

ESTUDIO CITOGENETICO COMPARATIVO DE *TRICHURIS SUIIS* (SCHRANK, 1788) Y *TRICHURIS OVIS* (ABILDGAARD, 1795)
(NEMATODA)

VALERO, A. (*); PRETEL, A. (**); ROMERO, J. (*)

* Instituto López-Neyra, C.S.I.C. Granada. Departamento de Parasitología. Universidad de Granada.

** Departamento de Genética. Universidad de Granada.

(Recibido el 18-3-1982)

SUMMARY

Chromosome number is $2n = 6$ and sex determining mechanism is XX/XY. Strict proximal chiasma localization in male meiosis and normal interstitial in female one is reported. The longest chromosome pair is clearly different in each species being submetacentric in *T. suis* and subacrocentric in *T. ovis*. This difference is explained in terms of a pericentric inversion. B-chromosomes in *T. ovis* is reported.

Key Words: *Trichuris suis*, *Trichuris ovis*, Meiosis, Strict chiasma localization B-chromosomes.

RESUMEN

El número cromosómico es $2n = 6$ y el mecanismo de determinismo del sexo XX/XY en ambas especies. Los machos muestran localización estricta proximal de los quiasmas, mientras las hembras de las dos especies tienen quiasmas normales. Ambas especies se diferencian por la distinta localización del centrómero en el par mayor de cromosomas, que se explica en términos de una inversión pericéntrica. En *T. ovis* se describen B-cromosomas.

Palabras Clave: *Trichuris suis*, *Trichuris ovis*, Meiosis Localización estricta de quiasmas B-cromosomas.

INTRODUCCION

El estudio del género *Trichuris* fue iniciado por Goswami (1978), Valero (1976-1979) y Dmitrieva et al. (1979) de forma prácticamente simultánea. El autor de Goa hace el estudio de tres especies: *T. trichiura*, *T. ovis* y *T. globulosa*. El grupo del doctor Slikas describe la meiosis y los cariotipos de dos especies más: *T. muris* y *T. myocastoris*.

En el presente trabajo se exponen los resultados de un detallado estudio cariológico de dos especies del citado género: *T. suis* y *T. ovis*, parásitos comunes del ganado de la provincia de Granada (España).

MATERIAL Y METODOS

Machos y hembras de *T. suis* y *T. ovis* fueron recogidos respectivamente de *Sus scrofa doméstica* los primeros y de *Capra hircus* y *Ovis aries* los segundos.

El método utilizado se basa en la técnica de Slizinsky (ver Gonzales y Malmann, 1970) y comprende el aislamiento de las gónadas, su fijación en ácido acético al 50 %, previa hipotonización en agua destilada, el aplastamiento y la tinción con Giemsa al 10 % durante 15 minutos.

RESULTADOS

Mitosis

Las mitosis espermatogoniales son muy escasas en ambas especies. En las 47 preparaciones obtenidas a partir de otros tantos machos de *T. suis* no pudo ser observada ninguna metafase mitótica. No obstante, en metafase y metafase-anafase-I los cromosomas de *Trichuris suis* muestran sorprendentemente bien los detalles de su morfología (fig. 10).

En *T. ovis*, por el contrario, sí fue posible la obtención y el estudio de las metafases mitóticas, ya que en las treinta preparaciones realizadas a partir de machos y de hembras de esta especie se encontraron varias metafases de buena calidad (fig. 1).

Los cromosomas somáticos de esta última especie, todos ellos de longitudes aparentemente similares, muestran los centrómeros muy poco acentuados, y, en metafase, tendencia a la orientación radial. La definición morfológica es casi nula, por lo que el análisis de las mitosis en este caso aporta muy pocos datos para el conocimiento exacto del cariotipo de la especie.

El número cromosómico en los machos y hembras de las dos especies es de $2n = 6$, siendo el mecanismo cromosómico del sexo del tipo XX/XY. Mientras este número en *T. suis* fue determinado sólo en las divisiones meióticas, en *T. ovis* los recuentos cromosómicos se hicieron primero en mitosis, siendo luego confirmados en las divisiones espermato y oogoniales.

Cariotipo

El cariotipo de *T. suis*, construido a partir de las figuras meióticas, que en esta especie presenta características inusuales (figura 10), muestra un par mayor (número 1) de cromosomas submetacéntricos y un segundo par, de menor tamaño, de cromosomas subacrocentricos.

A diferencia de *T. suis*, las dos parejas somáticas de *T. ovis* (números 1 y 2) están constituidas por elementos subacrocentricos, extremo este que se pone de manifiesto con claridad en las observaciones en meiosis (fig. 2). Como ya se indicó, las imágenes en mitosis no permiten definir la morfología de los cromosomas en esta especie.

En cuanto a los cromosomas sexuales (heterocromosomas), éstos constituyen en ambas especies sendas parejas heteromorfas de tamaño sensiblemente menor que los autosomas. El elemento de mayor tamaño de este par, al que atribuimos tentativamente la categoría de cromosomas X, tiene un índice centromérico de 1,10, por lo que puede ser considerado como metacéntrico o submetacéntrico. El cromosoma Y en ambas especies se presenta como un elemento subacrocentrico.

Meiosis

La meiosis fue estudiada tanto en machos como en hembras de *T. suis* y *T. ovis*.

Los estadios tempranos de la profase no pudieron ser observados en ninguna de las dos especies a pesar del elevado número de preparaciones examinadas. Las demás fases del ciclo meiótico fueron, en cambio, encontradas en abundancia. Su análisis comparativo demuestra el extraordinario parecido existente entre las dos especies estudiadas en lo que se refiere al desarrollo del ciclo en general y al comportamiento de los cromosomas en particular.

En metafase-I los cromosomas de las dos especies aparecen formando dos bivalentes y dos univalentes. Estos últimos nunca fueron vistos apareados entre sí durante este estadio (fig. 2,9), y además constituyen un par aparentemente heteromorfo al que le hemos atribuido la categoría de par sexual.

En los aplastamientos polares de las células, los cromosomas adoptan típicamente una disposición radial.

Los bivalentes autosómicos de los machos de las dos especies aparecen en metafase-I unidos siempre por un único quiasma de localización proximal que confiere a estos bivalentes una configuración característica e inusual (fig. 2,9). Así, en *T. suis* el par mayor adopta forma de cruz. En *T. ovis*, este par es subacrocéntrico, por lo que la figura en cruz no puede producirse, debido a la exigua longitud del brazo menor. En esta observación se basa la principal y más visible diferencia que, a nivel citológico, puede establecerse entre las dos especies.

El segundo par de autosomas, que también presenta un único quiasma de localización proximal estricta, forma en ambas especies configuraciones muy similares, que recuerdan una V, en cuyo vértice se encuentran dos granulaciones que corresponden a los brazos cortos de cada homólogo. Esta similitud permite deducir que dicho par en ambas especies es prácticamente igual, por lo que se refiere a sus parámetros de longitud y morfología. También, en ambas especies, se observa la dilatación —a veces extraordinaria— de la región centromérica, seguramente debida al efecto de aplastamiento y a la tracción ejercida sobre los centrómeros por las fibras del huso.

Las meiosis oogoniales, a diferencia de lo que ocurre en los machos, muestran ausencia total de localización estricta de quiasma. Ello ocurre en las hembras de ambas especies (fig. 5,12). Aquí las configuraciones de los bivalentes corresponden a modelos habi-

tuales, con quiasmas intersticiales distribuidos con arreglo a un patrón convencional.

En anafase-I, la separación de los homólogos se inicia por el bivalente de mayor tamaño. La separación de los homólogos del segundo par autosómico se efectúa con posterioridad. El par sexual, como ya se indicó, se encuentra separado siempre, ya en metafase-I.

La telofase-I no existe prácticamente, y los cromosomas pasan directamente a metafase-II, disponiéndose en los planos de los polos (fig. 3,11).

El desarrollo de la meiosis en *T. suis* parece indicar que la repulsión anafásica de los centrómeros en las divisiones espermatogoniales tiene que ser muy lenta en el inicio del proceso. Ello explicaría la aparición de las curiosas imágenes que ofrecen las anafases-I de esta especie en los aplastamientos polares, en las que todos los cromosomas aparecen dispuestos en un mismo plano, unos al lado de otros. Además, los cromosomas muestran una fuerte acentuación de las constricciones primarias y las cromátidas separadas, por lo que el conjunto adquiere un aspecto que recuerda fuertemente las metafases de C-mitosis típicas (fig. 10). Esta imagen, insólita para la generalidad de las especies, resulta típica para la especie citada.

β -cromosomas

Se ha encontrado en machos y hembras de *T. ovis* cromosomas accesorios en número de uno a dos. Son de carácter punti-forme y han sido observados tanto en meiosis como en mitosis. El comportamiento meiótico de estos cromosomas es irregular.

DISCUSION

El estudio cariológico comparativo de *T. suis* y *T. ovis* permite descubrir diferencias significativas entre ambas especies, que son del mayor interés, pues ayudan a comprender los mecanismos de su diferenciación y evolución.

Pero el hecho más sobresaliente que se pone de manifiesto en este estudio es la drástica diferencia observada entre la meiosis masculina y femenina, que afecta a las dos especies. En ambas, la meiosis es diferente en los distintos sexos.

En efecto, mientras en la hembra la disposición de los cromosomas en metafase-I es aparentemente aleatoria y corresponde a un modelo convencional, en el macho los bivalentes muestran una marcada tendencia a la disposición radial en el plano ecuatorial del huso. Los centrómeros se orientan hacia el eje principal —e. d., hacia el interior— del huso y los brazos largos de los homólogos se extienden hacia la periferia celular. Sin embargo, la diferencia más significativa entre ambos sexos radica en el distinto patrón de formación de quiasmas. Así, mientras la meiosis de la hembra es normal, con figuras quiasmadas de bivalentes de aspecto absolutamente convencional, la meiosis en machos muestra, en metafase-I, unos bivalentes con quiasmas proximales que determinan configuraciones típicas para el caso, de carácter singular, muy diferentes a las configuraciones meióticas femeninas y —en general— a las configuraciones meióticas normales (figura 2,12).

Los machos de estas especies constituyen un caso extremo de localización proximal (localización estricta) de quiasmas. Las hembras carecen de tal localización. En ellas, los quiasmas aparecen en posición intersticial y/o distal, pero nunca en posición proximal.

La localización estricta de quiasmas ha sido descrita anteriormente en un par de especies de *Allium*, en *Fritillaria meleagris*, *Trillium kamtschaticum*, *Paris quadrifolia* y en unas pocas especies de insectos (JOHN y col., 1965).

La estructura de las configuraciones con quiasmas proximales debe ser interpretada de acuerdo con la fig. 13,14.

A la luz de la teoría de la quiasmática, uno de cuyos postulados básicos afirma que cada quiasma corresponde de forma directa a un punto de intercambio físico entre cromátidas, la localización estricta de quiasmas en regiones proximales que observamos en los machos de estas especies adquiere una significación genética relevante. Supone, ante todo, una importantísima restricción en la recombinación genética, que afecta de modo directo a la inmensa mayor parte de los genes de estas especies. Téngase en cuenta que el número de grupos de ligamiento en ellas es igual a tres ($n = 3$) y que dos de ellos, e. d., todos los genes autosómicos, se ven afectados por el fenómeno. La localización estricta de los puntos de intercambio físico entre cromátidas en la región

centromérica o en sus inmediaciones hace imposible la recombinación en ninguna de las regiones situadas a lo largo de los brazos cromosómicos, por lo que el intercambio ha de hacerse obligadamente por brazos completos. En consecuencia, todos los alelos situados en los brazos largos de los pares primero y segundo constituyen grupos de genes con ligamiento absoluto.

La ausencia de quiasmas en los brazos cortos, por otra parte, supone igualmente ausencia de recombinación genética a este nivel, por lo que los genes que se alinean en ellos forman asimismo grupos de genes permanentemente ligados.

La falta de recombinación en los machos queda, sin embargo, compensada por la recombinación normal de las hembras en las que se observan al menos dos quiasmas por cada bivalente.

La misma falta de correlación entre los patrones de distribución de quiasmas en los distintos sexos ha sido descrita anteriormente en una media docena de especies animales, entre las que destacan *Drosophila melanogaster*, *Bombyx mori*, algunas especies de *Triturus*, etc. (JOHN y col., 1965).

Las posibles causas que determinan la localización estricta de los quiasmas fue realizada por HENDERSON (1969) y por JOHN y col. (1965).

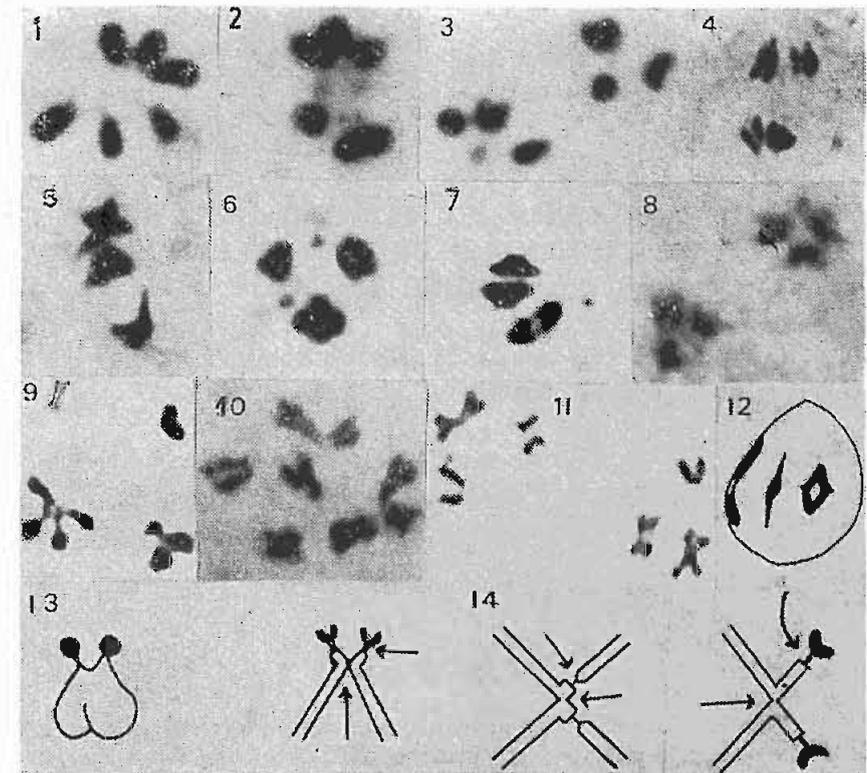
Para terminar, señalaremos que el par tercero, que hemos considerado como par sexual, nunca fue visto apareado en los machos ni en diaquinesis ni en metafase-I, mientras en las hembras lo hace de forma normal. Se trata, pues, de cromosomas asinápticos o desinápticos, aunque no podemos precisar cuál de estos dos términos ha de aplicarse, pues en rigor no ha sido posible el análisis de los estadios tempranos de la profase, en particular de la paquitene, que hubiera permitido aclarar la situación. Sin embargo, la forma en que aparecen los cromosomas de este par en todas las metafases-I, siempre próximos entre sí y con una cierta coorientación, sugiere la desinapsis más que un fallo en el apareamiento.

El estudio comparativo de los cariotipos de las especies *T. suis* y *T. ovis* revela algunas diferencias significativas en la morfología del par mayor de cromosomas de la dotación (par número 1). Mientras la longitud total del mismo es igual en ambas especies, la posición del centrómero difiere en cada una de ellas, siendo mediana o submediana en *T. suis* y claramente subterminal en *T. ovis*. Esta diferencia sugiere una posible inversión pericéntrica

que no sólo explicaría el desplazamiento del centrómero en *T. ovis*, sino también la posible causa de diferenciación de esta especie en su evolución.

REFERENCIAS

- DMITRIJEVA, T.; PODGORNOVA, G.; SLIKAS, A. (1979).—Karyotypes of *Trichocephalus muris* (Schrunk, 1788) and *T. myocastoris* (Enigk, 1933). *Acta parasitológica Lituanica*, 17: 47-52.
- GONZÁLES, J. C.; MALMANN, M. C. (1970).—Cromosomas de algunas especies de nematodos parásitos de ovinos e bovinos no Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista de Medicina Veterinaria* (Sao Paulo), 6: 132-139.
- GOSWAMI, U. (1978).—Some cytogenetical aspects of Genus *Trichuris* (Nematoda). *Current Science*, 47: 368-371.
- HENDERSON, S. A. (1969).—Chiasma localization and incomplete pairing. *Chromosomes today*. Vol. 2. Ed. Darlington and Lewis. Edinburgh.
- JOHN, B.; LEWIS, K. R. (1965).—*Protozoologia*. Springer-Verlag.
- VALERO, A. (1980).—Contribución al estudio citogenético del Phylum Nematoda. *Tesis Doctoral*.



LAMINA I

- Figuras 1-4 *Trichuris ovis* macho: 1.—Metafase mitótica; $2n=6$, 2.—M-I, 3.—M-II, 4.—A-II.
- Figuras 5-8 *Trichuris ovis* hembra: 5.—Diakinesis, 6.—Diakinesis con B-cromosomas, 7.—M-I con B-cromosomas, 8.—M-II con B-cromosomas.
- Figuras 9-11 *Trichuris suis* macho: 9.—M-I, 10.—A-I, 11.—M-II.
- Figura 12 *Trichuris suis* hembra: Diakinesis
- Figuras 13-14. Interpretación de las configuraciones que forman los bivalentes: 13.—*T. ovis*, 14.—*T. suis*.