

Tesis de Posgrado

Estudio citológico en Spirogyra

Joseph O'Donnell, Elsa H.

1956

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Joseph O'Donnell, Elsa H.. (1956). Estudio citológico en Spirogyra. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0887_JosephODonnell.pdf

Cita tipo Chicago:

Joseph O'Donnell, Elsa H.. "Estudio citológico en Spirogyra". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1956.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0887_JosephODonnell.pdf

"Estudio citológico en Spirogyra"

Sumario

En el trabajo presentado:

se investigan 11 especies del género Spirogyra,
8 de las cuales se citan por primera vez para
Argentina,
se detallan las distintas técnicas citológicas en-
sayadas y se propone una modificación para la
del carmín propiónico,
se analiza la estructura y organización de las
células vegetativas de las respectivas especies,
se documenta fotográficamente la organización de
los protoplastos: cloroplastidos, núcleo, citoplas-
ma, pirenoides y estructura de las paredes celu-
lares transversales, tipos de conjugación, forma
y ornamentación de la cigota en las distintas
especies,
se contribuye al conocimiento mitótico de Spirogyra
ghosei, S. distenta y S. subpapulata,
se observa organización nucleolar, reconociéndose
como normal, la existencia de una faz amorfa en
la que está incluida otra estructurada en forma
de filamento y para la que se adopta el neologis-
mo de Estable (1951) de nucleolonema o carilionema,

FOFBA

se determinan los números cromosómicos para Spirogyra ghosei en $n=10$; S. distenta, $n=4$ y S. subpapulata, $n=20$,

se observa separación de cromátides, normal y paralela en Spirogyra ghosei, paralela solamente en S. distenta,

se describe la citocinesis de las tres especies más arriba mencionadas, observándose deposición temprana (en metafase tardía) de la nueva pared celular (S. distenta) y anafase temprana, la que en su avance hacia el centro de la cavidad celular en ningún momento remueve los cloroplastidos de su posición parietal, contrariamente a lo establecido por McAllister(1932), se sugiere que el seccionamiento de los cloroplastidos por la nueva pared celular, podría adjudicarse a un estrangulamiento de cada uno de ellos producido por depósito creciente del nuevo material de la membrana en su periferia o, la alternativa de que la pared al avanzar provoque la lisis del cloroplastido en el contacto.

FCEN-BA.

Elsa H. Joseph O'Donnell

ESTUDIO CITOLOGICO EN SPIROGYRA

TRAB. FINAL! 887

Elsa H. Joseph O'Donnell
Art. Sussman

Tesis para optar al grado de Doctora en Ciencias Naturales en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires.

1956



A Manita

• ESTUDIO CITOLOGICO EN SPIROGYRA•

Plan de tesis. §

- I) INTRODUCCION
- II) ANTECEDENTES
- III) MATERIAL
- IV) TECNICA
- V) OBSERVACIONES CITOLOGICAS EN ALGUNAS ESPECIES DE SPIROGYRA :
 - A) CELULAS VEGETATIVAS
 - B) DIVISION CELULAR
 - 1) NUMERO CROMOSOMICO
 - 2) MORFOLOGIA Y MEDIDA DE CROMOSOMAS
 - 3) NUCLEOLO
 - 4) FIGURA ACROMATICA
 - C) CITOCINESIS
- VI) SUMARIO
- VII) BIBLIGGRAFIA

§ Aprobado el 20 de noviembre de 1951.

INTRODUCCION

El estudio citológico aquí presentado en especies argentinas del género Spirogyra, ha sido realizado en su mayor parte en la Dirección Principal de Laboratorios de Obras Sanitarias de la Nación por lo que se agradece a las autoridades de la institución la franquicia y equipo facilitado, así como también a las del Instituto Fitotécnico de Castelar del Ministerio de Agricultura de la Nación, en donde revistara el Ingeniero Agrónomo Guillermo Covas bajo cuya dirección se iniciara el trabajo, y a quién la autora queda agradecida no solo por su apoyo, sino, por el interés que en ella despertara sobre tales investigaciones. en su condición de Profesor de Citología y Genética del Doctorado en Ciencias Naturales de la Universidad de Buenos Aires.

Si bien las contribuciones sobre la citología de las algas menudean en la bibliografía mundial, son pocas las que pueden informar sobre las especies representadas en Argentina y, trabajode la envergadura del de Rabinovich(1947), ha concentrado la atención en Cyanophyceae(Schizophyta), que tanto por su origen, morfología y organización nuclear han evolucionado separadamente de Chlorophycophyta§ en la que el género Spirogyra está incluido (Orden Zygnemales).

§ ver Papenfuss(1946) para los nombres de los "phyla" de algas.

Las 234 especies atribuidas en el mundo a Spirogyra han sido objeto de cuidadosos estudios morfológicos, taxonómicos y ecológicos. Solo una veintena de especies se investigaron citológicamente y es de esperar que la extensión de tal conocimiento al resto de ellas, ayude a resolver el problema que la identificación del material implica en más de una oportunidad. Godward (en prensa) ha iniciado ya la citotaxonomía de las especies británicas y fué con miras similares para las representantes argentinas, que el presente trabajo se iniciara.

El manejo de las claves para la determinación de especies de Spirogyra, aun las tan cuidadosamente confeccionadas de Krieger (1944), pone al criptogamista ante el dilema de descartar caracteres que son el fundamento para otros órdenes de Chlorophycophyta y para el que nos ocupa según el criterio de Borge (1913), tal como largo de la célula vegetativa, número de cloroplastidos, el de sus vueltas y en muchos casos aún las dimensiones de la cágota, quedando como caracteres estables la conformación de las paredes transversales de los filamentos, forma y ornamentación de la cigota, siendo este último en la mayoría de las veces el que realmente define la especie. Teniendo en mente lo dicho fácil es comprender que las chances de identificación del material se ven limitadas para el colectado fértil en determinadas épocas del año.

En qué forma puede ayudar la citología en ese aspecto, lo dirá el acopio de cuidadosa información que se logre sobre las especies. Treinta minutos dedicados a una colocación del material por carmin, esperamos que eviten la adopción de cofificaciones personales para la divulgación de los resultados obtenidos (Spirogyra X de Geitler, S.L.S. y S.H3 de Godward)

así como la erección de especies nuevas basadas en caracteres tan variables y sujetos a modificación por desarrollo, condiciones de nutrición y ambiente, como los anteriormente enumerados.

Queda todavía mucho camino por recorrer por cuanto la información sobre meiosis, tiempo de ocurrencia, número de núcleos que degeneran y consecuentemente sexualidad de los filamentos resultantes, es escasa y los resultados necesitan una cuidadosa revisión.

En el presente trabajo se investigaron 11 especies de Spirogyra, 8 de ellas citadas por primera vez para Argentina y se contribuye al conocimiento mitótico de tres, quedando el resto para presentaciones posteriores.

La autora agradece las sugerencias y críticas que al manuscrito hiciera el padrino de tesis Doctor Oscar Kühnemann, así como también la asistencia del Doctor Clyde Ritchie Bell (ahora en la Universidad de Carolina del Norte, Estados Unidos de Norteamérica) en la obtención de las fotografías 2 y 26-28.

Buenos Aires, agosto de 1956.

ANTECEDENTES

Según Transeau(1951) el profesor Jean Massart dijo: " por qué pierde el tiempo con Spirogyra, no hay especies en ese género", refiriéndose a la variabilidad ofrecida por muchas de sus representantes, opinión no compartida por los experimentadores que ya atraídos por el tamaño de las células, belleza de sus cloroplastidos o la promisoría facilidad a la observación que especies de gran tamaño ofrecen, así como la disponibilidad del material en la mayoría de los cursos de aguas, lagos y zangones, han hecho de Spirogyra uno de los géneros algales en el que el comportamiento mitótico ha sido mejor observado.

Desde Strasburger(1875) a los más modernos trabajos de Geitler(1930), Doraiswami(1946), Oura(1953) y Godward(1947, 50, 53, 54), Spirogyra fué objeto de una casi ininterrumpida investigación citológica, pasando por las contribuciones de MacFarlane(1882), Flemming(1882), Tangl(1892), Carnoy(1884), Zacharias(1886), Neunier(1887), Mitzkewitsch(1893), Degagny(1896), van Wisselingh(1900, 102, 21), Berghs(1906), Merriam(1913, 16), Stolley(1930), Conard(1933, 39), Suetmasu(1936) de las que Doraiswami(1946) hace una cuidadosa revisión y a quién deriva la autora al lector interesado en referencias adicionales.

Por cuanto las contribuciones se refieren en su mayoría al comportamiento nucleolar durante la mitosis y origen de los cromosomas, las distintas teorías serán enunciadas

donde se trate división celular.

POSICIÓN TAXONÓMICA

Orden: Zygnemales Borge y Pascher 1913

Familia: Zygnemaceae Meneghini 1838

Género : Spirogyra Link 1820

de σπεῖρα espiral y γυρός entrelazada.

Conferva Mueller 1785

Conjugata Vaucher 1803

Spirogyra Link 1820

Choopsis Gray 1821

Zygnema Agardh 1824; Nassall 1842

Salmis Bory 1827

Sirogonium Kützing 1843

Rhynconema Kützing 1849

Temnogyra Lewis 1925

Desagnya Conard 1931

El criterio de reconocer Sirogonium como género independiente es compartido por Ulmanns(1922), Smith(1950, 56), Fritsch(1935), quien lo remueve a la familia Mougeotiaceae, y Transeau (1951). Borge(1913), Czurda(1932), Kolkwitz y Krieger (1944) y Beger(1954), incluyen las especies atribuidas a Sirogonium dentro de Spirogyra . Este último fué el criterio adoptado para el presente trabajo, procediéndose a la identificación del material con él en mente.

MATERIAL

Las especies investigadas fueron personalmente coleccionadas* en : canal principal de la isla Rufino de Elizalde, Delta del Paraná; arroyo Merlo, Merlo, provincia de San Luis y Lago de Palermo †. En el primero de los sitios mencionados la búsqueda de material se extendió a través de todas las estaciones con intervalos regulares de quince días en los meses de setiembre a febrero y de un mes en los restantes, durante los años 1951, 1952, 1954 y 1955. El coleccionado en Merlo lo fué en diciembre de 1955 y el del Lago de Palermo en julio y agosto de 1956.

Pudo apreciarse la periodicidad de la reproducción sexual, ya que solo se encontró material fértil de setiembre a diciembre, salvo el material del Lago de Palermo y cuya temprana fertilidad se atribuye al promedio de temperaturas por arriba de lo normal en el invierno corriente.

El material quedó depositado en la colección particular de la autora y un duplicado en el herbario de la cátedra de Plantas Celulares de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, e identificado según se detalla.

* excepción hecha del material número 510 y 511, gentilmente suministrado por el alumno Guillermo Sarmiento.

† entre Aus. Sarmiento y Vieytes.

ESPECIES NUEVAS PARA ARGENTINASpirogyra cieveana Transeau

Bs.As., Delta del Paraná, isla R. de Elizalde. Leg. Joseph O'Donnell, 21, IX, 1952. Herb. Fac. Cs. Ex. y Nat. *, n° 501; *ibid*, 11, I, 1952, n° 502.

Spirogyra ghosei Singh

Bs.As., Delta del Paraná, isla R. de Elizalde. Leg. Joseph O'Donnell, 4, XI, 1952. Herb. Fac. CS. Ex. y Nat. n° 503.

Spirogyra dístenta Transeau

Bs, As., Delta del Paraná, isla R. de Elizalde. Leg. Joseph O'Donnell, 9, IX, 1955. Herb. Fac. Cs. Ex. y Nat. n° 504.

Spirogyra daedalea Lagerheim

Bs.As., Delta del Paraná, isla R. de Elizalde. Leg. Joseph O'Donnell, 30, X, 1955. Herb. Fac. Cs. Ex. y Nat. n° 505.

Spirogyra subpauculata Jao

San Luis, Merlo, arroyo Merlo. Leg. Joseph O'Donnell, 11, XII, 1955. Herb. Fac. Cs. Ex. y Nat. n° 506.

Spirogyra fuellebornii Schmidle

Bs. As., Delta del Paraná, isla R. de Elizalde. Leg. Joseph O'Donnell, 24, XII, 1955. Herb. Fac. Cs. Ex. y Nat. n° 507.

* por cuanto el herbario de la cátedra de Plantas Celulares, no tiene sigla mundialmente reconocida, se adopta esta abreviatura transitoriamente.

Spirogyra circunalicata Franseau

Capital Federal, lago de Palermo. Leg.
G. Sarmiento, 29, VII, 1956. Herb. Fac. Cs. Ex.
y Nat. n° 510. Leg. Joseph O'Donnell, 6, VIII,
1956, n° 512.

Spirogyra incrassata Czurdá

Capital Federal, lago de Palermo. Leg.
G. Sarmiento, 29, VII, 1956. Herb. Fac. Cs. Ex.
y Nat. n° 511. Leg. Joseph O'Donnell, 6,
VIII, 1956, n° 513.

ESPECIES AMERICANAS CUYAS FORMAS ANCESTRASSpirogyra varians (Bass.) Kütz.

Bs. As., Delta del Paraná, isla R. de Eli-
zalde. Leg. Joseph O'Donnell, 12, IX, 1952.
Herb. Fac. Cs. Ex. y Nat. n° 508.

Spirogyra decizina (Küller) Kütz. Czurdá emend.

Bs. As., Delta del Paraná, isla R. de Eli-
zalde. Leg. Joseph O'Donnell, 15, X, 1955.
Herb. Fac. Cs. Ex. y Nat. n° 509.

Spirogyra nitida (Dillwyn) Link

Bs. As., Delta del Paraná, isla R. de Eli-
zalde. Leg. Joseph O'Donnell, 14, XI, 1955.
Herb. Fac. Cs. Ex. y Nat. n° 514.

TECNICA

La fragilidad de los filamentos de las especies de Spirogyra, así como la envoltura mucilaginosa que los rodean, llevó a ensayar cuidadosamente diversas técnicas tanto para la fijación como coloración y montaje, habiéndose operado el material con la ayuda de agujas de vidrio, invariablemente.

Se seleccionaron los fijadores adecuados para las distintas técnicas citológicas a experimentar. Los mejores resultados se obtuvieron con la fijación alcohol-acética para coloración por carmín acético, según técnica de Cave y Pcock (1950); fijación cromo-acética cuando se deseó colorar por la hematoxilina férrica de Heindenhein, y fijación alcohol-acética cuando se empleó la técnica de Feulgen.

El material en el que la envoltura mucilaginosa alcanzó espesor considerable, la penetración tanto de fijadores como de mordientes se vió considerablemente dificultada o retardada en la técnica del carmín, por lo que se ensayó la fijación alcohol-propiónica y coloración por carmín propiónico. Cabe destacar que se obtuvieron con ella siempre los mejores resultados.

Los tiempos de fijación para los fijadores cromo-acéticos, oscilaron entre 12 y 24 horas, mientras que en las mezclas alcohol-acéticas y alcohol-propiónicas, se procedió hasta remoción del color de los cloroplastidos, 10 a 30 minutos, encontrándose sin embargo que el material mantenido en el fijador por espacio de semanas, no fué afectado por tan prolongada

fijación.

Para las coloraciones por la hematoxilina se trató el material en masa, sobre vidrio de reloj y en inclusiones en parafina. La técnica adoptada en este último caso fué la detallada por Doráiswami(1946), cortándose secciones de 5, 10 y 15 micrones.

Normalmente se transfirió el material después de fijado a alcohol 70%, donde se almacenó por períodos de hasta un año, colorándose en su oportunidad sin inconvenientes no obstante el tiempo transcurrido.

Por cuanto se deseaba determinar las horas en que el mayor número de divisiones celulares tiene lugar, se procedió a fijar material en períodos de 24 horas con intervalos de 20 en 20 minutos, obteniéndose el mayor número de figuras mitóticas entre las 2230 y 0030.

TÉCNICAS DE COLORACION

Técnica de la hematoxilina férrica de Heidenhein

Se transfirió el material procedente del fijador cromo-acético a agua destilada en la que se lavó cuidadosamente y luego al mordiente, solución acuosa de sulfato amonio-férrico al 2%, donde permaneció por espacio de 1 hora.

Pevio lavado con agua destilada, se agregó hematoxilina férrica, preparada según la técnica de Hansen(1946), manteniéndose el material en el colorante por 1 hora.

Se controló la diferenciación al microscopio, cuan-

do se agregó la solución acuosa de sulfato amonio-férrico al 2 %.

Después de lavado con agua destilada el material quedó en condiciones de ser montado.

Técnica de Cave y Pocock

El material se fijó directamente sobre cobreobjeto en una variante del alcohol-acético de Carnoy: 3 partes de alcohol absoluto y 1 parte de ácido glacial acético, saturado con acetato férrico, durante 30 minutos.

Se evaporó casi todo el fijador, que fué mordiente a la vez, cuidando de que los filamentos no quedaran en seco. Se invirtió el cobreobjeto sobre una gota de carmín acético, preparado según Cave y Pocock (1950).

Después de unos minutos se calentó la preparación a la llama de una lámpara de alcohol previniendo de ebullición.

Se dejó enfriar para montar.

Técnica de Godward

Se sometieron los filamentos a un pretratamiento de vapores de ácido nítrico, suspendiéndoselos durante 1 a 2 segundos sobre la boca destapada del frasco conteniendo el ácido concentrado.

Se transfirió el material a una mezcla preparada en el momento de alcohol absoluto y ácido acético glacial en las proporciones requeridas por la especie en estudio "

Generalmente después de 30 minutos se obtiene una buena fijación.

Se lavó con agua corriente durante algunos minutos, transfiriéndose entonces los filamentos al mordiente (solución acuosa de alambre férrico al 4 %) durante 1 segundo o más.

Se lavó nuevamente con agua por espacio de varios minutos, procediéndose luego a colorar por carmín acético preparado según el método "standard".

Se colocó el cubreobjeto, eliminándose el exceso de colorante y después de algunos minutos calentóse suavemente la preparación por espacio de 5 a 10 minutos.

Se procedió al montaje.

Técnica de la orceína acética

La fijación fué en mezcla alcohol-acética sobre portaobjetos y por espacio de 30 minutos.

Se evaporó el fijador hasta un punto menos de sequedad y se agregó una gota de orceína acética preparada según Darlington y La Cour (1950). Transcurridos 10 minutos se calentó la preparación sobre la llama de una lámpara de alcohol.

Procedióse a eliminar el exceso de colorante para montar.

Técnica de Rottenburg

La fijación se realizó en una mezcla de 2 partes de alcohol 96% y 1 parte de formalina comercial a la que se había agregado 5 % de ácido acético glacial. El material permaneció en el fijador entre 12 a 24 horas.

Terminada la fijación procedió a hidrolizarse el material con HCL N a temperatura constante de 50°C por espacio de 10 minutos (para el material de Spirogyra) y previo lavado se coloró por carmín acético.

Técnica de Hyde y Gardella

La mezcla fijadora está compuesta por 3 partes de alcohol 96 y 1 parte de ácido proiónico puro conteniendo 400mg de $Fe(OH)_3$ por 100 ml de ácido proiónico.

A esta mezcla se agregó unas gotas de carmín acético común, por cada 10 ml, procediéndose a fijar al tiempo que colorar el material.

Después de 10 minutos se transfirió el material a un portaobjetos, calentándose la preparación, procediéndose más luego al montaje de la misma.

Técnica de McIntosh

Según la técnica de McIntosh debió procederse previamente a la hidrólisis del material con ácido clorhídrico normal a temperatura constante de 50°C, paso que para el material de Spirogyra necesitó 10 minutos .

Previo lavado se procedió al mordaje y teñido.

por carmin propiónico al que se había agregado unas gotas de solución saturada de acetato férrico en ácido propiónico, colorándose una vez que el líquido tomó tinte oscuro.

Se calentó y montó como en las técnicas anteriormente detalladas.

Modificación propuesta a la técnica del carmin propiónico.

Si bien los resultados obtenidos por la técnica de McIntosh fueron buenos, se presentó en su realización la dificultad de un agregado ajustado del mordiente, ya que el mínimo exceso llevaba a la precipitación del colorante.

Fras diversos ensayos se adoptó como la más controlable y de resultados seguros, la técnica que a continuación se detalla, en la que el mordiente se hizo actuar separadamente.

Material fijado ya en mezclas cromo-acéticas, alcohol-acéticas o alcohol-propiónicas, se transfirió a un portaobjeto en el que se agregó unas gotas de mordiente, propionato férrico*, dejándose evaporar un poco y repitiendo el agregado tres veces, cuidando de que los filamentos no quedaran en seco en momento alguno.

*

se obtuvo el propionato férrico agregando $Fe(OH)_3$ a ácido propiónico puro, hasta solución saturada.

Al término se agregaron unas gotas de carmín propiónico preparado según Johansen(1946). Pasados 10 minutos se cubrió la preparación y se procedió al calentamiento a la llama de una lámpara de alcohol, previo al montaje.

Es de destacar que la mejor penetración del ácido propiónico si bien mencionada por varios autores, Darlington y La Cour(1950) y Goodspeed(1944) entre otros, es frecuentemente olvidada por los citólogos. Las preparaciones obtenidas por la técnica del carmín propiónico, mostraron invariablemente el citoplasma apenas colorado, una ventaja más que decidió en favor de la recomendación del método como el de resultados óptimos y seguros.

Técnica de Feulgen

Se fijó el material en una mezcla de 3 partes de alcohol absoluto y 1 de ácido acético glacial ,por espacio de 10 minutos .

Se lavaron los filamentos en HCL N a temperatura ambiente, transfiriéndoselos para su hidrólisis a HCL N a 50°C por 10 minutos, para el caso de Spirogyra no son necesarios más, volviéndoselos al cabo de ellos a pasar por HCL N a temperatura ambiente.

Se lavó, cuidadosamente con agua destilada para remover el ácido y se coloró por fucsina básica decolorada, preparada según Darlington y La Cour (1950), por periodos de hasta 1 hora.

Se transfirieron los filamentos a agua ,lavando bien el colorante, quedando el material listo para montar.

Técnicas para hidrolización

Tanto en la técnica precedentemente detallada como en la de McIntosh se necesitó una hidrólisis previa del material, realizada a 50°C y por un período no mayor de 10 minutos para el delicado material de Spirogyra, determinado luego de varias ensayos preliminares.

El material después de la hidrólisis es tan deñable, que su manejo se torna muy difícil, siendo la operación más embarazosa la de transferir los filamentos a un portaobjeto.

Tratando de eliminar el riesgo se ensayó con muy buen resultado la hidrólisis a temperatura ambiente con ácido clorhídrico 5 N y ácido nítrico 5 N, efectuada directamente sobre portaobjeto y controlada al microscopio. Se estimó así que una hidrólisis de este tipo durante 10 minutos es la recomendada para la mayoría de las especies de Spirogyra, por lo que su uso se aconseja como alternativa de la comúnmente realizable a 50°C.

Los autores Itikawa, y, Ogura (1953), sugirieron la hidrólisis a temperatura ambiente, para el caso de secciones.

MONTAJE

Las técnicas de montaje variaron según las de coloración y destino de las preparaciones.

Preparaciones transitorias de las distintas técnicas del carmín, fueron dejadas con el cubreobjeto bordeado con parafina fundida.

Las preparaciones definitivas en el caso de la coloración por la hematoxilina, previa deshidratación fueron montadas en bálamo o directamente en gelatina-glicerina, ofreciendo

do el primero la dificultad de que el paso obligado por el xilol, contorsionó los filamentos.

Para hacer permanentes preparaciones coloradas por carmín, después de obtenida la diferenciación deseada, se invirtió el portaobjeto en una caja de Petri conteniendo alcohol 96% en cantidad suficiente como para cubrirlo, manteniéndolo sellado en ella hasta desprendimiento del cubreobjeto.

A un punto menos de evaporación total del alcohol se agregó una gota de Euparal.

FOTOGRAFÍAS Y DIBUJOS

Todas las fotografías y dibujos que acompañan fueron realizados por la autora.- De las primeras las 2, 26, 27, 28, 30-32, 36 y 37, fueron tomadas con un Orthophot Silge y Kuhne al que se acopló un microscopio Spencer, en el laboratorio fotográfico del Departamento de Botánica de la Universidad de California, Berkeley, Estados Unidos de Norteamérica y las 1, 3-25, 29, 33-35, 38 y 39, en la Dirección Principal de Laboratorios de Obras Sanitarias de la Nación, con una cámara Leica acoplada a microscopio Zeiss.

CELULAS VEGETATIVAS

Las células vegetativas de Spirogyra ², están organizadas en filamentos simples, sin ramificar, formados por células cilíndricas o en forma de tonel, cuyo diámetro varía en las distintas especies estudiadas entre 21 y 100 micrones.

Las dimensiones del largo de la célula así como la proporción que éste guarda con el ancho, han sido cuestionadas como de valor taxonómico en varias oportunidades y en lo que la autora coincide pues es de fácil ocurrencia en material coleccionado a lo largo del año, encontrar en el mismo filamento células de distintos largos, pudiendo ser éstos de hasta tres veces el ancho, dependiendo tal variabilidad de si la célula ha culminado en su desarrollo y va a iniciar el proceso mitótico o acaba de salir de él.

Por el contrario el diámetro se mantiene constante a lo largo del filamento, excepción hecha en algunas especies y al tiempo de conjugación como se detallará oportunamente.

Las células terminales adoptan a veces una forma aguzada o presentan una proyección, dependiendo esto del tipo de pared transversal característico de la especie.

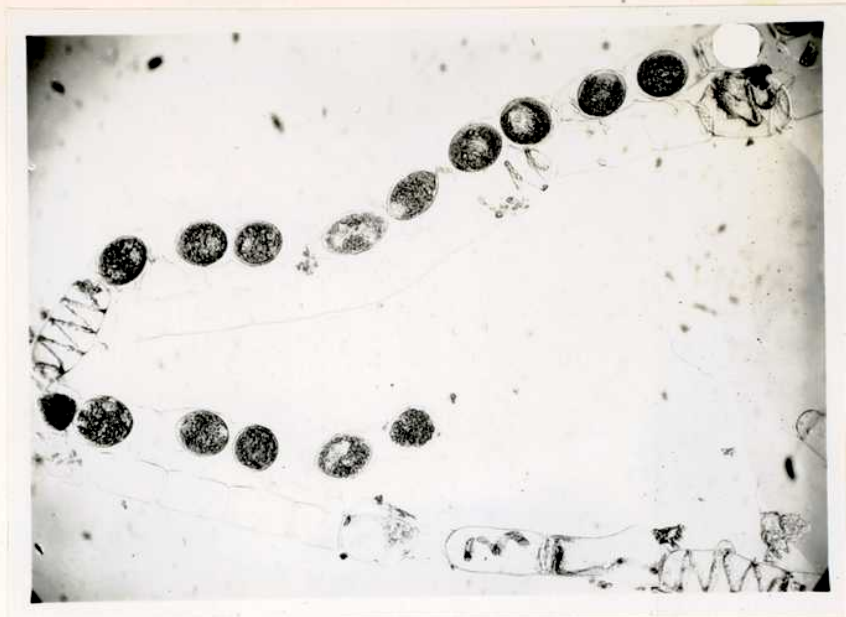
Es frecuente observar una diferenciación morfológica de las células por las que el filamento se adhiere al substrato o está en contacto con él, hápteras ya citadas por muchos monógrafos y que también fueron observadas en oportunidad del presente trabajo al cultivarse las especies en el laboratorio sobre placa de agar, partiendo en esa oportunidad, las hápte-

² género estrictamente de agua dulce.

ras no solo del extremo del filamento sino a intervalos irregulares en su largo total.

En el cuadro a continuación se indican los diámetros de las células vegetativas de las especies investigadas.

<u>Especie</u>	<u>diámetro en micrones</u>
<u>S.decimina</u>	31-35
<u>S.circumlineata</u>	40-46
<u>S.varians</u>	34-38
<u>S.distenta</u>	47-50
<u>S.nitida</u>	72-80
<u>S.subpapulata</u>	22-25
<u>S.daedalea</u>	35-36
<u>S.ghosei</u>	86-100
<u>S.cleveana</u>	40-42
<u>S.incrassata</u>	27-28
<u>S.fuellehornii</u>	42-44



1



2

FOT. 1-2.- Spirogyra cleveana. Transeau, l. X 140.-2. X. 290

Los filamentos están individualmente incluidos en vainas mucilaginosas * de grosor variable en las que algunos investigadores han creído observar una organización fibrilar adjudicada a la secreción ordenada de las sustancias mucilaginosas a través de poros pequeños cuya presencia al presente no ha podido ser demostrada. Durante el curso de este estudio y a despecho de las observaciones en vivo, así como las realizadas en material fijado y colorado por las diversas técnicas detalladas, no fué dado observar poros ni organización fibrilar alguna, siendo esto válido inclusive para Spirogyra ghosei y S. nitida en las que las envolturas mucilaginosas alcanzaron espesor considerable.

Tales vainas no son de grosor constante en todo el ciclo de vida de los filamentos, pudiendo disminuir su espesor y aun desaparecer en determinadas épocas; o probablemente lo correcto sería hablar de una disolución progresiva del material péctico que las constituye. Hácese la salvedad que por regla persisten durante la conjugación y que en ningún caso han sido observadas que aparecieran exclusivamente en relación con la época de reproducción sexual lo que es común en representantes de DeSMi-deaceae.

Las paredes celulares a lo largo del filamento, están formadas por una capa externa pectósica y dos internas celulósicas, íntimamente relacionadas todas y con apariencia de capa única. Las transversales intercaladas entre células adyacentes ofrecen estructuras diferentes de acuerdo con las especies, siendo esto de valor taxonómico. Pueden ser así clasificadas en planas como en Spirogyra circumlineata, S. distenta, S. nitida, S. daedalea, S. decimina, S. ghosei y S. fuelebornii; y en replicadas o replegadas como en S. cleveana, y S. incrassata. Las fotografías

* producto de la degradación de la pectosa de la capa externa de la pared celular.

2-5, 8, 9, 11, 12, 17, 18, 22 y 24 y 1, 2, 13, 16 y 20, ilustran los tipos respectivos.

En ambas clases las paredes transversales están constituidas por la lamela media de pectosa, sobre la que se disponen a ambos lados las capas celulósicas.

En las especies con paredes transversales replegadas, tal desarrollo ha sido formado por crecimientos anulares de las capas celulósicas. En representantes que las poseen y en filamentos fértiles se observó en oportunidades diversas que células vecinas a la cigota tenían paredes planas. (Fig. 20).

Piezas en H, formadas por excesivo desarrollo de la lamela media y descritas por Strasburger (1876) y Lloyd (1926) no fueron observadas en el material que aquí se trata.

Cabe destacar que la fragmentación de los filamentos es más frecuente en las especies con paredes replicadas, siendo ésta una forma de multiplicación vegetativa muy efectiva. La disyunción es generalmente asociada con conversión de la lamela media en productos de degradación solubles en agua.

Depositados sobre las paredes celulares se observaron a veces, cristales de oxalato de calcio, así como en algunas representantes la ocurrencia de una especie epifita?, perteneciente al género Harpochytrium (Xanthophyceae).

Los cloroplastidos son parietales y en forma de banda se disponen en las distintas especies como norma en helicoide, encontrándose no obstante que en algunas corren casi longitudinalmente a lo largo de la célula.

Hay autores que consideran su número por célula de importancia taxonómica, pero el mismo no es siempre constante,

dándose el caso de que en el mismo filamento se presenten a tiempos, células con 2 ó 3 cloroplastidos, tentativamente explicado por división longitudinal de uno de ellos o por repliegue sobre sí mismo con posterior ruptura en el sitio de cambio de sentido.

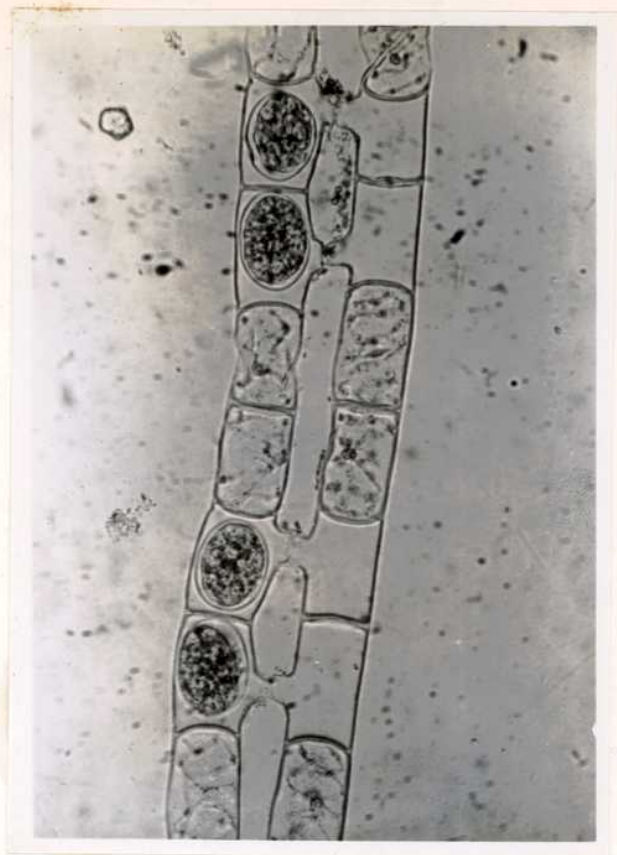
Borge y Pascher entre otros ficólogos, estimaron importante el número de vueltas de los cloroplastidos por célula, lo que queda invalidado si al largo total de la misma no se le acredita valor taxonómico. Además debe considerarse el hecho de que la velocidad de crecimiento de la pared celular es inferior a la de los cloroplastidos.

Los cloroplastidos pueden abarcar con sus giros el largo total de la célula, haciéndolo ya en forma suelta como en Spirogyra incrassata (fotografía 13) o compacta, tal lo observable en S. ghosei (fotografía 31). El margen se presenta liso o irregular si bien esto depende principalmente del ciclo de vida y grado de nutrición del individuo.

El crecimiento de los cloroplastidos en banda, es apical e intercalar. Son seccionados por la nueva pared transversal que se forma al promediar la mitosis, por lo que es fácil observar que los giros se continúan en células vecinas.

El tipo de cloroplastido en banda es considerado como menos evolucionado. De él derivan los discoideos por fragmentaciones sucesivas y que en ningún caso foé dado observar en las especies de Spirogyra. Lo dicho, unido a otras características como tiempo de ocurrencia de la meiosis, sexualidad relativa, ubican a nuestro género en estudio como los menos especializados del orden a la par de Mougeotia y Debarya.

En un filamento algunas células pueden engrosar



3



4



5

Fot.3-5.- Spirogyra distenta Transeau
3. Filamentos conjugantes X 180.
4. Ciga X 540.
5. Acineta X 320.

sus paredes, ver fotografía 5 de Spirogyra disjuncta Trauseau, cuando las condiciones de ambiente no son favorables, siendo la naturaleza de dichas células comparable a la de las acinetas citadas para otras algas.

Los pigmentos presentes en los cloroplastidos son clorofila a y b, α y β carotenos y luteína, violoxantina, y neoxantina entre las xantofilas, según Strain (1951).

Hay pirenoides presentes en gran número e incluidos axialmente en cada cloroplastido a intervalos regulares. Cada pirenoide está rodeado por un depósito de almidón, cuya reacción con Lugol se efectuó en material vivo, que depositándose en capas sucesivas llega a dar la impresión de estar íntimamente relacionado con aquél.

Las células vegetativas de Spirogyra son normalmente uninucleadas. Gerassimoff (1898) logró obtener en laboratorios células binucleadas que vivieron lo suficiente para ser inducidas a conjugarse.

En las especies de Spirogyra el núcleo es de forma redondeada o ligeramente alargada en el sentido transversal de la célula, central en posición e incluido en el citoplasma que rodeándolo lo suspende en la gran vacuola central, por prolongaciones citoplásmicas dendróticas que se dirigen a los cloroplastidos, terminando a la altura de un pirenoide como regla. (fotografía 6).

El núcleo posee una membrana visible aun en material vivo y nucleolos que en número de 1, frecuentemente 2, excepcionalmente 3, se muestran refringentes a la observación en material sin fijar.

El tamaño de los núcleos metabólicos o energéti-

co en las distintas especies estudiadas varió entré 20 a 22 micrones para las que tenían un diámetro celular no mayor de 50 micrones y entre 30 a 32 para las representantes con filamentos de 60 a 100 micrones de ancho.

El citoplasma es muy sensible a los agentes fijadores, retrayéndose a su agregado, ofreciendo recién entonces una estructura reticular muy delicada y laxa. En material vivo se observaron corrientes citoplásmicas .

La presencia de grasas finamente emulsionadas en el citoplasma quedó revelada cuando a material vivo se agregaron unas gotas de Sudan III, en solución saturada en alcohol 70%, pasados 20 minutos se emitió el colorante, observándose la preparación montada en glicerina.

Se diferenciaron las grasas coloradas por Sudan III, de la vacuola central por agregado de una solución diluida de rojo neutro.

El jugo celular de varias especies de Spirogya contiene taninos.

Condriosomas citados para el género por Dangeard (1923), no fueron observados en material fijado por cuanto los mismos son solubles en ácido acético que invariablemente integró las fórmulas de los fijadores.

El nucleolo o nucleolos del núcleo metabólico ofreció a la observación en vivo un aspecto aparentemente homogéneo. Cuando se trabajó sobre material fijado y colorado y filamentos vivos observados por cintraste de fase, se confirmó la estructura heterogénea del mismo, observada por Geitler (1930) Oura (1953) y Godward (19550) y que está constituida por una estructura en forma de hilo contorsionado, para la que se adopta el neologismo sugerido por Estable (1951) de "nucleolonema", incluida en una parte amorfa (fotografías 39 y lámina IX).



6



7

Fot. 6-7.- Spirogyra ghosei Singh
6. Núcleo metabólico x 800.
7. Nucleolos vacuolizados x. 1100.

El diámetro del nucleolo de las células vegetativas fué de 6 a 8 micrones en las especies de diámetro celular menor de 50 micrones y de 10 a 12 para las representantes más anchas.

Fuó dado observar frecuentemente, diversos grados de vacuolización de los nucleolos, tal como se ilustra en la fotografía 7 .

CONJUGACION

Una vez alcanzado el desarrollo vegetativo y según Czurda, tras puesta su culminación, se verifica la conjugación que normalmente tiene lugar desde mediados de primavera hasta promediar el verano, y ,cuyo proceso logróse repetir en condiciones controladas en laboratorio con Spirogyra cleveana, cultivada en medio de Czurda * adicionado de agar al 1 %.

En gran número de especies la conjugación se produce entre dos filamentos que se ordenan paralelamente, yuxtaponiéndose, lo que se conoce como conjugación escalari-forme. Tal el caso de Spirogyra daedalea, S. decimina, S. distenta, S. circumlinata, S. nitida, S. cleveana, S. varians, S. subpapulata, S. ghosei y S. fuellebornii. (Ver fotografías 1, 2, 3, 8, 9, 11, 17 y 21).

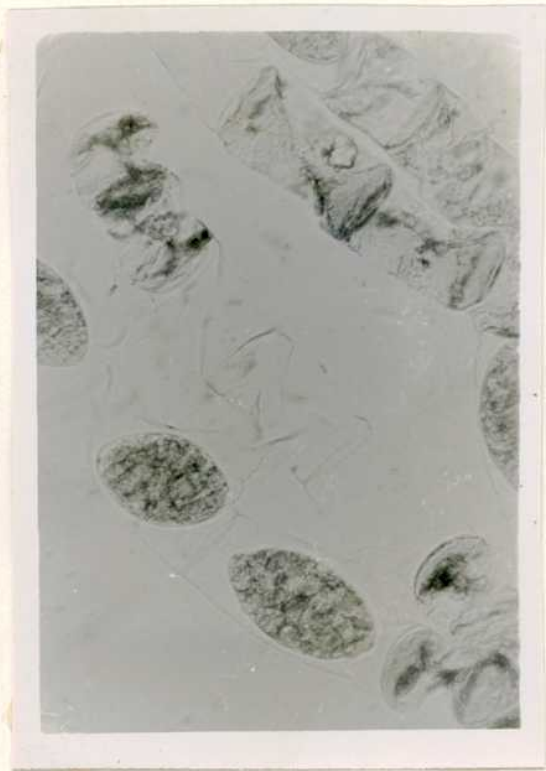
Puede tener lugar también entre dos células

* de la siguiente composición: KNO_3 , 0,02 % ; K_2HPO_4 , 0,002 % ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,001 % ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0005 % ; CaSO_4 , 0,2%, de las soluciones saturadas y llevado a pH=8.

La fórmula original exigía un pH=6, pero el control del de los sitios donde se coleccionó material en conjugación, sugirió la conveniencia del cambio al fracasar las tentativas de mantener el material vivo a pH=6.



8



9



10

Fot. 8-10 Spirogyra daedalea Lagerheim.

8. Filamentos fértiles X 100.

9. Detalle conjugación escalariforme X 340.

10. cigota X 1000.



11



12

Fot. 11-12. Spirogyra nitida (Dillwyn) Link

11. Filamentos conjugantes. X 120.

12. Cigota. X 420

adyacentes de un filamento, denominándose entonces conjugación lateral. Spirogyra incrassata ilustraría este tipo (fotografías del 13 al 16).

Las especies pueden presentarse con un solo tipo de conjugación o ambos simultáneamente, siendo esto de importancia taxonómica.

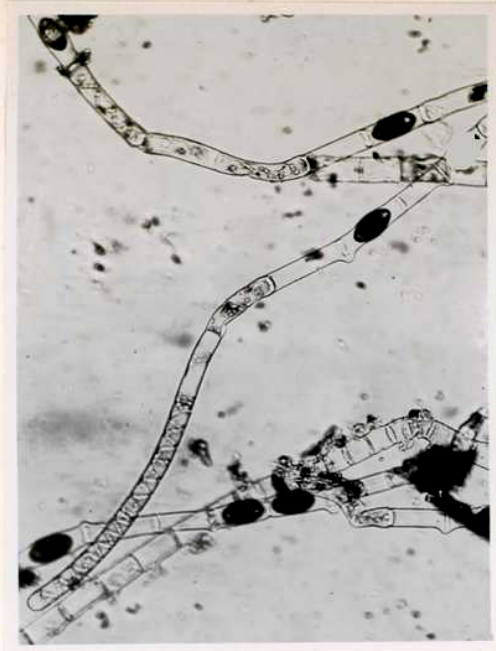
En la conjugación escalariforme cada célula emite un proceso que se inicia con una papila y que prolongándose alcanza la opuesta. Similar cosa es observada en la lateral solo que los procesos conjugacionales son emitidos por células vecinas en el mismo filamento. Una variante de esta clase de conjugación es precisamente la que ofrece Spirogyra incrassata, en la que los protoplastos de ambas células son puestos en contacto con la apertura de un poro en la pared transversal que separa las células conjugantes. (Fot. 20).

La conjugación procede habitualmente entre células recientemente divididas y es en su transcurso que la permeabilidad baja, sube la viscosidad, al tiempo que núcleo y nucleolo disminuyen considerablemente de tamaño y se tornan poco afines por los colorantes.

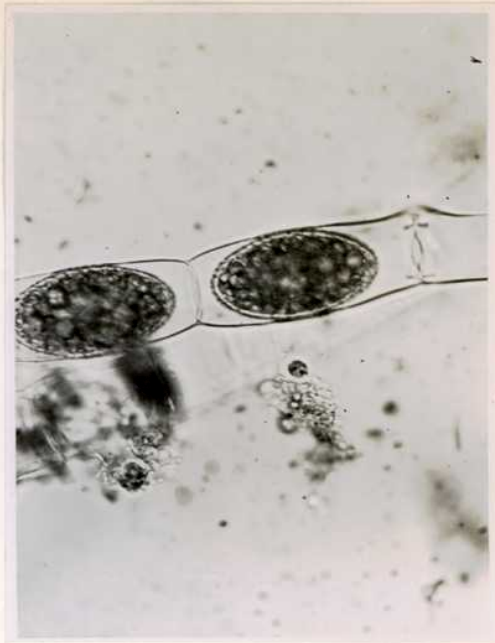
Según Transeau (1916) las células con mayor superficie en proporción con el volumen, fructifican tempranamente.

Así mismo se ha insistido que el tiempo de la conjugación es fuertemente influenciado por la temperatura ambiente, lo que pudo comprobarse al encontrar material fructificado en el mes de julio, tras semanas desusadamente benignas para otoño e invierno; mientras que en años anteriores se recolectó material fértil de setiembre a diciembre solamente.

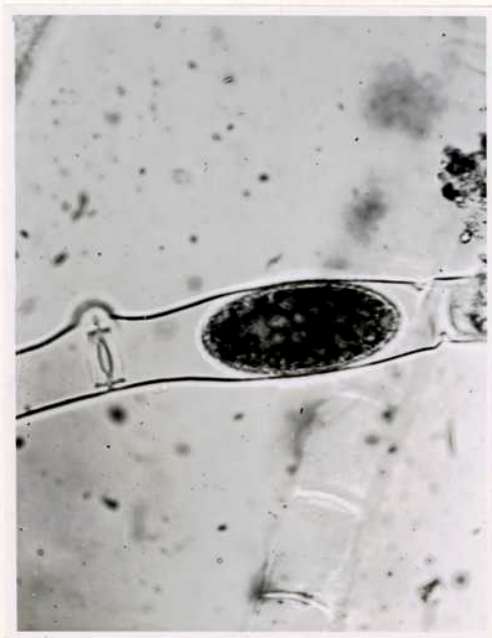
Todas las células vegetativas son potencialmente



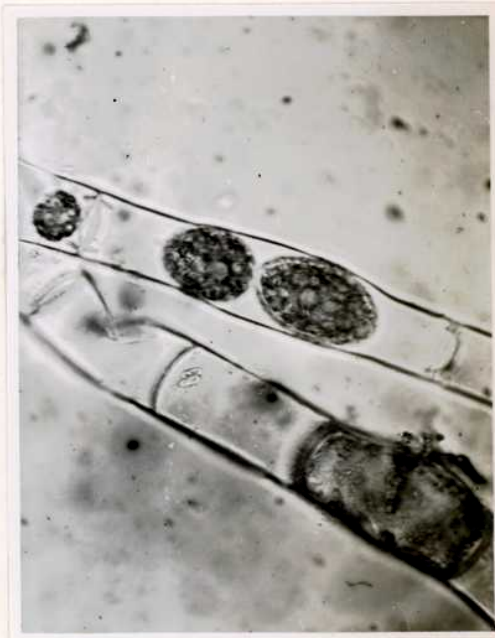
13



14



15



16

Fot. 13-16 Spirogyra incrassata Czurda

13. Células vegetativas y fértiles. X90.

14. Cigotas. X260.

15. conjugación lateral. X.260.

16. Partenosporas "gemelas". X 260.

capaces de transformarse en gametangios, lo que involucra una desorganización de los cloroplastos, más precoz en el masculino.

Cada gametangio produce una sola gameta, la que está desprovista de cilios alguna (aplanogameta), debiendo su desplazamiento la masculina a movimientos amiboideos.

A medida que los procesos conjugacionales se desarrollan los filamentos que yacían yuxtapuestos (en el caso de conjugación escalariforme), comienzan a separarse.

Se observa una velocidad de desarrollo diferente en lo que atañe a los procesos conjugacionales, siendo más temprano el del gametangio masculino y en algunas especies llegan a formar casi el largo total del tubo de conjugación, lo que da lugar a establecer una diferenciación fisiológica, sexual, de filamentos morfológicamente idénticos, pudiéndose así hablar de filamentos masculinos, aquellos en los que la aplanogameta abandona la célula para trasladarse a través del tubo de conjugación en busca de la femenina, que invariablemente permanece en la célula gametangial. Las fotografías de Spirogyra cleveana, S. subpapulata, S. distenta, S. decimina, etc, ilustrarían lo dicho.

La mayoría de las especies con conjugación escalariforme son dioicas, pero se da también el caso de que en ambos filamentos se encuentren células con comportamiento femenino, intercaladas entre otras de masculino y en cuyo caso hablaríamos de una sexualidad relativa.

Al término del crecimiento de los procesos conjugacionales se disuelven las respectivas paredes terminales quedando así establecida una comunicación en forma de tubo, que mantiene ambos protoplastos en relación. El de la célula masculina se desprende de la pared celular por el lado distal

al tubo de conjugación(ver fotografía 18 de Spirogyra distenta), y redondeando su contenido total, comienza desplazarse a lo largo de la comunicación establecida.

El movimiento de descarga de las aplanogametas se debe en parte a la actividad de las vacuolas pulsátiles que en mayor número se observan en la masculina.

Una vez que la gameta masculina ha pasado a la célula femenina, el protoplasto de ésta comienza a contrarse para culminar en la singamia, constituyéndose así la cigota *
Atendiendo a lo puntualizado por Klebahn (1888) habría un lapso entre plasmo y cariogamia.

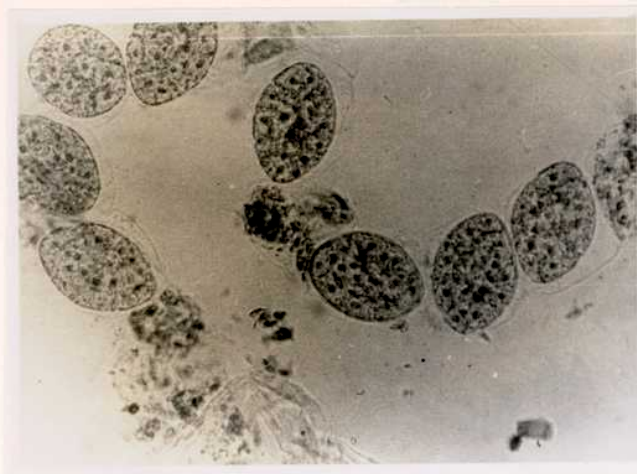
En especies en que la conjugación es lateral suele encontrarse pares de células conteniendo cigotas, separadas por pares de células vacías o como en Spirogyra încrassata, la vecina a la conteniendo la cigota ,desprovista de contenido alguno.(Ver fotografías 13- 15). Tröndle considera a éstas las gametangiales masculinas.

Es frecuente observar aun en la bibliografía especializada el uso indistinto de cigospora por cigota(Fritsch entre otros). Font Quer(1953) establece para espere la limitación del nombre para aquellas células capaces de desarrollar un nuevo embrión directamente y sin el concurso de otra.

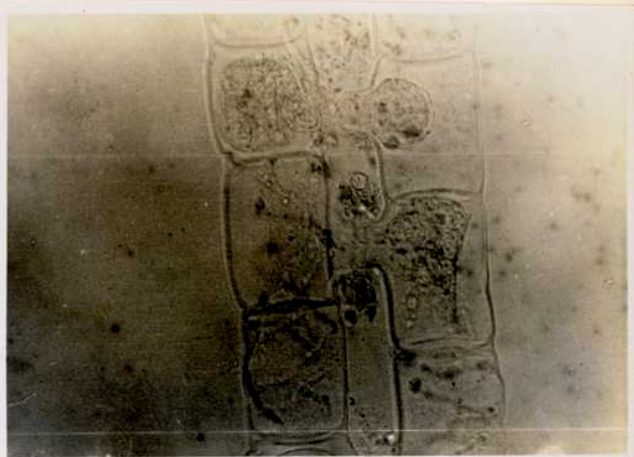
Sobre cigota aclara que es la célula resultante de la copulación de dos gametas, el nombre ya lo indica, unido por el yugo, y especifica que es válida tal denominación tanto para iso como heterogamia.

De cigospora declara en otro apartado que es la célula resultante de la fusión de dos gametas y generalmente hablando de isogametas, contrariando así su previa definición del vocablo espora.

Smith(1955) en la página 365 advierte a pié de página que:



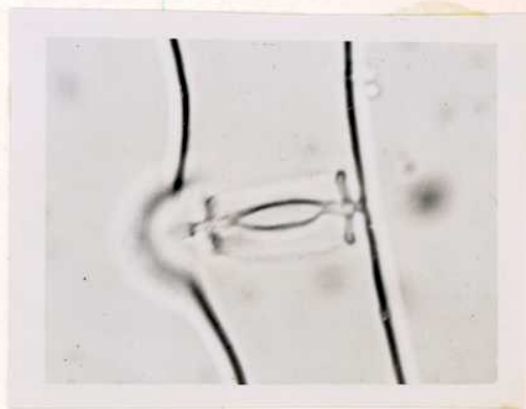
17



18



19



20

Fot. 17. Spirogyra decimina (Müller) Kütz Czurda emend. X 300.

18 S. distenta Transeau. X 300.

19 S. ghosei Singh. Cigota. X 570.

20 S. incrassata Czurda. Paredes replicadas. X 750.

Basándose en trabajos de hibridación, Andrews (1911), ha establecido que el cloroplastido masculino degenera en la cigota por lo que las características del que resulta de la germinación presenta las aportadas por la gameta femenina.

La célula que aloja la cigota puede permanecer inalterada o ensancharse, en cuyo caso puede hacerlo en diferentes grados y ya del lado del tubo de conjugación o en toda la periferia, características todas que son tenidas en cuenta para la determinación específica. (Fot. 1-3, 8, 11 y 18).

La cigota se recubre de paredes independientes de las celulares del gamentangio, estando aquellas compuestas de dos o tres capas, las que a su vez pueden ser simples o dobles.

Las paredes de la cigota están constituidas por la deposición de una primera capa delgada, celulósica, sobre ésta una segunda más gruesa que puede tener o no depósitos irregulares de quitina y una tercera capa, externa, pectósica, que puede tener o no ornamentaciones. La capa media puede ser colorada o no: amarillenta, pardo-amarillenta, pardo oscuro, ligeramente azulada, aunque en la mayoría de las especies el color se observa recién en cigotas viejas.

Las especificaciones de tamaño, forma y ornamentación de las cigotas, son las de más valor taxonómico.

algunos botánicos especialmente micólogos, prefieren el término *gigospora* para las cigotas producidas iso y anisogamamente, que es el criterio opuesto del de Font Quer.

Smith, trabajador cuidadoso, segrega el término *cigospora*, criterio que sería de desear fuera rápidamente imitado por los criptogamistas, no solo por la etimología sino por el caso particular que ofrece la germinación de la cigota en Zygnematales.

Los términos corrientes para designar las capas de la membrana cigótica, son exospora, mesospora y endospora § , pero por cuanto se objeta el uso de cigospora por cigota, de hecho quedan también observados, sugiriéndose los de exina, mesostina e intina en su reemplazo.

La germinación de la cigota tiene lugar después que ésta ha pasado un período de reposo que puede extenderse a los meses del otoño e invierno en los que las condiciones de temperatura no son propicias para el mencionado proceso. Klebahn (1888) cita el caso de excepción de cigotas de dos semanas germinando al término de ellas.

La germinación de las cigotas puede lograrse aun con material de herbario conservado seco y a varios años del momento de colección, tal la experiencia de R. Norris *, de la Universidad de California, Berkeley, entre otros que la intentaron sobre placa de Petri con agar adicionado de un medio nutritivo favorable y aun en Erlenmeyer con agua destilada solamente.

Volviendo a la fusión de gametas, diremos que una vez realizada la singamia puede tener lugar la meiosis o quedar arrestada hasta el momento previo a la germinación o reproducción. Es de recordar que la meiosis cigótica es considerada la más primitiva, con lo que aporta un carácter más para considerar Spirogyra un género poco evolucionado.

A diferencia de lo que ocurre en los restantes ordenes de Chlorophycophyta, en la cigota no se forman zoosporas, sino que previa ruptura de las dos capas más externas de

§ lo correcto es exosporio, mesosporio y endosporio .

* comunicación personal.

las membranas cigóticas, se desarrolla un primordio filamento-
so recubierto por una capa péctica. habiendo alcanzado cierto
desarrollo, se divide mitóticamente en dos células y son la dis-
tal y sus derivadas las encargadas de regenerar el filamento
vegetativo.

Como un paso preliminar a la germinación se pier-
de la grasa que fuera acumulada en la cigota revertiéndola a al-
midón.

Si la meiosis ocurre en la cigota el filamento
resultante de la germinación es unisexuado, en cuyo caso degene-
ran 3 de los cuatro núcleos y bisexuado si la meiosis es arres-
tada hasta el momento previo a la reproducción, en cuyo caso
según Cunningham (1917) no degenera ninguno.

En el cuadro a continuación se expresan las ca-
racterísticas de forma, dimensiones y ornamentación de las cigo-
tas de las especies investigadas.

<u>Especies</u>	<u>forma</u>	<u>dimensiones</u>	<u>exina</u>	<u>mesostina</u>
<u>S. decimina</u>	elipsoidea	35-39 X 57	delgada lisa incolora	más gruesa lisa pardo-amar.
<u>S. circumlineata</u>	elipsoidea	46-47 X 58-72	delgada lisa incolora	más gruesa lisa amar.pard.
<u>S. varians</u>	elipsoidea	30-40 X 38-55	delgada lisa incolora	gruesa lisa amarilla

<u>Especie</u>	<u>forma</u>	<u>dimensiones</u>	<u>exina</u>	<u>mesostina</u>
<u>S. distenta</u>	casi esférica	49-51 X 49-58	delgada lisa incolora	gruesa lisa parda
<u>S. nitida</u>	ovalada a cilíndrica	72-84 X 90-110	delgada lisa incolora	gruesa lisa parda
<u>S. subpapulata</u>	elipsoidea con puntas aguzadas	22-24 X 38-44	delgada lisa incolora	más gruesa punteada amarilla
<u>S. daedalea</u>	elipsoidea	40-42 X 75-82	delgada lisa	engrosamien- tos en cos- tillas rami- ficadas. pardo-amar.
<u>S. ghosei</u>	desde esférica a alargada	64 X 64 a 64 X 86	delgada verrugosa	gruesa verrugosa parda
<u>S. cleveana</u>	ligeramente ovalada, pun- tas redondea- das.	46-48 X 70-72	doble, capa externa del- gada, lisa. interna: con engrosamien- tos mamiliiformes	delgada lisa amarilla

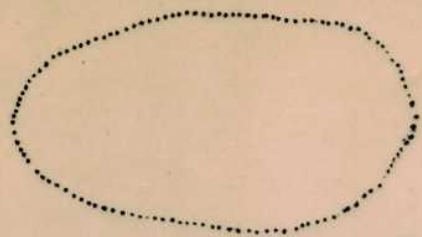
<u>Especie</u>	<u>forma</u>	<u>dimensiones</u>	<u>exina</u>	<u>mesostina</u>
<u>S.incrassata</u>	elipsoidea	42-44 X 80-100	delgada lisa incolora	gruesa con engrosa- mientos y punteado pardo-amar.
<u>S.fuellebornii</u>	elipsoidea con puntas redondeadas	40-43 X 76-78	delgada lisa incolora	gruesa lisa pardo-amar.

La lámina I ilustra esquemáticamente la vista superficial y corte transversal de las membranas cigóticas.

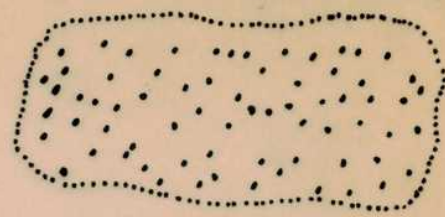
Las fotografías 4, 12, 17 y 18 de S.decimina, S.distenta, S. nitida y S.fuellebornii, corresponderían a la figura a. Las del 8 al 10 correspondientes a S. daedalea, la figura c. La fotografía 19 de la cigota de S.ghosei, quedaría esquematizada por d. Las membranas de S.oleveana, figura e, pueden observarse en las fotos 1 y 2. ; las de S.incrassata en las 13 -15.

Células en vía de conjuguar y con procesos conjugacionales desarrollándose y en las que por diversos factores, la conjugación es arrestada, redondean su protoplasto, pierden la organización característica de sus cloroplastidos, y segregan una membrana independiente de la pared celular que la aloja a semejanza de lo que ocurre en la formación de la cigota, pero

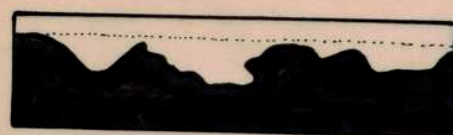
6a



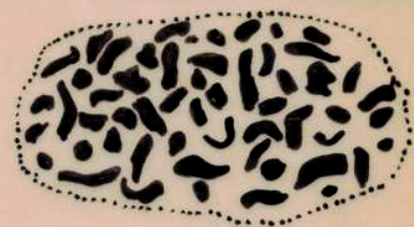
a



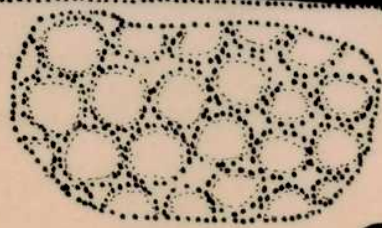
b



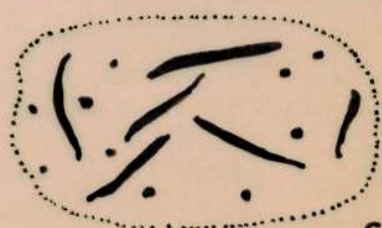
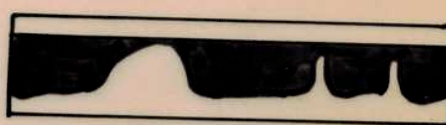
c



d



e



f

Lámina I. Esquema de vista superficial y corte transversal de membranas cigóticas.

con la diferencia fundamental de que mientras ésta es la culminación de un proceso de fecundación, aquellas células son el resultado de su arresto, conociéndose las con el nombre de partenosporas, y citadas para el género por Krieger (1944) entre otros autores. En la fotografías 16 y 24 se ilustra el caso.

Hay veces en que la aplanogameta masculina, habiendo llegado inclusive al protoplasto femenino, falla en realizar la singamia, desarrollándose dos partenosporas alrededor de cada gameta, como bien puede verse en la fotografía de S. intricassata 16 . Transeau (1926) observó lo mismo para otro género del orden, Zygnema , y dió en llamarlas "twin zygotes", terminología que en el presente trabajo no se adopta, por cuanto implica el concepto de que cada una es el producto de dos gametas .

Smith (1955) denomina acigosporas aquellas partenosporas presentes en filamentos en las que no se observan procesos conjugacionales ni indicio alguno de que el filamento fuera conjugante, lo que fuera observado en el material de S. circumlineata. Las fotografías ilustran la iniciación de la organización de una acigospora y su faz final. (Fot. 23 y 24).

La ornamentación de las paredes de partenosporas y acigosporas observadas coincidieron con las normales de las respectivas cigotas.



21

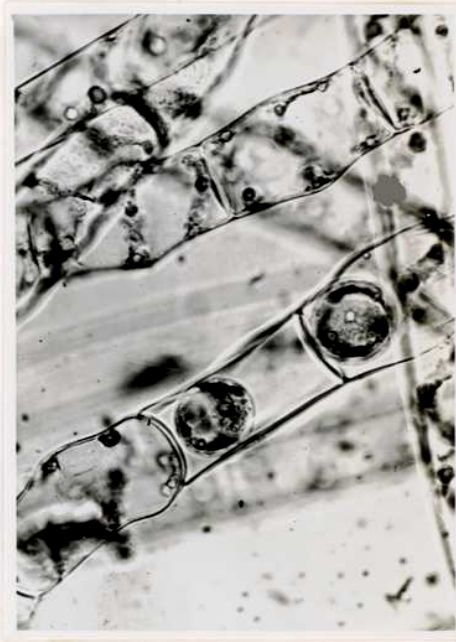
21



22



23



24

Fot. 21-24. Spirogyra circumlineata. Transeau

21. Filamento fértil. X 78.

22. Cigota. X 300.

23 y 24. Formación de acigosporas. X300.

DIVISION CELULAR

El proceso de división celular en las especies investigadas de Spirogyra, es en suma similar al de plantas superiores . Comprende la mitosis o cariocinesis y la citocinesis.

El núcleo energético posee tal como anteriormente se expresara frecuentemente 1 ó 2 nucleolos, excepcionalmente más. Precisamente los nucleolos con su afinidad por los colorantes (carmín, hematoxilina) y su comportamiento durante el proceso mitótico , han hecho de Spirogyra el tema de controversia de casi sesenta años, sobre hasta donde el material cromático de los cromosomas se organizaba a expensas del contenido dentro de la membrana nucleolar.

Strasburger (1875) trabajando en Spirogyra orthospira, llegó a la conclusión de que el nucleolo se divide en un número de cuerpos (cromosomas) que más tarde ocupan la placa ecuatorial; rectificándose tras las observaciones en S. majuscula (1882) en la que asegura que tanto el retículo nuclear como la sustancia del nucleolo, brindan material para organizar los cromosomas, concepto que posteriormente modificaría luego de sus estudios en S. polytoenia, (1888) al expresar que solo el reticu-

lo es el que forma los cromosomas.

McFarlane (1881) negó la participación del nucleolo en la organización de la placa ecuatorial, la que a su criterio no se producía en la cariocinesis de Spirogyra.

Flemming (1882) y Meunier (1887) consideraron que tanto el nucleolo como el retículo contribuyen con material cromático.

Tangl (1882), Carnoy (1884), Moll (1893) y Mitzkewitsch (1898) establecieron por sus respectivos trabajos que la placa ecuatorial se forma a expensas del nucleolo el que contiene toda la cromatina.

Zacharias (1886) ,proporcionó un nuevo enfoque al estimar la naturaleza del nucleolo como puramente plasmática , asignándole solo un papel secundario en la formación de los filamentos plasmáticos del huso.

Degagny (1894, '96) retomó lo establecido por Strasburger en 1882, acreditando al retículo y nucleolo conjuntamente el ceder sustancia cromática para formar los cromosomas.

Van Wisselingh (1900,02,21), trabajando en la digestión del núcleo por ácido crómico al 40 %, llegó a la conclu-

sión de que solo dos cromosomas surgen del nucleolo, haciéndolo los restantes del retículo.

Berghs (1906) reconoce la heterogeneidad del nucleolo y advierte que hay sustancia débilmente colorable y que se divide en dos partes, moviéndose hacia los polos.

Merriman (1913) encontró que el espirema se originaba del material granular procedente del nucleolo y filamentos del retículo. La misma expresó más tarde que el nucleolo no se fragmenta en cromosomas (1916), como dijera Strasbruger en 1875, sino que contribuye con una sustancia menos densa, vista en metafase.

Stolley (1930) reconoció que el nucleolo permanece intacto y que las sustancias granulosas o filamentosas aparecen en la periferia del núcleo, probablemente derivadas del retículo, y que más tarde se embeben en la sustancia nucleolar, presentando en su oportunidad los reparos que Godward (1953) más tarde haría de hasta dónde esa sustancia puede ser acreditada con el nombre de nucleolar, o nucleolo.

Geitler (1930) investigando en tres especies de Spirogyra, encontró que los cromosomas estaban organizados en el retículo al, par que el nucleolo permanecía diferenciado. Estableció que aquellos dan reacción Feulgen positiva, mientras que el nucleolo da negativo.

Conard(1933,39) advirtió que los cromosomas se encontraban en el retículo y que el nucleolo se desorganizaba en una masa granular en la que aquellos se embebían.

Suetmasu (1933) confirmó las reacciones Feulgen positiva de los cromosomas y negativa del nucleolo,

Doraiswami (1946) investigando en Spirogyra columbiana, S. fuellebornii, S. paraguayensis y una cuarta especie no identificada, arribó a las mismas conclusiones de Geitler y Conard, sobre la formación de los cromosomas en el retículo y la presencia de una masa granular proveniente de la desintegración del nucleolo, la que persiste durante la mitosis, encontrándose los cromosomas embebidos en ella.

Godward (1947) advirtió estructuras nucleolares que denominó túbulos nucleolares, para más tarde (1950) llamarlos "organizer tracks", tras sus estudios en Spirogyra crassa, S. triformis, S. ellipsospora y S. setiformis, tales túbulos o manchas organizadoras se encuentran en íntima relación con la zona nucleolar, u organizadoras nucleolares de los cromosomas, estando éstas representadas en el núcleo en profase por una fina cromonema con una cubierta de material muy colorable los túbulos o manchas organizadoras

Oura (1953) confirmó lo establecido por Godward para las estructuras nucleolares, trabajando en una especie no

identificada de Spirogyra con 35 cromosomas.

Llegamos así a esta contribución en las representantes argentinas, confirmándose en un todo lo establecido por Geibler, Conard, Doraiswami, Oura y Godward en lo que atañe a la emergencia y organización de los cromosomas en profase, estando el nucleolo presente. Hasta donde la sustancia nucleolar se deposita en los cromosomas anafásicos para luego desprenderse de ellos, antes de iniciarse telofase, será discutido más adelante.

Con referencia a la heterogeneidad del nucleolo, ya anticipada por Moll (1893) y van Wisselingh (1898), lo investigado en las especies argentinas coincide en estimar una faz amorfa, generalmente menos colorable que la en ella incluida en forma de hilo contorsionado, el nucleolonema^o carilionema de Estable (1951).

En material fijado y colorado por las técnicas del carmín, el nucleolonema se presentó más intensamente teñido que la faz amorfa, apreciando como hueco cuando la observación se realizó con equipo para contraste de fase.

* La microscopía disponible impidió distinguir en las estructuras nucleolares la cromonema y su envoltura, por lo que al hacer referencia al nucleolonema, se involucra con el nombre a ambas.

El nucleolonema que se presentó en el núcleo energético e interfásico, como un filamento contorsionado de grosor variable en las distintas especies, fué claramente distinguible, salvo en los casos que la vacuolización o exceso de tinción del nucleolo, impidieran la observación. En la fotografía 39 de Spirogyra incrassata fué posible observar las zonas más oscuras, contorsionadas, en gran parte periféricas y cuyo esquema se acompaña en la lámina IX.

En núcleos telofásicos de Spirogyra fuellebornii se observaron unos gránulos refringentes sin organización, los que se correlacionan con los denominados Binnenkörper de Czujda y Nebenkörper de Geitler, de apariencia nucleolar y coloreados como el nucleolo, situados en su vecindad, y a los que Godward considera como material nucleolar que ha fallado en organizarse.

Trabajando con Spirogyra crassa, S. triformis, S. ellipsozona (identificación posteriormente corregida a S. oblata) y S. setiformis, Godward (1950) describió en base a sus observaciones con contraste de fase de las mitosis de las especies nombradas, el proceso por el que pasan las estructuras reconocidas del nucleolo en su transcurso.

De acuerdo con las distintas especies los nucleolonemas pueden ser uno grande o dos pequeños. A medida que la profase avanza la mancha organizadora nucleolar (túbulo nucleolar u "organizer track"), se desenrosca, asumiendo a

veces la forma de una herradura, tal como se observara e ilustrara para Spirogyra distenta, lámina IV, a, contrayéndose en el largo y presentando un aumento en el ancho. En este estado fué visto en S. crassa y S. triformis la conexión entre la mancha organizadora y la porción adherida del cromosoma. En profase media el nucleolo pierde su contorno y el material de la porción amorfa se distribuye. En profase tardía el material del "track", llega casi al máximo de contracción y la zona organizadora nucleolar del cromosoma aparece más engrosada.

En cuanto a la naturaleza de los túbulos nucleolares o manchas organizadoras, Godward los considera más relacionada con la de la zona organizadora nucleolar del cromosoma que con la del nucleolo mismo. La contracción observada en aquella estructura es pareja a la sufrida por la del pie del satélite o de la misma región organizadora del cromosoma, trayendo además a colación el hecho de que las zonas organizadoras nucleolares del cromosoma son consideradas heteropicnóticas por lo que no coloran en reposo, coincidiendo en esta falta de tinción, la cromonema dentro del túbulo, al mismo estado. Los túbulos o manchas organizadoras serían un paso previo en la síntesis de las constituyentes del material nucleolar, en el caso de considerarlos más ligados al nucleolo, posición que fuera más tarde abandonada.

Es interesante presentar aquí los resultados obtenidos por Estable (1951), trabajando con núcleos gigantes de las glándulas salivares de Chironomus, entre otro material investigado.

Después de cuidadosas observaciones en material vivo, fijado y colorado y usando microscopía con contraste de fase, establece :

Todo nucleolo verdadero, Feulgen negativo, tiene dos fases una filamentosa, el nucleolonema o caririolonema que guarda relación su volumen con el del nucleolo y otra amorfa en la que aquél está incluido. El nucleolonema persiste siempre, no así la parte amorfa que aparece y desaparece. El nucleolonema se fragmenta en ciertos estados funcionales y en alguna fase de la mitosis. En células en intensa actividad o en reacciones no bien precisadas todavía, el nucleolonema crece, se divide transversalmente, observándose entonces una migración hacia el citoplasma. Da documentación fotográfica de trozos del que fuera nucleolonema entre las cromátides en mitosis.

Sugeriría lo anteriormente expuesto que el comportamiento de las estructuras nucleolares animales sería distinto del observado en las células vegetales. El campo queda abierto a la investigación.

Estable considera al nucleolo un "producto directo e inmediato de genes", un microcentro de proteosíntesis en sinergia funcional con la cromatina a él asociada", coincidentemente con Caspersson (1950).

Volviendo al género aquí estudiado diremos de que en las especies argentinas el nucleolo coloró por carmín, hematoxilina y fué Feulgen negativo. Godwrad (1953) advierte que es

parcialmente opaco al ultravioleta (2750Å^m)

Los cromosomas metafásicos del género Spirogyra han sido agrupados por Godward(1954) en cuatro tipos: 1) cromosomas de gran tamaño, 5 a 10 micrones de largo por 0,5 a 1 micrón de ancho, de forma sinuosa y matriz o calima^mviscosa. Spirogyra sub-ecinata, S. crassa y S. triformis, son los ejemplos citados. Usualmente estas especies presentan dos cromosomas organizadores nucleolares, cuya zona organizadora en anáfase, no yace paralela al ecuador del huso sino que cuelga atrás. El resto de la cromátide se desplaza paralelamente, tras una separación de la hermana que ha dado a especulaciones en cuanto a considerar en los cromosomas, la presencia de un centrómero difuso , o la alternativa, apoyada por Godward, de policentrismo de los mismos.

Geitler (1930) describió por primera vez la separación paralela de cromátides en Spirogyra crassa.

Malheiros, Castro y Camara (1947) explicaron la separación paralela de las cromátides en Luzula purpurea Link, por la presencia de un centrómero difuso.

Godward, recordando el caso observado en los cromosomas de Ascaris megalcephala, sugiere la alternativa y da pruebas

^m calima. Voz de Reitz(1935). Cfr. Font Quer(1955)

de que hay repetición de unidades estructurales lo que justifica la adopción del criterio de la naturaleza múltiple o compuesta de los cromosomas.

El segundo tipo de cromosoma del género estaría carecterizado por cromosomas de tamaño mediano y pequeño, de 1 a 3 micrones de largo, sin engrosamiento. En anafase las cromátides muestran separación normal y paralela. (Spirogyra submargaritata).

Spirogyra britannica y S. F. (especie no identificada de Godward) poseen el tercer tipo de cromosomas, de medida mediana, 2 a 5 micrones de largo por 0,5 a 1 micrón de ancho, siendo los cromosomas más largos los organizadores nucleolares. En este caso los cromosomas poseen un centromero localizado, comunmente subterminal.

El cuarto tipo es el que los cromosomas son pequeños y sin engrosamiento y en los que no es posible discernir la posición del centromero, estaría representado por los de la mayoría de las especies investigadas, entre ellas: Spirogyra daedalea, S. maxima, S. gracilis, S. oblata, S.L.S y S. H 3 (especies ambas no identificadas de Godward).

De las especies argentinas cuya mitosis se tratará más adelante, los 20 cromosomas metafásicos de Spirogyra subpapulata entran sin lugar a dudas dentro de la última cate-

goría presentada. No es fácil en cambio la ubicación del tipo de cromosoma correspondiente a Spirogyra ghosei y S. distenta, también en la oportunidad investigadas.

Analizando cuidadosamente anafase temprana, cuya fotografía se reproduce y el esquema de su interpretación, se observa que a semejanza del caso mencionado de Spirogyra sub-margaritata, S. ghosei presentaría también separación normal y paralela de cromátides. (Fot. 29 y lám. III).

Se observan en Spirogyra ghosei por lo menos dos pares (5 y 6 ; 7 y 8) de unidades cromáticas relacionadas o unidas, si haberse contado con medios para precisar la naturaleza de tal unión. Se hace la salvedad de que por lo menos dos pares, pues muy bien la limitación de la microscopía con la que se trabajara, impidiera observar uniones o conexiones similares en el resto de las unidades.

Por cuanto en anafase temprana, media y tardía no hay evidencia de que parte alguna cromática se adelante a otra dentro de las unidades, en el avance hacia los polos del huso, se asume la separación paralela de las cromátides, considerándose la naturaleza de los cromosomas originales como múltiple. La excepción sería el primer par, empezando a contar por arriba, cuya posición estaría regida por un centrómero localizado terminal o subterminal.

Lo que antecede fundamentaría la inclusión de los cromosomas de Spirogyra ghosei dentro de las segunda cate-

goría.

Una alternativa sería considerar los cromosomas de Spirogyra ghosei dentro de la que agrupa a los de S. crassa y S. sub-echinata en cuyo caso se interpretarían las diez unidades representadas organizadas unidad de dos en dos en cinco cromosomas, número cromosómico que sugieren las distancias un poco mayores que se advirtieron a veces cada dos pares de cromosomas. La línea punteada de los pares 5 y 6 y 7 y 8, representaría en ese caso la ~~cromosoma~~ ^{cromosoma} sobre la que la cubierta no coloró con la intensidad de las zonas vecinas. Otra semejanza que Spirogyra ghosei ofrece con S. crassa, S. triformis y S. sub-echinata es el alto número de cromocentros. En profase temprana se contaron de 98 a 105 (número probablemente mayor), siempre perisféricos. En la lámina II, a se esquematizaron solo los correspondientes a un plano. En ningún caso se observó material conectando los bloques.

Hasta tanto la observación de cromosomas metafásicos no pruebe lo contrario, en el presente trabajo se acredita a Spirogyra ghosei con diez cromosomas mostrando división paralela y normal de cromátides a anafase.

Para el caso de Spirogyra distenta, resultó infructuosa la búsqueda de estados metafásicos ^{tempranos} lo que hace sospechar de su brevedad. Las inferencias para el caso se hacen del testimonio aportado por anafase temprana y media.

METAFASE

Los cromosomas de Spirogyra distenta son robustos, de 2,8 micrones de largo por 3,2 de ancho, (en anafase). Solo observando con objetivo de inmersión puede descartarse el considerarlos como cromosomas únicos de mayor tamaño. Las distintas preparaciones revisadas no aportaron prueba alguna de que parte cromática avanzara más en el camino a los polos. Aun cuando las medidas anotadas no coinciden con las observadas para los cromosomas agrupados en el tipo 1, se los incluye en él, tratando de evitar la erección de una nueva categoría hasta tanto metafase no sea observada y otras especies con similares cromosomas anafásicos, investigadas.

A continuación se detalla los números cromosómicos para las especies de Spirogyra al presente investigadas.

<u>Especie</u>	<u>n=</u>	<u>autor</u>
<u>Spirogyra bellis</u>	14	Merriman
<u>S. crassa</u>	14	"
<u>S. crassa</u>	12	Godward
<u>S. columbiana</u>	24	Doraiswami
<u>S. dubia</u>	5	
<u>S. ellipsospora</u>	70	Godward
<u>S. fuellebornii</u>	12	Doraiswami
<u>S. jugalis</u>	6	Karsten
<u>S. longata</u>	4,10,12	
<u>S. mirabilis</u>	8	Peterschilka
<u>S. nitida</u>	12	Berghs
<u>S. paraguayensis</u>	8	Doraiswami

<u>Especie</u>	<u>n=</u>	<u>autor</u>
<u>Spirogyra setiformis</u>	6	Wisselingh
<u>S.subaequa</u>	24	
<u>S.ternata</u>		
<u>S.triformis</u>	6	Godward
<u>S.sp.</u>	14	Geitler
<u>S.sp.</u>	6	Doriaswami
<u>S.sp.</u>	35	Oura
<u>S.ghosei</u>	10	Joseph O'Donnell
<u>S.distenta</u>	4	"
<u>S.subpapulata</u>	20	"

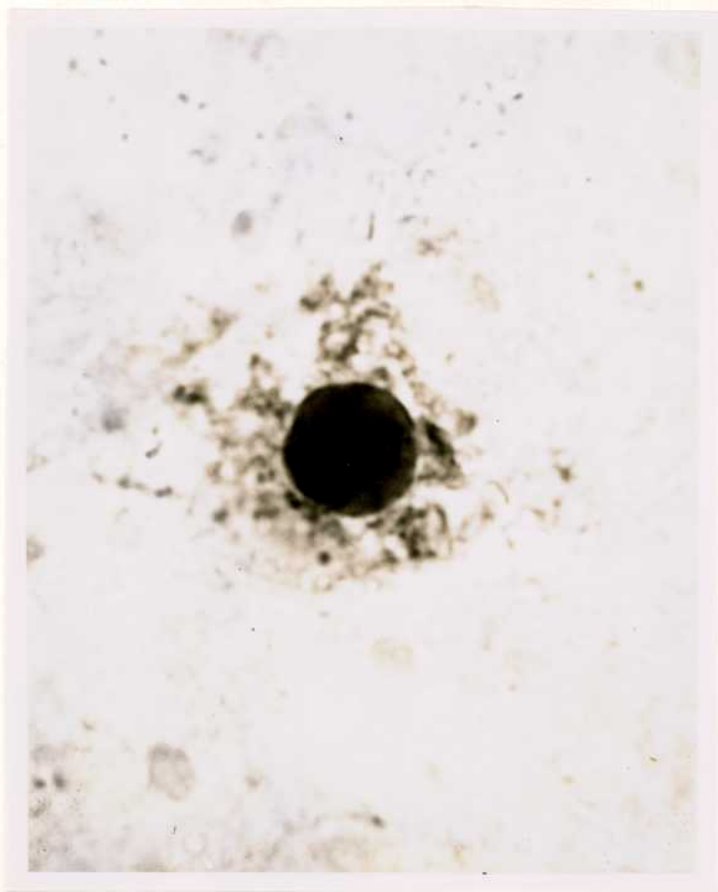
Spirogyra ghosei Singh

El núcleo energético posee un nucleolo incluido en un delicado retículo que se manifiesta después de fijación. En algunas células pueden observarse dos nucleolos (fotografía 7).

En profase temprana el núcleo se agranda en el sentido del largo de la célula, al tiempo que las bases de las prolongaciones citoplásmicas que lo sostienen en la gran vacuola central se ensanchan iniciando así las acumulaciones citoplásmicas polares que más tarde serán bien notorias. En la cariolinfa aparecen cromocentros, siempre periféricos, de forma redondeada o ligeramente alargada, contándose de 98 a 105 de ellos. (fotografía 25). Simultáneamente el nucleolo se expande, haciéndose su contorno un tanto irregular (fotografía 26), en su interior se distinguen uno o los 7 nucleolones más intensamente tenidos que la faz amorfa. (lámina I, fig. a). Más avanzada la profase se desorganiza en una sustancia muy finamente dispersa que coloré parejo e intensamente por el carmín, tal como lo observado en Spirogyra crassa, S. triformis y S. subechinata, por otros autores.



25



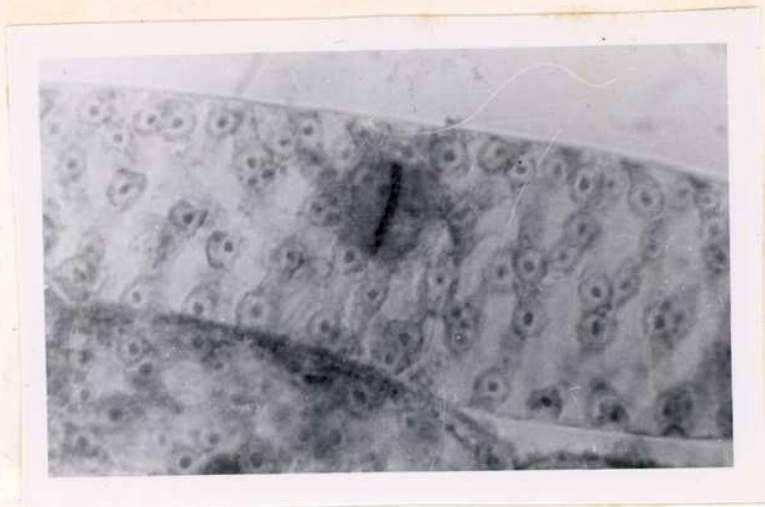
26

Fot. 25-26. Spirogyra ghosei. Singh

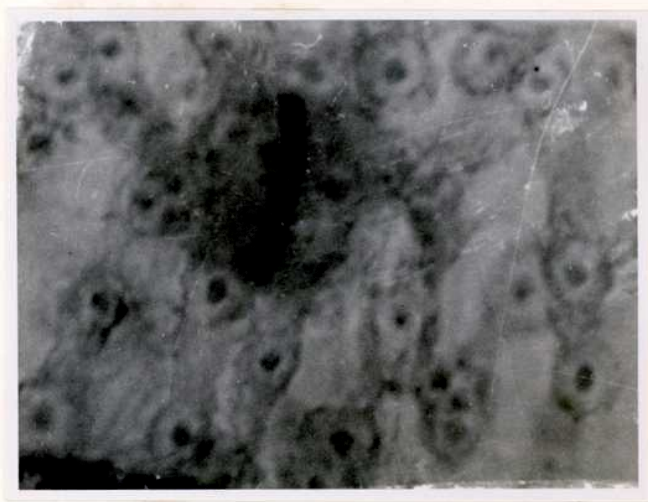
25. Núcleo profásico, mostrando nucleolonema y cromocentros. X 700.

26. Nucleolo desorganizándose. X 1200.

26



29



29bis

Fot. 29. Spirogyra ghosei. Singh

29. Anafase temprana. Separación de cromátides. X 480.
29bis. X 900.

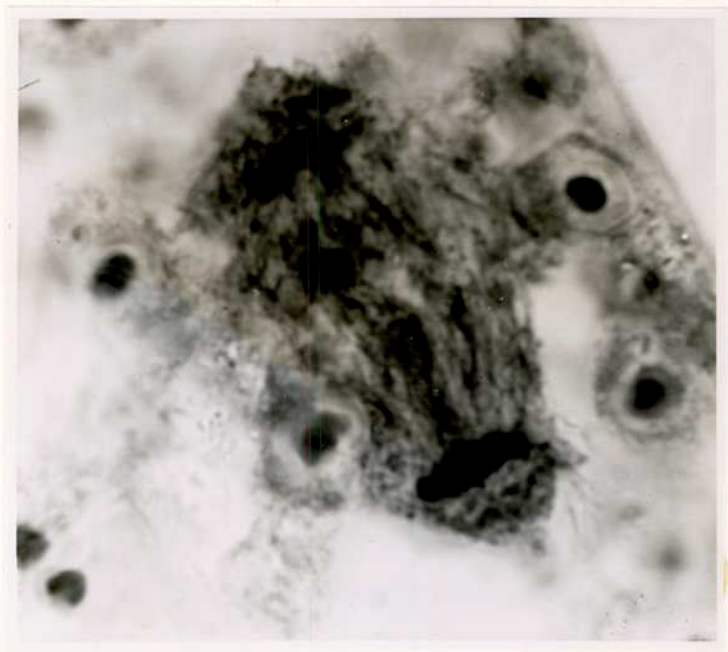


27



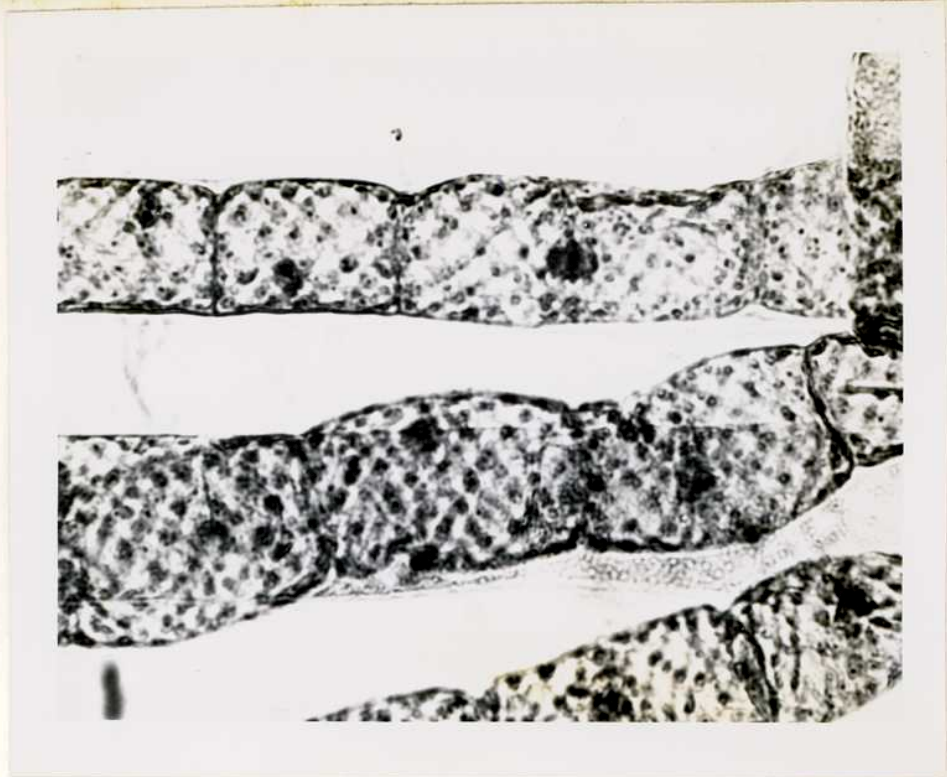
28

Fot. 27 28 Spirogyra ghosei. Singh. - Metatase. 27X300. - 29X620. -

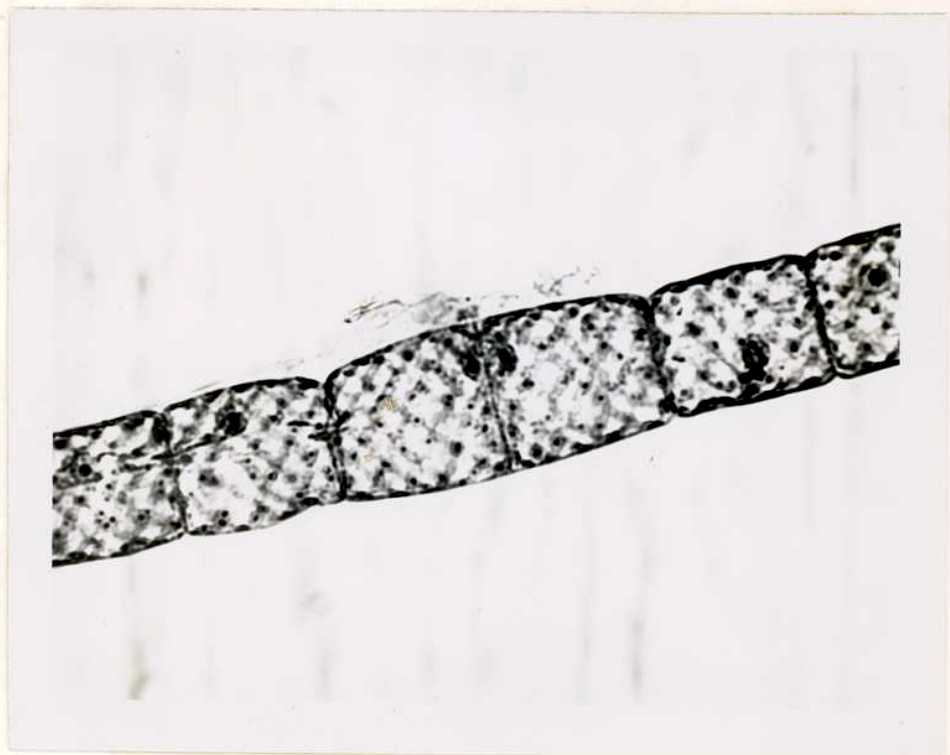


30

Fot. 30. Spirogyra ghosei. Singh. Anafase tardía. X 1000.



31

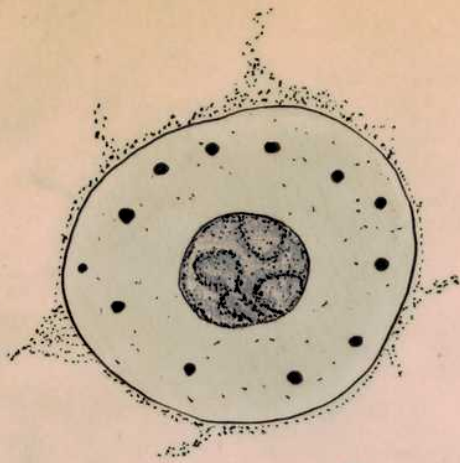


32

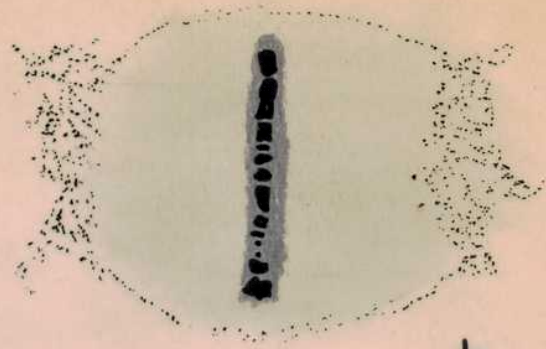
Fot. 31-32. Spirogyra ghosei. Singh

31. Metafase. X 200.

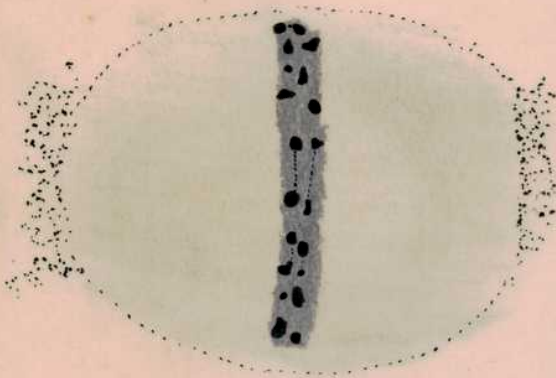
32 Telofase. X 200.



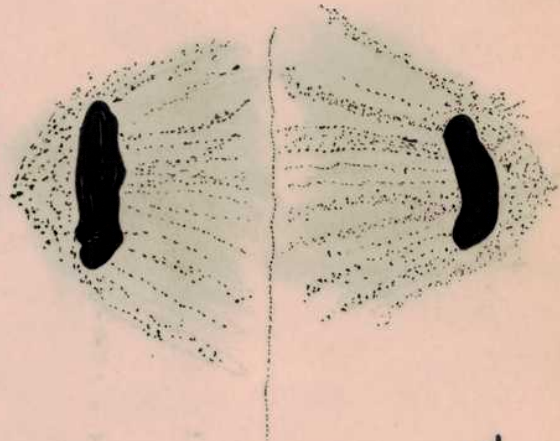
a



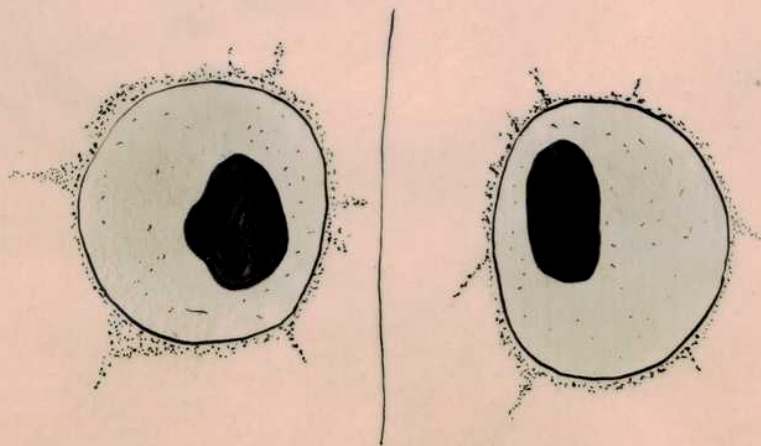
b



c



d



e

Lámina II.- Spirogyra ghosei Singh
División celular. X 1500.



Lámina III.- Spirogyra ghosei Singh

Anafase temprana. Separación
de cromátides. X 4500

La membrana nuclear se hizo menos notoria al tiempo que los cromosomas intensamente tenidos se dispusieron en la placa ecuatorial, (fotografías 27, 28 y lámina II, fig. b). La proximidad y superposición de los mismos impidieron efectuar recuento cromosómico alguno en este estado.

En anafase temprana se produce la separación normal y paralela de las cromátides (discutida en pg. 48). No se observan roturas de la membrana nuclear ni indicio de separación en dos partes de la sustancia nucleolar en la que los cromosomas estaban embebidos, (fotografía 29, lámina II, fig. c y lámina III).

Llámase la atención sobre el hecho de que hasta el momento no se observan en Spirogyra ghosei estriaciones algunas ni en las acumulaciones citoplásmicas polares ni en la cariolinfa. En anafase temprana 10 unidades cromosómicas fueron reconocidas.

Recién en anafase media y tardía se manifiesta una condición estriada en la cavidad nucleolar solamente, (fotografía 30 y lámina II, fig. d). La distinción entre cromátides y sustancia nucleolar se atenúa y cada placa anafásica comienza a deprimirse. Al final de anafase dicha contracción llega al máximo, (fotografía 30), y apenas si se distinguen zonas más intensamente coloradas. En la zona ecuatorial se advierte una discontinuidad en las fibras del huso y en el plano de la pared celular se advierte la deposición de una hilera de corpúsculos o gotitas de la nueva pared transversal.

Los núcleos telofásicos se organizan y sus nucleo-

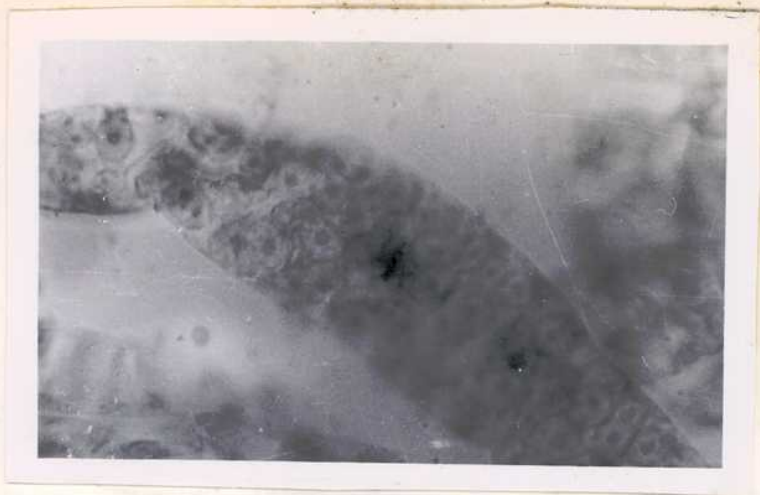
los coloran intensamente enmascarando la existencia de las estructuras nucleolares, (fotografía 32 y lámina II, fig. e).

Spirogyra distenta Transeau

En el núcleo profásico se observan pequeños cromocentros, punctiformes y a veces lineales, más colorados por el carmín que la cariolina circundante . A medida que profase avanza el nucleolonema se distiende asumiendo la forma de una media luna, (lámina IV , fig. a). Con el agrandamiento del nucleolo se desvaneció su estructura interna. Al mismo tiempo el núcleo sufrió una elongación en el sentido del largo de la célula y se acumula citoplasma en sus polos. La membrana nuclear se atenúa considerablemente.

En metafase 4 cromosomas redondeados de 1,3 micrones se disponen en la placa ecuatorial, (fotografía 33 y lámina IV , fig. b), sobre la sustancia nucleolar que permanece ocupando el sitio del nucleolo y tomando colorante en forma intensa y pareja.

En anafase temprana hay separación paralela de cromátides (presentada en pg.49). En anafase temprana y media



33



34

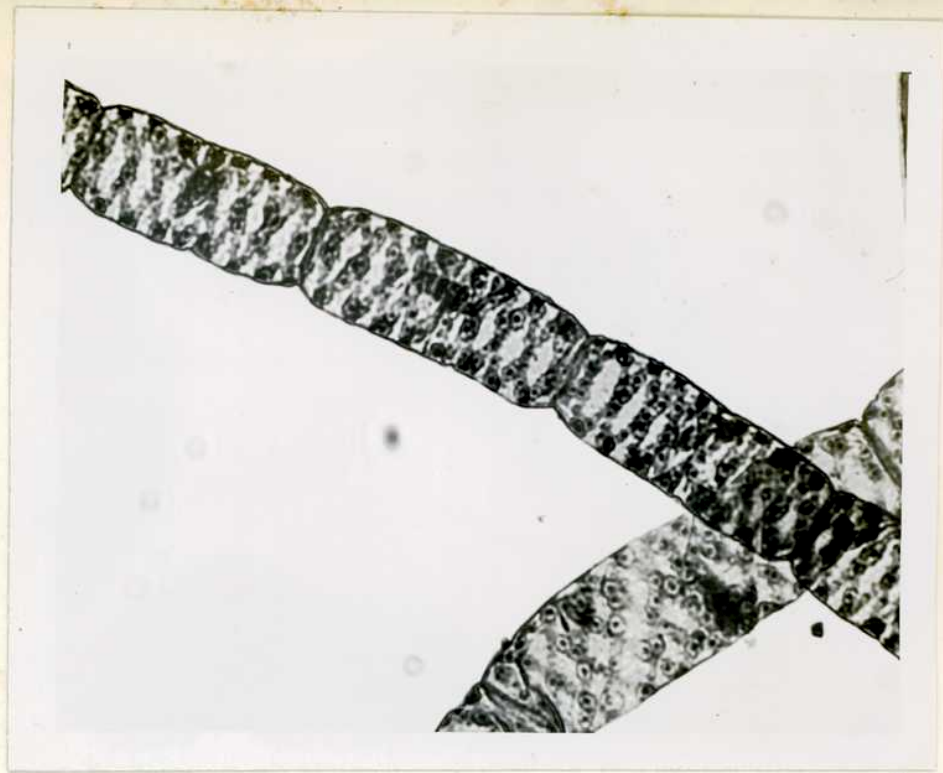


35

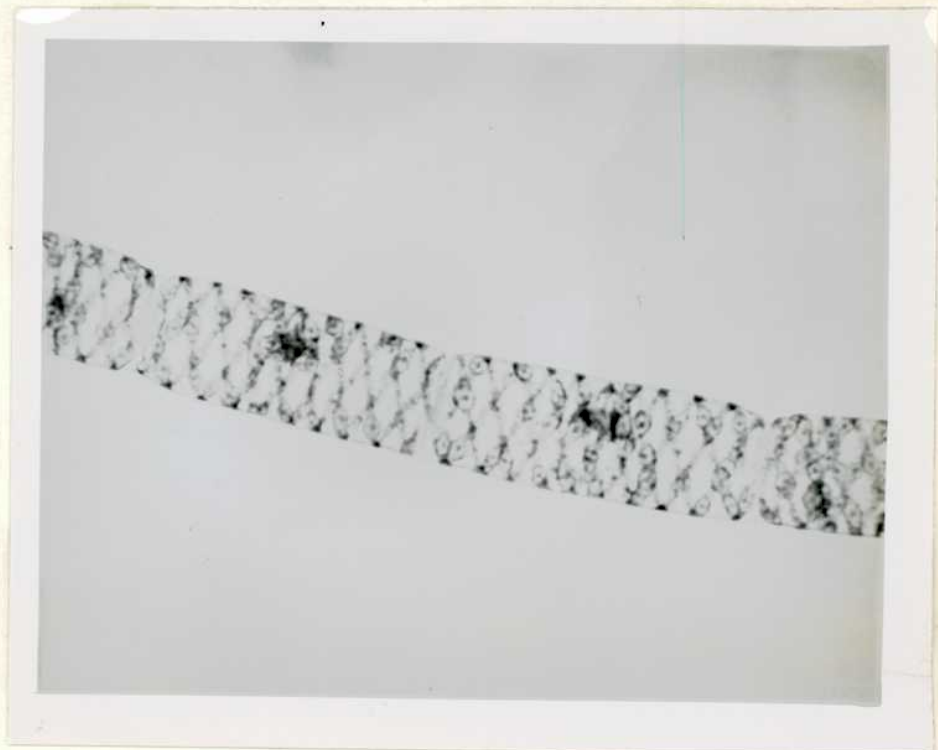
Fot. 33-35.- Spirogyra distenta. Transeau

33 . Metafase. X 500 .- 34. Anafase temprana. X 920.-

35.- Anafase media. X 760.-



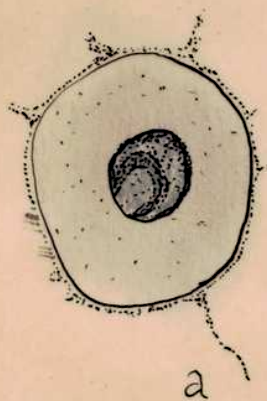
36



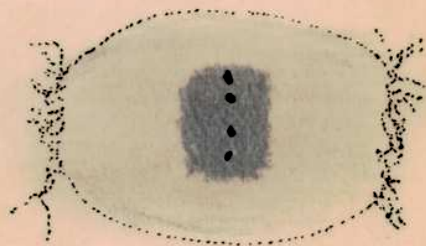
37

Fot. 36-37 - Spirogyra distenta. Transeau

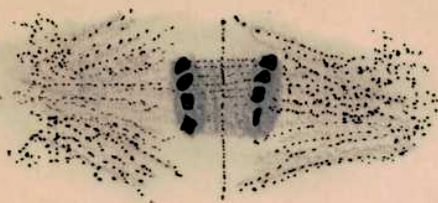
36. Anafase media. X 290. - 37. Anafase tardia. X 220. -



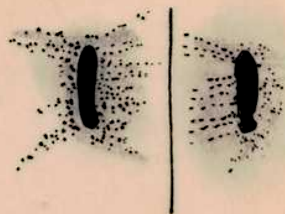
a



b



c



d

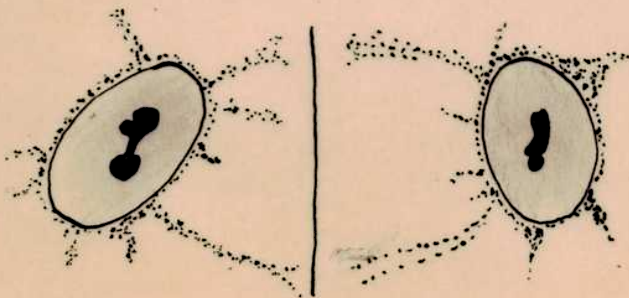


Lámina V. - Spirogyra distenta Transeau
División celular. X 950.

10 d

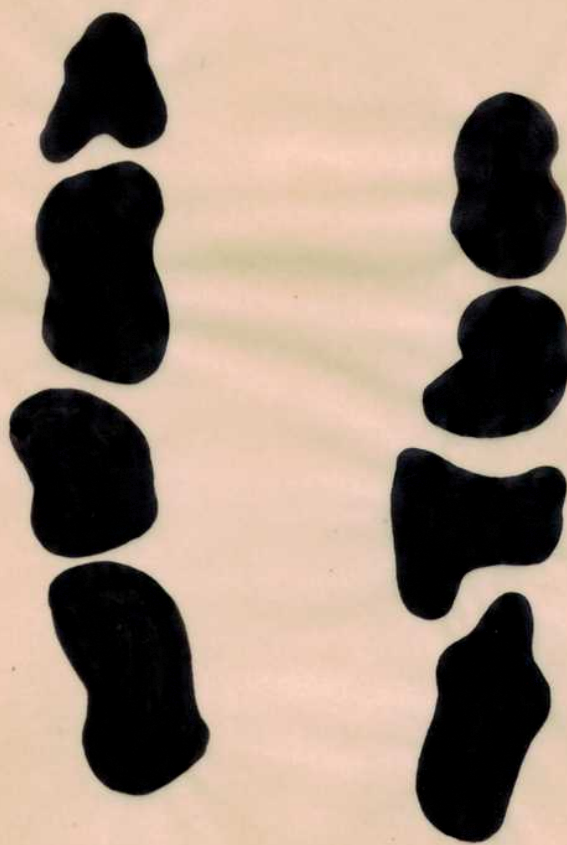
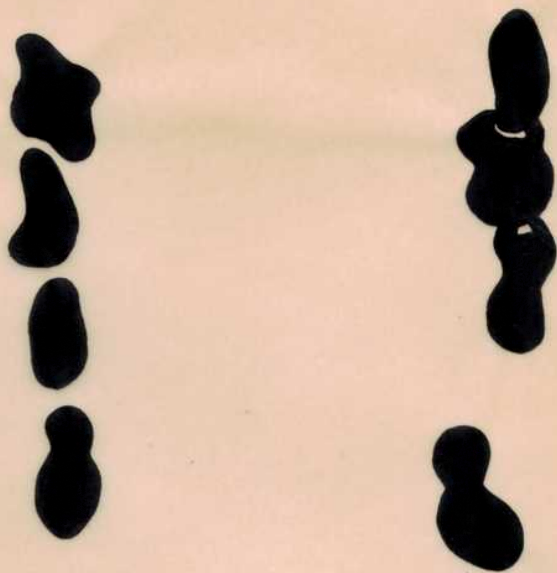


Lámina V. Spirogyra distenta. Transeau

Anafase temprana. X 7000

V



Lamina VI. Spirogyra distenta. Transeau
Anafase media. X 5500

VI

no hay evidencia de que parte alguna de la cromátide se adelante en la marcha hacia los polos, (fotografías 34 y 35, lámina IV fig. c y d, láminas V y VI). La sustancia nucleolar acompaña a cada serie de cromátides las que se encuentran considerablemente engrosadas (3,2 micrones de ancho), y, coloradas intensamente que el conjunto tiene la apariencia de un cromosoma único de gran tamaño.

La membrana nuclear no puede advertirse ni en metafase ni en anafase temprana por lo que imposibilita el precisar el origen intra y/o extranuclear de las estriaciones del huso.

Sin observarse vacuolización alguna en las fibras del huso tendidas entre ambas series de cromátides hermanas en anafase temprana y media, enfocando el plano de la pared celular, se observaron una serie de gotitas o corpúsculos depuestos uno al lado del otro en la zona ecuatorial, delimitando la nueva pared celular. En muchas células en proceso de división fué dado observar lo mismo, pero tan tempranamente como en metafase tardía, adoptándose su búsqueda como método para facilitar la localización de las células mitóticas del filamento, cuando la observación se viera dificultada por los cloroplastidos o el exceso de colorante retenido por el citoplasma. Similar deposición temprana de la pared celular se observó también en Zygne-
ma normani Taft (Joseph O'Donnell, trabajo en preparación).

La formación de la pared celular transversal, ha sido descrita como iniciándose en anafase media por Strasburger y Tangl y en telofase por Czurda y Mc Allister.

En anafase tardía fué imposible distinguir la sustancia nucleolar de las cromátides. Las estriaciones del huso se cortaron a la altura del ecuador del mismo. Poco a poco las placas anafásicas se deprimieron hasta que emergieron los núcleos telogásicos, separados por la membrana transversal bien neta. Lo dibujado de una preparación en la fig. e de la lámina IV, sugeriría la posibilidad de una tentativa organización en uno de los núcleos, de dos nucleolos, a semejanza de lo que Godward(1950) observara para Spirogyra crassa y S. triformis.

Spirogyra subpapulata Jao

En profase temprana no fué dado observar estructura nucleolar alguna, (lámina VII, fig. a).

Tal como aconteció en las especies anteriormente tratadas, se produjeron acumulaciones en los polos de nucleos profásico elongado, distinguiéndose en la cariolinfa gran número de gránulos muy pequeños que coloraron intensamente. La expansión del nucleolo coincidió con la atenuación de la membrana nucleolar.

Se advirtieron estriaciones en las acumulaciones citoplásmicas polares, (lámina VII y fig. b).

En metafase 20 cromosomas de casi 1 micrón de diámetro, fueron contados, (lámina VII, fig. c y lámina VIII), embebidos en la sustancia nucleolar colorada uniformemente.

Con referencia a la desorganización del nucleolo en esta especie, es de hacer notar que el material nucleolar no se dispersó mucho y que prácticamente ocupó el sitio del nucleolo profásico, expandiéndose solamente. Similar comportamiento fué observado por Geitler en Spirogyra I.

Estando intacta aunque muy atenuada la membrana nuclear se observaron estriaciones intranucleares.

Poco a poco los cromosomas se dispusieron en la placa ecuatorial, siempre rodeados por la sustancia nucleolar. (Fot. 28). El elevado número de cromosomas al, apra que la pequñez de los mismos impidieron repertir en esta fase el recuento cromosómico así como el hacer inferencia alguna sobre el tipo de división de las cromátides. A esta altura de la mitosis no quedaban trazas de la membrana nuclear.

En anafase temprana desapareció la distinción entre cromátides y sustancia nucleolar, tomando el conjunto una coloración pareja, mucho menos intensa que la observada en estados similares en las dos especies anteriormente descritas, (fig. lám. VII).

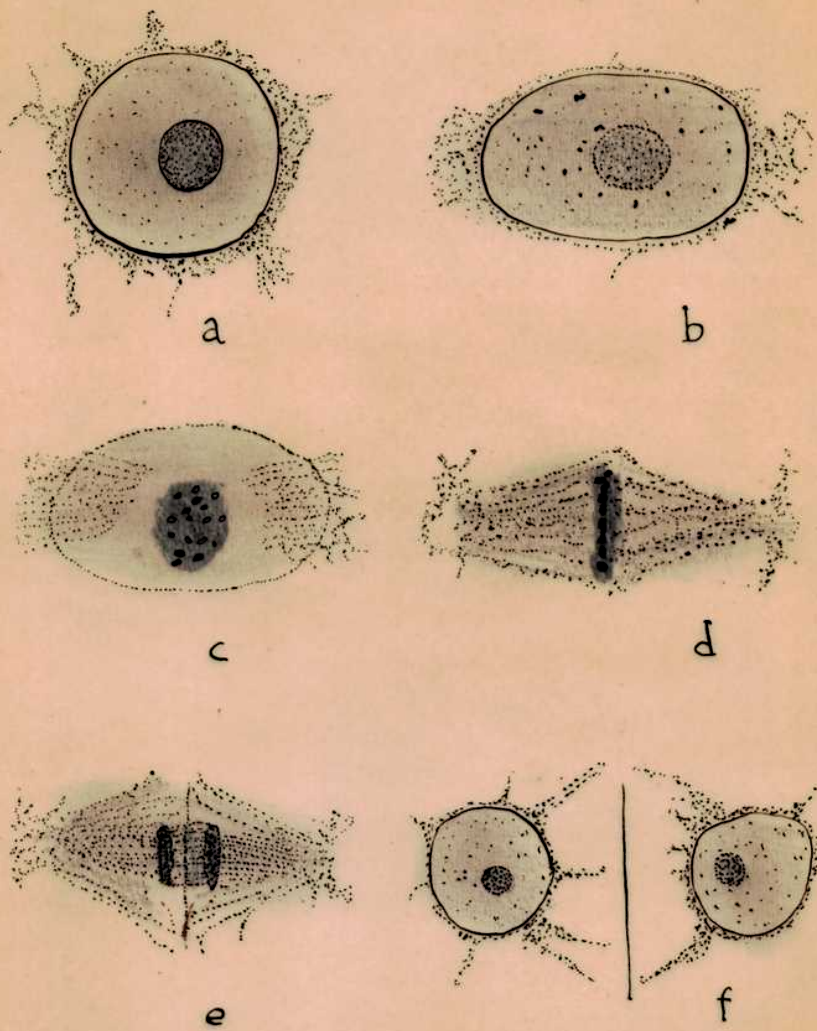


Lámina VII.- Spirogyra subpapulata Jao

División celular. X 1000.

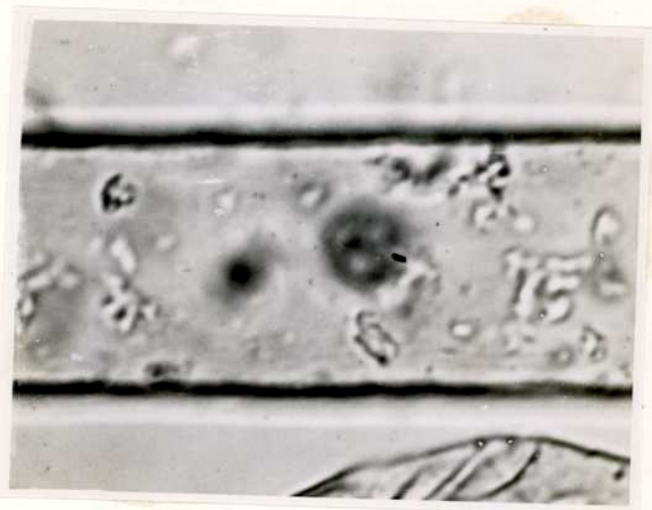


Lamina VIII. - Spiropyræ subpapulata Jao
Metafase X. 3000

VIII



38

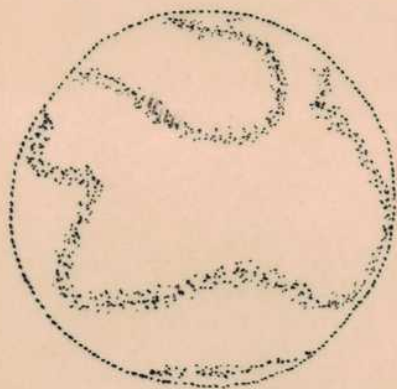


39

Fot. 38.- Spirogyra subpapulata. Jao. Metafase. X2000.-

39.- S. incrassata. Czurda. Nucleolo. X1300.-

57 d



Lamina IX. - Spirogyra incrassata Czurda.
Nucleolo X. 4500.

IX

Trazas de la nueva pared celular se observaron en Spirogyra subpapulata, sin que mediara vacuolización distinguible entre las fibras del huso.

Los nucleolos de los núcleos telofásicos tampoco mostraron estructura interna alguna, (lámina VIII fig. f).

Cabe agregar que actualmente no se observó la sustancia nucleolar en el acto de depositarse sobre las cromátides en anafase, y lo dicho es válido para el caso de las tres especies cuya mitosis acaba de detallarse; pero el engrosamiento notable de las cromátides anafásicas de Spirogyra ghosei y S. distenta (comparar fotografías 27-30 y 33-35), hace suponer que el mismo se ha realizado a expensas de otra sustancia , que no la cromática, por cuanto ésta hubiera colorado en estados más tempranos de ser de la misma naturaleza, y, por cuanto la sustancia proveniente de la desorganización del nucleolo al par que estar permanentemente en contacto con los cromosomas diferenciados, desde metafase temprana en adelante muestra una afinidad creciente por el colorante, se entiende y acepta lo establecido para otras especies de que la sustancia nucleolar se asocia progresivamente con las cromátides en anafase temprana para luego desprenderse de ellas al final de la misma, en un ciclo cuya verdadera naturaleza y significado queda aun por definir, si se comparan los comportamientos diferentes informados por los autores, de las estructuras nucleolares en las mitosis de células animales y vegetales.

No se observaron centrosomas en los polos del huso .

FIGURA ACROMÁTICA

Con referencia a la figura acromática se recuerda que Strasburger, Tangl y Mistkewitsch y Berghs le adjudicaron un origen citoplásmico. Es decir que las fibras surgen en las acumulaciones citoplásmicas polares y penetrando la membrana nuclear se manifiestan dentro en profase tardía.

Van Wisselingh aceptando la idea de Strasburger en cuanto al origen opinó que las fibras no penetraban al núcleo sino que lo rodeaban.

Flemming distinguió estriaciones citoplásmicas extranucleares, de las del huso intranuclear.

Meunier reconoció la figura acromática como surgiendo en parte del citoplasma y en parte de la cariolinfa.

McAllister trabajando en Spirogyra setiformis estableció que secciones transversales del huso metafásico, muestran un aspecto similar al de las transversales de las zonas de las acumulaciones citoplásmicas polares, es decir: áreas aproximadamente circulares sin colorar, cada una de ellas rodeada por una capa fina de protoplasma (en la cavidad nuclear) y citoplasma (en las regiones polares), suavemente teñido; con-

siderando la condición estriada extra e intranuclear como la manifestación de un cambio coloidal proteoplásmico y citoplásmico, siendo su ordenamiento elongado el responsable de la apariencia estriada.

En anafase media, tardía y telofase según el testimonio aportado por diversos autores, se vacuoliza la región central del huso acromático, empujando las vacuolas sus fibras hacia la pared celular y es en este contacto que se inicia la deposición de la pared celular.

Es interesante mencionar un trabajo de Sinnott y Bloch (1941) sobre división celular en células meristemáticas vegetales, vacuoladas, en el que establecieron que en las células poseyendo una gran vacuola central en la que el núcleo queda suspendido por prolongaciones citoplásmicas (similar a lo observable en las especies de Spirogyra conocidas), en profase tardía estas prolongaciones se agrandan en un diafragma, fragmosoma, más o menos contínuo que ocupa el lugar de la pared intercalar futura, infiriéndose que el plano de división celular está determinado muy tempranamente y no en relación exclusiva con el núcleo sino con todo el protoplasto.

En Spirogyra las acumulaciones citoplásmicas han sido observadas como ocurriendo en los polos solamente, bien puede darse el caso de que los cloroplastidos hayan enmascarado las de las prolongaciones citoplásmicas transversales en

la zona ecuatorial.

La evidencia aportada por el comportamiento en Spirogyra ghosei, S. distenta y S. subpapulata es que el desarrollo de la nueva pared celular comienza en la periferia, donde el citoplasma es más abundante si bien no quedá esto revelado sino cuando se realizaron coloraciones vitales por el Sudan III.

En las especies presentadas en este trabajo, no se observó desarrollo alguno ecuatorial que pudiera estimarse o recordar el fragmoplasto de plantas superiores.

CITOCINESIS

Según McAllister(1931), así como anafase promedio, el desarrollo de la nueva pared celular en Spirogyra setiformis, empuja los cloroplastidos removiéndolos de su posición parietal, hacia el centro de la cavidad celular, donde son luego seccionados.

Lo que antecede no es válido en las especies argentinas investigadas, en las que en ningún momento, y en especial desde metafase en adelante, fueron vistos los cloroplastidos agrupados o desplazados hacia el centro de la cavidad celular. Muy por el contrario, y las fotos 29 - 36 lo atestiguan, siempre mantuvieron su posición parietal, observándose además una continuidad en los giros de cloroplastidos de células vecinas, difícil de recuperar si se asume que la primitiva posición se abandona por tan largo lapso como el que transcurre entre metafase y comienzo de telofase.

El seccionamiento de los cloroplastidos puede atribuirse, a juicio de la autora, ya a un efectivo estrangulamiento por depósito creciente del material de la nueva pared en la periferia de aquellos, o a la lisis de los cloroplastidos en el punto de contacto de la pared que avanza. Ambas alternativas deben tener lugar muy tempranamente en la citocinesis y sin modificar la posición parietal de los cloroplastidos.

Lo observado por McAllister se entiende debe ser el resultado de una deshidratación brusca de las secciones en parafina con las cuales trabajara, provocando la consecuente retracción de los plástidos de su posición normal.

El posterior crecimiento de los cloroplastidos es apical e intercalar, más intenso éste a juzgar por el mayor número de vueltas en el centro de la célula. A los pirenooides se les atribuye el dividirse y surgir "de nuevo".

SUMARIO

En el trabajo presentado:

se investigan 11 especies del género Spirogyra, 8 de las cuales se citan por primera vez para Argentina,

se detallan las distintas técnicas citológicas ensayadas y se propone una modificación para la del carmín propiónico,

se analiza la estructura y organización de las células vegetativas de las respectivas especies,

se documenta fotográficamente la organización de los protoplastos: cloroplastidos, núcleo, citoplasma, pirenoides y estructura de las paredes celulares transversales, tipos de conjugación, forma y ornamentación de la cigota en las distintas especies,

se contribuye al conocimiento mitótico de Spirogyra ghosei, S. distenta y S. subpapulata,

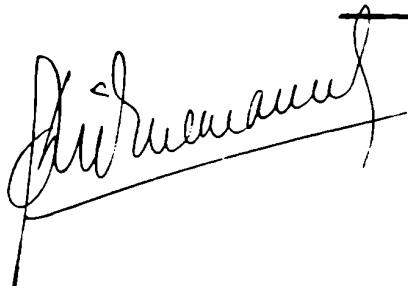
se observa la organización nucleolar, reconociéndose como normal, la existencia de una faz amorfa en la que está incluida otra estructurada en forma de filamento y para la que se adopta el neologismo de Estable(1951) de nucleolonema o carilionema,

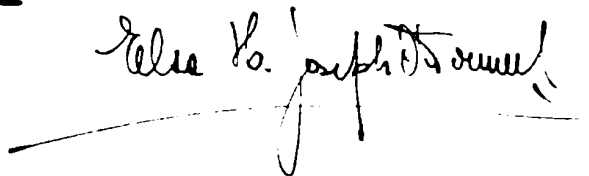
se determinan los números cromosómicos para Spirogyra ghosei en $n=10$; S. distenta, $n=4$ y S. subpapulata , $n=20$,

se observa separación de cromátides, normal y paralela en Spirogyra ghosei, paralela solamente en S. distenta,

se describe la citocinesis de las tres especies más arriba nombradas, observándose deposición temprana(en metafase tardía) de la nueva pared celular(S. distenta) y anafase temprana, la que en su avance hacia el centro de la cavidad celular en ningún momento remueve los cloroplastidos de su posición parietal, contrariamente a lo establecido por McAllister (1931),

se sugiere que el seccionamiento de los cloroplastidos por la nueva pared celular, podría adjudicarse a un estrangulamiento de cada uno de ellos, producido por depósito creciente del nuevo material de la membrana en su periferia o, la alternativa de que la pared al avanzar provoque la lisis del cloroplastido en el contacto.





BIBLIOGRAFIA

- Andrews, F.M., 1911
Conjugation of two different species of Spirogyra.-
Bull. Torrey Bot. Club, 38:299.
- Beger, H. von, 1954
en Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien, 1 Bd.
8 Abt.
- Berghs, J., 1906
Le noyau et la cinèse chez le Spirogyra.- La Cellu-
le, 23:55-86.
- Carnoy, 1884
La biologie cellulaire.-
- Caspersson T.O., 1950
Cell growth and cell function .- W.W.Norton & Co.
Inc. New York.
- Cave M.S., y Pocock, A., 1950
The aceto-carminic technic applied to the colonial
Volvocales.- Stain Tech. 26:173-174.
- Conard, A., 1931
Les formes à noyau lenticulaire doivent être sepa-
rées des Spirogyra et réunies en un genre nouveau.-
C.R.Soc.Biol.Paris, 107:1595-1596.
- _____, 1932
La croissance et la division chez Degagnya majus-
cula(Kütz.)Conard.- Ibid., 111:1090-1093.
- _____, 1933
Sur l'association temporaire de la caryotine et de
la substance nucleolaire au cours des phénomènes
de division chez les Degagnya et les Spirogyra.-
Ibid., 113:93.
- _____, 1939
Sur le mécanisme de la division cellulaire et sur
les bases morphologiques de la cytologie.-Bruselas.
- Copeland, E.B., 1902
The conjugation of Spirogyra crassa Kütz...- Bull.
Torrey Bot. Club, 29:161-163.
- _____, 1909
Periodicity in Spirogyra.- Bot.Gaz., 47:9-25.

- Cunningham, B., 1917
Sexuality of filament of Spirogyra.-Bot.Gaz.,63:486-500,tab.23-25.
- _____, 1918
Cross-conjugation in Spirogyra Weberi.-Ibid.,66:272-273.
- Czurda, V., 1922
Zur Frage der Nucleoluslöslichkeit bei Spirogyra.-Arch.f.Phot.,44:346-374,tab.14-15,
- _____, 1929
Über Pyrenoidveränderungen bei der Stäpkebildung in Spirogyra-Zellen.-Ber.D.Bot.Ges.,47:181-185.
- _____, 1930
Experimentelle Untersuchungen über die Sexualitätsverhältnisse der Zygnemales.-Beih.Bot.Centralbl.,47(1)15.
- _____, 1932
Zygnemales en Pascher's Süßwasserflora von Mitteleuropa, n.9, 2.Aufl.
- Chmielevsky, V., 1890
Über Conjugation bei Spirogyra.-Sitz.prot.biol.Sect. Warschau.naturf.Ges.
- _____, 1890
Eine Notiz über das Verhalten der Chlorophyllbänder in den Zygoten der Spirogyra-Arten .- Bot.Zeit.,48:773-780,1 tab.
- Dangeard, P., 1924
Quelques remarques nouvelles sur le cytoplasme des Spirogyra.- Rev.Alge.,1:422-426.
- Darlington, C.D. a La Cour, L.F., 1950
The handling of chromosomes.-Londres.
- Delf, E.M., 1913
Note on an attached species of Spirogyra.- Ann.Bot.,27:366-368.
- Degagny, C., 1890
Sur la division cellulaire chez le Spirogyra orthospira et sur la reintegration des matères chromatique refoulées aux pôles du fuseau.- Compt.Acad.Soc.Paris; 111:282.
- Doraiswami, S., 1946
Nuclear division in Spirogyra.-Jour.Of Ind.Bot.Soc.,25:19-36,51 figs.,1 tab.

Estable, C., 1932

Estructura del nucleolo y algunas experiencias tendientes a demostrar su significación biológica.- Arch.Soc.Biol.Montevideo, 7:1905-1911, 3 fgs.

_____ y Sotelo, J.R., 1951

Una nueva estructura celular: el nucleolonema.- Inst. de Invest. de Cs.Biol., 1:105-126.

_____, 1952

Technical procedures for the study of the nucleolonema.- Stain Tech., 27:307-312.

Fleming, W., 1882

Zellsubstanz, Kern- und Zellteilung.- Leipzig.

Font Quer, P., 1953

Diccionario de Botánica.- Barcelona.

Fritsch, F.E., 1935

The structure and reproduction of the algae. I.- Cambridge.

Gates, R.R., 1932

Notes on zygosporangium formation in Spirogyra.- Jour. Roy.Micr.Soc., 52:30-32.

_____, 1942

Nucleoli and related nuclear structures.- Bot. Rev., 8:337-409.

Geitler, L., 1930

Über die Kernteilung von Spirogyra.- Arch.f.Prot., 71:79-100.

_____, 1935

Neue Untersuchungen über die Mitose von Spirogyra.- Ibid. 85:10-19.

_____, 1935

Untersuchungen über den Kerbau von Spirogyra mittels Feulgens Nukleinfärbung.- Ber. D.Bot. Ges., 53:270-275.

Gerassimoff, J.J., 1898

Über die Kopulation der zweikernigen Zellen bei Spirogyra.- Bull.Soc.Imp.Moscú, 1-20, 9 fgs.

Godward, M.B.E., 1947

The nucleolus and nucleolar organizers in Spirogyra.- Heredity, 1:393.

_____, 1950

Somatic chromosomes of Conjugales.- Nature, 165:653.

_____, 1950

On the nucleolus and nucleolar-organizing chromosome

of Spirogyra.- Ann.Bot.,14:39-53,2 tab.

Godward, M.B.E., 1953

Geitler's nucleolar substance in Spirogyra.- Ibid.
n.s.,17:403-416,tab.23-24.

_____, 1954

The "diffuse" centromere or polycentric chromosomes
in Spirogyra.- Ibid.,18:143-156,1 tab.

Goldstein, B.A., 1925

A study of progressive cell plate formation.- Torrey
Bot. Club,52:197-219.

Goodspeed, T.H., 1944

La importancia de la estructura y comportamiento
del núcleo como vehiculo de la herencia.- Centro
Argentino de Drs. en Cs. Nat.,publicación n 1.

Guillaermond, A., Mangenot, G., y Plantéfol, L., 1933

Traité de cytologie végétale.-Paris.

Hyde, B.B. y Gardella, C.A., 1953

A mordanting fixation for intense staining of small
chromosomes.- Stain Tech.,28:305-308.

Itikawa, O. y Ogura, Y., 1954

The Feulgen reaction after hydrolysis at room tem-
perature.- Ibid.,29:13-15.

Johansen, D.A., 1940

Plant microtechnique.- New York.

Karsten, G., 1909

Entwicklung der Zygoten von Spirogyra jugalis.- Flo-
ra,99:1-11, tab. 1.

Klebahn, K., 1888

Über die Zygosporen einiger Conjugaten.- Ber.D.Bot.
Ges.,6:160-166,1 tab.

Kolkwitz, R., 1944

en Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland
un der Schweiz.13Band,2. Abteilung, Zygnemales.-

Krieger, H., 1944

Ibid.

Lloyd, F.E., 1926

maturation and conjugation in Spirogyra longata.-
Trans.Roy.Canad. Inst. Toronto,15:151-196.

_____, 1926

Cell disjunction in Spirogyra.- Papers Michigan Acad.
So.,6:275-287,tab.19.

- Lloyd, F.E., 1928
Further studies on the behaviour of gametes during maturation and conjugation in Spirogyra.- Protoplasma, 4:45-66, 1 tab.
- Malheiros, N., Castro, D. y Camara, A., 1947
Cromosomas sem centrômero localizado. O caso da Luzula purpurea Link.- Agron. Lusit., 9: 51-71.
- McAllister, F., 1931
The formation of the achromatic figure in Spirogyra setiformis.- Amer. Journ. of Bot., 28:838-853, tab. 59-60.
- MacFarlane, J.M., 1881
The structure and division of vegetable cell.- Trans Bot. Soc. of Edinburgh, 24:191
- McIntosh, D.L., 1954
A Feulgen-carminic technic for staining fungus chromosomes.- Stain Tech., 29:29-31.
- Meunier, A., 1887)
Le nucleole de Spirogyra.- La Cellule, 3:333-410.
- Merriman, M.L., 1913
Nuclear division in Spirogyra crassa .- Bot. Gaz., 56:319-330, tab. 11-12.
- _____, 1916
Nuclear division in Spirogyra bellis.- Ibid., 61:311-324, 3 tab.
- Mitzkewitsch, L., 1898
Über die Kernteilung bei Spirogyra.- Flora, 85:81-124, tab. 5.
- Moll, J.W., 1893
Observations on Karyokinesis in Spirogyra.- Verh. d. kon. Ak. v. Wetensch. te Amsterdam, Abt. Nat., 36.
- Oltmanns, F., 1922
Morphologie und Biologie der Algen.- Jena
- Oura, G., 1953
On the mitosis of the Spirogyra with special reference to the nuclear organization and nucleolar organization c.romosomes.- Cytologia, 18:
- Papenfuss, G.F., 1946
Proposed names for the phyla of algae.- Bull. Torrey Bot. Club, 73:217-218.

- Peterschilka, F., 1923
Beitrag zur Kernteilung und Parthenosporenbildung von Spirogyra mirabilis Kütz.- Arch. f. Prot., 46: 153-165.
- Rabinovich, D., 1947
Estudio citológico sobre la presencia de sustancia nuclear en Schizophyta.- Tesis. Buenos Aires.
- Rattenburg, J.A., 1952
Specific staining of nucleolar substance with aceto-carmin.- Stain Tech., 27:113-120.
- Schussnig, B., 1953
Handbuch der Protophytenkunde. I.- Jena.
- Shinke, N. y Shigenaga, M., 1933
A histochemical study of plant nuclei in rest and mitosis.- Cytologia, 4:189-221.
- Sinnott, E.F. and Bloch, R., 1941
Division in vacuolated plant cells.- Amer. Jour. of Bot., 28:225-232.
- Smith, G.M., 1950
The fresh-water algae of the United States.- New York
- _____ 8, 1955
Cryptogamic Botany.- 2nd ed.- New York.
- Stolley, I., 1930
Über ein Centrosom-ähnliches Gebilde und die Kernteilungserscheinungen bei Spirogyra nitida (Dillw.) Link.- Zeitschr. f. Bot., 23 : 919-931.
- Strain, H.H., 1951
in Smith's Manual of Phycology.- New York.
- Strasburger, E., 1875
Über Zellbildung und Zellteilung.- Jena.
- _____, 1876
Sur la formation et la division des cellules.- Jena
- _____, 1882
Über die Teilungsvorgänge der Zellkerne und das Verhältnis der Kernteilung zur Zellteilung.- Arch. f. mikr. Anat., 21:476-590.
- _____, 1888
Über Kern- und Zellteilung im Pflanzenreiche nebst einem Anhang über Befruchtung.- Histologische Beiträge, 1:1-258.

- Suematsu, S., 1936
Karyological study of Spirogyra by means of nuclear reaction.-Sc.Rép.Tokyo Bunrika Daigaku, 3:35-39.
- Tangl, F., 1882
Über die Teilung der Kerne in Spirogyra-Zellen.-Sitz.Ber.Akad.Wiss.Wien.Math.-nat., 85.
- Transeau, E.N., 1916
The periodicity of fresh-water algae.-Amer. Jour. of Bot., 3:121-133.
- _____, 1926
The genus Mougetia.- Ohio Jour.Sci., 26:311-331., 7 tab.
- _____, 1951
The Zygnemataceae.- The Ohio State University Press.
- Tröndle, A., 1911
Über die Reduktionsteilung in den Zygoten von Spirogyra und die Bedeutung der Synapsis.- Zeitschr. f.Bot., 3:593-619.
- _____, 1912
Der Nucleolus von Spirogyra und die Chromosomen höherer Pflanzen.- Ibid., 4:721-747.
- Wisselingh, C. van, 1898
Über den Nucleolus von Spirogyra.-Bot.Zeitung, 56:
- _____, 1900
Über Kernteilung bei Spirogyra.- Flora, 87:355-377.
- _____, 1902
Untersuchungen über Spirogyra.- Ibid., 60:115-138.
- _____, 1921
Zehnter Beitrag zur Kenntnis der Caryokinese.- Beih. Bot.Centralbl., 38:273-354.
- York, H.H., 1913
Some observations on the sexuality of Spirogyra.- Science 38:368-369.
- Zacharias, E., 1885
Über die chemische Beschaffenheit des Nucleolus.- Bot. Zeit., 43.
- _____, 1895
Über das Verhalten des Zellkernes in wachsenden Zellen.- Flora, 81.

INDICE

	Pg.
I) INTRODUCCION 2
II) ANTECEDENTES 5
III) MATERIAL 7
IV) TECNICA 10
V) CELULAS VEGETATIVAS 20
VI) CONJUGACION 28
VII) DIVISION CELULAR 38
VIII) MITOSIS EN <u>SPIROGYRA</u> <u>GHOSEI</u> 52
IX) MITOSIS EN <u>S. DISTENTA</u> 54
X) MITOSIS EN <u>S. SUBPAPU-</u> <u>LATA</u> 56
XI) FIGURA ACROMATICA 59
XII) CITOCINESIS 62
XIII) SUMARIO 63
XIV) BIBLIOGRAFIA 65