

# Estudio del crecimiento de las células formadoras de metaxilema en *Allium sativum*

por

**Emilio Anadón**

Interesados por los resultados de una investigación anterior nuestra (1) en los cambios volumétricos del núcleo celular en relación con el estado metabólico de la célula, comenzamos con el presente trabajo el estudio de la distribución de los volúmenes nucleares en las plantas.

Partimos de la base de que la relativa simplicidad de su metabolismo hará más sencilla la relación de él con los volúmenes nucleares correspondientes, si bien en cuanto a relaciones nucleoplasmáticas se tropieza con la dificultad de que la vacuolización impide la obtención de datos exactos.

El estudio previo realizado nos sugirió dos direcciones inmediatas de posible investigación, que han sido las seguidas hasta ahora. Una, de resultados incompletos todavía por algunas dificultades técnicas que aún no hemos resuelto satisfactoriamente, es la indudable relación del volumen nuclear con la presión osmótica intracelular normal. A pesar de no estar completo este estudio, podemos afirmar que el mayor volumen nuclear en los tejidos adultos del vegetal se halla asociado a una mayor presión osmótica. Y otra, la evolución de los volúmenes celulares durante el crecimiento, así como el de los nucleares, en las células muertas en el vegetal en estado adulto. Iniciamos esta investigación con el estudio de las células procambiales productoras de metaxilena.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Para el estudio de la diferenciación del xilema escogimos las raíces del ajo (*Allium sativum*). Los ápices fueron fijados tras distintas prue-

bas en sublimado, durante cinco horas, e incluidos en parafina celoidina, según PETERFI, y seccionados. La tinción se efectuó, o bien en bloque, con carmín borácico, o con hematoxilina de HEINDENHAIN. Se obtuvieron series completas de cortes, que fueron montadas, desechándose aquellas que por rotura de algún corte quedaron incompletas.

La elección de *Allium* se hizo por presentar su raíz un vaso de metaxilema central de gran diámetro, cuya columna celular es muy fácil seguir hasta su total diferenciación.

Se calcularon los volúmenes nucleares y celulares, así como la relación plasma/núcleo de las células sucesivas de cada columna, como también los volúmenes nucleares del meristemo terminal.

La raíz de *Allium* se caracteriza, según MANN (6), por poseer un grupo inicial de células con capacidades prospectivas no bien determinadas, sin separación entre las que darán origen al cilindro central, corteza, caliptra, etc. Parece ser que este grupo inicial apical puede desplazarse, por lo que no cabe determinar exactamente, como en otras raíces, qué células darán origen al cilindro central. Este hecho, perfectamente comprobado por nosotros, nos ha obligado a calcular el volumen inicial nuclear básico a base de la medición de muchos núcleos de este meristemo.

La diferenciación celular va acompañada en la mayoría de los casos de un incremento del volumen nuclear, que, según HUSKINS y STERNIZ (3, 4), en la raíz de *Roheo discolor* sigue la conocida regla de JACOBY. Estos autores comprueban también, observando la iniciación de mitosis inducidas por colchicina en células adultas, que el volumen nuclear responde a la dotación de cromonemas de cada núcleo.

Ahora bien, en el caso que nos ocupa, si queremos medir los volúmenes nucleares de todas las células de una columna, es probable que dichos volúmenes se encuentren afectados por las diferentes fases mitóticas en que se encuentren algunos de ellos, fenómeno que podía enmascarar dicha regla, caso de que fuera seguida también. Sin embargo, las variaciones volumétricas debidas a estas causas, después del estudio previo efectuado, hemos encontrado no son suficientes para que no se pueda hallar en ellas esta regla de crecimiento, por lo que no hemos creído necesario aplicar a este estudio los métodos seguidos por WILFLINGSIEDER (8), recomendados por dicho autor como los más adecuados para evitar este inconveniente.

Otro problema distinto estriba en la conveniencia o no de agrupar los volúmenes nucleares de las distintas columnas para hallar valores

medios. La agrupación no parece muy conveniente en los casos en que lo que interesa principalmente es el crecimiento casi individual, pues en este caso se produce una pérdida de información. El hecho de que el ritmo de crecimiento no sea exactamente igual en dos raíces hace que, si se agrupan los núcleos por su situación numérica en la columna (primeros, segundos, terceros, etc.), las medias obtenidas enmascaran, por ejemplo, el fenómeno, muy aparente, de que el crecimiento no es continuo y uniforme en la columna, sino que se encuentran zonas de ritmos distintos en la misma; esto hace también que, aparentemente, el crecimiento sea continuo, cosa que nunca ocurre en las células, aun en sus menores porciones, como ha comprobado recientemente CABALLERO (2).

Por estas razones estudiamos el crecimiento aisladamente en cada columna, y una vez comprobado el que la marcha general del crecimiento es similar en todas ellas, tomamos una al azar como modelo para exponer los resultados aplicables en general a todas ellas, que no presentan más que variaciones de detalle en la distribución.

#### REGLA DE JACOBY.

Confeccionando el histograma de distribución de volúmenes nucleares de la columna en cuestión, tomada al azar como modelo (fig. 1), cuyos valores damos en la tabla I, observaremos que en ellos se cumple la regla de JACOBY, si bien con fases intermedias de volumen  $1\frac{1}{2}$  del grupo inferior inmediato, es decir, que presentan la llamada sesquifase por SCHREIBER (7).

Los volúmenes nucleares se aproximan con la suficiente exactitud a los obtenidos por las series de una progresión geométrica, cuyos términos son:  $250$ ,  $250 \times 2$ ,  $250 \times 2^2$ ,  $250 \times 2^3$ ,  $250 \times 2^4$ ,  $250 \times 2^5$ ,  $\mu^3$  y las sesquifases correspondientes a  $250 \times 1\frac{1}{2} = 375$ ,  $375 \times 2$ ,  $375 \times 2^2$ ,  $375 \times 2^3$  y  $375 \times 2^4$ , aunque falta en el caso de la columna que nos ocupa —no en otras— el segundo término de esta última serie.

Que esto es así se puede comprobar gráficamente comparando el histograma correspondiente con las curvas de probabilidad teórica de dichas series, suponiendo que la dispersión de valores alrededor del medio dado por las progresiones es homogénea en toda la serie y proporcional a dicho volumen medio. Para ello se dibujan bajo el histograma las curvas de frecuencia calculadas para cada serie y la total de ambas,

Tabla I

## VOLÚMENES NUCLEARES DEL GRUPO APICAL INICIAL

M <sup>3</sup>	n	M <sup>3</sup>	n
236	5	388	2
282	1	463	6
336	5	522	1

## CÉLULAS PROCAMBIALES METAXILEMÁTICAS

N.º Orden	Volumen nuclear	Volumen celular	V. c./V. n.	Indicaciones	N.º Orden	Volumen nuclear	Volumen celular	V. c./V. n.	Indicaciones
1	1323	—	—		29	1403	7360	5,1	
2	855	—	—		30	1498	8740	5,8	
3	1078	—	—		31	2000	11930	6	
4	955	—	—	Profase temprana	32	2000	10500	5,2	
5	1445	—	—	»	33	2665	13200	4,9	
6	955	—	—	»	34	2975	17500	5,9	
7	1045	4016	3,8	Anafase	35	3055	19650	6,4	
8	380	3129	8,2	»	36	4460	28800	6,4	
9	955	4429	4,6	Telofase	37	2840	25000	8,8	
10	1119	4429	3,9	»	39	6250	39750	6,5	
11	1070	6680	6,2		40	8430	54000	6,4	
12	1520	7960	3,8	Profase temprana	41	5180	46900	9	
13	978	2425	2,5		42	5545	44800	8	
14	617	2830	4,6		43	4460	30100	5	
15	1562	6680	3,1		44	4340	49600	11,4	
16	1562	5860	3,1		45	7380	46400	6,3	
17	1723	4670	2,7		46	8075	43750	5,4	
18	1562	6680	3,7		47	3080	35000	11,4	
19	1562	7970	5		48	4155	47900	11,4	
20	2020	8740	4,3	Profase temprana	49	3060	60700	19,8	
21	1185	4760	4		50	6480	63800	9,9	
22	1323	5540	4,2		51	4340	73500	12,2	
23	1257	7140	5,7		53	5960	66700	8,3	
24	1540	6680	4,3		54	3850	59990	15,2	
25	2000	7140	3,5		55	2970	84000	28,2	
26	2385	8740	3,6		56	3060	116800	38,2	
27	1347	7960	5,9		57	2502	144000	57,2	
28	1347	10370	7,6		58	4340	148500	43,8	

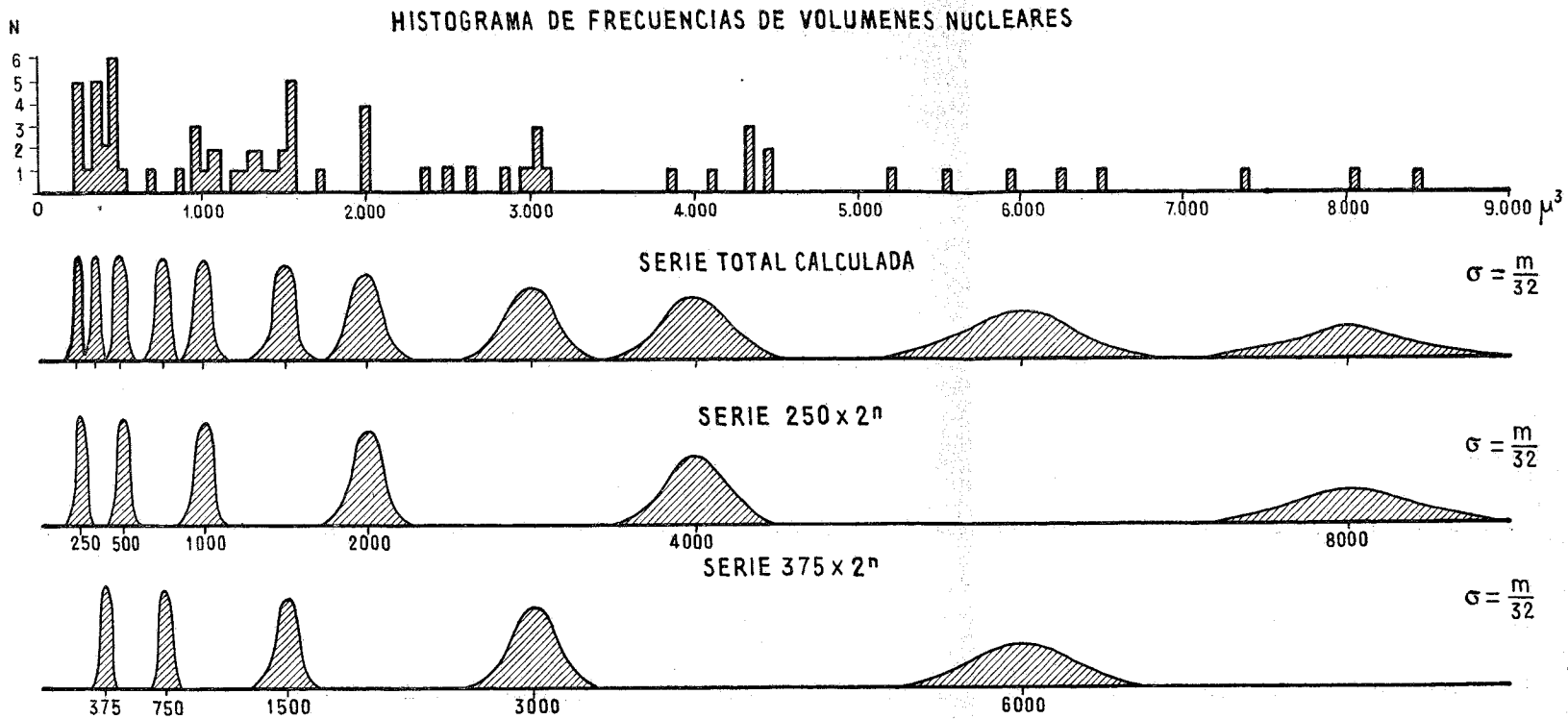


Fig. 1.

pudiendo observarse una coincidencia claramente significativa. Queda, por lo tanto, comprobado que el crecimiento de los núcleos sigue la regla de JACOBY y presenta la sesquifase de SCHREIBER, si bien en esta última se observa una tendencia a ser menor del volumen que le correspondería teóricamente.

Todos los núcleos, excepto uno, pertenecientes a los tres primeros grupos de volumen corresponden a células meristemáticas. Lo mismo que en las células germinales del intestino medio de *Platystolus martinezii* (I) podemos reconocer unos núcleos pequeños que aumentan de volumen, por intermedio de una sesquifase, hasta el doble, para dividirse y recuperar el volumen primitivo. Ahora bien, como la multiplicación es más activa, se encuentra una proporción mucho mayor de núcleos en sesquifase y fase doble que en aquellos animales.

#### EL CRECIMIENTO DE NÚCLEO Y CÉLULA EN LA COLUMNA PROCAMBIAL DE METAXILEMA.

En la gráfica de la figura 2, y en la tabla primera, se detallan los volúmenes sucesivos de núcleo y células a partir de la base.

Al iniciarse el crecimiento celular, el volumen nuclear aumenta rápidamente, alcanzando ya en en las primeras células de la columnas las  $1.000 \mu^3$ . En la base de la columna los núcleos se encuentran con mucha frecuencia en todas las fases mitóticas —en la tomada por ejemplo se hacen sobre este punto las anotaciones oportunas—, siendo, por lo tanto, las cariocinesis completas y multiplicándose las células en esta zona. En las zonas superiores las fases mitóticas que se encuentran son bastante raras y reducidas a figuras profásicas, como en la célula 20 del ejemplo tomado. Parece, en consecuencia, que en estas zonas no hay multiplicación celular, y las figuras observadas deben ser quizás fases de aumento nuclear por endomitosis en el sentido de GETTLER. En general, tales profases se presentan en células que han alcanzado las  $2.000 \mu^3$  de volumen nuclear.

Las variaciones sucesivas de volumen nuclear se ven afectadas desde luego por estas fases divisionales. Pero las irregularidades en la marcha de los volúmenes nucleares y celulares también se deben en gran parte a que el crecimiento parece hacerse en ondas sucesivas, es decir, que se encuentran grupos de células contiguas de crecimiento análogo, mayor o menor que el de los contiguos. Este fenómeno, por lo demás,

se observa en todas las columnas celulares meristemáticas de todas las raíces.

El crecimiento se hace de una manera relativamente lenta y pausada hasta un cierto momento, que en el ejemplo que nos ocupa se sitúa alrededor de la célula número 28, en cuyo momento núcleo y célula crecen rápida y paralelamente. En el citoplasma comienza en este momento la vacuolización. No todos los núcleos y células alcanzan el mismo volumen en esta fase, sino que, como se observa claramente en la gráfica, se mantienen las desigualdades de crecimiento en grupos. Llega un momento en que el volumen nuclear empieza a hacerse menor y disminuye rápidamente hasta que su forma se hace irregular y, por lo tanto, de volumen muy difícil de determinar, poco antes de su disolución. Ahora bien, en la zona medible, los volúmenes siguen ajustándose a la regla de JACOBY, si bien con el carácter, en este caso, de disminución, lo que parece indicar que la disminución de volumen se hace por destrucción de guarniciones completas cromosómicas. Y el comienzo de esta disminución nuclear se acompaña de un crecimiento desmesurado de las vacuolas, que se unen en una central, con lo que la célula se alarga enormemente hasta adquirir el tamaño definitivo de los vasos de metaxilema central. Se hallan estas fases, como es natural, en la zona de alargamiento de la raíz. La reabsorción de los tabiques transversales y el consiguiente esculpido de la pared celular se hacen con posterioridad. Advertimos que la columna estudiada no llega a la fase de alargamiento máximo, sino, dada la finalidad perseguida en este estudio, sólo hasta la zona en que los núcleos son medibles. La diferenciación final se hace en la zona pilífera.

La reducción del núcleo encontrada no es tan considerable como la observada por nosotros (1) en las células del intestino medio de *Platystolus*, pero coinciden ambas células en cuatro puntos al menos: 1) En que la destrucción se hace por guarniciones completas; 2) en que el crecimiento celular va acompañado del nuclear mientras no hay acumulación de materias paraplastmáticas; 3) en que cuando se forma gran cantidad de éstas, el núcleo disminuye de tamaño, y, finalmente, 4) en que el final del proceso es en ambas la destrucción, primero del núcleo y después del citoplasma.

En la gráfica de la figura 2 se señalan también los valores del cociente Volumen celular/nuclear. Dichos valores no hacen más que reflejar de otra forma los fenómenos ya observados. Se advierte que dicho cociente tiene cierta tendencia a disminuir en las primeras células de la

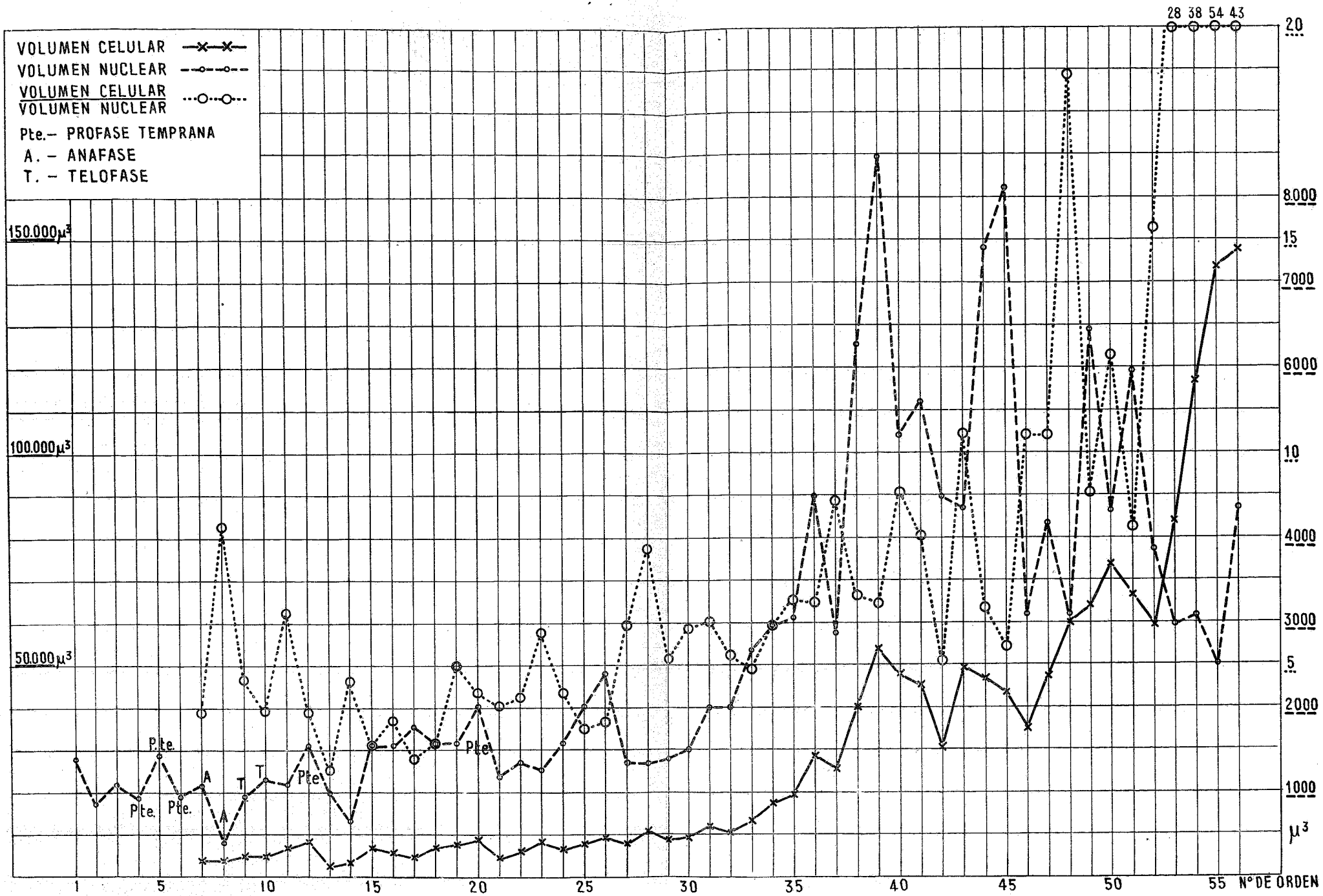


Fig. 2.



columna, pasando de un valor de alrededor de 5 a 3,5, para subir lentamente hasta alrededor de 8, en cuyo momento comienza dicho cociente a aumentar enormemente, coincidiendo con la vacuolización intensa y el alargamiento celular.

#### CONCLUSIONES.

1.<sup>a</sup> Los aumentos de volumen nuclear en las células procambiales precursoras del vaso metaxilemático central en *Allium sativum* se hacen siguiendo la regla de JACOBY, probablemente por duplicación simple de los cromosomas. Siguen la serie  $250 \times 2^n$ ,  $\mu^3$ .

2.<sup>a</sup> Se presenta también la sesquifase de SCHREIBER. La serie que da sus volúmenes es  $(250 \times 1\frac{1}{2})2^n$ ,  $\mu^3$ .

3.<sup>a</sup> Los núcleos meristemáticos del grupo apical inicial crecen bruscamente al iniciarse la columna procambial metaxilemática hasta unas 1.000  $\mu^2$ , dividiéndose mitóticamente alguna vez. Crecen después sin división, aunque se observan figuras profásicas de cuando en cuando, probablemente relacionadas con fenómenos de endomitosis.

4.<sup>a</sup> No todos los núcleos crecen hasta el mismo tamaño, formándose a manera de ondas de crecimiento.

5.<sup>a</sup> Se destruyen los núcleos tras una reducción de volumen muy aparente. Esta disminución se hace siguiendo también la regla de JACOBY, probablemente por destrucción de guarniciones completas.

6.<sup>a</sup> El volumen celular crece lentamente, para hacerlo rápidamente por alargamiento al crecer en longitud la raíz, por aumento de las vacuolas.

7.<sup>a</sup> La razón Volumen celular/volumen nuclear disminuye al principio ligeramente, para aumentar lentamente después, hasta el momento del alargamiento, en que se hace enorme.

Vigo, junio de 1954.

#### Bibliografía.

1. ANADÓN, E.

1954. "Sobre las variaciones volumétricas y de forma del núcleo, de las células secretoras del intestino medio de *Platystolus martinézi* Bol." (En publicación.)

2. CABALLERO, A.  
Observaciones no publicadas.
3. HUSKINS, C. L., & STEINIZ, L. M.  
1948. "The nucleus in differentiation and development, I." *Journ. Heredity*,  
39 (2); 35-43.
4. HUSKINS, C. L., & STEINIZ, L. M.  
1948. Id. II. *Jurn. Heredity*, 39 (3); 67-77.
5. JACOBY, W.  
1931. "Volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen des Menschen und  
das allgemeine problem der Zellgrösse". *Verhandl. der anat. Gesellsch.  
and der 40 tag, in Breslau*.
6. MANN, L. K.  
1952. "Anatomy of the garlic bulb and factors affecting bulb development".  
*Hildegardia*, 21; 195-251.
7. SCHREIBER, G.  
1947. "Il problema dell'accrescimento interfascico e delle variazioni volume-  
triche del nucleo durante lo sviluppo». *Att. Accad. Lincei (Roma),  
rend. Cl. Sci. Fis. Mat. e Nat., Ser. 8A, (3) (1/2); 129-135*.
8. WILFLINGSIEDER, P.  
1948. "Karyometrik". *Mikroskopie*, 3 (7-8); 243-250.