ALGUNAS OBSERVACIONES SOBRE LA CITOLOGIA DE LAS GLANDULAS PROTORACICAS DE HALYSIDOTA CARYAE HARR (LEPIDOPTERA)

Por ANA MARIA DE BUEN,
del Instituto de Biología.

En la actualidad se conoce la gran importancia que tienen las glándulas protorácicas como productoras de una hormona que interviene en varios aspectos del desarrollo de los lepidópteros. Al revisar la literatura sobre este asunto y ver que con estudios fisiológicos se ha demostrado su papel como glándula productora de una hormona, se pensó en que podría presentar cambios en sus células que denotaran esta secreción. El presente trabajo tiene por objeto señalar los cambios que sufre el núcleo de las glándulas protorácicas de **Halysidota caryae** durante los días que preceden a la formación de la crisálida, en el último estadio larval. Además, al hacer la revisión, se encontraron algunas discrepancias en lo que se refiere a la estructura citológica de esta glándula, y por esta causa se ha estudiado también la estructura de sus células.

Tsui-Ying Lee fué la primera investigadora que sugirió su papel como glándula endócrina, en un trabajo realizado en 1938 (aunque se publicó en 1948) sobre la morfología e inervación de las glándulas protorácicas de trece géneros de lepidópteros. Lo creyó así debido a su aspecto glandular, a la carencia de un conducto y por su tipo de inervación.

En dos trabajos sucesivos publicados en 1940, Fukuda demostró con experiencias fisiológicas el papel endócrino de esta glándula, considerando que su secreción interviene en las mudas y en la pupación. En 1941, el mismo autor señaló su importancia en la diferenciación imaginal.

Williams, en 1947, demostró que la terminación de la diapausa pupal requiere dos factores: uno que proviene del cerebro y otro de las glándulas protorácicas. El mismo investigador, en 1948, consideró a la glándula protorácica de **Platysamia cecropia** como sincicial. Ké, en 1930, trabajando con el gusano de seda **Bombyx mori,** había señalado la presencia de membranas celulares.

En las preparaciones estudiadas en el transcurso de este trabajo, se han podido comprobar las observaciones de Ké (1930).

Material y métodos empleados.—Como objeto de estudio se han utilizado las orugas de la mariposa **Halysidota caryae** (Arctiidae). Se ha elejido esta especie porque es fácil de conseguir en los tepozanes de México, D. F., aunque ofrece dificultades en la disección debido a su pequeño tamaño.

El citado lepidóptero presenta dos generaciones al año, y la oruga pasa por siete estadios. El séptimo estadio larval dura nueve días por término medio, y para fijarse y formar pupa tres días. (Vázquez, 1935.) Debido a que el cultivo en el laboratorio retrasa a veces el desarrollo de las orugas, se han extraído glándulas protorácicas durante diez y nueve días.

Como líquidos fijadores se han utilizado el Bouin, Zenkerformol, fijador de Altmann y Bouin-Allen. La tinción se ha efectuado con Hematoxilina férrica de Heidenhain, Hemalum de Mayereosina y los métodos de Altmann y Feulgen. Las glándulas protorácicas han sido incluídas en parafina y cortadas en rigurosa serie, siendo los cortes de 7 micras.

Se ha hecho asimismo el estudio de las glándulas in vitro en solución de Ringer, tiñéndola en seguida con una mezcla de fucsina ácida y verde de metilo. Este método se ha utilizado para estudiar la estructura del núcleo y sus relaciones con el citoplasma, habiéndose podido ver claramente los límites de ambos (microfotografía). El núcleo aparece teñido en verde brillante, y el citoplasma en rosa pálido.

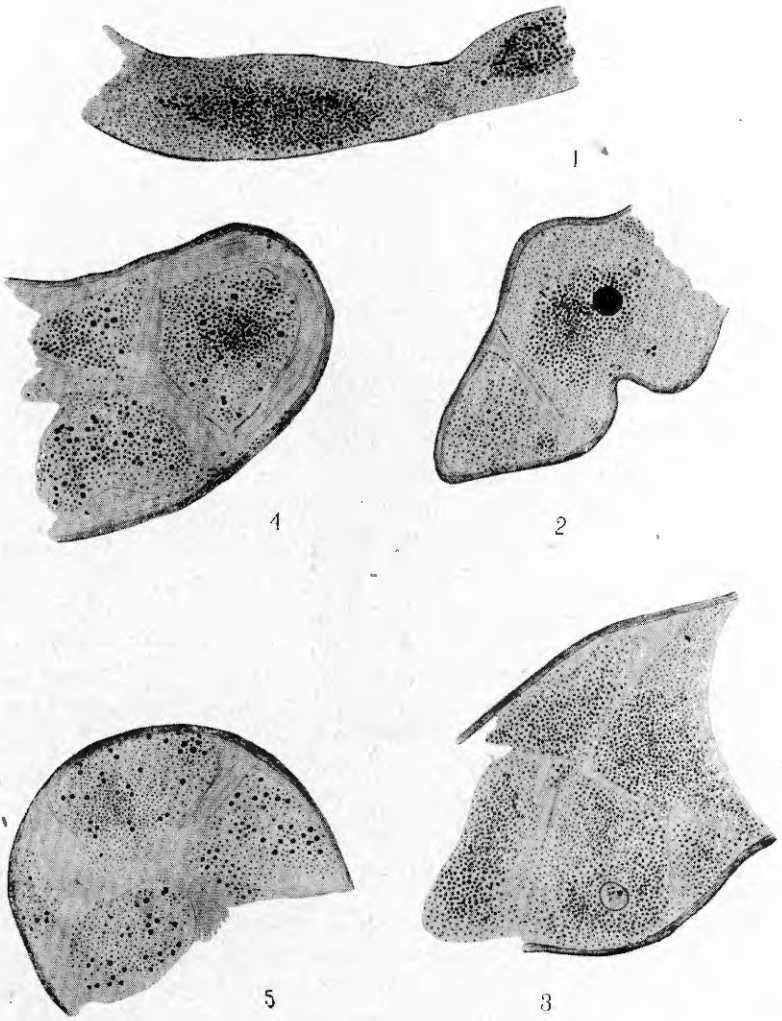
Estructura celular.—La glándula protorácica está formada por células poligonales de citoplasma finamente granuloso y núcleo grande. En algunos cortes los núcleos se ven de forma francamente amiboidea, estructura característica de algunas células con un metabolismo muy activo. Tienen un nucléolo grande y muy regular que se tiñe intensamente con la Hematoxilina férrica de Heidenhain. Es interesante señalar que éste aparece y desaparece en los distintos días estudiados. En los cortes teñidos se perciben los límites celulares, y además, habiéndose presionado ligeramente y de una manera accidental una

glándula protorácica colocada en solución de Ringer, se separaron los células dispersándose y se vieron claramente las membranas celulares.

Microfotografía. Rama de glándula protorácica. Nótense los núcleos y las membranas citoplásmicas.

Al hacer el estudio de las preparaciones de los diferentes días por los que atraviesa la oruga en su último estadio larval, se observaron cambios en las células de la glándula protorácica que recaen en el núcleo y se refieren a su forma, a sus granulaciones cromáticas y al nucléolo. A continuación se señalan las variaciones a que hemos hecho alusión.

Algunas horas después de la última muda larval, los núcleos aparecieron cargados de granulaciones, entre las que se distinguieron dos tipos: unas gruesas y otras medianas. El citoplasma se mostró finamente granuloso (Lám. I, fig. 1).



LAM. I. Fig. 1. Glándula protorácica de **Halysidota caryae** de un día.—Fig. 2. Glándula protorácica de cuatro días.—Fig. 3. Glándula protorácica de cinco días.—Fig. 4. Glándula protorácica de seis días.—Fig. 5. Glándula protorácica de siete día

En el cuarto día del séptimo estadio las granulaciones fueron abundantísimas, presentándose el citoplasma muy reducido; en algunas células se vieron nucléolos (Lám. I, fig. 2).

En el quinto día se observó que las granulaciones tendían a uniformarse en su tamaño y eran abundantísimas. El citoplasma estaba

LAM. II. Fig. 6. Glándula protorácica de nueve días.—Fig. 7. Glándula protorácica de diez días.—Fig. 8. Glándula protorácica de once días.—Fig. 9. Glándula protorácica de doce días

casi completamente invadido por las granulaciones del núcleo; el nucléolo se hallaba presente sólo en algunas células (Lám. I, fig. 3).

En el sexto día se vió cómo las granulaciones tendían a acumularse en la parte central del núcleo y se presentaban de dos tipos: gruesas y finas. En algunas células se observaron espacios vacíos en sus núcleos, y no había nucléolos (Lám. I, fig. 4).

En el séptimo día los gránulos cromáticos escasearon considerablemente, estaban dispersos y habían adquirido una forma más regular. Desaparecieron principalmente las granulaciones de tamaño mediano, quedando las finas y las gruesas. Tampoco se observaron nucléolos (Lám. I, fig. 5).

En el noveno día las granulaciones fueron nuevamente abundantes y volvieron a presentarse las granulaciones muy gruesas; los grumos cromáticos fueron más grandes y con tendencia a centralizarse. Se presentaron otra vez los nucléolos (Lám. II, fig. 6).

En el décimo día las granulaciones aparecieron bastante regulares, de tipo mediano y ocupando toda la oquedad de la célula; no hubo grumos grandes y faltaron también los nucléolos Lám. II, fig. 7).

En el décimoprimer día las granulaciones comenzaron a desaparecer o, posiblemente, a palidecer. Persistieron bien teñidas las de tipo mediano y las finas se vieron muy pálidas. Además, los nucléolos se tiñeron intensamente (Lám. II, fig. 8).

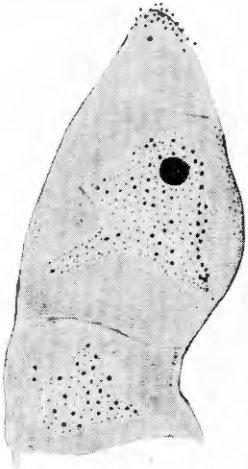
En el décimosegundo día se observó que las granulaciones volvieron a ser numerosas y que los nucléolos habían desaparecido: las granulaciones más chicas empezaron a verse más teñidas (Lám. II, fig. 9).

En los días décimotercero y décimocuarto las granulaciones tendieron a reunirse en la parte central, presentándose de tamaño bastante uniforme. Algunos núcleos se vieron en este momento claramente amiboides, y todos carecían de nucléolo (Lám. III, fig. 10).

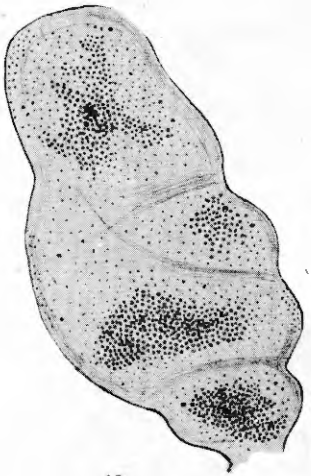
En una oruga de diez y ocho días que todavía no comenzaba a hilar su capullo, se observaron en las células de la glándula protorácica núcleos amiboides con unos grumos cromáticos finos y otros más gruesos, que se disponían dejando espacios vacíos (Lám. III, fig. 13).

En dos orugas tomadas en distintos días (décimoquinto y décimosexto), pero que estaban en la misma fase, con el capullo ya formado, se presentó el mismo aspecto: se vieron muy bien los límites de los núcleos, que eran amiboides. En su interior las granulaciones aparecieron escasas y de tamaño mediano, esparcidas. Y no se presentaron nucléolos (Lám. III, fig. 11).

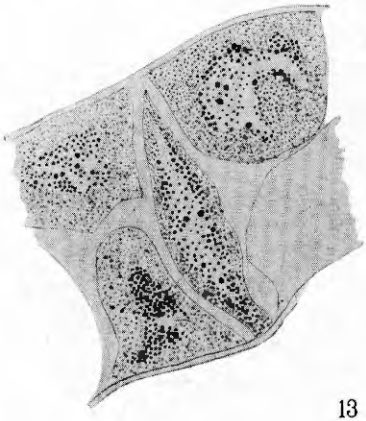
En otra larva que estaba comenzando a hilar su capullo, a los diez y siete días, las células de su glándula protorácica presentaban un aspecto semejante al observado en las anteriormente citadas, pero algunas células mostraron nucléolos (Lám. III, fig. 12).



12



10



13

11

LAM. III. Fig. 10. Glándula protorácica de trece días.—Fig. 11. Glándula protorácica de quince días.—Fig. 12. Glándula protorácica de diez y siete días.—Fig. 13. Glándula protorácica de diez y ocho días

CONCLUSIONES

1. Se ha estudiado la estructura celular de las glándulas protorácicas del séptimo estadio de la larva de la mariposa **Halysidota caryae,** comprobándose la presencia de membranas celulares, tal como había sido anteriormente señalado por Ké (1930).
2. Se han estudiado los cambios sufridos por el núcleo y el nucléolo de las células protorácicas de **Halysidota caryae** durante el transcurso de su séptimo y último estadio larval, cambios que denotan un metabolismo muy acentuado y la actividad secretora de la glándula, ya probada por varios autores de una manera experimental.

Doy las gracias a las señoritas doctoras Amelia Sámano Bishop y Leonila Vázquez por su dirección, sin la cual no habría sido posible la realización de este trabajo. Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento al señor E. Matuda por su traducción del trabajo de Ké (1930).

BIBLIOGRAFIA

FUKUDA, S., 1940a.—Induction of pupation in silkworms by transplanting the prothoracic glands. Proc. Imp. Acad. Tokyo, 16 : 414-416.

————, 1940b.—Hormonal control of molting and pupation in the silkworm. Proc. Imp. Acad. Tokyo, 16 : 417-420.

(*)————, 1941.—Induction of metamorphosis in the silkworm by transplanting pupal prothoracic gland. Zool. Mag. (Tokyo) 53 (12) : 582-584.

KE, O., 1930.—Morphological variation of the prothoracic gland in the domestic and the wild silkworm. (En japonés, con resumen en inglés.) Bull. Sci. Fak. Terkuit, Kjusu Imp. Univ. 4 : 12-20.

TSUI-YING LEE, H., 1948.—A comparative morphological study of the prothoracic glandular bands of some Lepidopterous larvae with special reference to their innervation. Ann. of Ent. Soc. of Am. 41 (2) : 200-205.

VAZQUEZ, L., 1935.—Contribución al conocimiento de los Lepidópteros Mexicanos II. **Halysidota caryae** Harr. An. Inst. Biol. 6 : 235-244.

WILLIAMS, C. M., 1947.—Physiology of insect diapause. II. Interaction between the pupal brain and prothoracic glands in the metamorphosis of the giant silkworm, **Platysamia cecropia.** Biol. Bull., 93 : 89-98.

————, 1948.—Physiology of insect diapause III. The prothoracic glands in the cecropia silkworm, with special reference to their significance in embryonic and postembryonic development. Biol. Bull., 94 : 60-65.

(*) De este trabajo se conoce únicamente el resumen.