

ALGUNOS DETALLES ACERCA DE LOS NUCLEOS CELULARES ESTUDIADOS POR MEDIO DE LA REACCION DE FEULGEN Y PARTICULA- RIDADES ESTRUCTURALES DE LAS ESPICULAS DE LAS ESPONJAS DEL LAGO DE XOCHIMILCO

Por LEOPOLDO ZORRILLA,
del Instituto de Biología.

PARA el objeto del trabajo fueron colectadas dos especies de *Ephydatia* que abundan en el lago de Xochimilco, una de ellas clasificada como *Ephydatia subdivisa*, y otra que se aproxima mucho a la *Ephydatia crateriformis* y que provisionalmente denominaremos "viridis."

La *Ephydatia subdivisa* (figura número 1) nunca se encuentra en simbiosis con las algas; alcanza un tamaño considerable (de 10 a 15 cms.), habiendo encontrado un ejemplar de 40 cms. y se halla principalmente adherida a las raíces de los árboles plantados en los bordes de las chinampas (islote

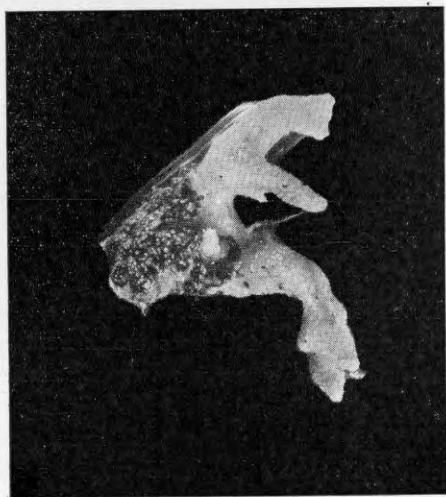


Fig. 1.—*Ephydatia subdivisa* con una pequeña colonia de briozoarios.

artificial para el cultivo de plantas) aunque a veces se le puede ver en forma de costras sobre la superficie de los tallos y hojas de plantas acuáticas, distinguiéndose perfectamente por su color blanco grisáceo o amarillento. En cambio la *Ephydatia viridis* siempre es de un tamaño más pequeño (1 a 2 cms. como máximo) de color verde oscuro intenso, debido a la presencia de las algas del género *Zoochlorella*, que constantemente viven en simbiosis con esta esponja. La diferencia fundamental entre estas dos esponjas estriba en la forma de los anfidiscos de sus gémulas (figura número 2). Los anfidiscos de la *Ephydatia subdivisa* (figuras números 3 y 4) tienen un eje sólo dos o tres veces más largo que el diámetro de las estrellas terminales y estas últimas tie-

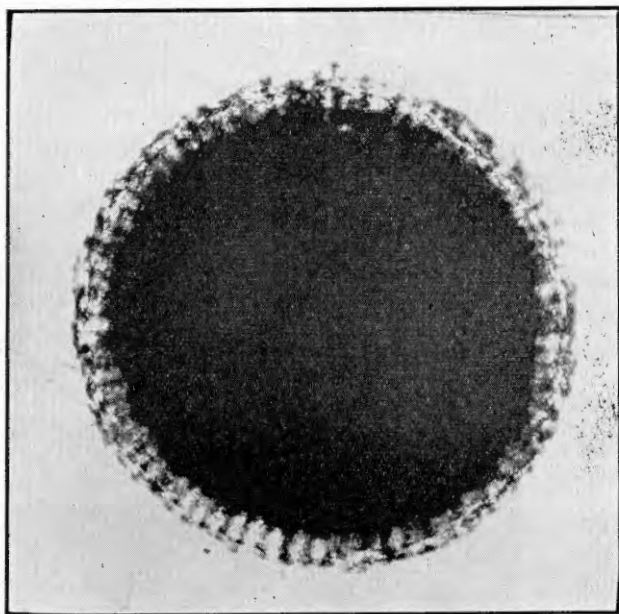


Fig. 2.—Gémula de *Ephydatia subdivisa*.

nen generalmente los rayos bipartidos en su punta. La *Ephydatia viridis* por el contrario, tiene los ejes de sus anfidiscos considerablemente más largos, de 5 a 6 veces el diámetro de los mismos, y sus rayos son ligeramente encorvados e íntegros, es decir, no divididos en la punta. Se distinguen también marcadamente porque la *Ephydatia subdivisa* carece totalmente de microscleras, mientras que la *Ephydatia viridis* está dotada de ellas; las macroscleras de ambas esponjas son indistinguibles, teniendo aspecto de agujas silicosas de 100 micras de largo por 10 a 15 de ancho, terminando en punta en ambos extremos ligeramente encorvados; en su superficie se notan pequeñas salientes en forma de

conos muy bajos y anchos. Las microscleras de la *Ephydatia viridis* son mucho más pequeñas que las macroscleras de la misma teniendo un tamaño de 15 a 20 micras, y están cubiertas en toda su extensión de unas salientes con la punta roma en número de 3 a 4, a veces perpendiculares y a veces inclinadas, con relación al eje longitudinal de la misma. Otra diferencia fundamental radica en las cámaras ciliadas, siendo estas últimas perfectamente definidas y muy fáciles de encontrar en los cortes de la *Ephydatia viridis*, mientras que en la subdivisa estas cámaras son difusas y poco definidas. Tanto la *Ephydatia subdivisa* como la *Ephydatia viridis* sirven de habitación a un gran número de pequeños organismos: rizópodos, flagelados y ciliados que viven dentro de sus

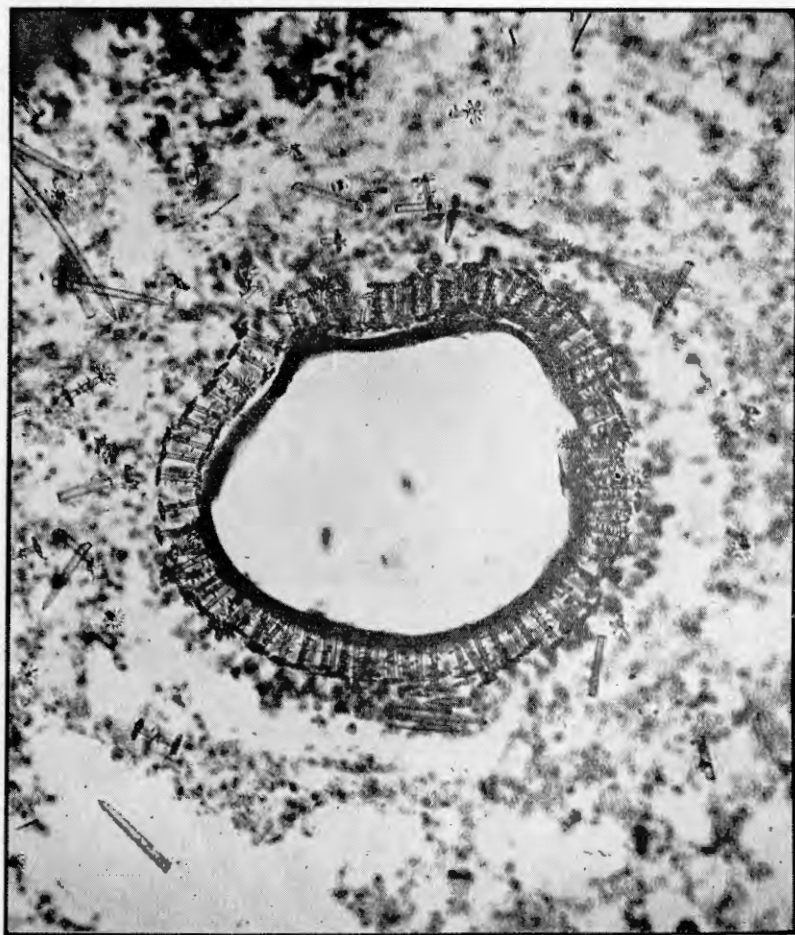


Fig. 3.—Corte de una Gémula de *Ephydatia subdivisa* que contiene una larva en formación. Microfotografía de I. Larios.

canales o cavidades principales, y en su superficie exterior en compañía con las algas diatomáceas y cianofíceas, habiendo mencionado anteriormente la *Zoochlorella* que vive dentro del mesodermo de la viridis; además, se encuentran numerosas Planarias Rabdocéfalas (*Microstomum*, *Stenostomum*) gusanos oligoquetos (*Chaetogaster*) y un enorme número de crustáceos anfípodos (*Gammarus*, *Hyalella*, etc.)

Con mucha frecuencia la *Ephydatia* subdivisa está unida con numerosas colonias de briozoarios, *Plumatella princeps*, variedad fungosa (figura número 1).

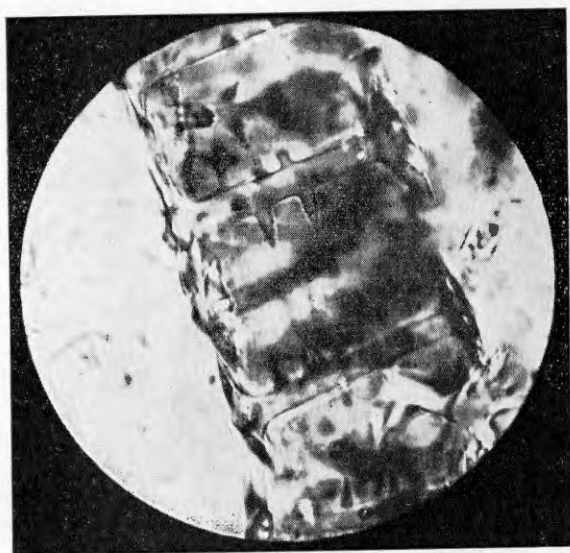


Fig. 4.—Zona de anfidiscos vista con mayor aumento.
Microfotografía de I. Larios.

Serán objeto de un trabajo especial todas las relaciones que puedan existir entre los diversos miembros de la mencionada simbiosis y agrupaciones de las colonias de briozoarios.

Además de esta breve descripción de ambas esponjas, tiene por objeto el presente trabajo, desarrollar en especial dos puntos de estudio sobre las mismas; el uno acerca de los núcleos celulares estudiados por medio de la reacción de Feulgen, y el otro sobre algunas particularidades estructurales de las espículas que pueden ser puestas de manifiesto mediante una técnica que a continuación describiremos.

PRIMERO.—*Reacción Nuclear de Feulgen*

La Reacción Nuclear de Feulgen (figura número 5) nos permite la demostración microquímica de un ácido nucleínico del tipo del ácido timonucleínico, fundándose dicho método en someter la preparación en una hidrólisis ácida que permite la descomposición de los cuerpos purínicos del núcleo, dando por resultado la formación de grupos aldehídicos reductores que se combinan con el ácido sulfofucsínico para formar una sustancia de color rojo violeta intenso.

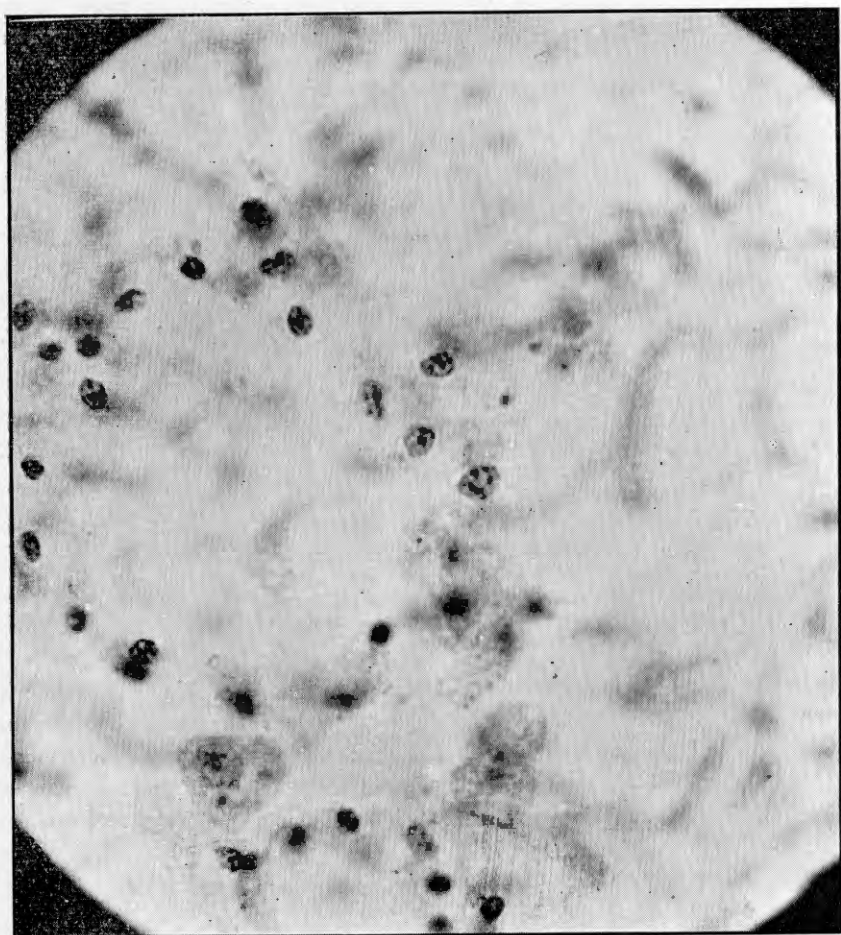


Fig. 5.—Corte del mesodermo de la Ephydatia subdivisa teñido por medio de la Reacción de Feulgen. A la izquierda se observa un arqueocito dotado de un núcleo pobre en cromatina y de un nebenkern. Microfotografía de I. Larios.

La coloración por lo tanto se limita entonces estrictamente al núcleo, pues sabemos de antemano que en el protoplasma no existen los grupos aldehídicos.

Las fases de la reacción mencionada son:

I. Fijación por medio de sublimado-ácido acético o con otros que no viene al caso mencionar por haber usado éste.

II. Inclusión en parafina, deshidratando mediante el paso por alcoholes.

III. Efectuar cortes de diez micras de espesor.

IV. Hidrólisis de los cortes con ácido clorhídrico normal; algunos autores aconsejan que debe efectuarse en la siguiente forma: primero lavando los cortes

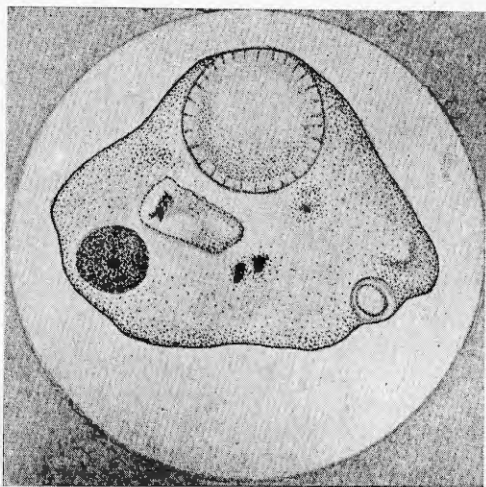


Fig. 6.—Célula mesodérmica fagocitando una diatomacea. (Melocira).

por breves instantes en ácido clorhídrico normal frío y después en ácido clorhídrico que se mantiene a la temperatura de 60 grados centígrados, admitiendo asilaciones de esta temperatura hasta de 1 grado centígrado; después interrumpir la hidrólisis al cabo de cuatro minutos y volver a lavar las preparaciones con ácido clorhídrico normal frío, dicho método fué seguido y nos parece que es el que da mejores resultados.

V. Breve lavado en agua destilada.

IV. Pasar los cortes en el ácido fucsino-sulfuroso; las técnicas indican la preparación del mismo en la siguiente forma: mezclar un gramo de fucsina o (parafucsina) pulverizada con 200 c.c. de agua hirviendo, cuando desciende la

temperatura del líquido, aproximadamente a 50 grados centígrados se filtra y recoge en un frasco, añadiendo 20 centímetros cúbicos de ácido clorhídrico normal, procurando que baje la temperatura hasta 25 grados centígrados, y se disuelve en el líquido un gramo de bisulfito de sodio, se deja reposar 24 horas, durante las cuales se decolora el líquido. En un principio seguí este método sin obtener resultado alguno, por lo cual me vi obligado a preparar por un lado fucsina básica, agregándole agua destilada hasta 200 centímetros cúbicos, y por otro preparar anhídrido sulfuroso que lo recibía en la probeta que contenía la solución de fucsina básica.

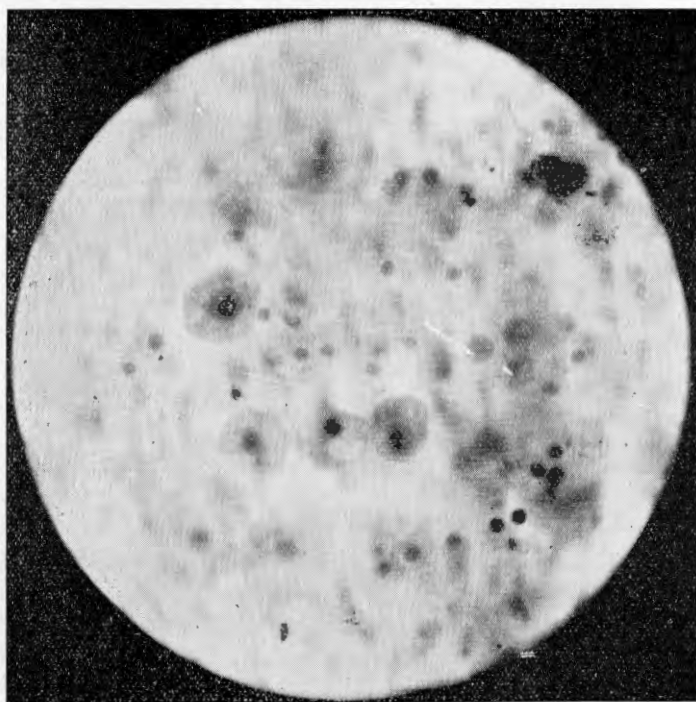


Fig. 7.—Corte del mesodermo de la *Ephydatia subdvisia* teñido por el método de Heidenhain; mostrando varios óvulos con la cromatina nuclear en la fase de sinopsis.

VII. Lavar las preparaciones con agua que contenga anhídrido sulfuroso.

VIII. Lavar las preparaciones en agua corriente.

IX. Deshidratar, pasando por alcoholes sucesivos, de menor a mayor concentración, transparentar y montar en bálsamo del Canadá.

El resultado fué una coloración rojo intenso de la cromatina nuclear.

Por medio de dicha técnica se hizo un estudio comparado de los núcleos de las células, ectodérmicas y mesodérmicas observándose que las primeras presentan los núcleos muy grandes con relación a las células relativamente pobres en cromatina esparcida en forma de granitos finos, y dotadas de un nucléolo muy débilmente colorable. Las células del mesodermo (figura número 6) del tipo arqueocitos (células amiboides), presentan núcleos extremadamente pobres en cromatina con un nucléolo apenas colorable (figura número 5). Del mismo carácter son las células sexuales, mientras no se transforman definitivamente en óvulos y espermatozoides. Más tarde dichas células presentan una fase semejante a las sinapsis (figura número 7) observadas en las células sexuales de diversos organismos, en esta fase toda la cromatina del núcleo se fusiona en el centro del mismo, formando una masa compacta, mientras que el resto del núcleo queda totalmente desprovisto de cromatina. En los óvulos de las esponjas se observa, además, un pequeño nebenkern (figura número 5) que se tiñe también intensamente por medio de la misma reacción.

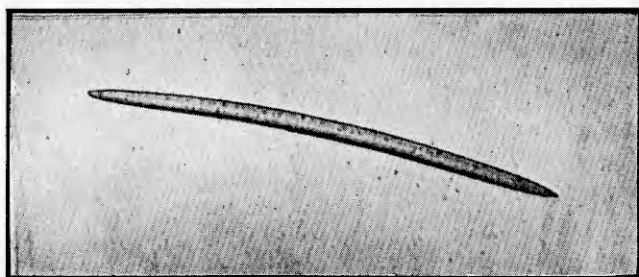


Fig. 8.—Macrosclera de la *Ephydatia subdivisa* en estado normal.

El núcleo de las espermatogonias carece de nucléolo y contiene gran número de granitos de cromatina, relativamente grandes, que forman una masa compacta, asemejándose a los macronúcleos de algunos infusorios.

Los núcleos de las células endodérmicas (coanocitos) son pequeños y contienen la cromatina en forma de granitos, que se tiñen muy intensamente por el método de Feulgen; tienen un pequeño núcleo también intensamente colorable.

SEGUNDO.—*Detalles estructurales observados en las espículas (macroscleras), de la Ephydatia subdivisa*

Otro dato que merece especial mención son los detalles estructurales que he logrado observar en las espículas (macroscleras) de la *Ephydatia subdivisa* (figura número 8). Dichos elementos del esqueleto de la esponja mencionada, tienen normalmente forma la de agujas de sílice, de 100 micras de largo por 10 a 15 micras de ancho.

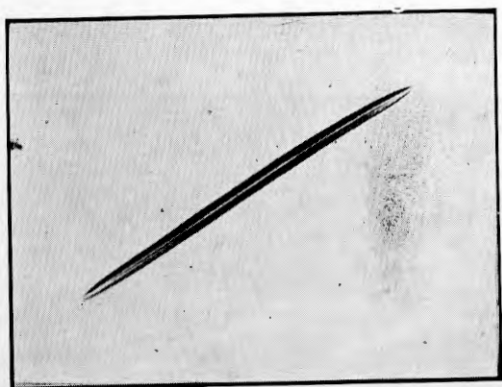


Fig. 9.—Macrosclera de la *Ephydatia* subdivisa mostrando el canal interior débilmente.

A lo largo del eje de las macroscleras se nota una línea que, con aumento fuerte, resulta ser un canal finísimo, casi virtual (figura número 9). Ya en una espícula normal se puede distinguir cierta estructura granulosa a lo largo del canal que no se extiende a toda la espícula.

Sometiendo las espículas a la temperatura del rojo vivo en la zona de oxidación de la lámpara de alcohol, durante unos 10 a 15 minutos, se observa que las espículas están formadas de dos capas, cuya resistencia a la temperatura antes mencionada es marcadamente distinta (figura número 10). La cara externa se desprende, tomando la forma de especie de ámpula o bien una serie de ámpulas y dejando ver que el canal central de la espícula se encuentra formado por paredes propias y que después del tratamiento, por la flama, adquiere un color distinto del de la capa externa.

La existencia de estas dos porciones tan distintas de una espícula y no mencionadas hasta la fecha, según creo, implican la intervención de dos clases de escleroblastos en su formación, o bien dos fases distintas en el funcionamiento de los mismos.

CONCLUSIONES

De este modo he llegado a la conclusión siguiente: que la porción axial de las espículas está ocupada por una especie de tubo formado por un material distinto del resto de la espícula. Después del tratamiento indicado, dicho tubo, que resiste a la acción del calor mucho más que la parte exterior de la espícula, se ve como un filamento oscuro encorvado dentro del ámpula formada por la porción cortical.

La reacción nuclear de Feulgen nos da una idea clara de la relación de la cromatina en los diferentes núcleos de las células ectodérmicas, endodérmicas y

mesodérmicas, así como la forma de concentrarse mientras no se transforman las células sexuales en óvulos o espermatozoides.

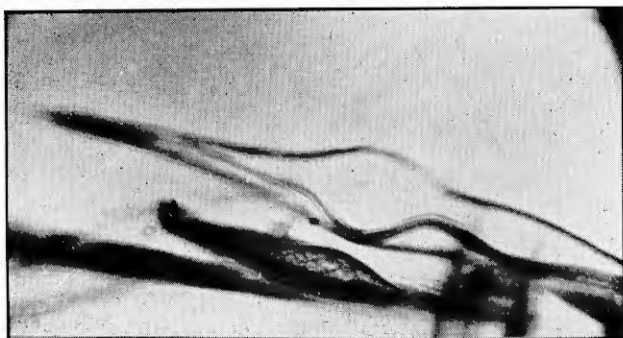


Fig. 10.—Macrosclera de la *Ephydatia subdivisa* en la que puede verse claramente la estructura interior una vez sometida a la acción del calor. Se nota el tubo axial y la porción cortical que ha formado especie de ámpula. Microfotografía de I. Larios.

SUMMARY

The author gives a brief description of the two principal species of fresh water sponges of the Lake of Xochimilco, *Ephydatia subdivisa* and another species of the same genus which he provisionally names *Ephydatia viridis*. He also indicates some of the details of their biology and symbiotical phenomena. He exposes two particular points of investigation, the comparative study of the structure of the nuclei of the ecto-meso-and endodermical cells, describing in detail their respective peculiarities. This study was accomplished by means of Feulgen nuclear reaction which, so far as the author is informed, is applied for the first time to the study of the fresh water sponges.

Another point of the author's investigation is the description of a peculiar structure of the spicules of *Ephydatia subdivisa*. Applying a strong heat to the spicules he discovered that a spicule is really made up of two parts, an inner one which is a kind of tube with heat resistant walls which only curve but do not swell, and an outer cortical layer which is less heat resistant and swells forming a kind of ampule, the above described structures being a quite new detail about the silicious spicules of the fresh water sponges.

BIBLIOGRAFIA

WARD AND WHIPPLE.—Fresh-Water Biology.

FEULGEN, R., Die Nucleolfärbung-Handb. d. biologischen Arbeitsmethoden (herausg. v. E. ABDERHALDEN.)

Lif. 213. 1053 bis 1073. 1926.