

ACELERACION Y RETARDO EN LA MORFOGENESIS DE LA FASE PROTONEMA DEL PROTALO DE LOS HELECHOS

Por

SINGO NAKAZAWA,

del Departamento de Biología de la
Universidad de Yamagata, Japón.

Colaboración especial para los
Anales del Instituto de Biología.

La morfogénesis del organismo se produce, generalmente, durante el crecimiento; cada órgano determinado se diferencia en una fase particular del desarrollo. Así, en la fase protonema del protalo de *Dryopteris*, que se describe, las células se multiplican en una sola dirección en una fase muy temprana; más tarde, en la de cinco o seis células, en el extremo de la célula apical, se forma una papila. Este proceso es característico de las diversas especies; por ello en *Equisetum arvense* no sucede lo indicado. Sin embargo, en condiciones especiales, el desarrollo y la diferenciación siguen una marcha anormal, de modo que aquel se puede efectuar de modo más precoz que lo usual, o cuando menos se aparta del tipo habitual. Por ejemplo, cuando la espora que ha germinado se cultiva en un medio que contiene IAA (ácido indol-tri-acético), la papila epical se diferencia en la fase de dos o tres células, y, a veces, un rizoides se forma en lugar de la papila apical (Nakasawa 1959). De modo análogo una interesante desviación de la morfogénesis normal se ha observado en el óvulo del erizo de mar. Así el penacho apical de cilios que se forma en el polo animal de la gástrula, en el desarrollo normal, aparece en una zona más extensa, cuando el óvulo es tratado con NaSCN, y ya en la fase de blástula. Este fenómeno se llama *animalización*. De modo análogo, normalmente, en el polo vegetativo del embrión, en

la fase de blástula, se produce la invaginación que da origen a la gástrula, pero cuando la blástula se trata con LiCl, como resultado del excesivo desarrollo de la región del polo vegetativo, éste se proyecta hacia afuera y se forma una exogástrula, fenómeno que se llama de *vegetalización*. Así Li y SCN actúan contrariamente a la morfogénesis normal (Herbst 1892, Child 1953, etc.). Los experimentos en óvulos de erizo de mar sugirieron al autor examinar los efectos que pudieran ejercer el Li y SCN en la morfogénesis de la fase protonema del protalo de los helechos. El resultado de ello fue el comprobar que la formación de la papila se acelera con Li y la aparición del desarrollo celular en dos direcciones, se retarda con SCN.

MATERIAL Y METODOS

Las esporas de *Dryopteris varia*, colectadas en Yamagata, Japón, en septiembre de 1958, se sembraron en solución de Knop diluída a 1/5 de la concentración normal y se cultivaron a 23° C. La pared del recipiente en el que se hizo el cultivo era de vynyon transparente, por eso las esporas cultivadas se desarrollaron a luz blanca difusa. Las esporas germinaron 6 días después de la siembra y formaron el rizoide primario. En este estado, las esporas germinadas, se trasladaron a una solución de Knop pero que contenía LiCl o NaSCN a distintas concentraciones. Las concentraciones de LiCl fueron 1, 1/10, 1/100, 5/1000, y 1/000 M. y las NaSCN fueron de 1/10, 1/100, 1/1000, y 1/10000 M. La acidez media fue de pH 5.1 a 5.2. El cultivo se efectuó en cápsulas de Petri de 40 mm. de diámetro y 15 mm. de altura. El medio se renovó una vez por semana.

RESULTADOS Y DISCUSION

La espora viva es casi de 70 micras de diámetro y está rodeada por una membrana perispórica, coloreada, parda oscura. Alrededor de seis días después de la siembra, la espora germina y forma el rizoide primario. Poco tiempo después, la célula originaria del protonema aparece en la parte opuesta al rizoide. La célula se divide, sucesivamente, para formar un protonema compuesto de varias células, dispuestas y ordenadas en una sola dirección. En la fase de

CUADRO N° 1

EFECTO DE LICI EN LA MORFOGENESIS DEL PROTONEMA

Concentración (mol)	Observaciones
1	todos murieron
1/10	desarrollo inhibido, cese de la división de la célula
1/100	desarrollo inhibido, división retardada, formación de la papila apical acelerada
5/1000	ningún efecto
1/1000	ningún efecto
Testigo	desarrollo normal

5 ó 6 células, se diferencia una papila en el extremo de la célula apical. Después, el desarrollo, en la parte apical o sub-apical, da origen a varias células dispuestas en dos direcciones, para formar el protalo. (Fig. 1).

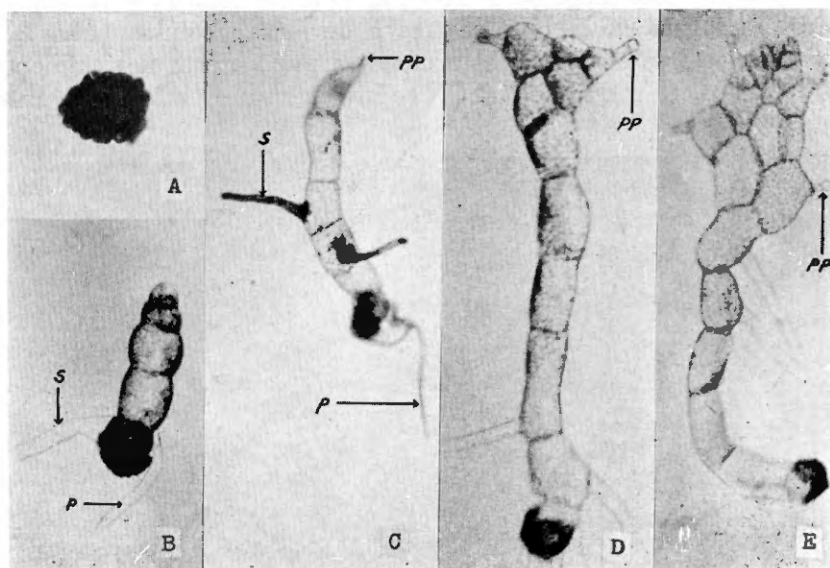


Fig. 1. Desarrollo normal del protonema de *Dryopteris varia*. A, Espora; B, Protonema en la fase de cinco células; C, Formación de la papila apical y rizoides secundarios, coloreados con azul de toluidina; D, Iniciación del crecimiento en dos direcciones, en la zona apical; E, Protalo joven; p, rizoides primario; s, rizoides secundario; pp, papila.

CUADRO N° 2

EFECTO DE NaSCN EN LA MORFOGENESIS DEL PROTONEMA

<i>Concentración (mol)</i>	<i>Observaciones</i>
1	todos murieron
1/10	desarrollo y división celular inhibidos
1/100	retardo del desarrollo celular en dos direcciones
1/1000	ningún efecto
1/10000	ningún efecto
Testigo	desarrollo normal

Las relaciones entre la concentración de LiCl y la morfogénesis se indican en el Cuadro N° 1. La espora germinada no puede vivir a una concentración superior a 1 M. La división celular queda inhibida y la célula se hipertrofia a 1/10 M. La división es posible a la concentración más baja de 1/100 M., pero se retarda y la papila apical se forma en la fase de tres o de cuatro células (Fig. 2). Ningún efecto se observó y el protonema pudo crecer normalmente a 5/1000 M. El efecto de NaSCN se indica en el Cuadro N° 2. Este

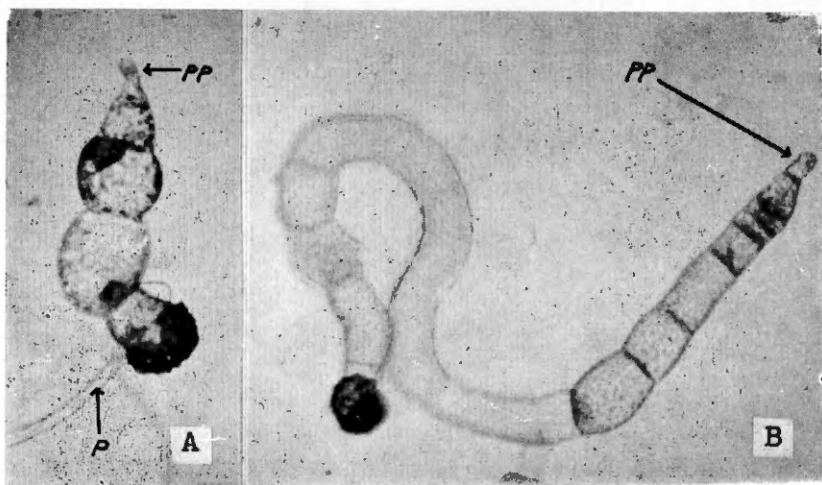


Fig. 2. A, Aceleración en la formación de la papila apical con LiCl; B, Retardo en el origen del desarrollo en dos direcciones por la acción de NaSCN.

es el siguiente: la espora germinada no vive en una concentración de 1 M. Su desarrollo se inhibe y la división de la célula se retarda a $1/10$ M. A la concentración de $1/100$ M. la formación de la papila apical no sufre efecto alguno, pero el desarrollo y división de la célula se produce linealmente en una sola dirección, sin que se produzca en dos direcciones, por retardo. En estas condiciones el protonema llega a estar constituido por más de 30 células, dispuestas linealmente, en una sola dirección. Ningún efecto se observa a la concentración menor de $1/1000$ M.

Los datos ya mencionados indican que Li y SCN ejercen, cada uno de ellos, una acción distinta y peculiar. Aquél acelera la formación de la papila e inhibe el desarrollo del protonema. Este no acelera la división celular en dos direcciones, durante el desarrollo, pero no inhibe el desarrollo lineal en una dirección única. Así, en la condición normal, la formación de la papila primaria aparece en la fase de 5 ó 6 células, pero esta secuencia, entre el desarrollo de la papila y el del protonema, se hace independiente con LiCl. Esto indica que el desarrollo y la diferenciación son fenómenos independientes, el uno del otro. En la condición normal el desarrollo en dos direcciones comienza en la fase de 5 a 6 células, pero la acción del NaSCN la retarda, de modo que el protonema filamentos, con el desarrollo lineal en una única dirección, antecede a la fase en la que está constituido por más de 30 células. Lo cual indica que el desarrollo en dos direcciones debe considerarse como una fase independiente del desarrollo del protonema. Según Hotta y Osawa (1958), el desarrollo en dos direcciones comienza a producirse con un aumento rápido de ácido ribonucleico (ARN). Pero, a pesar de esto, el mecanismo por el cual el desarrollo lineal en una dirección se transforma en el de dos direcciones no tiene explicación satisfactoria. Por la acción de SCN se produce el desarrollo lineal en una dirección y aunque se origine la síntesis del ARN, el desarrollo en dos direcciones no aparece a pesar de ello. Por eso, la aparición del desarrollo en dos direcciones debe ser determinada no solamente por el aumento de ácido ribonucleico, sino también por algunos otros factores que ejercen su acción sobre la dirección en que se produce el desarrollo celular. El hecho de que la formación de la papila se acelera, no sólo con LiCl sino también con IAA (Nakazawa 1959), indica que la acción de Li no es una inducción específica, por lo que debe atribuirse a otro mecanismo.

El autor expresa su gratitud al Prof. Ariza Kimura de la Universidad de Tohoku, Sendai, por su cooperación en este trabajo y al Dr. Roberto Llamas, Director del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberlo aceptado para su publicación.

SUMMARY

Sporelings of the fern *Dryopteris varia* were reared in Knop's solution containing LiCl or NaSCN. As a result, the following was revealed.

1. LiCl retards the growth of protonema but accelerates the formation of papilla at 1/100 M. so that the papilla is differentiated at 3- or 4-cell stage.

2. NaSCN retards the occurrence of two-dimensional growth at 1/100 M but does not affect the papilla differentiation.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- CHILD, C. M. 1953. Exogastrulation and differential cell dissociation by sodium acide in *Dendroaster excentricus* and *Patiria miniata*. *Physiol. Zool.* 36: 28-58.
- HERBST, K. 1892. Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere. *Zeitsch. f. wiss. Zool.* 55: 446-518.
- HOTTA, Y. and S. OSAWA, 1958. Control of differentiation in the fern gametophyte by amino acid analogs and 8-azoguanine. *Exp. Cell Res.* 15: 85-94.
- KATO, Y., 1954. Experimental studie son rhizoid-differentiation of certain ferns. *Phyton* (Argentina), 9: 24-40.
- NAKAZAWA, S., 1959. Morphogenesis of the fern protonema II. Modification of the apical differentiation in fern protonema, affected by IAA. *Protoplasma* (en prensa).