pág. 73.
12. KRALLINGER H. F. 1931.—Cytologische Studien an einigen Haussäugetieren. *Arch. Tierernähr. Tierz* 5: 127. Cited by Crew, F. A. E. and P. C. Koller 1939. Cytogenetical analysis of the chromosome in the pig. *Proc. Roy. Soc. Edinb.* 59: 163.
13. LARRIE, E. STONE. 1963.—A chromosome Analysis of the domestic Pig. (*Sus scrofa*) Utilizing a Peripheral blood Culture Technique. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*. Vol. 5, N.º 1, 38-42.
14. MAKINO, S. 1944. The chromosome complex of the pig. (*Sus scrofa*). *Chromosome studies in domestic mammals. III Cytologia* 13: 170-78.

15. MELANDER, Y. 1951.—Polyplody after colchicine treatment of the pig. *Hereditas*, 37, pág. 288-289.
16. MORHEAD, P. S., P. C. NOWELL, J. MELLMAN, D. M. BATTIPS, and D. A. HUNGERFORD. 1960.—Chromosome preparations of leukocytes cultured from peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 20: 613.
17. MULDAL, S. 1948.—The chromosomes of mammals. John Innes Hort. Inst. 30th Ann. Reports: 23. Cited by Melander, Y. 1951. Polyplody after colchicine treatment of pigs. *Hereditas* 37: 288 (Abstr).
18. OGUMA and MAKINO, S. 1937.—A new list of the chromosome numbers in Vertebrata. *Jour. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Sev. VI Zool.* 5.
19. RUDDLE, F. H. 1961.—Chromosome variations in cell populations derived from pig kidney. *Cancer Res.* 21: 885.
20. SACHS, L. 1954.—Chromosome numbers and experimental polyplody in the pig. *J. Heredity* 45: 21.
21. Spalding, J. F. and R. O. BERRY. 1956.—A chromosome study of the wild pig, (*Pecari angulatus*) and the domestic pig (*Sus scrofa*). *Cytologia* 21: 81.
22. WODSEALEK, J. E. 1913.—Spermatogenesis of the pig with special reference to the accessory chromosomes. *Biol. Bull.* 25: 8.

#### BOS TAURUS

23. BATTAGLIA, E. e BRUNO CENNI. 1959.—Contributo alla cariologia di *Bos taurus* L. *Caryologia* 12: 162-172.
24. GROSSLEY, R. and G. CLARKE. 1962.—The application of tissue-culture techniques to the chromosomal analysis of *Bos taurus*. *Genet. Res.* 3 (1) 167-168.
25. KRALLINGER, H. F. 1928.—Gibt es einen spermatozoen Dimorphismus beim Hausrind Zugleich eine Chromosomen Studien und die Beitrag zur Kritik der Chromosomendrehre. *Arb. Dtsch. Ges. Züchtgskde* 40.
26. MAKINO, S. 1944.—Karyotypes of Domestic Cattle, Zebu and Domestic Water-Buffalo Chromosome Studies in domestic mammals. *Cytologia*, N.º 13.
27. MASSAO, S. SASAKI and SAJIRO MAKINO. 1962.—Revised study of the chromosomes of domestic cattle and the Horse. *Jour. of Heredity*, Washington D. C. Vol. LIII. N.º 4.
28. MASUI, K. 1919. The spermatogenesis of the domestic mammals. III.—The spermatogenesis of cattle (*Bos taurus*). *Jour. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo* 3.
29. MELANDER and KNUDSEN O. 1953.—The spermatogenesis of the bull from a karyological point of view. *Hereditas*, 39 (505-17).

30. MELANDER Y. 1959.—The mitotic chromosomes of some cavid mammals (*Bos taurus*, *Bison bonasus* L. and *Ovis aries* L.) *Hereditas* 45: 649.

31. PEARL R. and PARSHLEY H. M.—Data on sex determination in cattle. *Biol. Bull.* Vol. 24, N.º 4.

32. POSTIGLIONI GRIMALDI, J. 1956.—Chromosomes in *Bos taurus* as revealed by prefixation treatment with hypotonic solutions. *Stain Techn.* 31.

33. SCHOENFELD, H. 1902.—La spermatogenese chez le taureau et chez les mammiferes en general. *Arch. Biol.* 18.

34. Von K. Bardeleben. 1892.—Über Spermatogenese bei Säugetieren besonders beim Menschen. *Verh. Anat. Gesell.* Wien 6.

35. WODSEALEK, J. E. 1920.—Studies on the cells of cattle *Biol. Buul.* 38: 290-308.

#### CAPRA HIRCUS

35. BERRY, R. O. 1938.—Comparative studies on the chromosome numbers in sheep, goat and heep x goat hybrids. *Jour. Hered.* 29: 343-350.

36. KRALLINGER, F. 1931.—Cytologische Studien an einigen Haussaugtieren. *Arch. Tierernahr. Tierzucht* 5, pág. 127-187.

37. MAKINO, S. 1943.—The chromosome complexes in goat (*Capra Hircus*) and sheep (*Ovis aries*) and their relationship chromosome studies in domestic mammals II. *Cyt.* 13.

38. SOKOLOV II. 1930.—The chromosomes in spermatogenesis of the goat (*Capra Hircus*). (Russ. w. Engl. sum.) *Bull. Bureau Genet. Acad. Sci. U. S. S. R.* 8.

39. SHIWAGO. Ueber Chromosomenkomplexe beim kleinen Hornvich. (Russ. w. deutsch. Rus.) *Jour. Biol. Exp.* 6.

40. WOOD, T. B. Note on the inheritance of Horns and face color in sheep. *Jour. Agr. Sci.* VI, pág. 3.

#### OVIS ARIES

41. AHMED, I. E. 1950.—The structure and behaviour of the chromosomes of the sheep during mitosis and meiosis. *Proc. Royal. Soc. Edinburgh* 59.

42. BERRY, R. O. 1941.—The chromosome complex of domestic sheep (*Ovis aries*). *Jour. Hered.* 32 pág. 343-350.

43. BRUCE, HAROLD, A. 1935.—The spermatogenetic history in sheep. Ph. D. Thesis University of Pittsburg Library.

44. BUTARIN, N. S. 1935.—Chromosomen Komplex der Arkahares (*Ovis polii karelini*) Kurdiuchnyran und Fellster Schafes. Russ. m. deutsch. Zus. Verlag. Akad. Vissensh U. S. S. R.
45. BUTARIN, N. S. 1935.—The chromosome complex of Arkav (*Ovis polii Karelini*) Kurdiuchnyram (*Ovis steato pyga*) and their  $f_1$  hybrid. *C. R. Acad. Sci. U. R. S. S. N. S.* 4: 287-290.
46. KRALLINGER, F. 1931.—Cytological studies an einigen Haussaugetieren. *Arch. Tierernähr. Tierzucht Abt. B.* 5.
47. MAKINO, S. 1943.—The chromosomes complexes in goat (*Capra hircus*) and sheep (*Ovis aries*) and their relationship chromosomes studies in domestic mammals II) *Cyt.* 13.
48. NOVIKOV, 1935.—Chromosomes in the spermatogenesis of interspecific hybrids of the European mouflon and the domesticated sheep (Merino) Russ W. Engl. sum *C. R. Acad. U. S. S. R.* 4.
49. PACHAKADZE, G. M. 1936.—A new data about the chromosome number in domestic Sheep. *C. R. (Dokl) Acad. Sci. U. R. S. S. N. S.* 3 pág. 333-334.
50. SHIWAGO, D. J. 1930.—Über cromosomenkomplexe beim Klein in Hornovich (Russ deutsch Zus). *Jour. Biol. Exp.* 6.
51. PAINTER, T. S. A comparative study of the chromosomes of mammals. *Amer Naturalist*, 59: 385-409. 1925.
52. WARWICK, B. L. BERRY R. O. and HORLACHER W. R. Cytological and hybridization studies with sheep and goats. *Texas Agr. Experimental Station Annual Report*, pág. 24.
53. WODSEDALEK, J. R. 1922.—Studies on the cells of sheep with reference to spermatogenesis oögenesis, and sex determination. *Anat. Rec.* 23: 103.
- 53'. YAMASHINA MARC. Y. 1943.—Studies on sterili by in hibrid birds IV. Cytological researches on hibrids' in the family Phasianidae *Jour. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Sev. VI. (Zool)* 8, 307: 386.

**EQUUS CABALLUS**

54. KIRILLOV, S. 1912.—Die spermatogenese beim Pferde. *Archiv für mikroskopische Anatomie* 79.
55. KRALLINGER F. 1931.—Cytological studies an einigen Haussaugetieren *Arch. Tierernähr. Tierzucht B* 5.
56. MAKINO, S. 1943.—The chromosomes of the Horse (*Equus caballus*). *Cytologia* 13 pág. 29-37.
57. MASUI, K. 1919.—The espermatogénesis of the domestic mammals, I The espermatogenesis of the horse (*Equus caballus*) *J. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo*, 3.

58. PAINTER, T. S. 1924.—Studies in mammalian spermatogenesis V. The chromosomes of the horse. *Journal of Experimental Zoology*, 39.

59. PAINTER, T. S. 1925.—Chromosome numbers in mammals. *Sci.* 61.

60. RANQUINI, J. H. 1934.—Espermatogenesis del caballo. *Trab. Inst. Biol. Animal.* 2.

61. ROTHELS, K. H. et al. 1959.—The origin of altered cell line from mouse, monkey and man as indicated by chromosome and transplantation studies. *Canadian Cancer Conference* (R. W. Bigg, editor, Academic Press, Inc. New York) 3: 189.

62. SASAKI, M. S. and MAKINO, S. 1962.—Revised study of the chromosomes of domestic cattle and the horse. *Journal of Heredity*, Vol. LIII N.º 4.

63. TRUJILLO, J. et. al. 1962.—Chromosomes of the horse, the donkey and the mule. *Chromosoma* 13 pg. 243-248.

64. WODSEDALEK, J. E.—Spermatogenesis of the horse with special reference to the accessory chromosomes and the chromatid body. *Biol. Bull.* Vol. XXVII.

**EQUUS ASINUS**

65. MATTHEY, R. 1949.—«Les chromosomes des vertebres» páginas 74 y 214.

66. MELADZE. 1937.—Die chromosomenzahl bei *Equus asinus*; *Bull. Biol. Med. Exp. (Moskaw)* 3.

67. TRUJILLO y cols. 1962.—Chromosomes of the horse, the donkey and the mule. *Chromosoma* 13 pg. 243-248.

**EQUUS CABALLUS  $\times$  EQUUS ASINUS**

68. ADERSON, W. S. 1939.—Fertilite mare mules. *J. Hered.* 30 pg. 549-551.

69. MAKINO, S. 1955.—Notes on the citological feature of male sterility in the mule. *Experientia (Basel)* pág. 224.

70. TRUJILLO y cols. 1962.—Chromosomes of the horse, the donkey and the mule. *Chromosoma* 13 pág. 243-248.

**FELIS DOMESTICA**

71. GUTHERZ, S. 1918.—Zum Geschlechtschromosomen Problem bei den Vertebraten Beobachtungen ans der Oogenese der Hauskatze. *Sitz Gesell Naturf Fr Berlin* N.º 8.

72. GUTHERZ, S. 1920.—Das Heterochromosomen Problem bei Vertebraten. I. Untersuchung der frühen Oogenese der Hauskatze. *A. M. A.* 94.
73. KOLLER, P. Ch. 1941.—The genetical and mechanical properties of sex chromosomes. The Cat (*Felis domestica*) VIII Proc. Roy. Soc. Edinburgh. B. 61.
74. MATTHEY, R. 1934.—La formule chromosomiale du chat domestique. *Comptes rendus de la Societe de Biologie* (París) 117. páginas 435-436.
76. MINOUCHI, O. 1928.—On the chromosomes of the cat. Proceedings of the Imperial Academy, (Tokyo) 1.
77. MINOUCHI, O. 1928.—On the chromosomes of the cat. *Zoological Magazine* (Dobutssgaku Zasshi) 44.
78. MINOUCHI, O. and OHTA T. 1932.—The chromosomes number in the oogonium of the cat. *Zoological Magazine* (Dobutssgaku Zasshi) 44.
79. MINOUCHI, O. and OHTA. 1934.—On the chromosome number and the sex-chromosomes in the germ-cells of male and female cats. *Cytologia*, 5 pg. (Tokyo).
80. OHMO, S. et al 1962.—Early meiosis of male germ-cells in fetal testis of *Felis domestica*. *Experimental Cell Research* 27 pg. 401-404.
81. WINIWARTER, H. D. et G. SAINMONT 1909.—Nouvelles recherches sur ovogenesis et l'organogenese de l'ovaire des mammifères (Chat) ovogenese de la zone corticale primitive. *Archives de Biologie*. 24.
82. WINIWARTER, H. 1914.—L'heterochromosome chez le chat. *Bull. Acad. Roy. Belgique* N.º 4.
83. WINIWARTER, H. 1919.—Les mitoses de l'épithelium seminal du chat. *Archives de Biologie*. 30.
84. WINIWARTER, H. 1934.—La formule chromosomiale chez diverses races de Chat (*Felis domestica*). *Bull. Acad. Roy. Belgique* (Sci) 20.
85. WINIWARTER, H. 1938.—Nouvelles recherches sur la formule chromosomiale du chat (*Felis domestica*). *Archives de Biología*, 49.
- CANIS FAMILIARIS
86. AHMED, I. A. 1941.—Cytological analysis of chromosome behaviour in three breeds of dogs. Proc. Roy. Soc. Edinburgh. 61.
87. AWA, A. M. SASAKI and S. TAKAYAMA. 1956.—An vitro study of the somatic chromosomes in several mammals. *Jap. J. Zool.* 12, 257-265.
88. MALONE, 1918.—Spermatogenesis of the Dog. *Trans. Amer. Micro. Soc.* Vol. XXXVII.
89. MINOUCHI, O. 1928.—The spermatogenesis of the dog with reference to meiosis. *Jap. J. Zool.* 1 pág. 255-268.
90. MINOUCHI, O. 1928.—On the spermatogenesis of the racoon dog. (*Nyctereutes viverrinus*) with special reference to the sex chromosome. *Cytologia* (Tokyo) 1.
91. RATH, V. 1894.—Über die Konstanz der chromosomenzahl bei Tieren. *Biologisches Zentralblatt Leipzig*. Vol. XIV.
92. SACHS, Leo. 1952.—Poliploid evolution and mammalian chromosomes. *Heredity* 6, pág. 357-364.
93. TAKAYAMA, S. 1958.—Existence of a stem-cell Lineage in an infections Venereal. Tumour of the dog. *Jap. Jour. Genet.* 33. págs. 56-64.
94. TAKAYAMA, S. and MAKINO, S. 1961.—Cytological studies of tumour XXXV. A study of chromosomes in venereal tumors of the dog. *Zeitschrift für Krebsforschung*, págs. 253-261.
95. WADE, H. 1908.—An experimental investigations on infective sarcoma of the dog with a consideration of its relations hip to cancer. *J. Path. Bact.* 12 pág. 384.
96. WATANABE, F. and M. ASUMA. 1956.—Cytological confirmation of fluid infection in the venereal tumor of Dogs. *Cann* 47 págs. 23-25.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado en el Instituto de Edafología y Biología Celular del C. S. I. C. bajo la dirección del doctor don Gonzalo Giménez-Martín a quien deseo expresar mi más sincero agradecimiento por las ayudas, enseñanzas y consejos de todo tipo que de él hemos recibido.

Así mismo deseo manifestar mi profundo agradecimiento al profesor doctor E. Zorita, ponente de esta tesis.

También agradezco las ayudas económicas recibidas, en 1962 del Patronato Alonso de Herrera, y en 1963-64 del Patronato de Igualdad de Oportunidades (becas de Iniciación a la Investigación) gracias a las cuales y a la ayuda del Instituto se ha podido llevar a cabo la realización del presente trabajo.