

Estudios cromosómicos en la especie "Ovis aries": espermatogénesis del morueco

P O R

DON MANUEL PEREZ CUESTA

Profesor de Zootecnia General de la Facultad de Veterinaria de Córdoba

Comunicación al XVIII Congreso de las Ciencias. Córdoba, 1944.

Sabemos todos, de acuerdo con la teoría cromosómica de la herencia, hoy de aceptación universal, que las especies se encuentran definidas por un número fijo y característico de cromosomas, de tal manera, que en la actualidad se considera esencial en la diferenciación de las mismas el conocimiento de la constitución de sus cariogramas respectivos.

Dada la extraordinaria profundidad a que han llegado los estudios citogenéticos en los animales inferiores, entre los que brillan las investigaciones de MORGAN y sus colaboradores, en virtud de los cuales se explican sobre una base física

múltiples problemas hereditarios en aquellos seres, es llegado el momento, por la luz que proyectan aquellos conocimientos, así como la Embriología y Fisiología comparadas, de investigar

en Citogenética en los animales superiores domésticos, a fin de tratar de brindar a la Zootecnia el conocimiento del mecanismo íntimo por el que se transmiten y fijan los caracteres hereditarios, base para la selección, fin primordial en toda obra mejoradora.

No se nos escapa lo arduo de tal empeño, por el gran cúmulo de características de nuestros animales domésticos, y en relación con ellas, sus complicadas fórmulas cariográficas, lo intrincado de su fisiologismo, gran duración de las gestaciones, que hace muy tardía la comprobación experimental, etc., etc.; pero estimamos que el único camino realmente

científico es el de la comprobación objetiva, sobre bases genético-físicas, de las manifestaciones externas de la herencia, de manera que pueda llegarse en nuestros animales algún día (como

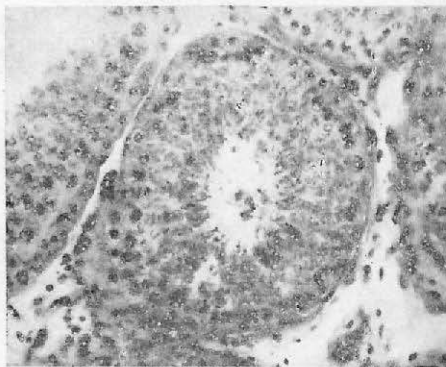


FIGURA 1.—Sección transversal de testículo de morueco. En el tubo seminífero central se aprecian concéntricamente, desde la pared propia, las células germinales en los diferentes tipos de maduración hasta los espermios, cuyas colas flotan en su misma luz.

530

en la profilaxis de las enfermedades infecciosas (por ejemplo) a la determinación de causa a efecto de los hechos hereditarios.

Con este criterio hemos empezado a trabajar

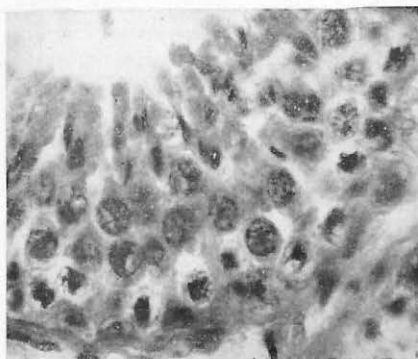


Fig. 2.—Sección transversal de una porción de tubo seminífero en la que se observan a partir de la membrana propia: espermatogonias; espermátocitos de primer orden; pre-espermátidas; espermátidas; y hacia el centro del campo, la base y expansión protoplásmica de una célula de Sertoli. 1.054 Ⓞ

en Citogenética, queriendo hacer constar que el tema que tratamos, «Estudios cromosómicos en la especie *Ovis aries*», limitado en esta comunicación a la «Espermatogénesis del morueco», es considerado por nosotros, como un avance de nuestras primeras investigaciones, y en éstas, nuestra atención preferente ha ido encaminada a tratar de determinar el número de cromosomas de aquel animal, base inicial de nuestros futuros trabajos.

Pocos antecedentes hemos encontrado en nuestra bibliografía acerca de la fórmula cromosómica del morueco. Creemos, por ello, que este punto ha sido poco estudiado, si bien y en honor a la verdad, nuestra búsqueda bibliográfica no nos satisfizo, al no poder hacerla extensiva a determinadas revistas extranjeras, donde pudieran figurar trabajos de especialistas, que no estaban al alcance de nuestra mano, en el tiempo disponible para la comunicación de este trabajo.

MEDIOS DE INVESTIGACIÓN UTILIZADOS

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 de la espermatogénesis.

El testículo, despojado de su membrana albugínea (a fin de facilitar la penetración de los reactivos, en especial de los fijadores) y reducido a trozos convenientes, fué fijado en diferentes líquidos (formol al 10 por 100, SANFELICE y líquido de ZENKER) para obtener cortes en bloques de parafina, previa deshidratación, aclarado e inclusión, de 3 a 5 micras.

En relación respectiva con los líquidos fijadores hemos utilizado los métodos de coloración *Hemalum-eosina* (para obtener imágenes de conjunto), coloración de MANN al azul de metilo-eosina (que dan coloraciones puras por

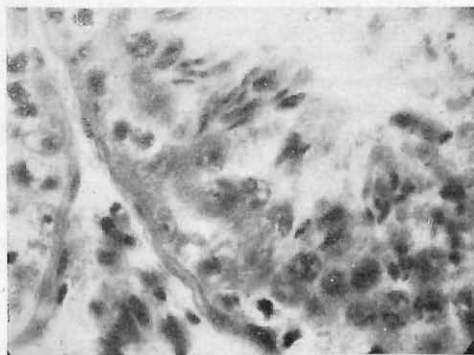


Fig. 3.—Sección transversal de una porción de un tubo seminífero, en la que se aprecian diferentes tipos de células germinales que llevan empotrados en su protoplasma los respectivos ramilletes de espermátidas. 742 Ⓞ

impregnación, pero no por precipitación), y, en fin, la *Hematoxilina-férrica* de HEIDENHAIN, con diferenciación al alumbre de hierro y coloración de fondo con eosina, siendo con este último

método con el que hemos obtenido más netas y bellas imágenes.

ESTUDIO CITOGÉNÉTICO DE LA ESPERMATOGÉNESIS

Examinando con diferentes aumentos (100 a 1.500) las preparaciones obtenidas, se aprecia en el testículo del morueco, a partir de la delicada membrana de tejido conjuntivo laminar, que provista de fibras elásticas forma la *pared propia* del tubo seminífero, el epitelio pluriestratificado que le reviste en los tubos contorneados, que no es otro que el *epitelio germinativo*.

En su espesor hemos podido percibir la existencia, de una parte, de las células nutritivas, de sostén o SERTOLI, y de otra, los elementos germinales masculinos en diferentes fases evolutivas, formando grupos celulares de 3 a 7 capas o estratos entre las células de sostén, comprendiendo varias generaciones originadas por divisiones mitóticas, constituyendo la conocida por REGAUD con el nombre de *línea seminal*.

Hemos apreciado cómo en esa línea seminal, cuyos tipos celulares se superponen desde la pared propia del tubo seminífero hasta su luz, en los espacios que dejan entre sí las células de sostén se hallan distribuidas en un primer estrato, junto a la pared del tubo, entre las bases de las células de SERTOLI, las *espermatogonias* del morueco o células madres de los espermatozoides (Fig. 1 y 2), si bien, a veces, se ven asimismo, en la segunda capa, diferenciándose siempre de las células de sostén por su forma más o menos esférica, núcleos ricos en cromatina, bien teñidos por la hematoxilina, hallados con frecuencia en fases mitóticas.

La segunda faja de células germinales está integrada por una o más capas (generalmente 1-2) de voluminosos y redondeados espermatoцитos de primer orden o simplemente espermatoцитos, según la moderna terminología (Fig. 2), grandes, esféricos, ricos en cromatina e intensamente teñidos por la hematoxilina, los cuales encierran uno o dos nucleolos. Algunos espermatoцитos de primer orden se hallan formando parte del primer estrato, junto a la pared propia,

como hemos apreciado nosotros en varias observaciones, y como análogamente muestra KIRILLOW en microfotografías de la espermatogénesis del caballo, reproducidas por KRONACHER en su tratado de Zootecnia General.

Más concéntricamente, hacia la luz del tubo seminífero, se halla el tercer estrato, compuesto de varias capas (3-4) de *espermatoцитos de segundo orden o pre-espermátidas* (Fig. 1-2) esféricos como los espermatoцитos de primer orden, pero de tamaño más reducido y más pobres en cromatina con motivo de la reducción cromática verificada en su producción.

En los confines de la luz del tubo y encima de las capas de células precedentes, hallamos las llamadas *espermátidas*, de tamaño reducido, forma ovoidea, más o menos esférica (según lo

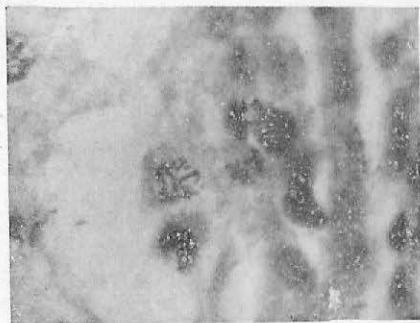


Fig. 4.—Dos bellas imágenes de las mitosis de maduración. A la derecha: estado paquítenico en la profase del espermatoцитo de primer orden. A la izquierda: anafase final y principio de telofase del espermatoцитo de segundo orden. 1.500 X

avanzado del período de transformación hacia espermios), núcleo excéntrico y el idiosoma o espermio-centro, de tan importante papel en el curso de la espermiogénesis. (Fig. 1-2-3).

Las espermátidas más jóvenes se encuentran flotando en varias hileras, entre las células de sostén, mientras que otras más maduras, sin duda por atracción quimiotáctica, se fijan en las ramificaciones protoplásmicas de las células de SERTOLI, formando a manera de un fleco o ramillete. (Fig. 3).

Las células de SERTOLI, caracterizadas por su forma cónica e irregular, extendidas desde la

pared propia del tubo seminífero hasta su luz, a través de los diferentes estratos que forman las células germinales, tienen una especial belleza en el morueco, por la expansión ramificada de su protoplasma; belleza que aumenta con la inserción de las espermatidas. En la base o pié de la célula se encuentra el núcleo, generalmente de forma triangular, pobre en cromatina, claro, vesiculoso, sin presentar jamás fenómenos mitóticos. (Fig. 5).

Es criterio general, como muy bien dice el Padre PLIJJILA en su Tratado de Embriología, que no puede apenas ponerse en duda el papel nutritivo de las células de SERTOLI, frente a las espermatidas que posan sobre ellas, hasta que se desprenden de las mismas convertidas en zoospermas activos.

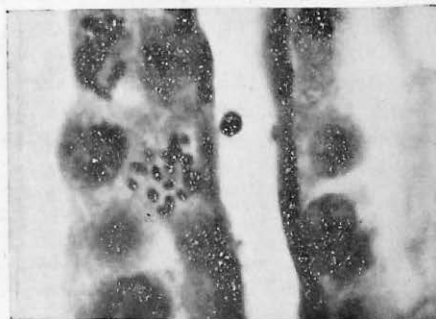


Fig. 5.—Metafase del espermatocito de primer orden. ♂

Hemos de advertir, finalmente, que con motivo de las renovadas ondas metacrónicas, en virtud de las que se realiza la evolución espermatogénica, las células que integran los distintos estratos quedan a veces en situación ectópica, que ya hemos citado a propósito de los espermatoцитos de primer orden y que se aprecia también en los de segundo y espermatidas, encontradas a veces próximas a la pared tubulillar.

Hecha esta breve consideración de nuestras observaciones generales en las preparaciones, pasamos a señalar las obtenidas desde el punto de vista cromosómico.

PERIODO DE MULTIPLICACIÓN

O GONIAL

Las células madres de los espermatozoides, las espermatogonias, obsérvanse, con frecuencia, en diferentes estados mitóticos, especialmente en *profases*, lo que prueba ser esta la fase de mayor duración (Fig. 2-3).

A partir del estado de reposo, las espermatogonias aumentan gradualmente de volumen, principalmente el núcleo, cuya cromatina, cada vez más patente, se tiñe intensamente por la hematoxilina, dando la impresión microscópica de una pequeña masa granujenta y redondeada, oscura, en el interior del citoplasma, constituyendo el espirema, ovillo o *pelotón cromático* de las mitosis ecuatoriales corrientes. Este espirema está constituido por largos y flexuosos filamentos cromáticos que van acortándose a medida que avanza el proceso profásico hasta adoptar la forma característica de la fase siguiente.

A pesar de las muchas series de preparaciones estudiadas, hemos hallado un número reducido de metafases espermatogoniales, lo que prueba ser de duración menor que la fase precedente. En las observadas, nuestra atención se dirigió a determinar el número de cromosomas que se encontraban en esta figura diploide. Sin embargo, hemos de manifestar que, opuestamente a las imágenes favorables de placas ecuatoriales halladas en los espermatoцитos (como veremos más adelante), que nos han permitido hacer el recuento de los cromosomas en ellos, en las metafases goniales siempre se han encontrado los cromosomas tan apretadamente dispuestos, que su estudio, identificación y conteo no nos ha sido posible.

Más raras que las metafases, hemos hallado algunas ana y telofase poco demostrativas en relación con el fin perseguido.

PERIODO DE CRECIMIENTO

Las espermatogonias de pequeño tamaño de la última mitosis, crecen en volumen a la vez que son empujadas por los nuevos elementos go-

niales, pasando a formar una o dos hileras centrales en la pared del tubo seminífero. Estas células de mayor tamaño son los *espermatoцитos de primer orden*, que se hallan dispuestos a sufrir la reducción cromática que ha de transformarlos en pre-espermátidas o espermatoцитos de segundo orden.

PERIODO MEIÓTICO O DE MADURACIÓN DE LA CÉ- LULA SEXUAL

En nuestras preparaciones hemos comprobado que 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.

En la profase hemos apreciado los fenómenos sinápsicos, observando cómo se esponja el núcleo del espermatoцитo y cómo los cromosomas se extienden en largos y flexuosos filamentos simples, no hendidos como en la profase gonial, constituyendo el estadio *leptoteno*.

En el estadio de conjugación paralela o *zigoteno*, cada dos cromosomas homólogos se unen longitudinalmente, empezando por algunos elementos y extendiéndose progresivamente a los restantes. Unos cromosomas inician su unión por sus extremos para hacerse después extensiva a toda su longitud, mientras que otros empiezan esta unión por diferentes puntos para terminar, en fin, uniéndose en toda su extensión.

Nosotros hemos podido percibir imágenes iniciales y finales de esta etapa, que nos hacen suponer esa unión progresiva, como es admitido en las mitosis heteróticas en general.

Hemos visto, asimismo, imágenes identificables con el estadio paquirénico, en el que los cromosomas que integran los bivalentes se juntan unos contra otros, mostrando una condensación o grosor en algunos puntos que creemos corresponde a la posición de los centromeros respectivos, como indica claramente la microfotografía 4.

Finalmente, los estadios siguientes, *diploten-*

no y diacinesis, son raramente hallados, lo que nos demuestra su escasa duración.

Las *metafases* de la división heterótica en oposición a las goniales, muestran sus placas ecuatoriales perfectamente analizables. Entre las muchas células observadas, la reproducida en la microfotografía 5 muestra, en el enfoque más favorable que presentamos, 15 cromosomas bivalentes con bastante nitidez. En la microfotografía 6, aparece otra célula mostrando también en el más favorable enfoque otros tantos cromosomas, si bien alguno de ellos peor enfocado se ve menos claramente.

Aunque las microfotografías no pueden recoger con facilidad en un mismo cliché todos los cromosomas que presentan estas células, en nuestro estudio al microscopio, buscando pa-



Fig. 6.—Otra imagen metafásica del espermatoцитo de primer orden. 2.800 \times

cientemente, si hemos logrado, después de examinar muchos espermatoцитos, obtener el número de cromosomas que creemos integran el cariograma del morueco en su fase haploide. Consideramos se halla integrado por 30 cromosomas bivalentes, lo que nos lleva a admitir el número de 60 univalentes para la fase diploide del animal que tratamos.

Finalmente, en el estudio hecho en el cariograma del morueco, hemos tratado de identificar los cromosomas sexuales, y, aunque ciertas observaciones hechas nos hacen sospechar sea una pareja de bivalentes integrada por dos cromosomas, que pudiéramos considerarlos como

la pareja X-Y, no afirmamos categóricamente este hecho, sino que reservamos su confirmación hasta que nuevas investigaciones, especialmente en placas metafásicas espermatogoniales y estudios en la hembra (cortes de ovario) nos den suficientes elementos de juicio.

Finalmente, hemos hallado también alguna ana y telofase, poco demostrativas desde nuestro especial punto de vista.

También hemos observado la mayor parte de las fases y estadios de división de las pre-espermáticas o espermátocitos de segundo orden, si bien en estas imágenes no es fácil el recuento cromosómico.

CONCLUSIONES

1.^a La espermatogénesis del morueco sigue un curso paralelo al observado en otros mamíferos en cuanto a la evolución de las células germinales.

2.^a El número de cromosomas en la especie *Ovis aries* (morueco) creemos está representado por 60 cromosomas univalentes en la fase diploide de las células germinales, y por 30 bivalentes en la fase haploide de las mismas células, como resumen de los numerosos recuentos efectuados en los espermátocitos, de los cuales hemos deducido el número diploide.

3.^a Estas conclusiones son hijas de observaciones directas en nuestras preparaciones, que, en parte, se reflejan en las microfotografías que ilustran el trabajo, si bien, dadas las dificultades que estos estudios ofrecen, las consideramos como un avance en nuestra investigación y no como afirmaciones categóricas, hasta su posterior confirmación mediante el estudio de numerosas figuras espermatogoniales, así como la investigación complementaria en el sexo femenino, cuyo material biológico tenemos ya incluido en parafina y pronto a ser estudiado.