

Cariotipos de diez especies de serpientes costarricenses de la familia Viperidae

por

José María Gutiérrez * Richard T. Taylor*, ** y Róger Bolaños *

(Recibido para su publicación del 12 de junio de 1979)

Abstract: All the karyotypes of ten snake species of the family Viperidae from Costa Rica have a diploid number of 36 chromosomes, 16 macro- and 20 microchromosomes; females show an heteromorphism in the fourth pair. The karyological differences are restricted to the position of the centromere in the eighth chromosome pair and in the W-sex chromosome. The karyotypes of *Bothrops asper*, *B. nigroviridis*, *B. schlegelii*, *B. nummifer*, *B. picadoi*, *B. nasutus* and *Crotalus durissus durissus* are of an identical pattern, having a submetacentric eighth pair and a submetacentric W-sex chromosome. The autosomal pattern of *B. godmani* and *Lachesis muta stenophrys* is similar to that of the above group, except that the W-sex chromosome is submetacentric. The karyotype pattern of *B. lateralis* is different from these in that it has a submetacentric eighth pair.

La familia Viperidae incluye una enorme cantidad de especies de serpientes venenosas distribuida en América, Asia, Africa y Europa (Klemmer, 1968; Broadley, 1968; Leviton, 1968; Hoge y Romano, 1971). Esta familia se subdivide en dos subfamilias, Viperinae y Crotalinae; la primera incluye diez géneros y su distribución actual se restringe a Europa, Asia y Africa, en tanto que la subfamilia Crotalinae, para presentar especies en el continente asiático, fundamentalmente ha proliferado en América, donde existe un gran número de especies distribuidas en los géneros *Agkistrodon*, *Crotalus*, *Sistrurus*, *Lachesis* y *Bothrops* (Peters y Orejas-Miranda, 1970; Klauber, 1971). En Costa Rica esta familia está ampliamente distribuida (Bolaños, 1971; Taylor *et al.*, 1973) y presenta doce especies, nueve de ellas en el género *Bothrops* y una en cada uno de los géneros *Agkistrodon*, *Crotalus* y *Lachesis* (Bolaños y Montero, 1970; Peters y Orejas-Miranda, 1970; Bolaños, 1971).

Los estudios evolutivos en las serpientes han sido difíciles por cuanto existe un pobre registro fósil (Baker, *et al.*, 1972). Por ello, casi todas las relaciones filogenéticas se han inferido a partir de criterios morfológicos e.g. Brattstrom (1964). Desde hace algunos años se vienen utilizando, con frecuencia creciente, los métodos citogenéticos como instrumento para el análisis de los procesos evolutivos en las serpientes; los trabajos de Beçak (1965), Beçak y Beçak (1969) y Singh

* Instituto Clodomiro Picado, Universidad de Costa Rica.

** Dirección actual: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Autónoma, Costa Rica.

(1972) constituyen revisiones de los avances que se han efectuado en este campo.

Existe una gran similitud entre los cariotipos estudiados de la subfamilia Crotalinae ya que todos ellos presentan un juego diploide de 36 cromosomas, constituido por 16 macrocromosomas y 20 microcromosomas; además, es evidente el heteromorfismo en el cuarto par de cromosomas en las hembras (Beçak, 1965; Beçak y Beçak, 1969). Para efecto de hacer comparaciones de las que se puedan derivar evidencias para conclusiones filogenéticas, se ha utilizado las diferencias en la posición del centrómero en algunos macrocromosomas, así como las variaciones observadas en el cromosoma sexual W (Zimmerman y Kilpatrick, 1973).

El propósito del presente trabajo es el de estudiar los cariotipos de diez de las doce especies costarricenses pertenecientes a la familia Viperidae, para contribuir en el análisis de la evolución cromosómica del grupo.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron los cariotipos de las siguientes especies de serpientes: *Bothrops asper*, *B. schlegelii*, *B. nigroviridis*, *B. nummifer*, *B. picadoi*, *B. nasutus*, *B. godmani*, *B. lateralis*, *Crotalus durissus durissus* y *Lachesis muta stenophrys* (de la vertiente Atlántica).

Para la obtención de cariotipos se utilizaron dos métodos: (a) inyección *in vivo* de fitohemaglutinina cruda, obtenida a partir de semillas de *Phaseolus lunatus* y detención de la mitosis *in vitro* con colchicina (Taylor y Bolaños, 1975); y (b) Inoculación *in vivo* tanto de fitohemaglutinina como de colchicina (Gutiérrez y Bolaños, 1979). Los cromosomas se agruparon por orden decreciente de tamaño y los macrocromosomas se clasificaron en cuatro grupos; de acuerdo con la posición del centrómero, siguiendo la nomenclatura utilizada por Levan *et al.* (1964): metacéntricos, submetacéntricos, subtlocéntricos y acrocéntricos.

RESULTADOS

Todas las especies estudiadas presentaron un número diploide de 36 cromosomas, con 16 macro- y 20 microcromosomas; las variaciones observadas residen en la posición del centrómero en algunos macrocromosomas.

Los cariotipos de *Bothrops asper* (Fig. 1), *B. nigroviridis* (Fig. 2), *B. schlegelii* (Fig. 3), *B. nummifer* (Fig. 4), *B. picadoi* (Fig. 5), *B. nasutus* (Fig. 6) y *Crotalus durissus durissus* (Fig. 7) forman un grupo con un patrón común ya que todas ellas presentan los pares 1,3,4 y 7 metacéntricos, los pares 2 y 5 submetacéntricos y los pares 6 y 8 subtlocéntricos. En todas estas especies se observa también un claro heteromorfismo en el cuarto par en las hembras, al presentar el cromosoma Z metacéntrico y el W submetacéntrico y más pequeño.

B. lateralis, *B. godmani* y *L. m. stenophrys* presentan cariotipos con ligeras variaciones en relación con el grupo anterior ya que en *B. lateralis* el octavo par de macrocromosomas es submetacéntrico (Fig. 8) y en *B. godmani* y *L. muta stenophrys* el cromosoma sexual W es subtlocéntrico (Figs. 9 y 10).

DISCUSION

El patrón cariotípico de 36 cromosomas, con 16 macro- y 20 microcromosomas, es el más frecuente en el suborden Serpentes, presentándose en una gran cantidad de especies de las familias Boidae, Colubridae y Viperidae (Beçak

y Beçak, 1969; Singh, 1972; Zimmerman y Kilpatrick, 1973). Aparentemente éste es un patrón ancestral a partir del cual se desarrollaron otros (Gorman y Gress, 1970); también esta coincidencia es una base de apoyo para la tesis respaldada por Baker *et al.* (1972) de que la familia Viperidae ha derivado de la familia Colubridae. Entre otros patrones cariotípicos en las serpientes se encuentran los de algunas especies de la subfamilia Natricinae, cuyo número diploide es también de 36 cromosomas, pero no se aprecia un cambio abrupto de tamaño entre los macro- y los microcromosomas, sino que el tamaño de los cromosomas decrece gradualmente (Baker *et al.*, 1972). Otro cariotipo que se aleja claramente de este patrón es el de *Clelia occipitolutea* cuyo número diploide es de 50 cromosomas (Beçak, 1965).

Esta homogeneidad cariológica de la subfamilia Crotalinae contrasta con el polimorfismo observado en la familia Elapidae (Gutiérrez y Bolaños, 1979). Es interesante anotar la buena correlación existente cuando se comparan la magnitud de la variación cariotípica intrafamiliar con el grado de variación inmunológica de los venenos. Así, las especies de la subfamilia Crotalinae presentan un patrón cariológico homogéneo y sus venenos son bastante similares desde el punto de vista inmunológico (Bolaños y Cerdas, 1978). En cambio, en el género *Micrurus*, el marcado polimorfismo cromosómico intragenérico es similar a la divergencia inmunológica de los venenos, reflejada en la incapacidad de ciertos sueros mono-específicos para neutralizar venenos de otras especies (Cohen *et al.*, 1971; Bolaños *et al.*, 1978).

Las variaciones cariotípicas dentro de la subfamilia Crotalinae se circunscriben a la diferente posición del centrómero en algunos pares de macrocromosomas, así como a variaciones en el cromosoma sexual W. Las diferencias morfológicas de los cromosomas sexuales han sido utilizadas para rastrear las relaciones filogenéticas de estas serpientes (Zimmerman y Kilpatrick, 1973). El modelo propuesto por Beçak y Beçak (1969) para interpretar la secuencia evolutiva de los cambios morfológicos en estos cromosomas es el que mejor explica los datos obtenidos relativos a esta subfamilia (Zimmerman y Kilpatrick, 1973). De acuerdo con dicho modelo, los cariotipos estudiados en el presente trabajo se ubican en un estadio altamente evolucionado al poseer todos ellos el cromosoma W con el centrómero en posición submediana o subterminal y al tener dicho cromosoma una magnitud menor que la del cromosoma sexual Z.

Luego de un amplio análisis osteológico y utilizando también otros criterios morfológicos y zoogeográficos, Brattstrom (1964) concluyó que la subfamilia Crotalinae se bifurcó en el Eoceno, originando dos líneas evolutivas principales: por un lado, la constituida por *Trimeresurus* y *Bothrops* y, por otro, la línea formada por *Agkistrodon*, *Sistrurus*, *Crotalus* y *Lachesis*. Los puntos de vista de Brattstrom coinciden con el criterio citogenético en el sentido de que los géneros *Crotalus*, *Lachesis* y *Bothrops* son muy evolucionados. Por otra parte, la bifurcación de las especies del género *Bothrops* en terrestres y arborícolas postulada por Brattstrom no ha sido corroborada por diferencias cariológicas en el presente estudio.

RESUMEN

Se estudiaron los cariotipos de diez especies de serpientes costarricenses pertenecientes a la familia Viperidae. Todas presentaron un número diploide de 36 cromosomas, 16 de ellos macrocromosomas y 20 microcromosomas; las hembras presentaron un cuarto par heteromórfico (ZW). Las diferencias cariológicas observadas se circunscribieron a la posición del centrómero en el octavo par de macrocromosomas y en el cromosoma sexual W. Los cariotipos de *Bothrops asper*,

B. nigroviridis, *B. schlegelii*, *B. nummifer*, *B. picadoi*, *B. nasutus* y *Crotalus durissus durissus* presentaron un patrón común, siendo el octavo par de cromosomas subtelocéntrico y el cromosoma sexual W submetacéntrico. Por su parte, *B. godmani* y *Lachesis muta stenophrys* presentaron un juego de autosomas semejante al del grupo anterior, pero el cromosoma sexual W de estas dos especies es subtelocéntrico. El cariotipo de *B. lateralis* se diferencia de este patrón en que posee el octavo par de macrocromosomas con el centrómero en posición submediana. En el presente trabajo se discuten algunas conclusiones evolutivas derivadas de este estudio cariológico.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los señores Alvaro Flores Badilla, Guillermo Flores Badilla, Gerardo Serrano Sánchez y Alejandro Solórzano López por su valiosa ayuda en el manejo de las serpientes. A la señora Hilda Herrera de Solera por el trabajo mecanográfico y al Dr. Pedro León por su colaboración a lo largo de esta investigación. El trabajo fue financiado por la Universidad de Costa Rica y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

REFERENCIAS

- Baker, R.J., G.A. Mengden, & J.J. Bull
1972. Karyotypic study of thirty-eight species of North American snakes. *Copeia*, 1972: 257-265.
- Beçak, W.
1965. Constituição cromossômica e mecanismo de determinação do sexo em ofídios sul-americanos. I. Aspectos cariotípicos. *Mem. Inst. Butantan*, 32: 37-38.
- Beçak, W., & M.L. Beçak
1969. Cytotaxonomy and chromosomal evolution in Serpentes. *Cytogenetics*, 8: 247-262.
- Bolaños, R.
1971. Nuevos recursos contra el ofidismo en Centroamérica. 30 p. Departamento de Publicaciones, Universidad de Costa Rica. 2a edición.
- Bolaños, R., & L. Cerdas
1978. The production and control of anti-venoms sera. *In*. 15th. IABS Congress: Vaccinations in the developing countries, La Guadeloupe. *Develop. biol. Standard.*, vol. 41, p. 109-116.
- Bolaños, R., L. Cerdas, & J.W. Abalos
1978. Venenos de las serpientes coral (*Micrurus* spp): Informe sobre un antiveneno polivalente para las Américas. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 84: 128-133.

Fig. 1. Cariotipo de *Bothrops asper*. El cuarto par de cromosomas en las hembras se muestra en el cuadro.

Fig. 2. Cariotipo de *Bothrops nigroviridis*.

BOTHROPS ASPER ♂



1



2



3



4



5



6



7



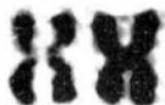
8

1



9-18

BOTHROPS NIGROVIRIDIS ♂



1



2



3



4



5



6



7



8

2



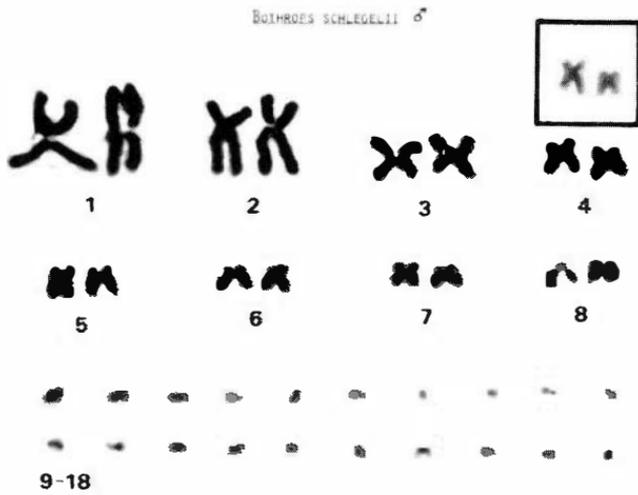
9-18

- Bolaños, R., & J.R. Montero**
1970. *Agkistrodon bilineatus* Gunther from Costa Rica. Rev. Biol. Trop., 16: 277-279.
- Brattstrom, B.H.**
1964. Evolution of pit vipers. Trans. San Diego Soc. Nat. Hist., 13: 185-268.
- Broadley, D.G.**
1968. The venomous snakes of Central and South Africa. p. 403-435. In W. Bücherl, E. Buckley, & V. Deulofeu (eds.). Venomous animals and their venoms; vol. 1. Venomous vertebrates. Academic Press, New York.
- Cohen, P., W.H. Berkeley, & E.B. Seligman, Jr.**
1971. Coral snake venoms: *In vitro* relation of neutralizing and precipitating antibodies. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 20: 646 - 649.
- Gorman, G.C., & F. Gress**
1970. Chromosome cytology of four boid snakes and a varanid lizard with comments on the cytosystematics of primitive snakes. Herpetologica, 26: 308-317.
- Gutiérrez, J.M., & R. Bolaños**
1979. Cariotipos de las principales serpientes de coral (Elapidae: *Micrurus*) de Costa Rica. Rev. Biol. Trop., 27: 57-73.
- Hoge, A.R., & S.A. R.W. D.L. Romano**
1971. Neotropical pit vipers, sea snakes and coral snakes, p.211-293. In W. Bücherl & E. Buckley (eds.). Venomous animals and their venoms. Vol.II: Venomous vertebrates. Academic Press, New York.
- Klauber, L.M.**
1971. Classification, distribution, and biology of the venomous snakes of Northern Mexico, the United States and Canada: *Crotalus* and *Sistrurus*; p. 115-156. In W. Bücherl & E. Buckley (eds.). Venomous animals and their venoms. Vol.II: Venomous vertebrates. Academic Press, New York.
- Klemmer, K.**
1968. Classification and distribution of European, North African and North and West Asiatic venomous snakes; p. 309-325. In W. Bücherl, E. Buckley & V. Deulofeu (eds.). Venomous Animals and their venoms. Vol. I: Venomous vertebrates. Academic Press, New York.
- Levan, A., K. Fredga, & A.A. Sandberg.**
1964. Nomenclature for centromeric positions in chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.
- Leviton, A.T.**
1968. The venomous terrestrial snakes of East-Asia, India, Malaya, and Indonesia; p. 529-576. In W. Bücherl, E. Buckley & V. Deulofeu (eds.). Vol. 1. Venomous vertebrates. Academic Press, New York.
- Peters, J., & B. Orejas-Miranda**
1970. Catalogue of the Neotropical Squamata: Part I. Snakes. Bull. U.S. Natl. Mus., No. 297, p. i-viii+1-347.
- Singh, L.**
1972. Evolution of karyotypes in snakes. Chromosoma (Berl.), 38: 185-236.

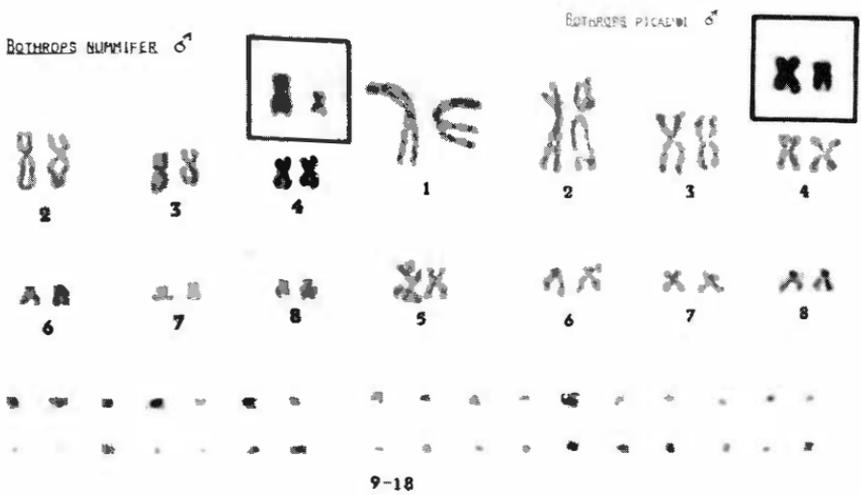
Fig. 3. Cariotipo de *Bothrops schlegelii*.

Fig. 4. Cariotipo de *Bothrops nummifer*.

Fig. 5. Cariotipo de *Bothrops picadoi*.



3



4

5

Taylor, R.T., & R. Bolaños

1975. Descripción de un método simple y económico para el estudio de cariotipos de serpientes. *Rev. Biol. Trop.*, 23: 177-183.

Taylor, R.T., A. Flores, G. Flores, & R. Bolaños

1973. Geographical distribution of Viperidae, Elapidae and Hydrophiidae in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 21: 383-397.

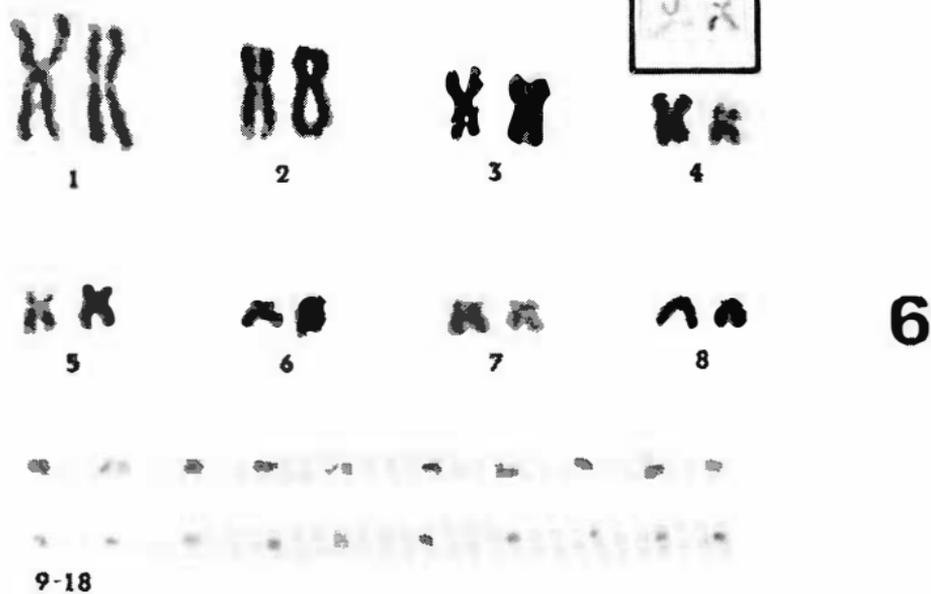
Zimmerman, E.G., & W. Kilpatrick

1973. Karyology of North American Crotaline snakes (Family Viperidae) of the genera *Agkistrodon*, *Sistrurus*, and *Crotalus*. *Can. J. Genet. Cytol.*, 15: 389-395.

Fig. 6. Cariotipo de *Bothrops nasutus*.

Fig. 7. Cariotipo de *Crotalus durissus durissus*

BOIHROPES NASUTUS ♂



CROTALUS DURISSUS DURISSUS ♂

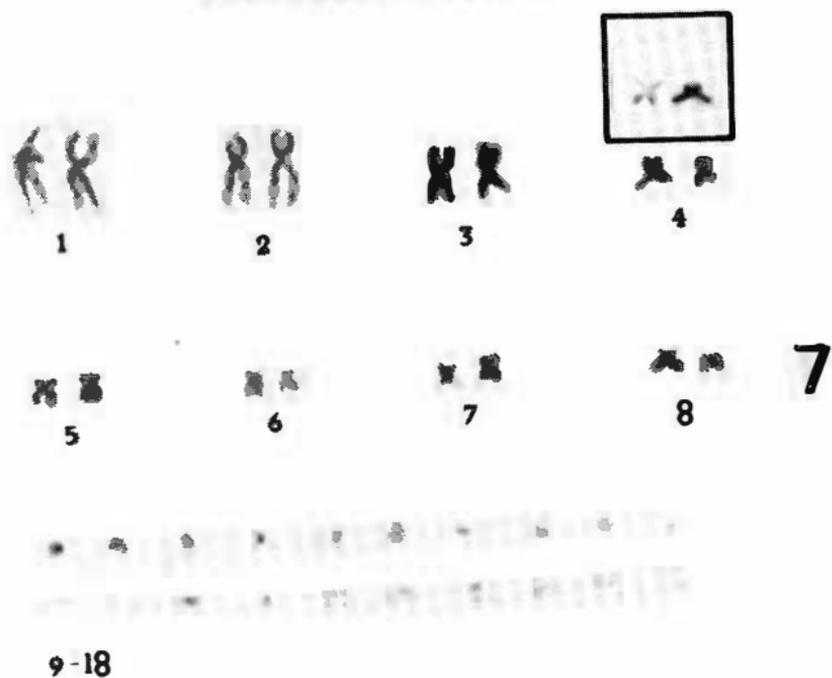


Fig. 8. Cariotipo de *Bothrops lateralis*

Fig. 9. Cariotipo de *Bothrops godmani*

Fig. 10. Cariotipo de *Lachesis muta stenophrys* (hembra) con el cuarto par de cromosomas heteromórfico.

BOTHROPS LATERALIS ♂



1



2



3



4



1



2



3



4



5



6



7



8



5



6



7



8



9-18

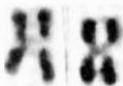


9-18

8

10

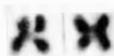
BOTHROPS GODMANI ♂



1



2



3



4



5



6



7



8

9



9-18