

Primera citació d'*Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) al Montseny. Determinació morfològica i genètica

**Antoni Arrizabalaga Blanch
i Ignasi Torre Coromines**

*Museu de Granollers
Secció de Ciències Naturals*

**François Catzefflis
i François Renaud**

*CNRS
Universitat de Montpeller 2*

Francis Santalla Quilles

*Facultat de Farmàcia
Universitat de Barcelona*

Introducció

La primera notícia sobre la presència d'*Apodemus flavicollis* a Catalunya la va donar Niethammer (1956) a partir d'un animal capturat a Sort. Aquesta cita, tot i que referenciada en treballs posteriors, no es va veure ratificada, ja que no va tornar a aparèixer en les prospeccions més modernes (Gosàlbez, 1987). Els treballs duts a terme al Montseny per Arrizabalaga i col·l. (1986) tampoc no van detectar aquesta espècie al massís. D'altra banda, cal dir que les diferències morfològiques externes que permeten la discriminació de les dues espècies al centre d'Europa no són, ni de bon tros, tan evidents en les poblacions al sud d'Europa (Britton-Davidian i col·l., 1991).

Les tècniques electroforètiques han permès resoldre molts dels problemes de sistemàtica referents a les diferents espècies de rosegadors. Hi ha nombrosos treballs sobre la identificació d'espècies de rosegadors des d'un punt de vista genètic. Així, per exemple, Engel i col·l. (1973), Gemmeke (1980), Gemmeke i col·l. (1981) i, més recentment, Britton-Davidian i col·l. (1991) mostren diferències entre *Apodemus sylvaticus* i *Apodemus flavicollis* mitjançant l'electroforesi. D'altra banda, Darvihe i col·l. (1979) verifiquen la presència de diverses espècies del gènere *Apodemus*, i també del gènere *Mus*, a l'Iran mitjançant tècniques electroforètiques en gel de midó.

Material i mètodes

En una sola nit es van capturar 29 *Apodemus* en tres localitats distintes del Montseny: una a Sant Marçal, i dues a Santa Fe de Montseny. El parany utilitzat ha estat el model Sherman, per tal de capturar vius els animals. La localitat de Sant Marçal, a 1.100 m d'altitud, correspon al límit de les fagedes, *Fagus sylvatica*, amb les rouredes de *Quercus petraea*. Les localitats de Santa Fe, a 1.100 m d'altitud totes dues, són dins del domini del faig, *Fagus sylvatica*. S'han pres les mesures externes normals en els estudis mastològics. La preparació dels espècimens també ha seguit els criteris més estandarditzats (Gosàlbez, 1987).

Els ronyons extrets dels 29 *Apodemus* van ser conservats en nitrogen líquid dins de tubs Eppendorf per poder sotmetre'ls, posteriorment a l'anàlisi electroforètica. Una vegada arribats al laboratori els ronyons, es conserven en cambres frigorífiques a una temperatura entre -50 i -80 °C. Les mostres van ser triturades individualment amb 0,2 ml d'aigua destil·lada, en un medi al més fred possible per evitar la possible desnaturalització de les proteïnes. Una vegada obtinguda la dilució de les proteïnes del ronyó, es va impregnar un paper Whatman núm. 3 (1,0 x 0,2 mm), que va ser la font d'enzims durant l'electroforesi. Aquests papers van ser introduïts en un gel de midó sotmès a una tensió entre 80 i 90 V i a una intensitat màxima de 80 mA. Les revelacions enzimàtiques van ser efectuades segons les tècniques descrites per Pasteur i col·l. (1987). Van ser analitzats un total de vuit locus: IDH (isocitrat deshidrogenasa), ME (enzim màlic), 6-PGD (6 fosfatogluconat deshidrogenasa), (-GPD (αglicerofosfat deshidrogenasa)), PGM (fosfoglucomutasa) i LDH (lactat deshidrogenasa). El material es conserva congelat al Laboratori de Parasitologia Comparada de la Universitat de Montpeller 2.

Durant la realització del Pla de seguiment d'insectívors i rosegadors del Montseny (1995-1996), es va fer palesa la presència d'individus del gènere *Apodemus* amb pèl ventral molt blanc i pèl dorsal daurat; la línia de separació entre els dos colors era molt nítida, i hi havia casos en què es presentava un collar daurat molt clar. La morfologia dels queixals d'aquests individus es corresponia d'una manera clara amb les formes de l'espècie *Apodemus flavicollis*.

Apodemus sylvaticus i *Apodemus flavicollis* són dues espècies simpàtriques a l'Europa central que es diferencien per caràcters morfològics, i també mitjançant l'anàlisi electroforètica d'enzims.

Per tal de confirmar la presència d'aquesta espècie al Montseny s'han capturat, durant el mes de setembre de 1996, 29 individus de tres localitats diferents, totes en el domini de la fageda i en els límits d'aquesta comunitat (Santa Fe de Montseny i Sant Marçal). S'han caracteritzat enzimàticament els individus per electroforesi d'una extracció de teixits del ronyó. En aquest estudi s'han trobat quatre sistemes enzimàtics interpretables genèticament: IDH (isocitrat deshidrogenasa), LDH (lactat deshidrogenasa), ME (enzim màlic) i 6-PGD (6 fosfatogluconat deshidrogenasa). Els resultats electroforètics revelen una diferenciació genètica entre les dues espècies d'*Apodemus*; cada una de les quals presenta un al·lel diferent (a o b). Tots els locus estudiats van resultar ser polimòrfics, excepte ME2, que va ser monomòrfic. D'altra banda, s'observa, com en altres poblacions en què les dues espècies són simpàtriques, l'absència d'heterozigots (al·lel b).

La determinació per caràcters morfològics, feta independentment de l'anàlisi electroforètica, coincideix en un 100% en tots els individus d'aquesta mostra.

Aquest estudi ha obtingut el suport del Servei de Parcs Naturals de la Diputació de Barcelona (Pla de seguiment i control de paràmetres físics, químics i biològics del Montseny) i CIRIT (ACOM96-33).

La determinació morfològica s'ha realitzat mitjançant les formes de les molars, en concret a partir de la presència i el desenvolupament del tubercle 7 de la M¹ i del tubercle 9 de la M² (Chaline, 1974) (figura 1). El material osteològic, a hores d'ara, és dipositat al Museu de Granollers, dins la Secció de Ciències Naturals.

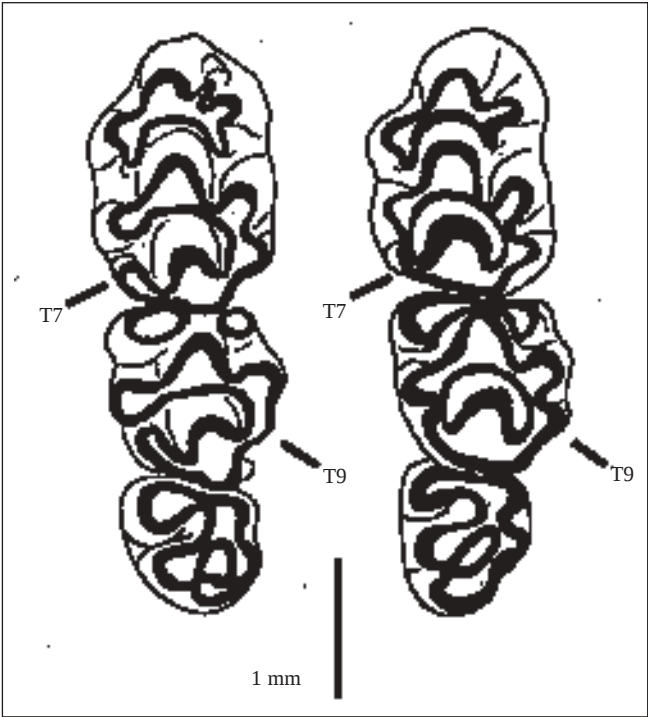


Figura 1. Esquema de les sèries de molars superiors d'*Apodemus sylvaticus* (dreta) i d'*Apodemus flavicollis* (esquerra), en què es mostren els diversos desenvolupaments dels tubercles 7 de l'M¹ i 9 de l'M² (adaptat de Chaline, 1974).

Resultats

Es van examinar els ronyons procedents dels 29 *Apodemus* de les tres localitats del Montseny. Dels vuit *locus* sotmesos a test en aquest estudi, cinc van ser trobats interpretables genèticament (IDH, ME1, 6-PDG1, 6-PDG2 i LDH2) (taula 1). Anotem que els *locus* ME2, α -PGD i PGM van resultar monomòrfics en les dues taxes estudiades. A causa del petit nombre d'individus analitzats, el càlcul de freqüències al·lèliques no seria justificat, raó per la qual simplement indiquem les formes al·lèliques observades (*a* i *b*). Com es pot constatar a la taula 1, tots els *locus* IDH, ME1, 6-PDG1, 6-PDG2 i LDH2 presenten al·lells de mobilitat electroforètica diferent per a cadascuna de les dues taxes estudiades (*Apodemus sylvaticus* i *Apodemus flavicollis*). Malgrat el nombre baix d'individus analitzats en aquest estudi, s'hi constata, si més no, l'absència d'heterozigots. Aquests resultats han estat contrastats mitjançant l'anàlisi morfològica d'aquests individus.

Pel que fa a la determinació a partir dels caràcters morfològics dels queixals, sis animals presenten absència total del T9 de l'M², mentre que la resta presenten un T9 ben desenvolupat. Del conjunt de sis animals sense T9 a l'M², quatre presenten un T7 a l'M¹ molt ben desenvolupat, i un sol animal amb T7 ben desenvolupat a l'M¹ de la resta dels animals. Els sis animals sense T9 a l'M² s'han considerat *Apodemus flavicollis*, i la resta, *Apodemus sylvaticus*, el

qual resultat ha coincidit totalment amb la determinació per electroforesi.

Taula 1. Especificitat genètica d'*Apodemus*.

Locus						
Taxa		IDH	ME1	6-PGD1	6-PGD2	LDH2
<i>A. sylvaticus</i>		a	b	b	a	a
<i>A. flavicollis</i>		b	a	a	b	b
R*1 (MONT-301)		a	b	b	a	a
R*2 (MONT-302)		a	b	b	a	a
R*3 (MONT-303)		a	b	b	a	a
R*4 (MONT-304)		a	b	b	a	a
R*5 (MONT-305)		a	b	b	a	a
R*6 (MONT-306)		a	b	b	a	a
R*7 (MONT-307)		a	b	b	a	a
R*8 (MONT-308)		b	a	a	b	b
R*9 (MONT-309)		a	b	b	a	a
R*10 (MONT-311)		a	b	b	a	a
R*11 (MONT-312)		a	b	b	a	a
R*12 (MONT-313)		a	b	b	a	a
R*13 (MONT-314)		a	b	b	a	a
R*14 (MONT-315)		b	a	a	b	b
R*15 (MONT-316)		a	b	b	a	a
R*16 (MONT-317)		a	b	b	a	a
R*17 (MONT-318)		a	b	b	a	a
R*18 (MONT-319)		a	b	b	a	a
R*19 (MONT-321)		a	b	b	a	a
R*20 (MONT-322)		b	a	a	b	b
R*21 (MONT-323)		a	b	b	a	a
R*22 (MONT-324)		b	a	a	b	b
R*23 (MONT-325)		a	b	b	a	a
R*24 (MONT-326)		a	b	b	a	a
R*25 (MONT-327)		-	b	b	a	a
R*26 (MONT-328)		a	b	b	a	a
R*27 (MONT-329)		a	b	b	a	a
R*28 (MONT-330)		b	a	a	b	b
R*29 (MONT-331)		b	a	a	b	b

Discussió

Aquest estudi revela clarament la presència de dues espècies diferents d'*Apodemus* (*A. sylvaticus* i *A. flavicollis*) al Montseny. Si es comparen aquests resultats amb altres obtinguts per diferents autors, com ara Darviche (1979) i Britton-Davidian i coll. (1991), s'observa que els cinc *locus* amb mobilitat electroforètica distinta obtinguts coincideixen amb els *locus* trobats per aquests autors. De tota manera, es denota la presència d'altres *locus* diversos que en aquest estudi no van ser sotmesos a test, com és el cas de la proteïna albúmina i altres enzims com els SDH, NP, SOD, PGD, GOT i d'altres.

Per tant, s'ha de considerar provada la presència d'*Apodemus flavicollis* al Montseny i a Catalunya, amb la corroboració de la citació de Niethammer (1956) com la primera per al Principat. Com ja ha estat indicat per altres autors, la diferenciació entre les dues espècies per caràcters morfològics es fa més difícil al sud que no pas al centre i al nord d'Europa. Amb les poques dades disponibles en aquest moment i la juxtaposició de les variables biomètriques analitzades, que és prou considerable, encara no es pot presentar una fórmula discriminantòria per a les poblacions de Catalunya. Amb tot, l'absència de T9 a l'M² sembla un bon caràcter discriminant per a l'adscripció d'un individu a *Apodemus flavicollis*.

Bibliografia

- Arrizabalaga, A.; Montagud, E.; Gosàlbez, J. *Introducció a la biologia i zoogeografia dels petits mamífers (insectívors i rosegadors) del Montseny (Catalunya)*. Barcelona: Generalitat de Catalunya. CIRIT, 1985, 113 pàg.
- Britton-Davidian, J.; Vahdati, M.; Benmehdi, F.; Gros, P.; Nancé, V.; Croset, H.; Guerassimov, S.; Triantaphyllidis, C. «Genetic differentiation in four species of *Apodemus* from Southern Europa: *A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. agrarius* and *A. mystacinus* (Muridae, Rodentia)». *Z. Säugetierkunde*, 56 (1991), 25-33.
- Chaline, J. *Les proies des rapaces. Petits mammifères et leur environnement*. París: Doin Ed., 1974, 141 pàg.
- Darviche, D.; Benmehdi, F.; Britton-Davidian, J.; Thaler, L. «Données préliminaires sur la systématique des genres *Mus* et *Apodemus* en Iran». *Mammalia*, 43 (1979), 427-430.
- Engel, W.; Vogel, W.; Voiculescu, I.; Ropers, H.H.; Zenzen, M.T.; Bender, K. «Cytogenetic and biochemical differences between *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus flavicollis*, possibly responsible for the failure to interbreed». *Comp. Biochem. Physiol.*, 44B (1973), 1.165-1.173.
- Gemmeke, J. «Proteinvariation und Taxonomie in der Gattung *Apodemus* (Mammalia, Rodentia). *Z. Säugetierkunde*, 45 (1980), 348-365.
- Gemmeke, V.H.; Niethammer, J. «Die Waldmäuse *Apodemus sylvaticus* und *A. flavicollis* von Monte Gargano (Süditalien)». *Z. Säugetierkunde*, 46 (1981), 162-168.
- Gosàlbez, J. *Insectívors i rosegadors de Catalunya. Metodologia d'estudi i catàleg faunístic*. Barcelona: Ketres Ed., 1987, 241 pàg.
- Niethammer, J. «Insektenfresser und Nager Spaniens». *Bonn. Zool. Beitr.*, 7, 4 (1956), 249-295.
- Pasteur, N.; Pasteur, G.; Bonhomme, F.; Catalan, J.; Britton-Davidian, J. *Manuel d'électrophorèse appliquée à la génétique des populations*. París: Éditions Techniques et Documentation, 1987, 232 pàg.