

Estudio histogenético de la espermatogénesis del morueco

Por el Profesor de Zootecnia de la Facultad de Veterinaria de Córdoba

DON MANUEL PEREZ CUESTA

Memoria presentada para la obtención del
Diploma de Estudios Superiores de Veterinaria

FINES DEL TRABAJO

Por consejo del Catedrático de Zootecnia Especial de la Facultad de Veterinaria de Córdoba, Sr. Aparicio Sánchez, y como continuación al trabajo de Citogenética sobre «Estudios cromosómicos en la especie Ovis aries» que, a manera de avance de nuestras investigaciones, expusimos en el Congreso por el Progreso de las Ciencias celebrado en nuestra Facultad en Octubre del año 1944, presentamos esta Memoria sobre «Estudio histogenético de la espermatogénesis del morueco» para obtener el Diploma de Estudios Superiores de Veterinaria, esperando de la benevolencia de quienes hayan de juzgarla, su buena acogida a los fines deseados, teniendo en cuenta que este trabajo sigue siendo principio y no eta de nuestras investigaciones.

Introducción.

Siendo dos células, espermatozoide y óvulo, las responsables de la continuidad genética de las generaciones, el estudio citológico profundo y detallado de estos elementos, hecho con fines genéticos, constituye la única base objetiva y directa de interpretación del mecanismo de la herencia, que tan brillantes éxitos ha proporcionado a la escuela de MORGAN.

Admitida la teoría cromosómica de la herencia de manera universal, el interés de las investigaciones cito-genéticas se fija hoy, especialmente, en el estudio del mecanismo íntimo en virtud del cual se desenvuelven las divisiones goniales y meióticas de las células germinales para, a la vez que se determina el cariograma específico, racial y hasta individual de los seres, tratar de interpretar, sobre bases genético-físicas, las manifestaciones externas de la herencia, con la suprema aspiración de llegar en nuestros

animales, algún día, a la determinación de causa a efecto, concretos, de los hechos hereditarios.

Con esta idea, trabajamos en la espermatogénesis del morueco, a fin de llegar a conocer su fórmula cariográfica de la manera más completa; los fenómenos cromosómicos acaecidos durante las divisiones mitóticas y meióticas de las células germinales, por la observación e interpretación del mayor número posible de estadios de división que caracterizan a cada una; la determinación del tipo de herencia sexual por la identificación de los cromosomas respectivos; en suma, de todos cuantos datos genéticos puedan deducirse del estudio citológico detallado.

Hemos querido empezar estudiando los diferentes tipos celulares que integran el lobulillo, especialmente las células glandulares que forman en la pared del tubo seminífero la *línea seminal*, para tratar de obtener su neta identificación, ya que, entre algunas de ellas (espermatogonias y espermatoцитos) reina, en el sentir de

los histólogos, cierta oscuridad que nos era incompatible con un estudio serio de los fenómenos cromosómicos y su interpretación en cada tipo celular.

En medio de nuestro trabajo personal, hemos sentido la falta de material bibliográfico, a pesar de nuestra constante búsqueda, que se ocupara del tema que tratamos.

Entre las citas halladas, KRALLINGER, 1931, (Arch. Tiernahrung, Tierzuch, Abt. B. 5), considera integrado el cariograma del *morueco* por sesenta cromosomas, para su número diploide (2n) y treinta para la fase haploide (n) del mismo, afirmando que el determinismo sexual corresponde al tipo X-Y.

MONTALENTI, en sus Elementos de Genética, 1939, cita el mismo número de cromosomas que el autor anterior para las dos fases, si bien no habla de los cromosomas sexuales.

BERRY, 1941, citado por RICE (Breeding and Improvement of Farm animal), habla de cincuenta y cuatro cromosomas integrantes del cariograma del animal que estudiamos, en su número diploide.

Para la interpretación de los fenómenos propios de las divisiones goniales y meióticas, hemos contrastado nuestras observaciones personales con las ideas generales de las Escuelas clásicas de Citología y de los más modernos especialistas, principalmente, DARLINTONG en Recent Advances in Citology, 1937; LOTHAR GEITLER, Chromosombau, 1938; Th. H. MORGAN, Embriology and genetics, trad. ital., 1938; y otros varios, entre los principales.

Así mismo, hemos recogido las indicaciones de otros muchos investigadores GEITLER, 1935 y IPCOT, 1935, KIWADA y NAKAMURA, 1935, DARLINTONG, 1936, sobre la idea del ciclo de espiralización que sufren las cromosomas, tanto en la mitosis, como en la meiosis, como fundamento de la moderna teoría sobre la mecánica de los cromosomas; sobre la transformación del núcleo metafásico en núcleo quiescente por la acción de los vapores de amoníaco, según KIWADA y NAKAMURA; las constataciones de BELAR, trabajando con células vivas; la moderna concepción del papel asignado a los centrómeros, según DARLINTONG, KEHL, 1936 y

1940, respectivamente y otras que omitimos para no hacer interminable esta lista, que en más de un caso nos han facilitado grandemente la interpretación de las imágenes observadas.

Medios de investigación utilizados.

MATERIAL.—Como material biológico, nos ha servido de base el testículo de morueco de animales sacrificados en el Matadero Municipal de esta ciudad, eligiéndose los órganos de animales de diferentes edades (jóvenes y adultos) a fin de obtener, en las preparaciones, imágenes que, con seguridad, respondieran a las diferentes fases evolutivas de las células germinales, ya que en las preparaciones de los animales jóvenes (hasta los 6 u 8 meses, según la precocidad), de acuerdo con la fisiología sexual, no se aprecia una diferenciación histogenética de los diferentes tipos evolutivos celulares (espermatozonias, espermatozitos, espermátidas y espermatozoides) sino sólo dos clases de células diferenciables por su tamaño y morfología diferentes.

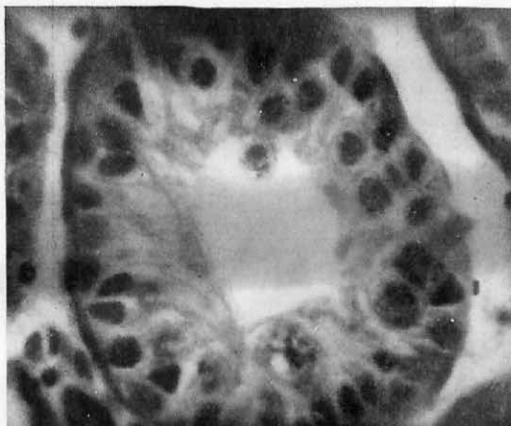
TECNICAS.—El testículo, despojado de su membrana albugínea, a fin de facilitar la penetración de los reactivos, en especial de los fijadores, fué reducido a trozos convenientes (3-4 milímetros de espesor); debiendo advertir que por la poca consistencia del tejido testicular y para evitar la alteración de las delicadas estructuras cromosómicas, nos vimos precisados a obtener los bloques con suma delicadeza, procediendo, primero, a cortar láminas u hojas de 3-4 mm. de espesor del tejido espermático, en toda la profundidad del órgano, y de ellas, trozos largos y delgados que en toda su longitud eran fijados y por último y a favor de la consistencia obtenida con la fijación, es cuando eran reducidos a secciones de tamaño eficazmente incluible.

Como reactivos fijadores, hemos utilizado varios líquidos, para contrastar los resultados y conseguir diferentes fines: el *formol* en solución al 10 por 100 (durante 24 horas y lavado consiguiente en agua); *mescla* de *SANFELICE* (com-

puesta por ácido crómico al 1 por 100, 160 c.c.; formol 80 c.c., ácido acético 10 c.c. Los bloques estaban en ella 24 horas y después eran lavados durante 48 horas en agua varias veces renovada. El líquido de ZENKER, en el que las piezas aún más pequeñas (de 1 $\frac{1}{2}$ -2 mm. en armonía con la escasa penetración del reactivo) permanecen 20-24 horas y son lavadas después en agua corriente 24 horas. Durante la deshidratación subsiguiente y mientras los bloques están en el alcohol de 90°, añadimos yodo o solución yodoyodurada, en cantidad necesaria hasta que el alcohol tomaba coloración de vino de Oporto, adicionando yodo hasta que esta coloración era persistente durante 24 horas, indicio de la desaparición del mercurio y cloruro mercurioso, que en otro caso dan lugar a precipitados que enmascaran las estructuras nucleares; para evitar, por último, la alteración de las apetencias tintoriales que en las células originaba el yodo, los bloques, y mejor los cortes, son sumergidos en una solución de hiposulfito de sosa al 25 por 100 durante 5 minutos. En fin, utilizamos también, el líquido de NAVACHINE (que por su inestabilidad preparábamos siempre en el momento de utilizarlo; 10 c.c. de solución de ácido crómico al 1 por 100; 4 c.c. de formol al 40 por 100 y 1 c.c. de ácido acético cristalizante, en el que han sido fijadas las piezas durante 24 horas, lavándose después de la fijación en agua corriente otras 24 horas.

El formol, lo utilizamos para obtener coloraciones que nos dieran buenas imágenes de conjunto y los tres restantes fijadores para el estudio de las estructuras nucleares, siendo de ellos el preferido por nosotros, el líquido de NAVACHINE, por ofrecer las siguientes ventajas sobre los otros dos: 1.ª Simplicidad en su utilización (no requiere como el líquido de ZENKER, el empleo del yodo que suele retardar la inclusión de 3 a 4 días, ni, por tanto, la del hiposulfito y sólo un lavado en agua durante 24 horas y no 48 como exige la mezcla de SANFELICE); 2.ª Los

cromosomas son ligeramente abultados por su acción, lo que facilita su observación y estudio; 3.ª La cromatina toma la coloración (hematoxilina) de manera tan intensa y la retiene tan largo tiempo, que durante la diferenciación los cromosomas quedan intensamente coloreados, cuando los otros elementos nucleares están completamente decolorados, lo que da nitidez y precisión a los detalles; 4.ª Por las razones anteriormente expuestas, es un fijador fácil de emplear, que no presenta el riesgo en la diferenciación, ya que no es preciso señalar con rigidez el límite de la mis-



MICROFOTOG. 1.—Sección transversal de testículo de animal joven (borrego) antes de llegar a la pubertad. En el tubo seminífero se observan: elementos cilíndricos que se transformarían en células de SERTOLI; células germinales primitivas o arquiespermioctos; profases mitóticas de las células germinales primitivas. Fuera de aquél: células intersticiales. 1.500 X

ma; 5.ª Por último, conservando el detalle de los cromosomas, acelera las ulteriores manipulaciones.

El líquido de ZENKER, sin embargo, también nos ha proporcionado buenas preparaciones, algunas de cuyas imágenes ilustran este trabajo en las correspondientes microfotografías.

En todo caso, y con la excepción apuntada para el líquido de ZENKER, hemos seguido la técnica ordinaria y marcha clásica de *deshidratación*, en la serie de alcoholes, *aclorado* con

tolueno e inclusión en parafina, para tener cortes de 3 a 5 micras de espesor.

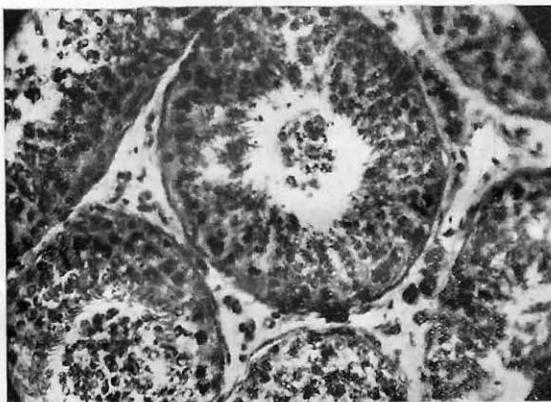
Con el objeto de evitar los errores de observación, procedentes de la probabilidad de que una sección o corte del testículo no encerrase todas las estructuras nucleares o elementos cromáticos propios de la especie, susceptibles de quedar en otros planos más profundos o superficiales, incluimos en nuestra técnica, la obtención de cortes seriados, de manera que pudiéramos observar las células en todo su espesor, tarea laboriosa en extremo, que requiere la identificación de cada célula en 4 o 6 preparaciones, pero de innegable valor en la verdadera comprobación de las citadas estructuras.

En relación con los líquidos fijadores, hemos utilizado diferentes coloraciones para lograr los fines buscados. Para los bloques fijados en *formol*, empleamos el procedimiento de *Hemalum-eosina*, con el fin de obtener imágenes de conjunto (20 minutos en hemalum, diferenciación con alcohol clorhídrico y coloración de fondo con eosina).

Para la mezcla de SANFELICE, la coloración de MANN al azul de metilo eosina, que da coloraciones puras por impregnación, pero no por precipitación, (24 horas en la solución colorante; lavado en agua y deshidratación en alcohol absoluto; diferenciación en: alcohol absoluto 60 c.c. más 10 gotas de solución al 1 por 100 de NaOH en alcohol absoluto, hasta obtener color rojo en los cortes; lavado en alcohol absoluto hasta la eliminación completa de la NaOH; inmersión en agua común débilmente acidificada con ácido acético; deshidratación y montaje al bálsamo). Este procedimiento, largamente ensayado por nosotros, nos ha facilitado algunas preparaciones de aceptables imágenes y de nitidez conveniente, pero en un porcentaje pequeño, ya que las estructuras nucleares resultaban casi siempre débilmente coloreadas, lo que hacía difícil la observación y estudio necesarios.

Finalmente, hemos utilizado la coloración de

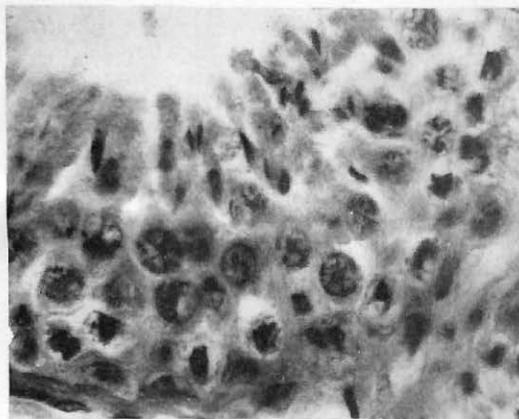
la *hematoxilina férrica de HEIDENHAIN*, tanto para los cortes fijados en ZENKER, como en NAVACHINE. Los cortes libres de parafina e hidratados, eran bañados previamente durante 10 horas en una solución de alumbre de hierro al 2,5 por 100; coloración durante 24 horas con una solución madura de hematoxilina al 0,5 por 100; por último, diferenciación en una solución de alumbre férrico al 1,5 por 100, concentración elegida por nosotros entre los límites que marcan las técnicas (0,5 al 5 por 100), porque en ella se reúnen las exigencias de finura y rapidez conve-



MICROFOTOG. 2.—Sección transversal de testículo de morueco. En el tubo seminífero central se aprecian concéntricamente, desde la pared propia, las células germinales en los diferentes tipos de maduración hasta los espermios, cuyas colas flotan en su misma luz. 530 X

nientes de diferenciación. Este proceso hay que vigilarlo cuidadosamente, mirando las preparaciones al microscopio (especialmente en los cortes fijados en ZENKER y poco en los de NAVACHINE) con tanta más frecuencia, cuanto más avanza hacia su término, para no pasar el límite conveniente. Aún cuando así lo realizamos al principio de nuestro trabajo, después de hacer muchas preparaciones, decidimos suprimir los mirajes, sirviéndonos de guía seguro el cambio de tonalidad de la coloración observado, desde el negro píceo que ofrecían los cortes al salir de la hematoxilina, hasta un violáceo muy claro y característico, que a nuestra personal y simple vista nos mostraba el término preciso de la dife-

renciación. Después de un lavado a fondo en agua corriente por espacio de dos horas (para arrastrar todas las partículas y precipitaciones posibles, que vimos enmascarar en muchos casos las verdaderas estructuras, por teñirse también en negro intenso como aquellas), hicimos la tinción plasmática, con una solución diluída (10 gotas de una solución al 1 por 100 en 10 c.c. de agua destilada) de eosina, a fin de efectuar una sutil tinción de fondo que no hiciese perder el menor detalle a las delicadas estructuras nucleares.



MICROFOTOG. 3.—Sección transversal de una porción de tubo seminífero en la que se observan a partir de la membrana propia; espermátogonias, espermátocitos de primer orden; pre-espermátidas, espermátidas, y hacia el centro del campo, la base y la expansión protoplásmica de una célula de SERTOLI. 1.064 X

Este último método de coloración es el que nos ha proporcionado más netas y bellas imágenes, de manera que confirmamos, una vez más, con nuestros resultados, la superioridad de este método en la técnica de coloración nuclear.

Estudio histogenético de la espermatogénesis del morueco.

En primer término y para proceder metódicamente en nuestra sucinta exposición, después de un breve estudio de la estructura general del

testículo del morueco, hacemos una descripción de los caracteres de los diferentes tipos evolutivos o de transformación de las células germinales y su localización en el tubo seminífero, para ocuparnos después de los mismos elementos, en cuanto a los fenómenos mitóticos y de reducción cromática que en ellos se verifican, ideas que son reflejo de las observaciones personales hechas en nuestras preparaciones.

1. ESTUDIO GENERAL.—En un corte de testículo de morueco, se aprecian como en las demás especies de animales superiores, las siguientes partes: el armazón fibroso y los lobulillos y tubos seminíferos delimitados por aquél.

A) *Lobulillos seminíferos*.—El armazón fibroso constituido por la membrana albugínea, espesa, blanca y brillante que envuelve a la glándula, envía desde su cara interna tabiques conjuntivos que dividen al parenquima en compartimentos alargados o lobulillos seminíferos. Dentro de cada lobulillo y separando los conductos seminíferos, existe un tejido conjuntivo flojo, rico en vasos sanguíneos y linfáticos, lagunas plasmáticas y células conectivas intersticiales o de LEIDIG.

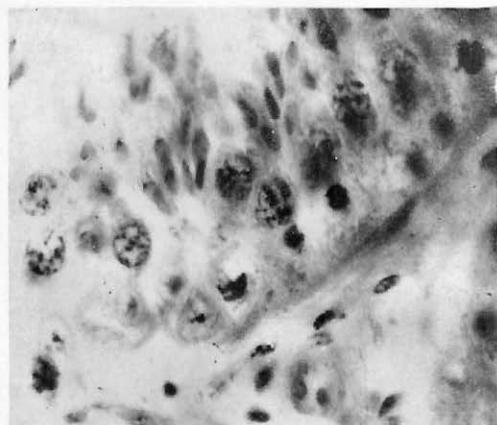
En el morueco se encuentran sólo trabéculas intralobulares pero no tabiques completos, por lo que sus lobulillos no están totalmente deslindados. Los tubos seminíferos dentro del lobulillo están muy cerca unos de otros, lo que hace que el tejido conjuntivo no sea muy abundante.

A débiles aumentos (50-100), el tejido conectivo intralobular aparece como un tejido conjuntivo fibroso delicado, rico en células, en general, de caracteres no especiales. A mayores aumentos (280 o más), se aprecian entre las células conectivas ordinarias las células de Leidig, extraordinariamente más escasas que en los demás mamíferos domésticos. Además se distinguen peor de las células de tejido conjuntivo ordinario porque no forman grandes grupos, sino que están esparcidas y son más pequeñas. Su distintivo

radica en su núcleo esferoideo y relativamente muy grande.

B) *Tubos seminíferos*.—Los tubos contorneados (túbulis contortis) del testículo de morueco, de una anchura media de 130 micras (más estrechos en la edad juvenil), se hallan constituidos por dos partes principales: la membrana propia y el epitelio germinal.

a) *La membrana propia* constituye la pared del tubo seminífero y tiene, en el morueco, un grosor medio de 4 micras. Ofrece siempre una



Microfotog. 4.—Sección transversal de otro tubo seminífero en la que se aprecian la porción de membrana propia correspondiente; junto a ella, una hilera de espermatogonias; por encima de éstas, cuatro espermatoцитos de primer orden; más hacia la luz del tubo, varias pre-espermátidas (o citos de segundo orden); finalmente, ramilletes de espermátidas en fase avanzada de transformación en espermios, sostenidos por la prolongación protoplasmática de las células de SERTOLI, observándose una de éstas con su núcleo triangular y nucleolo aparente. 1.064. \emptyset

estructura laminar y consta de tejido conjuntivo fibroso, con núcleos aplastados de sección transversal, fusiformes y concéntricos al tubo, y, sobre todo, de capas elásticas muy abundantes que existen sólo a partir de la pubertad. Por el contrario, nunca existen fibras musculares lisas.

Los túbulis contortis, están siempre rodeados de un espacio linfático peritubulillar, que como una clara aureola de 20 micras de espesor, envuelve a la membrana propia y por su límite más

externo contacta con el epitelio conjuntivo intertubular.

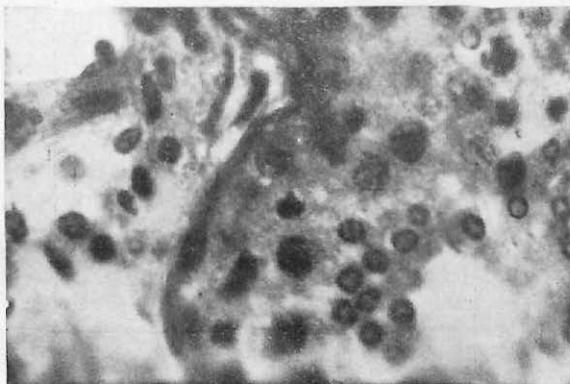
b) *Epitelio seminal*.—La estructura de los conductos seminíferos y la significación de las partes que los integran, se comprende perfectamente con el conocimiento del proceso de formación de los espermatozoides. En síntesis, sabemos que este proceso consiste en el desarrollo, a partir de una forma celular originaria, de cuatro tipos celulares distintos, cuya última forma da lugar por una simple transformación a los espermios activos. Sin embargo, la constitución del epitelio germinal varía, según se trate de animales que hayan pasado o no de la pubertad, por lo que lo trataremos separadamente.

A) *Estructura del epitelio germinativo en los animales jóvenes*.—Sabemos que en el embrión las células germinales se llaman *gonocitos*, mientras no puede reconocerse en ellas un decidido carácter sexual. Pero en cuanto la glándula se define como testículo, por la aparición de cordones sexuales específicos, reciben ya el nombre de células *germinales originarias* o *arquiespermiocitos*.

Pues bien, en el testículo de animales jóvenes (Microfotog. 1) antes de la pubertad, se ven tan sólo dos clases de células: unas, los citados *arquiespermiocitos*, que se distinguen por su tamaño (12-14 micras), por su forma esférica y que por continuas divisiones mitóticas reproducen las originarias, encontrándose en pequeño número (4 a 5 en cada corte transversal del tubo seminífero). El otro tipo

celular, está integrado por elementos epiteliales cilíndricos que constituyen la mayoría. Junto y entre estos elementos se aprecian, en casi todos los túbulis, vesículas de secreción o grandes vacuolas, en forma de masas ovales que a veces forman una corona densa próxima a la pared propia.

B) *Estructura del epitelio germinal en los animales adultos*.—Examinando con diferentes aumentos (100 a 1.500) las preparaciones obte-



MICROFOTOG. 5.—En esta sección, entre otras células, destacan, por su mayor número, las espermátidas que por ser de reciente formación tienen forma esférica.

742 ♂

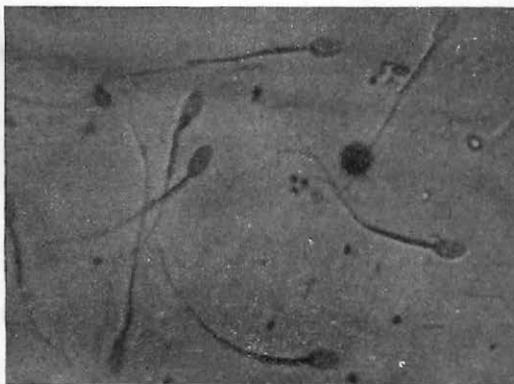
nidas, apreciamos, como a partir de la pubertad (6-8 meses), aparecen procesos de modificación en los dos tipos de células estudiados, (Microfotografía 2): de una parte, las células epiteliales citíndricas desarrollan su protoplasma y completan su morfología, convirtiéndose en células *nodrizas*, células *con pié* o células de *SERTOLI*, que se hallan localizadas junto a la delicada membrana propia del tubo seminífero; de otra, las células germinales primitivas, dan lugar, desde aquella época, a una serie de cuatro diversas formas de generaciones celulares (espermatozonias, espermatozonitos, preespermátidas y espermátidas que por fin se transforman en espermatozoides) (Microfotog. 4), repartidas en tres, cinco o siete capas o estratos entre las células de *SERTOLI*, a partir también de la membrana propia, constituyendo la conocida por *REGAUD* con el nombre de *línea seminal del epitelio germinativo*.

LINEA SEMINAL. 1.—Las células germinales originarias o *arquiespermocitos* (Microfotografía 3), ocupan el primer estrato de elementos situados siempre en la pared propia del tubo seminífero. Son células grandes,

de contornos netos, de 12 a 14 micras. Se les suele hallar en estado de reposo y se distinguen de las espermatozonias y espermatozonitos, no sólo por su localización, sino porque el núcleo contiene cromatina fina, polvororienta (núcleos polvororientes). Donde mejor se les observa es en los cortes de testículos de animales jóvenes, en los que aún no existen las otras series de células que siempre, por su apretada disposición, quitan visibilidad a las que analizamos.

Al dividirse, originan, unas veces, células de idénticas características, que de nuevo ocupan un lugar en la pared, pero en otros casos, dan lugar a células de distintos caracteres, las espermatozonias, que estudiamos a continuación.

2.—Las *espermatozonias* llamadas también *células madres de los espermatozoides* (Microfotog. 3 y 4), forman la segunda capa de células germinales, aunque suelen estar también en la pared propia, entre los *arquiespermocitos* y a veces son la primera y única capa por fallar aquellos. Son células más pequeñas que las anteriores, miden de 6 a 8 micras, diferenciándose de los núcleos de las células de sostén (que como veremos parecen células) que se encuentran a la misma altura, por su forma más o menos esférica.



MICROFOTOG. 6.—Espermios de marisco. 650 ♂



MICROFOTOC. 7.—Testículo de morueco. a) Espermatogonias en profases avanzadas. b) Grupo de pre-espermátidas en profase. 2.800 \times

ca y frecuentemente elipsoidea con el eje mayor paralelo a la dirección de la membrana propia, núcleos ricos en cromatina dispuesta a manera de corteza (núcleos costrosos), bien teñidos por la hematoxilina, conservándose en fases mitóticas relativamente frecuentes.

Las espermatogonias se multiplican mediante varias divisiones mitóticas, y al hacerlo, se empujan unas a otras hacia la luz del tubo seminífero. Conviénese en que las células que asientan próximas a la pared son espermatogonias, (ELLENBERGER, CAJAL, etcétera), mientras que las células desplazadas hacia la luz serían espermatoцитos. Nosotros hemos encontrado muchas excepciones a este aserto, como más adelante veremos.

Finalmente las células de la última división gonial, crecen y se transforman en un nuevo tipo celular, los espermatoцитos.

3.—*Los espermatoцитos de primer orden* o simplemente *espermatoцитos*, constituyen propiamente la segunda faja (ya que arquiespermioцитos y espermatogonias forman una sola, alternando con los núcleos de las células de Sertoli) de células germinales. (Microfotog. 3)

y 4). Está integrada por una o dos capas de redondeados y voluminosos espermatoцитos (de 9 a 15 micras), esféricos, ricos en cromatina, los cuales encierran uno o dos nucleolos.

En el período inicial de la transformación, las diferencias con las espermatogonias son casi imperceptibles y sus núcleos costrosos ocupan la mitad del tamaño celular. (Microfotog. 4).

A continuación y a medida que crecen, se distinguen por este hecho esencial y porque, en general, llegados al máximo tamaño, se aprecian los núcleos más claros que en las espermatogonias, por hallarse,

en gran número, en profases de la división heterotípica. (Microfotog. 5).

Algunos espermatoцитos de primer orden se encuentran formando parte del primer estrato junto a la pared propia, según hemos apreciado nosotros en varias observaciones, como análogamente muestra KIRILLOW en microfotografías de la espermatoгénesis del caballo, reproducidas por KRONACHER en su tratado de Zootecnia General.

4.—*Preespermátidas* o *espermatoцитos de se-*

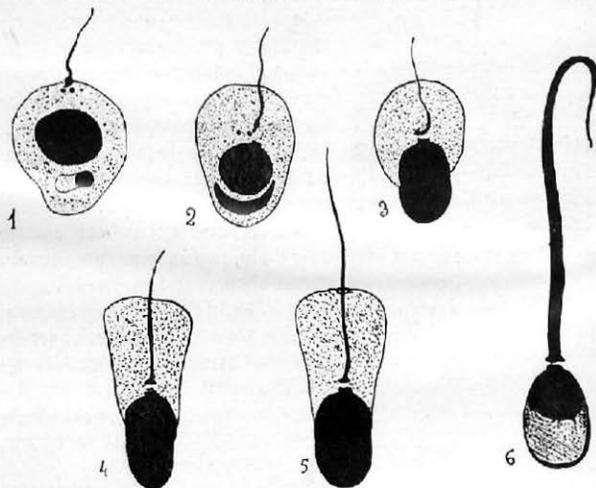


MICROFOTOC. 8.—Principio de la anafase gonial en el morueco. Véase como hacia los polos se han desplazado dos cromosomas que creemos sean los sexuales X e Y.

2.800 \times

gundo orden. (Microfotogs. 3 y 4). Más concéntricamente hacia la luz del tubo, se halla el tercer estrato, compuesto generalmente de varias capas de preespermátidas, esféricas, como los espermatocitos de primer orden, pero de tamaño mucho más reducido (6-7 micras) y núcleos más pobres en cromatina con motivo de la reducción cromática sufrida en la división de los espermatocitos de primer orden.

Aunque en estas células sobreviene, después de su aparición, un período intercinético o de reposo nuclear, muy pronto tiene lugar una división ecuacional que origina dos espermátidas,



Esquema de la espermiogénesis del morueco.

células estas, que representan la cuarta forma a partir de las seminales originarias.

5.—*Espermátidas*. (Microfotogs. 3, 4 y 5). En los confines de la luz del tubo seminífero y encima de las capas de células precedentes, hallamos las espermátidas, de forma esférica (al principio de su formación), de tamaño reducido, 4 a 5 micras, con núcleo que empieza a ser excéntrico a medida que van haciéndose ovoideas y avanza el período de transformación en espermatozoides.

Espermiogénesis.—Nuestras observaciones personales, de acuerdo con los estudios efectuados por BENDA en el ratón y por MEVES en la

salamandra, cobaya y hombre, nos permiten decir que este proceso en el morueco sigue un curso en todo análogo al descrito ampliamente en los Tratados clásicos de Embriología. Podemos afirmar que el núcleo de la espermátida (Microfotog. 6), se convierte en la parte principal de la cabeza del espermatozoide, por lo menos en su segmento posterior; el idiosoma en perforatorio, el centrosoma, divide en dos, pasa a ocupar el cuello del espermatozoide; el protoplasma da origen al filamento principal, a las mitocondrias y a las vainas. (Ver esquema).

Finalmente, las últimas transformaciones de maduración dan lugar a los espermios del morueco aptos para la fecundación, que alcanzan una longitud media de 65 a 75 micras desde el extremo del perforatorio a la punta de la cola, midiendo su cabeza, aproximadamente, de 7 a 9 micras de larga por 4 a 5 de ancha. (Microfotografía 6).

Células de SERTOLI. (Microfotografías 3 y 4). Conocidas también con los nombres de células con pié, de sostén, nutritivas, espermotoblastos (nombre impropio porque no son engendradores de espermio) y espermatóforos (más adecuado que el anterior, del griego foros, llevar), son altas y estrechas, dispuestas radialmente de trecho

en trecho, asentando, de una parte, mediante una delgada placa pedía, en la pared propia del tubo seminífero, mientras que por su extremo libre y lobuliforme terminan en la luz del conductillo a mayor o menor altura.

En la porción ensanchada y basal de estas células (Microfotog. 4), se encuentra el núcleo muy característico: su forma es casi siempre triangular y es claro y vesiculoso, recordando (según la feliz comparación de WALDEYER) a un saco algo plegado y con abolladuras; su nucleolo es muy aparente, ocupando posición central y del que emergen radiaciones estelares. Nunca ofrecen estados mitóticos. Por estas ca-

racterísticas, el núcleo y el nucleolo semejan células, facilitando el error probable, en los no iniciados, la casi imperceptibilidad del cuerpo celular. Sin embargo, se distinguen fácilmente de los núcleos de las células seminales, más voluminosos y casi siempre en diferentes fases mitóticas.

Por encima del pie de las células de Sertoli, sobresale una prolongación protoplásmica muy característica, que presenta filamentos que se extienden por entre las células espermatógenas hacia la luz del tubo seminífero.

De todos los puntos, las espermátidas se apiñan en esta blanda prolongación protoplásmica,

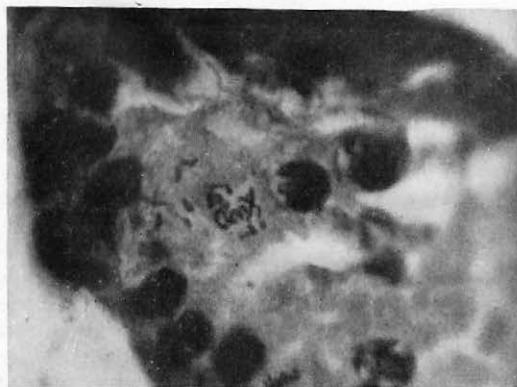
prolongaciones protoplásmicas servirían a aquel fin.

Estudio citológico co-sintético o en vista de conjunto del epitelio germinal de un tubo seminífero. Si después del estudio analítico anterior observamos un tubo seminífero en una sección de testículo de morueco, en vista panorámica (Microfotogs. 3 y 4), apreciamos en las múltiples capas de células, dos zonas que destacan o contrastan entre sí: un *cinturón externo* de 2-3 capas donde yacen núcleos oscuros y grandes (núcleos costrosos), mientras que las células que llenan la *parte interna* forman varias capas con un núcleo

que en cierto modo parece como si estuviera vacío. El cinturón externo comprende las *espermatozonias* y los *espermatoцитos de primer orden*, que tienen como característica común, la citada de los núcleos costrosos, grandes y oscuros y si bien los autores (ELLEMBERGER y otros), estiman que las diferencias entre estas dos células, por la forma, tamaño y posición, es poco apreciable, nosotros creemos, de acuerdo con nuestras observaciones y según muestran las microfotografías 4 y 5, que los núcleos de los espermatoцитos son de mayor tamaño, llenan la cromatina dispuesta con más claridad y son finalmente redondeados, a diferencia de los de las espermatozonias, y más pequeños, algo ovalados

de cromatina más densa, mostrándose por ello más oscuros.

La parte interna está integrada por las *pre-espermátidas* y las *espermátidas*, que están muy próximas y aunque parecidas entre sí, se diferencian en que las preespermátidas son de mayor tamaño, su núcleo también más voluminoso y más rico en cromatina, y por último, se les suele encontrar en estadios mitóticos (aunque no muy frecuentes); no así a las espermátidas, que de otra parte destacan claramente, cuando en su transformación hacia espermios empiezan por afectar forma ovoidea. (Microfotogs. 5 y 4).



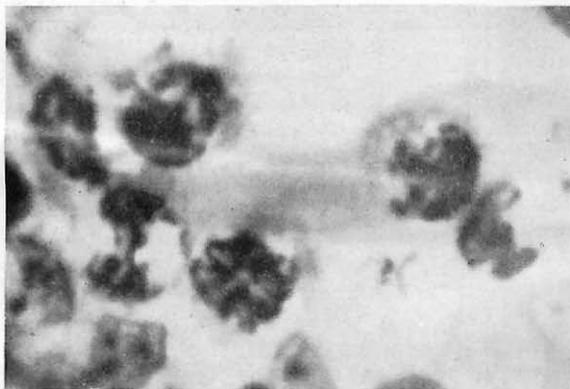
Microfotog. 9.^a—Espermatozonias también en principio de anafase. Nótese, en polos opuestos, cromosomas análogos a los observados en la anterior, considerados como sexuales. 2.800x

fiándose en ángulos entrantes de las mismas para transformarse, finalmente, en este lugar, en espermios. Los espermatozoides se sueltan o quedan libres una vez terminada su transformación.

Es criterio general, como muy bien dice PUJILLA en su Tratado de Embriología, que no puede apenas ponerse en duda el papel nutritivo de las células de Sertoli, frente a las espermátidas que posan sobre ellas, hasta que se desprenden de las mismas convertidas en zoospermos activos. A este objeto servirían las gotitas de grasa, vistas también por nosotros, en el pie de las células de Sertoli, que ascendiendo hasta las

Las menos visibles son las *células germinales primitivas y las células de Sertoli* que yacen sobre la pared, alrededor del cinturón externo antes mencionado, formando una sola capa. De las células de Sertoli salen las prolongaciones citoplásmicas y si se encuentran en copulación con los espermatozoides, destacan netamente en forma de ramilletes muy bellos, comparables a palmeras, que atravesando todas las capas celulares las dividen en septos.

También las células seminales originarias yacen entre los núcleos de las células de pié, llamando poco la atención, pero estando caracteri-



MICROFOTOC. 10.—Meiosis. División del espermatocto de primer orden. En este campo sumamente favorable se observan células en profase en los periodos leptoteno, diploteno y diaquinesis; una célula en metafase inicial; y en fin, otra en la anafase. 2.800 \times

zadas, en oposición a las espermatogonias y espermatoцитos, porque el núcleo contiene la cromatina en forma de polvo (núcleos polvorientos).

Si existen espermatozoides, pueden residir en la luz del tubo estando metidos más o menos en un material granuloso que da la impresión de ser restos celulares y que pudiera compararse con un montoncillo de cáscaras de huevo vacías. (Microfotog. 3). Se trata de esferas plasmáticas que se pediculan y desprenden de los espermios tan pronto como estos abandonan las prolongaciones protoplásmicas de las células de pié. Los espermatozoides que todavía están unidos con

las prolongaciones protoplásmicas, muestran, de una parte, la cabeza vista de canto o perfil como una línea oscura muy brillante, mientras que las cabezas que se ven de frente resaltan con un contraste no tan marcado. (Microfotografías 3 y 4). Las colas de los espermatozoides se extienden hacia la luz y forman un festoneado de hilos finos como claramente muestra la microfotografía 5.

Hemos de advertir, finalmente, que con motivo de las renovadas ondas metacrónicas, en virtud de las que se realiza la evolución espermato-genética, las células que integran los diferentes estratos, quedan a veces en situación *ectópica*, como ya hemos citado al ocuparnos de los espermatoцитos de primer orden, apreciándose también en las pre-espermáticas y espermáticas encontradas a veces próximas a la pared. (Microfotog. 5).

Estudio citológico comparativo del epitelio germinal de diferentes tubos seminíferos en vista de conjunto. La constitución del epitelio germinal y el contenido total de los tubos seminíferos en una misma preparación y en un mismo campo microscópico, a débiles aumentos, ofrecen diferencias que, visiblemente, están en relación con el variable estado de producción espermática. Así, al lado de tubos seminíferos que carecen de luz por hallarse repletos de células hasta su eje, con espermatozoides formando ramilletes en las células de

Sertoli, o sin ellos, se observan otros túbulos con amplia luz, con espermatozoides enclavados en las células de sostén o libres, alternando, finalmente, con otros túbulos que muestran también amplia luz, pero sin espermatozoides. En fin, al lado de unos que están llenos de espermáticas, sin espermatozoides, hay otros con espermatogonias y espermatoцитos con ellos.

La significación de estas imágenes diferentes se deduce fácilmente: aquellas porciones de tubo que se disponen a formar espermatozoides, son las que tienen mayor número de espermáticas y preespermáticas que llenan completamente su



MICROFOTOG. 11.—Meiosis. División del espermatocito de primer orden. Profase. Células en períodos leptoteno, zigoteno y diploteno. 2.800 X

interior. Luego, las espermátidas se transforman por grupos en espermatozoides, que, primeramente, se hunden formando ramilletes en las prolongaciones protoplásmicas de las células de pié, para reunirse, después, en número cada vez mayor en el espacio axial. Por la continuada formación y desprendimiento de los espermatozoides, va abriéndose una luz cada vez más amplia en el tubo seminífero, en la que flotan los espermatozoides en un producto líquido junto a los restos plasmáticos desprendidos de ellos. Si posteriormente ha tenido lugar la evacuación de este contenido, sólo se observa en el tubo, una amplia luz que por neoformación de espermátidas o retracción de las paredes del tubo, desaparece.

2. ESTUDIO ESPECIAL CROMOSOMICO DE LA ESPERMATOGÉNESIS DEL MORUECO. Período de multiplicación o gonial—Las células madres de los espermatozoides, las espermatogonias, procedentes de la división mitótica de las células germinales primitivas, se dividen también por el característico proceso de la carioquinesis, que, en esencia, consiste en la separación de las mitades idénticas de los cromosomas en dos grupos igua-

les con los cuales se reconstruyen dos núcleos hijos.

Profases. Las espermatogonias obsérvanse con frecuencia en diferentes estadios mitóticos, especialmente en profases, lo que prueba ser ésta una de las fases de mayor duración.

A partir del estadio de reposo, el núcleo quiescente de la espermatogonia aumenta de volumen, advirtiéndose la aparición de filamentos arrollados y retorcidos que progresivamente engrosan: los cromosomas que se hacen cada vez más patentes. El *espiroma* más o menos flexuoso que constituyen los filamentos cromáticos, se encuentra extendido por todo el campo nuclear, aunque, a veces, se acantonan un tanto hacia alguno de los polos, hecho que interpretamos como debido en parte a la acción de los reactivos.

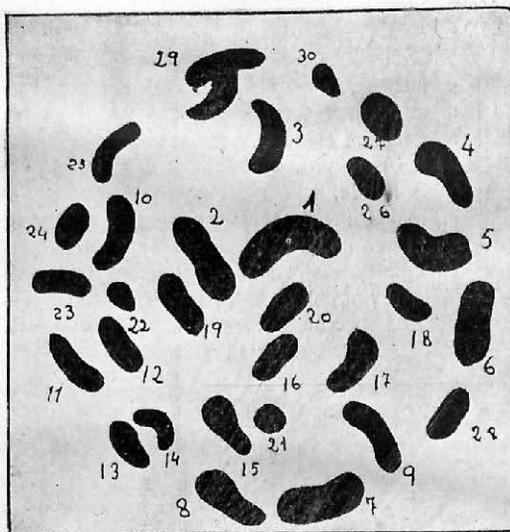
Sin duda, debido al elevado número de cromosomas que tiene la especie que estudiamos, no hemos podido apreciar lo admitido por los más modernos especialistas (DARLINTONG, BELAR y otros), de la separación desde el principio de los cromosomas en filamentos largos e independientes, apreciados en especies de seres



MICROFOTOG. 12.—Meiosis. División del espermatocito de primer orden. Profase. Célula en período paquíteno. Célula en la anafase del espermatocito de segundo orden. 2.800 X

inferiores sin constituir un espirema continuo, ya que, como muestra la figura anterior, no hay posibilidad de percibir esta separación, que sólo se empieza a observar en los momentos avanzados de la profase. (Microfotografía 7).

En algunas imágenes favorables, hemos podido apreciar, si bien muy sutilmente, y en las



Microfotografía 13.—Meiosis. Arriba: tres enfoques de un espermatocito de primer orden al principio de la metafase. Abajo: homologación esquemática de los cromosomas integrantes. 2 800 \times

observaciones al microscopio, (no en las microfotografías, donde se pierde el detalle) la *división longitudinal en cromátidas*, confirmando así por nuestras observaciones, la idea general, admitida, del hendimiento longitudinal de los cromosomas desde los primeros momentos de la profase.

Finalmente, hemos comprobado el progresi-

vo acortamiento y espesamiento de los cromosomas a medida que avanza el proceso profásico (debido a la contracción de la espiral interna según la estructura admitida hoy para el cromosoma), disponiéndose, en suma, a adoptar la disposición que caracteriza la fase siguiente.

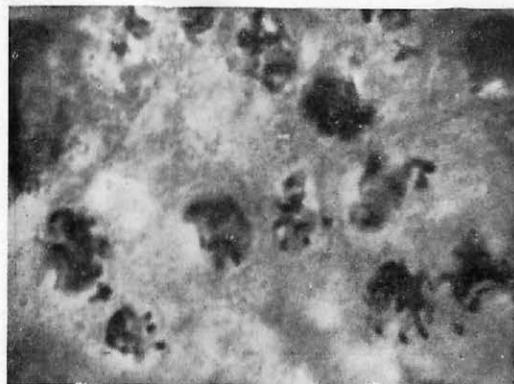
Metafase gonial.—Los cromosomas con su tamaño longitudinal reducido al mínimo, al desaparecer la frontera entre protoplasma y núcleo, se disponen en la placa ecuatorial o metafásica que hemos tratado de estudiar en imágenes en vistas polares. Sin embargo hemos de manifestar, que, contrariamente a las magníficas imágenes metafásicas halladas en los espermatocitos en la mitosis de reducción (que más adelante veremos), que nos han permitido con toda facilidad el recuento del número haploide de cromosomas del animal que estudiamos, en la división gonial, las placas ecuatoriales halladas, no se han mostrado favorables al conteo y examen de los cromosomas del número diploide del cariotipo del morueco.

Descartamos la idea de que sea solo efecto de los reactivos (fijadores y alcoholes), el aspecto apretado y desfavorable al análisis que muestran los cromosomas metafásicos, ya que no ocurre igual en los espermatocitos, en las mismas preparaciones, sometidas a idéntico tratamiento. Creemos que el número elevado de cromosomas de este animal influye en la poca claridad con que se muestran las imágenes que perseguimos.

En figuras que muestran el final de la metafase y principio de la anafase (Microfotografías 8 y 9), hemos observado como se adelantan en la separación hacia polos opuestos, dos elementos cromáticos, en forma de bastón acodado en su extremo, mostrando una constricción subterminal, el uno, y en forma de horquilla de brazos algo desiguales con constricción submediana, el otro. De acuerdo con la interpretación dada por varios especialistas (NAVILLE, BEAMOND, en P. libelluloides, admitida por DARLINTONG y otros), nosotros consideramos a estos cromosomas que ex-

perimentan una segregación precoz, como cromosomas sexuales. Por tanto, pensamos que el morueco pertenecería al tipo *Ligaeus*, X-Y, de herencia sexual.

Aun cuando no hemos perseguido con nuestras técnicas de coloración, la observación del huso acromático, podemos, sin embargo, deducir por la colocación de los cromosomas en la placa ecuatorial, que ésta pertenece al tipo clásico del reino animal (tipo salamandra) de huso central, ya que en muchas imágenes hemos podido percibir los cromosomas agrupados periféricamente alrededor de un espacio central que considerablemente debe estar ocupado, naturalmente, por el huso.



MICROFOTOG. 14.—Meiosis. Células A y B: Profase de la preespermátida. 2.800 \times

Finalmente, el número de metafases observado es mucho menor que el de la fase precedente (profase), figurando en la proporción aproximada de 1 : 5, lo cual demuestra su menor duración.

Anafase gonial.—Se inicia con la división del centrómero de cada cromosoma metafásico en dos centrómeros hijos, los que por repulsión entre sí, o por atracción hacia ellos de los centrosomas, se dirigen hacia polos opuestos tirando de su cromátida respectiva, ya escindida desde la misma profase. Como quiera que los centrómeros se alejan cada vez más hacia los polos, llega un momento en que la tensión que experi-

mentan las cromátidas, aumentada por la de las fibras del huso, acaba rompiendo la unión terminal de las mismas, originándose, en fin, dos estréllas hijas (diáster).

El número de anafases hallado es aproximadamente igual al de las metafases, lo que nos induce a pensar en una duración casi análoga.

Telofase. Los cromosomas llegados a los respectivos polos, reconstruyen los núcleos hijos, por procesos que hoy se explican por una imbibición de agua. El protoplasma se divide en dos, y las células hijas reproducen, bien las células originarias, es decir, producen nuevas espermatogonias, o por el contrario, crecen y se transforman en espermatocitos que sufrirán después la primera mitosis de maduración.

Período de crecimiento. (Microfotogs. 3 y 4). Las espermatogonias de pequeño tamaño de la última mitosis, crecen en volumen a la vez que son empujadas por los nuevos elementos goniales, pasando a formar una o dos hileras más centrales en la pared de los túbulos. Estas células de mayor tamaño son los espermatocitos de primer orden o simplemente espermatocitos, que se encuentran dispuestos a sufrir la reducción cromática que ha de transformarlos en preespermátidas o espermatocitos de segundo orden.

La pérdida de colorabilidad de los cromosomas, nos impide que percibamos su disposición en el tránsito de espermatogonia a espermatocito de primer orden. Tampoco sabemos si la interfase presináptica es más o menos durable. Sin embargo, los pocos espermatocitos hallados en estado de reposo nos hace pensar que esta fase debe de ser de muy poca duración.

Período meiótico o de maduración de la célula sexual.—Este proceso sospechado ya por WEISMAN en 1.800 y grandemente discutido por WILSON 1925, REUTER, 1930 y DARLINTONG, 1931, entre otros, ha sido confirmado universalmente.

En efecto, en nuestras preparaciones y tras

pacientes búsquedas, hemos observado imágenes, con las que evidentemente, podemos reconstruir los diferentes estadios que caracterizan al período meiótico de las células sexuales del morueco.

Primera división de reducción.—*Profase.* Hemos visto, en primer lugar, como los espermatoцитos de primer orden están, en general, en actividad mitótica, ya que las numerosas células observadas muestran su cromatina activa y vivamente coloreada por la hematoxilina.

De la profase, hemos apreciado imágenes que nos han puesto de manifiesto la mayor parte de los estadios sinápticos.

Leptoteno.— Observamos, en primer lugar, cómo se esponja el núcleo del espermatoцитo de primer orden y como los cromosomas se extienden en largos y flexuosos filamentos constituyendo el estadio de referencia. Aquí, los cromosomas están en número diploide ($2n$), pero son filamentos simples, es decir, no se muestran hendidos como ocurre en la misma fase de la división gonial.

Los filamentos cromáticos se encuentran distribuidos al azar en el núcleo sin que hayamos comprobado la polarización cromosómica (considerada por GELEY, 1921, como una posible característica del futuro emparejamiento de los cromosomas) que caracteriza el estadio de *bouquet*, de una manera completa, según se aprecia en la microfotografía 10.

Zigotene. (Microfotog. 11). Los cromosomas homólogos se acoplan formando parejas o cromosomas bivalentes que han de responder (desde este momento) al número haploide del cariograma del morueco. Generalmente los cromosomas inician su emparejamiento por los centrómeros, pero a veces lo hacen por otro punto cualquiera de su cuerpo para extenderse al resto del mismo, iniciando su unión por su colocación paralela previa.

Paquitene. (Microfotog. 12). Hemos comprobado como los cromosomas bivalentes recién

formados, terminada la parasíndesis, se juntan más unos con otros, mostrando una condensación o aumento de grosor, tanto más perceptible en las zonas céntricas próximas al centrómero, como claramente muestra la microfotografía 12.

El acortamiento de los cromosomas va acompañado del desenrollamiento de sus flexuosidades, alcanzando la colorabilidad su máxima intensidad, así como el mayor tamaño de los espermatoцитos.

Han sido observados así mismo los estadios *diploténicos* (Microfotog. 11), poco demostrativos pero relativamente frecuentes, lo que demuestra que son de mayor duración que el esta-



MICROFOTOG. 15.—Meiosis. a) En el centro: raro hallazgo de una imagen metafásica de la pre-espermática. b) Por encima y debajo, estadios profásicos del espermatoцитo. 2.800 X

dio siguiente o de *diacinesis*, del que hemos observado muy pocas imágenes y en el que los cromosomas se agrupan íntimamente al desaparecer la membrana nuclear.

Metafase.—Los cromosomas bivalentes se sitúan simétricamente a cada lado del ecuador, con sus pares de centrómeros orientados de la misma manera que lo hacen en los dos cromosomas hijos de un cromosoma mitótico. En la microfotografía 10 se aprecia la disposición de los cromosomas bivalentes, iniciando la formación de la placa ecuatorial.

En la microfotografía 13 mostramos tres enfoques distintos de un espermatoцитo de primer

orden, que se halla en el comienzo de la metafase, si bien en estadio más avanzado que en la figura anterior. Vista al microscopio ofrece gran claridad, percibiéndose sin grandes dificultades los TREINTA CROMOSOMAS BIVALENTES que la integran, aunque para ello hay que bucear convenientemente, por encontrarse los cromosomas en tres planos distintos. Por esto, hemos creído oportuno reproducir la referida figura esquemáticamente y en grandes dimensiones, de manera que se aprecien homológicamente todos los elementos que la integran.

En esta imagen, fiel reflejo de las numerosas observaciones hechas en las placas metafásicas de la división herotípica, el número 30 de elementos bivalentes hallados o número *haploide* (n) que creemos corresponde al cariograma del morueco, nos demuestra que la fórmula diploide ($2n$) es en este animal de SESENTA CROMOSOMAS UNIVALENTES; sin duda por ser un número elevado, el de la figura diploide, es por lo que no nos fué fácil hallar imágenes favorables de metafases espermatogoniales, como decíamos al ocuparnos del período gonial.

Hemos encontrado, sin embargo, espermatoцитos en los que el número de bivalentes contados ha sido de 26 y 28, aun siguiendo nuestra técnica de cortes seriados, si bien hemos podido siempre comprobar que faltaban algunos de los elementos observados en las placas metafásicas con 30 bivalentes, lo que hemos interpretado suponiendo la facilidad con que pueden escapar a la observación en una célula determinada, uno o dos elementos cromáticos (fijación no apropiada de esa célula que permite el arrastre de algunos de sus cromosomas por los diferentes líquidos usados durante su tinción, etc.)

Si observamos el cariograma del morueco, veremos que los cromosomas que lo integran en la metafase heterotípica se pueden reunir por su tamaño en bivalentes grandes, medianos y pequeños. De ellos el señalado con el número 29, en el que se distingue con claridad la unión de los dos *univalentes* que lo integran, lo consideramos como formado por los cromosomas sexuales X-Y, lo que confirmaría la idea nacida en nosotros de catalogar como perteneciente al tipo *LIGAEUS* la herencia sexual del morueco al ob-

servar la conducta de los citados elementos en la anafase espermatogonial o mitótica. Los 29 cromosomas restantes representarían los autosomas del cariograma.

Anafase. (Microfotog. 10). Los 30 pares de cromosomas que forman pareja en la placa ecuatorial de la metafase, se separan, previa marcha a polos opuestos, de los centrómeros de cada univalente, que tiran hacia ellos de las diadas (cromosomas enteros constituidos por dos cromátidas correspondientes).

El alejamiento progresivo de los centrómeros hacia los polos y la acción de las fibras del huso, determinan la separación de las cromátidas hasta romper el quiasma terminal, último punto de contacto entre ellas (véase microfotografía), originándose, en fin, dos estrellas hijas como en la división mitótica, con la diferencia de que aquí se han obtenido dos células hijas (preespermátidas o espermatoцитos de segundo orden) que tienen ya el número de cromosomas reducido a la mitad ($n = 30$) del número característico del morueco en su fase diploide ($2n = 60$).

Telofase.—Finalmente, los cromosomas reconstruyen en los polos de la célula madre dos núcleos hijos, formándose dos células nuevas que son las *preespermátidas* o *espermatoцитos de segundo orden*, que suelen pasar a un breve estado de reposo, para disponerse después a la segunda y última división de maduración.

Segunda división de reducción o división de las preespermátidas.—*Interfase.* (Microfotog. 4). Las preespermátidas del morueco parece ser que no quedan mucho tiempo en reposo, ya que son poco frecuentes las halladas en este estado. Generalmente, se las aprecia en diferentes períodos de división (como muestran las microfotografías correspondientes que analizamos más adelante) para dar lugar a la cuarta forma de transformación de las células germinales, las espermátidas.

Profase. (Microfotogs. 3 y 14). También han sido observadas imágenes profásicas muy significativas de las preespermátidas. En la célula A, (Microfotog. 14), los cromosomas se muestran como en una mitosis ecuacional ordinaria en forma de filamentos más o menos separados, que, en esta célula, muestran con mayor o menor cla-

ridad, unos gránulos situados en las extremidades de los cromosomas, que hemos interpretado como centrómeros de los mismos (según indicamos anteriormente), que son terminales según muestra la microfotografía.

La célula *B*, presenta un estado de profase más avanzada; en ella se aprecian así mismo los centrómeros terminales como en la anterior. Los cromosomas en la última imagen avanzan en su disposición hacia la fase siguiente.

Metafase. En la microfotografía 15, hemos sorprendido por vez primera, después de mucho tiempo de constantes observaciones, la bellísima imagen que claramente muestra una placa



MICROFOTOG. 16.—Meiosis. Segunda división: A la izquierda, anafase de la preespermátida; a la derecha, telofase de la misma. 2.800 \times

ecuatorial de la preespermátida o espermátocito de segundo orden. En ella apreciamos los cromosomas univalentes dispuestos en forma circular con sus acoraduras vueltas al eje o centro de la célula, en cuyos codos parece existir el centrómero de inserción, lo que nos llevaría a considerar los cromosomas del morueco como dicéntricos, es decir, con dos centrómeros; uno terminal ya citado y otro mediano o de inserción. Sin embargo, estas ideas las lanzamos tan solo a título de observación, sin que afirmemos su exactitud hasta hacer nuevas comprobaciones en futuros trabajos.

Anafase y telofase. (Microfotog. 16). Final-

mente hemos sorprendido también estas extrañas (por lo raro de hallar) fases de las preespermátidas.

Como indica la microfotografía en *A*, vemos la separación de dos pequeñas masas cromáticas que nos evidencian el final de una anafase de estos elementos. En *B*, hallamos ya casi reconstruidos dos núcleos hijos en células que serán independientes, espermátidas, que previa transformación darán lugar a los espermatozoides característicos del morueco.

Conclusiones

1.^a Creemos haber estudiado, por vez primera, en España, la espermatogénesis del morueco.

2.^a En el epitelio germinal del tubo seminífero del morueco, se aprecian las células integrantes de la línea seminal (arquiespermocitos, espermátogonias, espermátocitos de primer orden, preespermátidas, espermátidas y espermatozoides), con características definidas y diferenciables, lo que permite el estudio concreto de los fenómenos mitóticos y meióticos que en ellas se realizan.

3.^a Las numerosas observaciones de placas metafásicas en el espermátocito de primer orden (primera mitosis de reducción) nos lleva a considerar que el número haploide (*n*) del cariograma del morueco está representado por treinta cromosomas, haciéndonos pensar que el número diploide ($2n$) estaría representado por sesenta univalentes de acuerdo con las afirmaciones de Krallinger y Montalenti, si bien nosotros, a pesar de las numerosas observaciones hechas no nos ha sido posible apreciarlo directamente en las metafases espermátogoniales.

3.^a El determinismo sexual en el morueco creemos corresponde al tipo *Ligaeus* o motivado por los cromosomas *X-Y*, deducido, especialmente, de la conducta de segregación precoz de dos cromosomas determinados en las anafases mitóticas.

Bibliografía

- BERRY, R. O. The Chromosome. Complex of Domestic Sheep, 32, 8, 261, 267, August Journal of Heredity. Citado por RICE (Breeding and Improvement, of Farm Animals).
- CAJAL y TELLO. Histología Normal y Técnica Micrográfica, 1928.
- Ph. STOHR. Histología y Anatomía microscópica, 1943.
- A. NAVILLE et J. DE BEAUMONT. Recherches sur les Chromosomes des Neuropteres. Archives de Anatomie Microscopique: T. 32, 1936.
- C. L. DE CUENCA. Zootecnia, Año I. 1945.
- SZYMONOWICZ-KRAUSE. T. Histología y Anatomía microscópica. 1943.
- IRTEBY. Histología, 1944.
- DARLINTONG. Recent advances in Citologi. 1937.
- LOTHAR GEITLER. Chromosomenbau, 1938.
- PUJILLA. Embriología del hombre y de los demás vertebrados. 1923.
- PUJILLA. Citología, parte práctica. 1931.
- B. ROMEIS. Técnica Histológica. 1928.
- ORTIZ PICON. Estado actual del problema de la morfología y fisiología de la división celular mitótica. Sociedad Española de H. Natural. T. 8. 1933.
- JORDANO BAREA. Naturaleza y Función de los centrómeros. Revista «Zootecnia» de la Facultad de Veterinaria de Córdoba, 1945.
- ELLENBERGER. Handbuch, der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere, 1911.
- TRAUTMANN-FIEBIGER. Histología y Anatomía microscópica comparada de los animales domésticos. 1942.
- FERRER. Técnica histológica, 1931.
- CARBONERO. Fecundación artificial. 1944.
- KRALLINGER. Die Chromosomen der Haustiere. Arch exper. Zellforsch. 22; 204; 1933.
- OGUMA et KAKINO. S. A revised Chcklist of the CHROMOSOME number in Vertebrata. J. of Genetics; 26; 239; 1932.