

# ESTUDIOS CROMOSOMICOS EN *PHERETIMA CALIFORNICA* KINBERG (MEGASCOLECIDAE, OLIGOCHAETA)

Por N. DULOUT, Z. TOMSIC, A. R. MORENO y M. LEVIN

---

## SUMMARY

**Chromosomic studies in *Pheretima californica* Kinberg (Megascolecidae, Oligochaeta).**— The authors studied the morphology and the number of chromosomes of *Pheretima californica* Kinb. by crushing and cutting of seminal vesicles, testis, ovaries, somatic tissue, etc.

In the case of the crushing method they used acetic Hematoxylin according to Sáez and Feulgen's nuclear reaction, but in the case of the cutting method only Feulgen's nuclear reaction was employed. Sometimes they used the contrast of Hematoxylin on Feulgen's staining, while in other oportunities they used a water saturated solution of "fast green" to contrast the Feulgen.

They prepared the idiogram of mitotic chromosomes in spermatogonies in different stages of division, counting and studying the chromosomes in the antepenultimate and penultimate spermatogonial mitosis, determining  $2n = 30$  chromosomes.

En el estudio de algunos aspectos de la biología de esta especie, hemos dado principal importancia al conocimiento del número y morfología de sus cromosomas.

En el presente trabajo exponemos las primeras conclusiones a que hemos arribado, y que son el resultado del empleo de distintas técnicas comunes, frecuentemente utilizadas en este tipo de estudio.

## MATERIAL y MÉTODOS

Para proceder al estudio de los cromosomas de *Pheretima californica* Kinb. se realizaron aplastados y cortes de distintos tipos de tejido de individuos adultos.

De esta manera se observaron células de las gónadas, de epitelios de revestimiento y de tejidos de regeneración.

En las gónadas se realizaron cortes y aplastados de las vesículas seminales y testículos, y en epitelios se efectuaron cortes de epitelios de revestimiento de la pared del cuerpo y de epitelios intestinales. En tejidos de regeneración se estudiaron cortes de los muñones resultantes de la amputación de individuos desde segmentos medios a terminales.

El material fue fijado en mezcla de Carnoy y fijador de Stieve.

Las coloraciones empleadas fueron: Reacción nuclear de Feulgen, hematoxilina acética según Sáez, orceína acética según Tjio y Levan para aplastados y una modificación de esta para colorear cortes como así también Hemalum de Mayer.

El material destinado a cortes fue fijado, incluido en parafina y seccionado en un espesor de 5 a 8 micras.

En el empleo de la reacción de Feulgen para aplastados se hidrolizó el material en HCl N 1 a 60°C y se coloreó con fucsina básica durante tiempos variables.

Cuando se hizo coloración de Feulgen en material cortado, se lo hidrolizó sobre portas y cubres para luego teñirlo.

Para la documentación fotográfica se empleó un microscopio Leitz con equipo Mikas (Aumento 1/3 X) y un microscopio Dialux de Leitz con caja Exakta y fuelle de extensión de desarrollo variable. Todas las fotografías se tomaron empleando objetivo de inmersión en aceite de cedro, 100 X y ocular 10 X, con un aumento de columna, en el caso del microscopio Dialux, de 1,5 X.

Luego se realizaron calcos totales de las fotografías ampliadas, en los cuales se estudiaron los cromosomas, lo mismo que en las ampliaciones.

#### RESULTADOS

Los mejores resultados se lograron con material de las gónadas y con coloración de Feulgen, aunque las otras coloraciones dieron también, en términos generales, buenos resultados.

Los cromosomas se observaron mejor cuando se trató de material de vesículas seminales fijado y coloreado "in toto" y más aun cuando, como en el caso de la reacción nuclear de Feulgen, se lo colocó en ácido acético glacial al 45 % luego de colorearlo y en tanto se efectuaban los aplastados.

En ese sentido parecería que el ácido acético contribuye en algo a facilitar el extendido de los tejidos cuando se los presiona, pues en esos casos hemos conseguido preparados prácticamente de una sola capa de células.

Los cromosomas de *Pheretima californica* Kinb. son sumamente difíciles de determinar, debido a que se encuentran muy contraídos durante la metafase. De esa manera presentan un aspecto globular y son excesivamente cortos.

Hemos determinado 30 cromosomas en las placas metafásicas estudiadas. En base a las mismas se ha confeccionado el idiograma correspondiente.

Así, observamos 3 pares de cromosomas metacéntricos, ordenados de 1 a 3, un par submetacéntrico, el ordenado en cuarto lugar, y los restantes acrocéntricos y globulares, ordenados de 5 a 15 inclusive.

Los cromosomas acrocéntricos presentan todos una forma globular, prácticamente esférica, con dimensiones diferentes. Pueden dividirse en tres grupos de acuerdo a su tamaño, siendo los mayores los pares numerados 5, 6 y 7, de un tamaño intermedio los pares ordenados 8, 9, 10 y 11, y los restantes pares, de 12 a 15 inclusive, son esféricos y los más pequeños del cariotipo.

El par 4 presenta en algunas placas, uno o ambos de sus miembros doblados en forma de gancho.

El par 7 se caracteriza porque los dos cromosomas, de forma esférica a triangular, presentan frecuentemente en su centro o en uno de sus extremos, una región más clara que el resto, en el estadio de metafase.

Se trata de regiones heteropienóticas, y podríamos suponer que son heterocromosomas.

Tanto el par 4 como el 7 son los más fáciles de identificar y los más visibles en una metafase.

#### CONCLUSIONES

Indudablemente, esta descripción somera de los cromosomas de *Pheretima californica* Kinb. no da lugar a mayores teorizaciones. Queda si, como base, la determinación de su número y el hecho de que se trata de una especie diploide.

Además, otro fenómeno que es necesario recalcar, es la extrema condensación, o si se quiere yuxtaposición de los cromosomas en los estadios que van desde la metafase a telofase, donde aparecen como masas compactas, densas de cromatina. De esta manera muchas metafases tardías aparecen con la placa ecuatorial más pequeña y los cromosomas superpuestos, lo que imposibilita su individualización.

#### BIBLIOGRAFIA

- DULOUT, F., 1966. Una modificación del método de Tjio y Levan de orceína acética para aplastados. Trabajo en preparación.  
 OMODEO, P., 1952. Cariologia dei Lumbricidae. — *Caryologia*, 4 (2).

SÁEZ, F. A. 1939. Observaciones sobre la reacción nuclear de Feulgen y Rosenbeck.—  
Physis, 18.

SÁEZ, F. A., 1960. El empleo de la hematoxilina acética o propiónica para el estudio de los  
cromosomas con la técnica de aplastamiento.— Comun. Soc. biol. Montevideo, 11 de  
mayo de 1960.

TOMSIĆ, Z., 1966. Contribución al conocimiento de los Oligoquetos terrícolas argentinos.  
Trabajo en preparación.

Fundación e Instituto Miguel Lillo, Tucumán (R. A.)

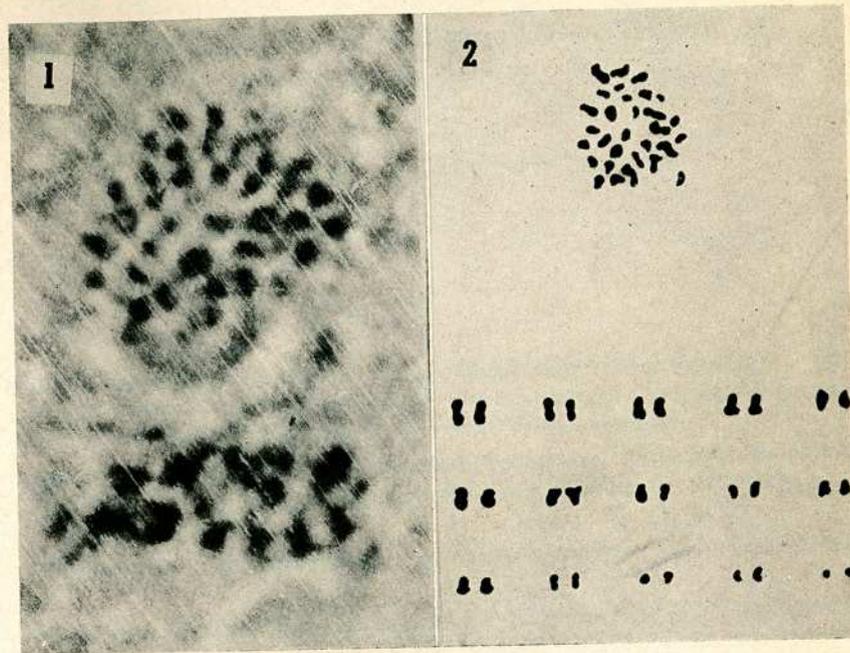


Fig. 1. — Vesícula seminal, metafase espermatogonial. Coloración de Feulgen. Pueden observarse los cromosomas 7 en el plano medio de la placa. Aumento al microscopio 1000 X.

Fig. 2. — Arriba, cariotipo de *Pheretima californica* Kinb. ( $2n = 30$ ). Abajo, idiograma confeccionado de acuerdo a la longitud de los cromosomas.