

## ESTUDIO CROMOSOMICO DE DOS MULAS FERTILES ✓

Alfredo Correa Londoño, Zoot.\*, Orlando Palacio A., M.V.\*\*

### RESUMEN

En las poblaciones Colombianas de Tâmesis y Montelíbano, se presentaron dos casos de mulas fértiles.

Se realizó un estudio fenotípico de los animales tanto de las madres como de las crías. Se hizo un análisis de los órganos genitales internos y externos, se analizaron citogenéticamente las mulas madres presentaron un fenotipo definido y propio de mulas, los órganos reproductores adecuados para gestar y desarrollar una cría. Al análisis citogenético se contabilizan cariotipos con  $2n = 63$  cromosomas. Lo que indica, que tienen las madres una dotación genética de animales mulares. Se presentan las diversas teorías que se han propuesto hasta ahora para dar una explicación a estos fenómenos.

No se presentan los análisis cromosómicos de los hijos de las mulas. Hasta tanto no se adapten las técnicas de bandas cromosómicas en estos equinos. Estas crías hay que estudiarlas más a fondo, ya que, son las bases para demostrar las distintas teorías que se han propuesto hasta ahora.

### INTRODUCCION

Generalmente se ha considerado que las mulas son estériles por su condición de híbridas provenientes de padres de diferentes especies: Equinos (*Equus caballus*) y asnos (*Equus asinus*), lo que implica un

dotación de cromosomas diferentes en cuanto a número y calidad de genes para las mulas (*E. Asinus* x *E. Caballus*) y mulas romas (*E. Caballus* x *E. Asinus*), de ambos sexos; pero son muchos los casos reportados de mulas fértiles en varios países a través de toda la literatura, 8, 13, 5, 1, 6, 9. También se ha desmentido casos de mulas fértiles 3.

---

\* Profesor Dpto. de Producciones Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. U. de A.

\*\* Médico Veterinario Universidad de Antioquia.

Son varios los autores que se han referido al tema de los híbridos estériles y cada uno de los cuales ha dado teorías, tanto de origen cromosómico, como de tipo hormonal. 1, 8, 14, 9.

Conjuntamente con estos trabajo se ha profundizado sobre el estudio del cariotipo y del idiograma de los equinos, asnos y mulares, que debido a fallas en las técnicas citogenéticas empleadas hubo una serie de dudas sobre la composición y número de los cromosomas. 2, 3, 4, 7, 12, 15.

Los resultados de estos estudios están consignados en la Tabla No. 1, donde se clasifican los cromosomas autosómicos en metacéntricos, acrocéntricos y los sexua-

les.

El presente estudio es un análisis citogenético de dos mulas fértiles que se presentaron una en el municipio de Tamesis y otra en el municipio de Montelíbano. Por medio del cariotipo y del idiograma, demostrar si son verdaderamente mulas, o sea,  $2N = 63$ .

Es de anotar que a una de éstas mulas le fué diagnosticada su gestación por dos médicos Veterinarios.

TABLA No. 1

El número de cromosomas y su clasificación en acrocéntricos y metacéntricos, la reportan los autores en diferente forma. A la izquierda de la tabla se encuentra el número diploide de cromosomas y a la derecha el número haploide. Sólo se tienen en cuenta los cromosomas autosómicos.

A.	2N		N	
	Sub. metacent.	Acrocéntrico	Sub. metacent.	Acrocéntrico
CABALLO	28	34	14	17
BURRO	38	22	19	11
MULA	33	28	$\frac{5^*}{}$	$\frac{6^*}{}$

Kurt Benirsohke; M.M. Sullivan (1966)

B.	2N		N	
	Sub. metacent.	Acrocéntrico	Sub. metacént.	Acrocéntrico
CABALLO	26	36	13	18
BURRO	38	22	19	11
MULA	32	29	$\frac{6^{**}}{}$	$\frac{7^{**}}{}$

- \* Según Bernirschke deben quedar 5 cromosomas submetacéntricos y 6 acrocéntricos sin correspondiente homólogo.
- \*\* Según Trujillo et al. deben quedar 6 cromosomas submetacéntricos y 7 acrocéntricos sin el correspondiente homólogo. Los idiogramas del presente estudio se realizarán en base al concepto de éstos últimos por ser información más reciente, además, los resultados obtenidos se amoldan a éstos.

#### MATERIALES Y METODOS

Se conocieron dos casos de mulas fértiles. Ver fotografía 1o y 2o.

Se hicieron estudios detallados del fenotipo, tanto de las madres, como de las crías, complementándolos con fotos de las diferentes partes del cuerpo con película Pliux X.

En el estudio citogenético se tomó una muestra de sangre periférica, 5 c.c. de la vena yugular con jeringa y aguja estériles y como anticoagulante se utilizó la Heparina; luego, por centrifugación, se separaron los linfocitos, se hicieron tres lavados con Hank's estéril, se sembró en medio de cultivo 199 con 20% de suero bovino fetal (SBF) inactivado se incubó a 37°C por 70 horas luego se añadió colchicina al cultivo durante 2 horas, se pasó a un tubo de centrifuga y se descartó el sobrenadante; el paquete de células se suspendió en una solución de Ket 0.075 M por 20 minutos, se centrifugó de nuevo y las células se fija-

ron en una solución (3 Metanol: 1 Acido acético), se hicieron tres lavados y después se procedió a hacer las placas por el método del secado al aire, para la coloración de las placas se utilizó el reactivo de Giemsa. De las metafases logradas, se tomaron microfotografías con un microscopio Nikon se usó la película High Contraste de 35mm. Kodak.

Se tomó raspado de mucosa bucal y se hicieron extendidos en placas con el fin de observar cuerpos de Barr en las células de dichas mulas, el colorante usado fue la Fuchina.

Chequeos rectales y vaginales fueron hechos para determinar el estado reproductivo de los animales.

#### RESULTADOS

Analizando las metafases para la mula (*E. Asinus* x *E. Caballus*)  $2N = 63$ , y las de la mula roma (*E. Caballus* x *E. Asinus*)  $2N = 63$ . Se puede observar con claridad que existen 32 cromosomas metacéntricos y 29 cromosomas acrocéntricos (Autosómicos) que varían de tamaño desde grandes, medianos y pequeños; los dos restantes son los sexuales y que corresponden a dos cromosomas metacéntricos grandes.

Se debe tener en cuenta, sin embargo, un aspecto que revela el polimorfismo cromosómico en las diferentes metafases, debido a la acción de la Colchicina, ya que esta tiene propiedades de contraer los cromosomas.

Los análisis de la cromatina sexual en las células de la mucosa bucal dió resultados positivos para ambos animales.

Con base a los datos presentados en la tabla No. 1 y los datos obtenidos del análisis de las metafases de los animales de este estudio, se puede establecer un cariotipo un un idiograma que representa a este par de mulas. De 28 metafases en la mayoría de la células se observó un número de cromosomas  $2N = 63$ . La representación del cariotipo de la mula (E. Asinus x Caballus) y mula roma (E. Caballus x E. asinus), se pueden ver en las figuras Nos. 3 y 4; se nota el desapareamiento de unos cromosomas, debido al diferente número de cromosomas acrocéntricos y metacéntricos del caballo y el burro respectivamente, los cuales aportan la mitad de su material genético para constituir el mular.

Los chequeos reproductivos, tanto por vía vaginal como rectal, dieron unos órganos aptos para una reproducción normal, hubo desarrollo normal de la glándula mamaria en ambos animales, y con buena producción de leche. Es de anotar que el comportamiento de las mulas madres no tenía mayor diferencia que el que presenta una yegua o una burra en lactancia normal con respecto a su cría.

El estudio cromosómico de las crías no se ha podido terminar aún por dificultades que se han presentado para la realización de este trabajo.

#### DISCUSION

En base a los resultados obtenidos pode-

mos deducir que realmente, éstos dos animales mulares, citogenéticamente fueron comprobados porque efectivamente tenían un número cromosómico  $2N = 63$ .

También se determinó que éstos animales tenían órganos reproductivos normales, capaces de concebir, en efecto, uno de los animales fué palpado y se le diagnóstico preñez 3 meses antes del parto, esta labor fué realizada por Médicos Veterinarios. El otro animal fué palpado después del parto y las características de sus órganos fueron normales; ambos mostraron glándulas mamarias secretoras.

Con respecto a las crías, no se da una explicación de éstas, debido a que no se han concluído los estudios citogenéticos, pero es bueno anotar que una de ellas tiene características de caballo con algunas pequeñas semejanzas a un animal mular; la otra cría tiene un fenotipo de mular y es igual a la madre, la diferencia es que en las extremidades se presentan un tipo de rayas que le dan apariencia de un animal "azebrado". Se espera dar una explicación satisfactoria al fenómeno de éstas cuando se disponga de los patrones de bandas cromosómicas y cuando éstas técnicas estén adaptadas a las condiciones de nuestro medio.

Con los resultados del presente estudio y con los que se piensen realizar se podrá tener así una base más cierta para poder dar una explicación más lógica al porqué de la fertilidad de algunos híbridos. Hasta ahora se han dado varias teorías por diferentes autores, las cuales no son muy ajustadas a las características de los dos

mulares de nuestro caso.

La primera teoría dada por Andersson en 1939, decía más o menos que en las células germinales, los genomas de las mulas presenta una separación no al azar, o sea, una segregación diferencial durante la meiosis I, en la cual el genoma caballar migra completo hacia un polo de la célula y el genoma asnal al otro polo; al completar la meiosis II, existirá un óvulo que va a contener el genoma caballar o el genoma asnal.

Esta teoría no ha sido aceptada por muchos investigadores, ya que no se ha observado en la ovogénesis, sino hasta la cigotene, después de la cual no son viables los ovocitos por la falta de apareamiento cromosómico.

Puede comprobarse esta teoría si estos dos casos presentados permiten análisis citogenético de bandas cromosómicas y obtener patrones de bandas con respecto a los padres y abuelos.

Si la segregación fuera al azar, la probabilidad de obtener un genoma parental sería de  $(1/2)^{32}$ , como dicha probabilidad es tan baja, se habla así de una repulsión de cromosomas entre los cromosomas parentales.

En algunos híbridos, la fertilidad es posible mediante la formación de trivalentes, los cuales son producto de traslocaciones Robertsonianas en los parentales; se conocen unos híbridos del cerdo doméstico  $2N = 38$  y por cerdo salvaje  $2N = 36$ , con dos  $N = 37$  y los cuales pueden lle-

gar a ser fértiles, aunque sí se ha observado que hay aumento de la muerte embrionaria.

Otro caso es el del ratón Tobacco (*Mus Paschiavinus*)  $2N = 26$ , por ratón doméstico (*M. musculus*)  $2N = 40$ , híbrido con  $2N = 33$ ; éstos presentan 7 traslocaciones Robertsonianas, lo que da origen a que se forme en meiosis, 7 figuras trivalentes.

En equinos hay otro caso de híbrido entre *E. przewalskii*  $2N = 66$  y el *E. Caballus*  $2N = 64$ , el híbrido resultante tiene un número de cromosomas igual a  $2N = 65$ , éstos se caracterizan por tener una fertilidad media, la cual está dada por la formación de un trivalente en la meiosis, tanto de los machos, como de las hembras; cuando la disyunción del trivalente se presenta, se origina algunos gametos viables y es por esto que no todas las fecundaciones son fértiles en los animales que presentan trivalencias, los gametos no viables se originan porque las células que forma no tiene la dotación completa de cromosomas.

En las mulas, no se ha observado una formación de trivalentes, y no hay indicios tampoco de haberse dado una traslocación Robertsoniana de caballo a burro, además la diferencia en cuanto a cromosomas acrocéntricos y metacéntricos hace pensar qué debieron haberse ocurrido numerosas alteraciones en el campo de la evolución, para llegar hasta lo que hoy conocemos de los idiogramas tan diferentes. Esta teoría la sustenta Short Et. al. 1974.

Otra teoría consiste en la formación de tetraploides, que se encuentran con frecuencia en las gónadas de los animales; a éste respecto se pueden analizar dos casos:

- A. Cuando un espermatozocito u ovocito primario llegan a ser tetraploides y por una disyunción anormal, da origen a cuatro células secundarias diploides y luego se van a formar después de la segunda división meiótica 8 células haploides. En tetraploides existen apareamientos de los diferentes genomas por separado, es decir, en el espermatozocito o en el ovocito primario puede haber apareamiento entre el genoma duplicado del caballo y entre el genoma duplicado del burro, al final la segregación es independiente de cada genoma y estos van a emigrar a polos diferentes.
- B. Cuando la tetraploide ocurre en esmatogonia o en ovogenia van a sufrir una mitosis normal, en este caso la segregación de los diferentes gametos se hace por separado. En los estudios

citogenéticos de estas dos mulas solo se hicieron análisis de células sanguíneas para poder demostrar u observar este caso hay que analizar los testículos o los ovarios de los animales implicados.

Cómo se explica que una mula sea fértil? Se dan diversas teorías pero ninguna de ellas aclara satisfactoriamente los hechos esporádicos que ha menudo se presentan; se necesitan estudios mas profundos en citogenética y con análisis de algunos tejidos, estudios de órganos reproductivos de los animales y sobre todo los estudios que se pueden hacer de las crías de aquellas mulas que sean fértiles. Es de especial importancia la utilización de los sistemas de bandas G en el análisis de los cariotipos y los idiogramas de dichos animales.

#### AGRADECIMIENTOS:

A los señores dueños de los animales, Sr. Guillermo Arias y Sr. Bernardo Rúa. Al Dr. José Bolívar Suárez y a la señorita Lucía Baena.

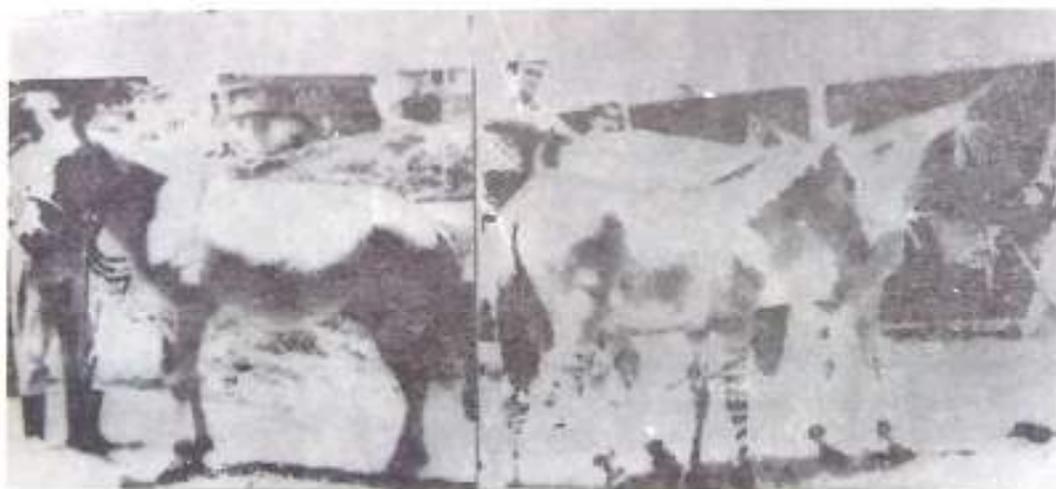
#### BIBLIOGRAFIA

1. Anderson, W.S. (1939). Fertile mare mules. The journal of heredity. 30: 549-551.
2. Benirschke, K.; I.E. Brownhill; and M.M. Beath (1962). Somatic chromosomes of the horse, the yonkey and their hybrids, the mule and the hinny. The Journal Reproduction and fertility. 4: 319-326.
3. Bernirschke, K; R.J. Low; M.M.; Sullivan; R.M., Carter (1954) Chromosome study of an alleged fertile mare mule. The journal of heredity . 55: 31-38.

4. Benirschke, K.; M.M., Sullivan (1966) Corpora Lutea in proven mules. Fertility and sterility. 17: 24-33.
5. Groth, A.H. (1928). A fertile mare mule. The journal of heredity. 19: 413-416.
6. Haworth, E. (1928). A mule colt from Nebraska. The journal of heredity. 19: 412.
7. King, J.M.; R.V., Short; D.E., Mutton and J.L. Hamerton (1966). The reproductive physiology of male zebra-horse and zebra-donkey hybrids. Symp. Zool. Cand. 15: 511-527.
8. Lloyd; Jones, O. (1916) Mules that breed. The journal of heredity. 7: 494-502.
9. Mc. Govern. (1976) The barriers to interspecific hybridization in domestic and laboratory mammals II hybrid sterility. Br. Vet. journal.
10. Marquez, Montter, H., S.; Kofman and P.H. Jauregui. (1974) Meiosis in the male mule. Patología. 12: 239-244
11. Savory, T.H. (1970). The mule. Scientific American. 229: 102-109.
12. Short, R.V.; A.C., Chandley; R.C., Jones; W.R., Allen. (1974) Meiosis in interspecific equine hybrids. Cytogenet cell gente. 13: 465-478.
13. Smith, H.H. (1939). A fertile mule from Arizona. The journal of heredity. 30: 548.
14. Stebbins, G.I. (1958). The inviability, weakness and sterility of interspecific hybrids. Advances in genetics. 9: 147-215.
15. Trujillo, J.M.; S., Ohno; J.H., Jardine; N.B. Atkins. (1969). Spermatogenesis in a male hinny: histological and cytological studies. The journal of heredity. 60: 79-84.



FOTOGRAFIAS 1. A la izquierda se observa la mula fértil del municipio de Tamésis. A la derecha, la cría de 14 meses de edad. Sus características son de equinos.



FOTOGRAFIAS 2. A la izquierda se observa la mula fértil del municipio de Monte Líbano. A la derecha se observa la madre y la cría de 3 meses. Se observa el notorio rayado de las extremidades.

